

PENGGUNAAN KAPPA CARAGENAN SEBAGAI BAHAN PENGENKAPSULASI *Lactobacillus acidophilus* TERHADAP VIABILITAS DAN “Shelflife”

Dwi Setijawati*

Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya
Jl. Veteran 65145 Malang, Indonesia

*Koresponden penulis : dwisetyawati@ub.ac.id

Abstrak

Tujuan penelitian adalah mencari pengaruh penggunaan kappa caragenan sebagai bahan pengenkapsulasi *Lactobacillus acidophilus* terhadap viabilitas dan *shelflife*. Metode penelitian adalah laboratorium eksperimental desain dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL), ANOVA, dilanjutkan dengan uji Fisher, s untuk menguji perbedaan. Analisa data menggunakan Minitab 16 software. Perlakuan penelitian adalah konsentrasi kappa caragenan dengan sub perlakuan sebagai berikut : A1 (2%); A2 (2,5%); A3 (3,0%); A4 (3,5%); A5 (4,0%); A6 (4,5%). Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan kappa caragenan dengan konsentrasi berbeda sebagai bahan pengenkapsulasi *Lactobacillus acidophilus* memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap viabilitas *Lactobacillus acidophilus* dan yield enkapsulasi. Viabilitas meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi kappa caragenan yang digunakan. Viabilitas tertinggi sebesar 8.71 log CFu/mL didapatkan dengan menggunakan konsentrasi kappa caragenan 4,5% dengan perhitungan *Shelflife* sebesar 65,73 tahun penyimpanan pada suhu 5°C . Saran penelitian adalah pengujian mikrokapsul *Lactobacillus acidophilus* yang terenkapsulasi kappa caragenan 4,5% pada larutan simulasi *GI Tract*.

Kata Kunci : *Eucheuma cottonii*, mikroenkapsulasi, emulsifikasi

Abstract

The aim of the study was to find out the effect of using kappa caragenan as an *Lactobacillus acidophilus* encapsulating material on viability and “shelflife”. The research method was an experimental laboratory design with Completely Randomized Design (CRD), ANOVA, followed by the Fisher test, to test for differences. Data analysis using Minitab 16 software. The research treatment was the concentration of kappa caragenan with sub-treatment as follows: A1 (2%); A2 (2.5%); A3 (3.0%); A4 (3.5%); A5 (4.0%); A6 (4.5%) The results showed that the use of different concentrations of kappa caragenan as an encapsulation material for *Lactobacillus acidophilus* had a very significant difference effect on the viability of *Lactobacillus acidophilus* and encapsulation yield. Viability increases with increasing concentration of kappa caragenan used. The highest viability of 8.71 log CFu / mL was obtained using a 4.5% kappa caragenan concentration with a “Shelflife” calculation of 65.73 years of storage at 5°C. The research suggestion was testing 4.5% *Lactobacillus acidophilus* microcapsules encapsulated by kappa carrageenan in *GI Tract* simulation solution.

Keywords: *Eucheuma cottonii*, Microencapsulation, Emulsification

PENDAHULUAN

Pemanfaatan *Eucheuma* sp dengan hasil ekstrak caragenan beserta sifat fungsionalnya dapat digunakan sebagai bahan pengenkapsulat pada proses mikroenkapsulasi. Kemampuan caragenan untuk membentuk gel dapat dimanfaatkan sebagai media pengenkapsulat seperti mengkapsul bakteri probiotik atau bakteri

asam laktat. Mikroenkapsulasi *Lactobacillus bulgaricus* dengan menggunakan bahan caragenan dan Locust Bean Gum sudah dilakukan dan menghasilkan viabilitas sebesar [1]. Caragenan dapat dihasilkan melalui ekstraksi kelompok Rhodophyceae red hidrokoloid seperti *Eucheuma* sp, *Chondrus* sp dan *Irish Moss*.

Hasil ekstraksi rumput laut merah dengan menggunakan air panas (*hot water*)

Article history:

Diterima / Received 7 Desember 2018

Disetujui / Accepted 25 Juli 2019

Diterbitkan / Published 31 Juli 2019

©2019 at <http://jfmr.ub.ac.id>

atau larutan alkali pada suhu tinggi akan menghasilkan Caragenan yang memiliki polisakarida linier dan berat molekul yang terdiri atas 1000 lebih residu galaktosa yaitu ester, kalium, natrium dan kalium sulfat dengan galaktosa dan 3,6 anhydrogalaktokopolimer. *Eucheuma cottonii* penghasil caragenan tipe kappa. Sifat gel kappa caragenan adalah kuat, mudah patah dan sineresis. Pemilihan bahan pengenkapsulat merupakan kriteria penting untuk menentukan tujuan penggunaan teknologi mikroenkapsulasi untuk meningkatkan viabilitas atau “*shelflife*” dan menjamin kemampuan “*control and release*” yang sesuai dengan target. Mikroenkapsulasi probiotik seperti *L. acidophilus*. Dimana *L. acidophilus* adalah salah satu spesies bakteri probiotik yang termasuk dalam genus *Lactobacillus*. Sel probiotik harus hidup saat dikonsumsi dan mencapai target mempertahankan viabilitas dan stabilitas mencapai jumlah yang memadai yaitu sebesar 1×10^7 colony-forming unit (cfu)/ml. Menurut [2], hasil enkapsulasi menggunakan whey protein yang digunakan bahan pengenkapsulat dapat digunakan untuk memperkirakan jumlah sel awal *Lactobacillus* sp serta memperkirakan waktu simpan sampai bakteri tersebut tidak bermanfaat lagi, karena seluruh sel telah mati. Sehingga penelitian mengenai *L. acidophilus* yang terenkapsulasi caragenan dengan konsentrasi berbeda terhadap viabilitas dan daya simpan (*shelf life*) sel perlu penelitian mengenai hal tersebut.

MATERI DAN METODE PENELITIAN

Bahan penelitian dan Alat penelitian

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah kappa caragenan dan maltodekstrin. Bahan tambahan lain untuk proses analisis antara lain : KOH teknis, KCL teknis, MRS-Agar dan NaCl. Alat yang digunakan terdiri dari *Laminar Air Flow*, *stirrer incubator*, *vortex mixer*, spektrofotometer Infra red Shimizu model IR-430, *tensile strength instrument* merek Imada/ZP-200 N, *Viscometer Brookfield*.

Metode penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode laboratorium eksperimental desain dengan menggunakan rancangan Acak lengkap, yang dianalisa dengan Analysis of Variance (ANOVA) untuk mengetahui pengaruh, kemudian dilanjutkan dengan uji Fisher,s Test untuk mengetahui perbedaan diantara perlakuan. Analisa uji dilakukan dengan SPSS 16 Software. Perlakuan konsentrasi bahan pengenkapsulasi sebagai variable bebas dengan sub level perlakuan terdiri dari : A1 (2%); A2 (2,5%); A3 (3,0%); A4 (3,5%); A5 (4,0%); A6 (4,5%). Analisa dilanjutkan dengan pengujian normalitas menggunakan metode Kolmogorov-Smirnov, analisis sidik ragam (ANOVA), uji Fisher,s. Analisa menggunakan Minitab 16 software.

a) Pembuatan kappa caragenan dengan metoda PNG (Philipine Natural Grade) [3]

Rumput laut *E. cottonii* yang diambil dari Madura Kep, Indonesia. dicuci kemudian dikeringkan. Tahapan dalam pembuatan kappa caragenan dari rumput laut *E. cottonii* menggunakan metode PNG (Philipine Natural Grade), melalui langkah sebagai berikut: Rumput laut *E. cottonii* kering dicuci sampai bersih masing-masing ditimbang sebanyak 25 gram. Rumput laut yang sudah ditimbang kemudian ditambah air dan KOH 6%. Kemudian dipanaskan dengan suhu $\pm 70^\circ\text{C}$ selama ± 120 menit. Setelah itu diangkat dan dinetralkan dengan air sampai pH netral, kemudian dipotong-potong dengan ukuran 3-5 cm, dijemur, setelah kering dihaluskan dengan blender.

b) Pembuatan mikrokapsul *Lactobacillus acidophilus* dengan kappa caragenan dari ekstraksi *Eucheuma cottonii*

Pembuatan mikroenkapsulasi *L. acidophilus* dari kappa caragenan [4] yang sudah dilakukan modifikasi melalui langkah langkah sebagai berikut :Pertama tama sol caragenan disiapkan kemudian dipanaskan pada suhu $\pm 96^\circ\text{C}$ selama $\pm 5-6$ menit setelah itu suhu diturunkan dan diatur pada suhu $\pm 40-45^\circ\text{C}$. Kemudian sol caragenan yang telah

dipanaskan kemudian dimasukkan ke dalam suspensi bakteri sebanyak 10 mL. Pekerjaan selanjutnya adalah tahapan persiapan pembuatan emulsi. Emulsi dibuat dari pencampuran 50 mL minyak sayur (mengandung 0,1% tween 80). Minyak sayur yang telah disiapkan kemudian diaduk dengan *stirrer hotplate* pada suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$ selama $\pm 2-3$ menit. Tahap selanjutnya adalah sol kappa caragenan dan sel ditambahkan ke dalam emulsi berupa minyak sayur sebagai pengemulsi. Hasil percampuran kemudian diaduk dengan *stirrer hotplate* selama ± 10 menit dengan kecepatan 500 rpm lalu ditambah 75 mL KCl 3,9 M sehingga diperoleh fase minyak dan kapsul. Fase minyak dipisahkan dari kapsul dan disentrifus dengan kecepatan 875 rpm selama ± 10 menit. Kapsul dicuci sebanyak 2 kali menggunakan KCl 3,9 M dengan sentrifugasi yang sama kemudian disimpan pada suhu $\pm 4,4^{\circ}\text{C}$ sehingga diperoleh mikroenkapsulat.

c) *Pengujian viskositas bahan kappa caragenan dari ekstraksi Eucheuma cottonii*

Pengujian larutan caragenan dengan konsentrasi 1,5% dipanaskan dalam air mendidih sambil diaduk secara teratur sampai suhu mencapai 75°C . Viskositas diukur dengan *Viscometer Brookfield*. Spindel terlebih dahulu dipanaskan pada suhu 75°C kemudian dipasang ke alat ukur *Viscometer Brookfield*. Posisi spindel dalam larutan panas diatur sampai tepat, viskometer dihidupkan dan suhu larutan diukur. Ketika suhu larutan mencapai 75°C dan nilai viskositas diketahui dengan pembacaan viskometer pada skala 1 sampai 100. Pembacaan dilakukan setelah satu menit putaran penuh 2 kali untuk spindel no 1.

d) *Pengujian Gel kappa caragenan dari ekstraksi Eucheuma cottonii*

Prosedur pengujian melalui langkah kappa Caragenan dan maltodekstrin masing-masing 1,6% dipanaskan dalam air mendidih dengan volume larutan 50 mL dan diaduk secara teratur sampai suhu 80°C , kemudian diletakkan sampel pada *tensile strength instrument* dengan merek Imada/ZP-200 N, spesifikasi *digital force gauge* dengan

tegangan 220 V - 240 V, kemudian di ON kan sehingga komputer secara otomatis akan mencatat gaya (N) dan jarak yang ditempuh oleh tekanan atau tarikan terhadap sampel.

e) *Pengujian kappa caragenan dari ekstraksi Eucheuma cottonii menggunakan Fourier Transform Infrared Spectrometer (FT-IR)*

Pengujian FT-IR ini dilakukan untuk mengetahui gugus fungsional dari kappa-maltodekstrin. Adapun prinsip pengujian FT-IR adalah absorpsi gugus karbonil menggunakan serapan inframerah. Pengukuran absorpsi radiasi infrared pada berbagai panjang gelombang dilakukan dengan spektrofotometer Infra red Shimizu model IR-430.

f) *Pengujian Viabilitas Lactobacillus acidophilus*

Prosedur kerja dari analisis viabilitas *L. acidophilus* adalah sebagai berikut : Mikro kapsul diambil sebanyak 0,1 g. Dimasukan ke dalam 10 mL larutan NaFis. Dihomogenkan menggunakan *vortex mixer* selama 10 menit. Dilakukan pengenceran bertingkat dan dilakukan penanaman dengan metode tuang dalam media MRS-Agar. Diinkubasi dalam kondisi anerob pada inkubator dengan suhu 37°C selama 48 jam. Dilakukan perhitungan viabilitas bakteri menggunakan metode perhitungan *Total Plate Count (TPC)* dalam satuan log CFU/mL.

Pengujian Yield Enkapsulasi

Yield enkapsulasi menurut [5] merupakan efisiensi dari penyalut dengan jumlah bakteri yang mampu untuk bertahan hidup setelah proses enkapsulasi dihitung sebagai *Encapsulation Yield (EY)*. Rumus untuk menghitung yield enkapsulasi adalah sebagai berikut :

$$EY = N/N_0$$

Keterangan :

N = Jumlah sel hidup setelah proses pengeringan.

N_0 = Jumlah sel hidup yang ditambahkan (kepadatan awal)

g) Pengujian “Shelflife” *Lactobacillus acidophilus* yang terenkapsulasi kappa caragenan

Viabilitas *Lactobacillus acidophilus* dan struktur mikroenkapsulat pada masa simpan 14 hari 5°C dan 37°C, uji waktu simpan sel terenkapsulat menggunakan persamaan :

$$T = \frac{8 \log S_0}{\log S_0 - S_{ac}}$$

Dimana:

S_0 = viabilitas pada saat nol hari atau segera dihitung viabilitas setelah proses enkapsulasi

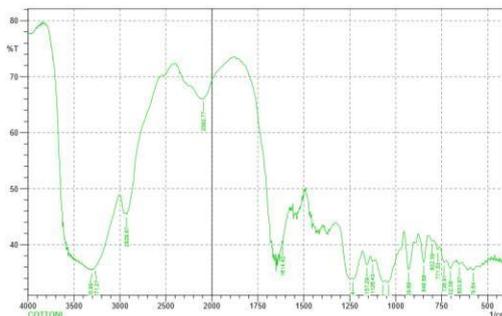
S_{ac} = survival rate setelah disimpan selama 14 hari pada suhu optimal pertumbuhan sel.

T = masa simpan sel terenkapsulat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Kappa caragenan dari ekstraksi *Eucheuma cottonii*

Hasil ekstraksi didapatkan kappa caragenan. Penentuan kappa caragenan dapat diamati berdasarkan gugus fungsi pada bilangan gelombang. Penentuan gugus fungsi berdasarkan bilangan gelombang menggunakan FTIR dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Gugus fungsi kappa caragenan yang diekstraksi dari *Eucheuma cottonii* menggunakan FTIR

Tabel 1. Bilangan gelombang gugus fungsi kappa caragenan yang diekstraksi dari *Eucheuma cottonii* menggunakan FTIR dibandingkan dengan standar

	Bilangan Gelombang	
	Kappa (*)	Kappa (**)
Ester Sulfat	1261,8	1258
Ikatan Glikosidik	1068,7	1070
3,6 AG	929,8	937,7
D-galaktan-4SO4	844,9	847,7
D-galaktan-2SO4	-	-
D-gal-6S	-	-
3.6-AG-2SO4	802,5	-

Keterangan : (*) standar
(**) hasil penelitian

Hasil penelitian yang diamati pada Gambar serta tersaji pada Tabel menunjukkan intensitas serapan yang ditunjukkan oleh ester sulfat, ikatan glikosidik dan galaktosa sangat kuat yang diamati berdasarkan bilangan gelombang. Caragenan ditandai dengan dengan gugus fungsi ester sulfat yang terdapat pada bilangan gelombang 1210-1260 cm⁻¹, ikatan glikosidik pada 1010-1080 cm⁻¹. Anhidro-Galaktosa (AG) pada 928-933 cm⁻¹, galaktosa sulfat pada 840-850 cm⁻¹, dan galaktosa 2 sulfat pada 800-805 cm⁻¹. Intensitas serapan yang diunjukkan oleh ester sulfat, ikatan glikosidik dan galaktosa sangat kuat. *Eucheuma cottonii* mengandung kappa caragenan yang tersusun dari (1,3) D-Galaktosa-4-sulfat dan (1,4)-3,6-Anhidro-D-Galaktosa. Sehingga dapat disimpulkan bahwa bahan *Eucheuma cottonii* Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah *Eucheuma cottonii* yang dipanen dari daerah Lombok Kep, Indonesia dengan metoda ekstraksi menggunakan alkali. adalah penghasil kappa caragenan.

Karakteristik Fisikokimia Kappa Caragenan yang diekstraksi dari *Eucheuma cottonii*

Karakteristik fisikokimia Kappa Caragenan yang diekstraksi dari *Eucheuma cottonii* dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Karakteristik Fisikokimia Kappa Caragenan konsentrasi 4,5%

	Kappa caragenan dari ekstraksi <i>Eucheuma cottonii</i>
Kadar Air (%)	12%
Gel Strength (N)	4,9 N
Viskositas (Cps)	825
Gelling Point (°C)	25,2 °C
Melting Point (°C)	82 °C

Proses pembuatan kappa caragenan dengan metoda PNG merupakan salah satu cara dalam meningkatkan kekuatan gel caragenan. Penggunaan larutan alkali pada suhu proses 75-80 °C adalah dalam rangka pemutusan gugus ester sulfat menjadi gugus 3,6 AG. Adanya gugus 3,6 AG dapat mempengaruhi kekuatan gel. Kekuatan gel dapat meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi. Kemampuan membentuk gel pada kappa caragenan merupakan faktor dalam pembentukan beads mikrokapsul.

Pengaruh Perlakuan konsentrasi Kappa Caragenan Terhadap viabilitas *Lactobacillus acidophilus*.

Pengaruh perlakuan kappa caragenan dengan konsentrasi berbeda terhadap viabilitas *Lactobacillus acidophilus* dan yield enkapsulasi ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Pengaruh perlakuan kappa caragenan dengan konsentrasi berbeda terhadap viabilitas *Lactobacillus acidophilus* dan yield enkapsulasi

Perlakuan	Viabilitas log Cfu/mL	Yield enkapsulasi (%)
A1	6.43±0,05d	71.44±0,56a
A2	6.71±0,09c	74.59±1,03a
A3	7.52±0,13b	83.63±1,51b
A4	7.61±0,06b	84.62±0,71b
A5	8.67±0,05a	93.62±0,55c
A6	8.71±0,02a	97.73±0,23d

Keterangan : rata-rata dengan notasi yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata

Dari hasil penelitian yang diamati melalui Tabel 2 didapatkan bahwa semakin meningkat konsentrasi bahan pengenkapsulasi, maka viabilitas bakteri *Lactobacillus acidophilus* juga semakin meningkat serta yield enkapsulasi juga semakin besar. Hal ini disebabkan karena peningkatan derajat keseragaman molekul

kappa caragenan yang meningkat dan diikuti dengan daya gelasi yang juga meningkat. Daya gelasi meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi. Konsentrasi bahan meningkat menyebabkan sistim gelasi meningkat maka pembentukan wall atau dinding mikrokapsul akan semakin tebal. Ketebalan dinding mikrokapsul yang semakin tebal dapat meningkatkan daya perlindungan terhadap isi atau bakteri didalamnya. Ketebalan dinding akan diikuti dengan kerapatan matriks dinding mikrokapsul sehingga dapat mempeertahankan bakteri dari tekanan eksternal seperti suhu, pH, oksigen serta tahapan dalam proses pembuatan mikrokapsul.

Hal ini sejalan dengan pendapat [6] bahwa *Kappa caragenan* tersusun dari (1,3)-D-galaktosa-4-sulfat dan (1,4)-3,6-anhidro-D-galaktosa dan mempunyai D-galaktosa-6-sulfat ester dan 3,6-anhidro-D-galaktosa-2-sulfat ester. pemberian alkali seperti K⁺ dalam proses ekstraksinya akan terjadi pergantian atau pemutusan gugusan 6-sulfat, sehingga menghasilkan 3,6-anhidro-D-galaktosa.

Adanya gugusan 6-sulfat, dapat menurunkan daya gelasi dari caragenan. Sedangkan hubungan daya gelasi dengan peningkatan viabilitas adalah pengkerasan butiran atau pembentukan droplets didalam fase minyak pada proses pembuatan mikrokapsul sangat tergantung dengan kekuatan gel dan viskositas bahan pengenkapsulasi. Pengkerasan pada kulit bagian luar mikrokapsul terjadi secara cepat, ketika berkontak dengan bahan atau larutan pengkeras atau penstabil yaitu ketika ion Ca²⁺ atau K⁺ merembes masuk dalam rangka meningkatkan ketebalan layer alginate dan mengeraskannya. Stabilitas meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasinya.

Penentuan “ Shelflife” *Lactobacillus acidophilus* yang terenkapsulasi Kappa Caragenan dari hasil perlakuan terbaik

Penentuan “Shelflife” *Lactobacillus acidophilus* yang terenkapsulasi Kappa Caragenan yang diekstraksi dari *Eucheuma cottonii* menggunakan rumus Sakane Dan Kuroshima didapatkan 65,43 tahun pada suhu

penyimpanan 5°C. Sehingga “Shelflife” bakteri *Lactobacillus acidophilus* yang ternkapsulasi kappa caragenan yang diekstraksi dari rumput laut *Eucheuma cottonii* dengan menggunakan metode Emulsifikasi adalah 65,79 tahun sampai bakteri tersebut tidak bisa digunakan dan kehilangan viabilitasnya.

KESIMPULAN

Penggunaan Kappa Caragenan dengan konsentrasi berbeda sebagai bahan enkapsulasi *Lactobacillus acidophilus* memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap viabilitasnya dan yield enkapsulasi. Semakin tinggi penggunaan konsentrasi Kappa Caragenan memberikan hasil yang semakin meningkat pada viabilitas *Lactobacillus acidophilus* dan yield enkapsulasi. Viabilitas *Lactobacillus acidophilus* dan yield enkapsulasi tertinggi didapatkan pada perlakuan A6 yaitu penggunaan konsentrasi 4,5% viabilitas sebesar 8,71 Log Cfu/mL dan yield sebesar 97,73% dengan perhitungan “Shelflife” pada suhu penyimpanan 5°C sebesar 65,79 tahun.

SARAN

Konsentrasi 4,5% Kappa Caragenan yang diekstraksi dari *Eucheuma cottonii* memberikan viabilitas *Lactobacillus acidophilus* yang memenuhi standar WHO sebesar 10^7 Cfu/mL. Akan tetapi perlu dilakukan penelitian tentang viabilitas *Lactobacillus acidophilus* setelah melewati pH GI Tract sebagai indikator keberhasilan proses mikroenkapsulasi *Lactobacillus acidophilus*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Institusi Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang yang telah memberikan dukungan dana bagi terselesaikan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

[1] Shi, L.-E., Li, Z.-H., Zhang, Z.-L., Zhang, T.-T., Yu, W.-M., Zhou, M.-L., & Tang, Z.-X. (2013). Encapsulation of

Lactobacillus bulgaricus in carrageenan-locust bean gum coated milk microspheres with double layer structure. *LWT - Food Science and Technology*, 54(1), 147–151. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.05.027>

- [2] Triana, E. E, Yulianto. N, Nurhidayat. 2006. Uji Viabilitas *Lactobacillus sp.* Mar 8 Terenkapsulasi. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI). Bogor. Halaman 114-117.
- [3] Setijawati, D., S. Wijana, dan I. Santosa. 2011. “Viabilitas Dan Struktur Mikrokapsul *Lactobacillus acidophilus* Dengan Bahan Penyalut Karaginan Semi Murni Jenis *Eucheuma cottonii*.” *Jurnal Teknologi Pangan* 2 (1): 50–67.
- [4] Adhikari. K, Mustapha A, and L.U Grun, 2003. Survival and Metabolic Activity of Microencapsulated *Bifidobacterium longum* in stirred Yogurt.
- [5] Chavarri, M., Maranon, I., Ares, R., Ibanez, F. C., Marzo, F., & Villarán, M. D. C. 2010. Microencapsulation of a probiotic and prebiotic in alginate-chitosan capsules improves survival in simulated gastro-intestinal conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 142(1-2), 185–9
- [6] Winarno, 1996. *Teknologi Pengolahan Rumput Laut*. Jakarta: Pustaka Sinar Harapan