

# PENGARUH EKSTRAK SENYAWA INULIN DARI BAWANG MERAH (*Allium cepa* Linn.) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI PROBIOTIK *Lactobacillus acidophilus*

Hartono<sup>(1)</sup>, Cut Muthiadin<sup>(2)</sup>, Andi Indra Ayu<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup>Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Negeri Makassar

<sup>(2)</sup>Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN

Parangtambung, Jl. Dg. Tata Makassar 90222

e-mail: hartono\_biotechugm@gmail.com

**Abstract:** The influence of Red Onion (*Allium cepa* Linn.) Extract on The Growth of Probiotic Bacteria *Lactobacillus acidophilus*. The study aims to determine the influence of red onion (*Allium cepa* Linn.) extract on the growth of prebiotic bacteria *Lactobacillus acidophilus*. The study used completely randomized design (CRD) consisting of one control and three treatments, namely MRSB *lactobacilli* medium + bacteria *Lactobacillus acidophilus* as control (A0), and inulin extract with the concentration of 2500 ppm (A1), 5000 ppm (A2), and 10.000 ppm (A3). Data was collected through observation and calculation of the number of cells by using Standard Plate Count (SPC). Parameter measured were the increasing in number of *Lactobacillus achidophilus* cells on MRSA *lactobacilli* medium after obtaining nutrients from MRSB *lactobacilli* medium with various concentration. The data obtained from the observations were analyzed by using variance analysis of completely randomized design (CRD) with  $\alpha = 0.05$ . The results showed that addition of inulin into MRSB *Lactobacilli* medium in this study has a positive influence on the growth of *Lactobacillus acidophilus*. The best growth of *Lactobacillus acidophilus* is in medium with inulin concentrations of 10,000 ppm, compared with the addition of inulin at a concentration of 5000 ppm, 2500 ppm and 0 ppm (control). The higher the concentration of inulin, the higher the growth rate of bacteria *Lactobacillus acidophilus*.

**Abstrak:** Pengaruh Ekstrak Senyawa Inulin dari Bawang Merah (*Allium cepa* Linn.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Probiotik *Lactobacillus acidophilus*. Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh ekstrak inulin dari bawang merah (*Allium cepa* Linn.) terhadap pertumbuhan bakteri probiotik *Lactobacillus acidophilus*. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri atas satu kontrol dan tiga perlakuan, yaitu medium *Lactobacilli* MRSB + bakteri *Lactobacillus acidophilus* sebagai kontrol (A0), serta pemberian ekstrak inulin dengan konsentrasi 2500 ppm (A1), 5000 ppm (A2), dan 10.000 ppm (A3). Teknik pengumpulan data dilakukan melalui pengamatan dan perhitungan jumlah sel dengan menggunakan metode *Standart Plate Count* (SPC). Parameter yang diamati adalah penambahan jumlah sel *Lactobacillus acidophilus* pada medium *Lactobacilli* MRSA setelah memperoleh nutrisi dari medium *Lactobacilli* MRSB dengan berbagai konsentrasi. Data yang diperoleh dari hasil pengamatan dianalisis dengan menggunakan sidik ragam Rancangan Acak Lengkap (RAL) pada taraf kepercayaan  $\alpha = 0,05$ . Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian inulin ke dalam medium *Lactobacilli* MRSB dalam penelitian ini ternyata dapat berpengaruh positif terhadap pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus*. Pertumbuhan terbaik bakteri *Lactobacillus acidophilus* terdapat pada penambahan konsentrasi inulin 10.000 ppm dibandingkan dengan penambahan inulin dengan konsentrasi 5000 ppm, 2500 ppm dan 0 ppm (kontrol). Semakin tinggi konsentrasi inulin maka semakin tinggi tingkat pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus*.

**Kata kunci:** inulin, probiotik, *Lactobacillus acidophilus*

## A. PENDAHULUAN

Probiotik adalah pangan atau suplemen pangan yang berisi mikroba hidup yang dapat memberikan efek menguntungkan bagi saluran

pencernaan (Gibson dan Roberfroid, 1995). Menurut Guanner dan Schaafsma dalam Brady *et al.* (1998) bahwa mikroorganisme hidup tersebut

dapat memberikan efek menguntungkan bagi kesehatan jika dikonsumsi dalam jumlah yang cukup.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa probiotik cukup efektif untuk pencegahan dan pengobatan terhadap bermacam-macam kelainan gastrointestinal misalnya diare karena pemakaian antibiotika yang berlebihan, diare nosokomial, diare karena infeksi bakteri maupun virus, *traveler's diarrhea*, dan *inflammatory bowel disease* (Markowitz, 2003). Penelitian di Polandia tahun 1998-1999 menunjukkan bahwa pemberian probiotik dapat mencegah terjadinya diare nosokomial pada anak yang dirawat di rumah sakit (Szajewska dan Kotowska, 2001). Penelitian di Nebraska, Amerika Serikat tahun 1998 menunjukkan bahwa pemberian probiotik dapat mencegah terjadinya diare akibat pemakaian antibiotik (Vanderhoof dan Whitney, 1999). Selain itu beberapa studi meta analisis terhadap penelitian penggunaan probiotik terhadap diare akibat infeksi dan diare akibat antibiotik di Amerika Serikat dan Inggris menunjukkan hasil yang positif (Niel dan Feundtner, 2002).

Dewasa ini probiotik yang paling banyak digunakan diantaranya adalah *Lactobacillus casei subsp. casei Shirota strain*, *Bifidobacterium* dan *Lactobacillus acidophilus* (Duggan, 2003). Probiotik ini jika memperoleh substrat yang spesifik dapat menghasilkan bahan aktif anti tumor, memproduksi berbagai vitamin seperti *thiamin* (B1), *riboflavin* (B2), *piridoksin* (B6), *sianokobalamin* (B12), asam folat yang mudah diserap oleh tubuh. Probiotik *Lactobacillus acidophilus* juga dapat menghasilkan beberapa antibiotik seperti *acidolin*, *acidophilin* dan *lactocidin* (Havenar, 1992).

Inulin merupakan salah satu nutrisi bagi pertumbuhan bakteri probiotik karena inulin merupakan polimer dari unit-unit fruktosa yang bersifat larut dalam air, tidak dapat dicerna oleh enzim-enzim pencernaan, tetapi dapat difermentasikan oleh mikroflora kolon (usus besar) (Sudarmadji, 1989), berdasarkan sifat-sifat tersebut maka inulin dapat dikelompokkan sebagai prebiotik.

Inulin merupakan karbohidrat berupa cadangan makanan yang umum dijumpai pada tanaman dari famili Asteraceae dan Liliaceae. Dari data yang diambil dari *Food Resource, Oregon State University*, menunjukkan bahwa *Allium cepa* dari famili *Lyliaceae* yang dikenal di

Indonesia sebagai bawang merah merupakan salah satu sumber dari senyawa prebiotik. Meskipun inulin yang terkandung dalam *Allium cepa* ini hanya sekitar 2-6% dibandingkan *Helianthus tuberosus* (15-20 %) dan *Cichorium intybus* (13-20%) (Spiegel, 1994), akan tetapi bawang merah merupakan tanaman budidaya yang sangat mudah diperoleh di Indonesia, terutama sulawesi selatan yang termasuk salah satu dari 33 provinsi yang merupakan daerah potensial produksi bawang merah (Ditjen Pengolahan dan Pemasaran Hasil Pertanian, 2005).

Hasil penelitian sebelumnya di Universitas Airlangga oleh Kusumawati *et al.* (2005) menyimpulkan bahwa inulin yang diekstraksi dari bawang merah dapat meningkatkan pertumbuhan bakteri *Lactobacillus casei* sehingga keduanya dapat disebut komponen sinbiotik dan bermanfaat bagi kesehatan tubuh.

Berdasarkan latar belakang di atas, penulis tertarik untuk mengekstraksi inulin dari bawang merah (*Allium cepa*) dan menguji pengaruhnya terhadap pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus* sebagai salah-satu bakteri yang bersifat probiotik.

## B. METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen yang bertujuan untuk menguji pengaruh ekstrak inulin dari bawang merah terhadap pertumbuhan bakteri probiotik *Lactobacillus acidophilus*. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri atas satu kontrol dan 3 perlakuan. Tiap unit perlakuan terdiri dari konsentrasi inulin yang berbeda dan diulang sebanyak 3 kali. Perlakuan yang digunakan mengacu kepada pengujian langsung ekstrak inulin dari bawang merah (*Allium cepa*) pada beberapa konsentrasi terhadap pertumbuhan bakteri probiotik *Lactobacillus acidophilus*. Perlakuan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

A0 = kontrol (tidak diberikan inulin)

A1 = konsentrasi inulin 2500 ppm

A2 = konsentrasi inulin 5000 ppm

A3 = konsentrasi inulin 10.000 ppm

### 1. Ekstraksi Inulin

Menimbang umbi bawang merah (*Allium cepa*) sebanyak 2 kg, selanjutnya umbi diblender dengan penambahan air 1:2 (b/v) yaitu sekitar 4

L, kemudian dipanaskan dalam penangas air selama 30 menit dengan suhu 85°C. Setelah dingin, larutan kemudian disaring dengan menggunakan corong buchner.

Filtrat yang diperoleh ditambahkan etanol 96% sebanyak 40% dari volume filtrat. Larutan kemudian disimpan dalam freezer selama 18 jam dengan suhu 2°C. Setelah didinginkan dalam freezer, maka larutan kemudian dibiarkan pada suhu ruang selama 2 jam. Selanjutnya larutan disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 1500 rpm. Endapan yang diperoleh setelah sentrifugasi berwarna putih kecoklatan (inulin basah I).

Endapan kemudian kembali ditambahkan air dengan perbandingan 1:2 (b/v), kemudian dipanaskan selama 30 menit pada suhu 85°C lalu didinginkan pada suhu ruang. Setelah dingin larutan kemudian disaring dan diukur volumenya.

Filtrat yang diperoleh ditambahkan kembali dengan etanol 96% sebanyak 40% dari volume filtrat, kemudian didinginkan dalam freezer selama 18 jam dengan suhu 2°C. Filtrat kemudian dibiarkan pada suhu ruang selama 2 jam, setelah itu disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 1500 rpm. Endapan yang diperoleh setelah sentrifugasi berwarna putih (inulin basah II).

Endapan yang diduga sebagai inulin ini dikeringkan dalam desikator dengan suhu 50-60°C selama  $\pm 7$  jam. Setelah itu endapan ini dihaluskan hingga berbentuk bubuk. Hasil rendemen diuji dengan KLT.

## 2. Identifikasi Inulin dengan KLT

Lempeng KLT yang digunakan adalah plat silika. Senyawa yang akan diidentifikasi terlebih dahulu dilarutkan dalam aquadest kemudian ditotolkan pada lempeng KLT menggunakan pipa kapiler. Keduanya ditotolkan 0,5 cm dari dasar lempeng.

Selanjutnya lempeng KLT dimasukkan ke dalam bejana kromatografi yang sudah jenuh dengan cairan pengembang. Lempeng dibiarkan mengembang sampai batas tepi bagian atas lempeng. Lempeng kemudian dikeluarkan dari bejana dan diangin-anginkan hingga cairan pengembangnya menguap dan selanjutnya noda yang dihasilkan diamati di bawah lampu UV. Nilai Rf dinyatakan dengan rumus:

$$Rf = \frac{\text{jarak yang ditempuh oleh senyawa}}{\text{jarak yang ditempuh oleh pelarut}}$$

Hasil yang diperoleh dibandingkan dengan senyawa standar fruktosa. Jika nilai Rf isolat sama dengan atau mendekati nilai Rf senyawa standar maka dapat dinyatakan bahwa isolat yang diperoleh adalah inulin murni.

## 3. Penyiapan Larutan Stock Inulin

Konsentrasi 100.000 ppm sama dengan 10% dalam larutan, sehingga stock larutan uji yang dibuat dari rendemen yang diperoleh dari hasil ekstraksi inulin dari bawang merah (*Allium cepa*) dihasilkan dengan menimbang Sebanyak 1 g isolat kemudian dilarutkan dalam 10 ml aquadest steril.

## 4. Pembuatan Medium *Lactobacilli* MRSB yang disuplemen dengan Inulin

### a. Medium *Lactobacilli* MRSB + Inulin 2500 ppm

Memipet inulin sebanyak 0,5 ml dari stock larutan uji yang telah dibuat, kemudian dihomogenkan bersama dengan medium *Lactobacilli* MRSB sebanyak 20 ml dalam labu erlenmeyer. Medium tumbuh tersebut kemudian dibagi secara aseptis ke dalam 3 buah tabung reaksi dengan volume masing-masing sebanyak 4 ml di dalam *Laminar air flow cabinet*. Menutup tabung reaksi dengan baik menggunakan kapas dan aluminium foil kemudian mensterilkannya dalam autoklaf pada tekanan 2 atm, suhu 121°C selama 15 menit.

### b. Medium *Lactobacilli* MRSB + Inulin 5000 ppm

Memipet inulin sebanyak 1 ml dari stock larutan uji yang telah dibuat, kemudian dihomogenkan bersama dengan medium *Lactobacilli* MRSB sebanyak 20 ml dalam labu erlenmeyer. Medium tumbuh tersebut kemudian dibagi secara aseptis ke dalam 3 buah tabung reaksi dengan volume masing-masing sebanyak 4 ml di dalam *Laminar air flow cabinet*. Menutup tabung reaksi dengan baik menggunakan kapas dan aluminium foil kemudian mensterilkannya dalam autoklaf pada tekanan 2 atm, suhu 121°C selama 15 menit.

### c. Medium *Lactobacilli* MRSB + Inulin 10.000 ppm

Memipet inulin sebanyak 2 ml dari stock larutan uji yang telah dibuat, kemudian dihomogenkan bersama dengan medium

*Lactobacilli* MRSB sebanyak 20 ml dalam labu erlenmeyer. Medium tumbuh tersebut kemudian dibagi secara aseptis ke dalam 3 buah tabung reaksi dengan volume masing-masing sebanyak 4 ml di dalam *Laminar air flow cabinet*. Menutup tabung reaksi dengan baik menggunakan kapas dan aluminium foil kemudian mensterilkannya dalam autoklaf pada tekanan 2 atm, suhu 121°C selama 15 menit.

### 5. Penyiapan Suspensi Bakteri *Lactobacillus acidophilus*

Mengambil 1 mata ose dari stock bakteri yang telah dibuat pada medium *Lactobacilli* MRSA miring kemudian diinokulasikan pada medium *Lactobacilli* MRSB 10 ml, selanjutnya dinkubasi dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C.

### 6. Uji Pertumbuhan Bakteri *Lactobacillus acidophilus* Pada Medium Cair

Menyiapkan masing-masing medium *Lactobacilli* MRSB yang telah ditambahkan dengan Inulin dengan beberapa konsentrasi, medium *Lactobacilli* MRSB tanpa inulin (kontrol) dan suspensi bakteri yang telah dibuat sebelumnya. Selanjutnya, mengambil masing-masing 1 ml suspensi bakteri kemudian dimasukkan ke dalam medium *Lactobacilli* MRSB dengan konsentrasi inulin 2500, 5000, 10.000 ppm serta kontrol. Medium yang telah diinokulasi dengan bakteri *Lactobacillus acidophilus* tersebut kemudian diinkubasi dalam *Shaker Inkubator* dengan kecepatan 150 rpm selama 24 jam pada suhu 37°C.

### 7. Perhitungan Jumlah Sel

Perhitungan sel bakteri dilakukan dengan menggunakan metode *standard plate count* (SPC). Memipet masing-masing 1 ml dari kultur yang terdiri atas medium *Lactobacilli* MRSB, suspensi bakteri dan inulin dengan berbagai konsentrasi serta kontrol yang telah diinkubasi kemudian dibuat pengenceran hingga  $10^{-6}$ .

Setelah diencerkan, diambil masing-masing 0,1 ml dari pengenceran  $10^{-6}$  kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri berisi 10 ml medium *Lactobacilli* MRSA. Kultur bakteri kemudian diratakan dengan menggunakan batang gelas bengkok steril selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah

diinkubasi, jumlah koloni dihitung dengan menggunakan *colony counter*. Jumlah sel dalam sampel dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

Jumlah sel per ml atau per gram = jumlah koloni/cawan x 1/Faktor pengenceran

### 8. Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data dilakukan dengan pengamatan dan perhitungan jumlah koloni dengan menggunakan metode *Standard Plate Count* (SPC). Parameter yang diamati adalah pertambahan jumlah koloni *Lactobacillus acidophilus* pada medium *Lactobacilli* MRSA setelah memperoleh nutrisi dari medium *Lactobacilli* MRSB dengan berbagai konsentrasi.

### 9. Teknik Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil Pengamatan dianalisis dengan menggunakan sidik ragam rancangan acak lengkap (RAL) pada taraf kepercayaan  $\alpha = 0,05$  dan jika dalam pengujian tersebut berpengaruh nyata, maka pengujian dilanjutkan dengan uji beda nyata (BNT).

## C. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian yang disajikan pada tabel 1 menunjukkan bahwa bawang merah yang diekstraksi menggunakan pelarut campuran antara etanol dan air dihasilkan randemen sebanyak 19 g (bb) pada tahap I kemudian setelah ekstraksi tahap ke-II randemen yang diperoleh adalah sebanyak 10,25 g (bb). Setelah dikeringkan dalam desikator dan digerus hingga halus, ekstrak yang diduga inulin tersebut yang diperoleh hanya sebanyak 6,8 g (bk).

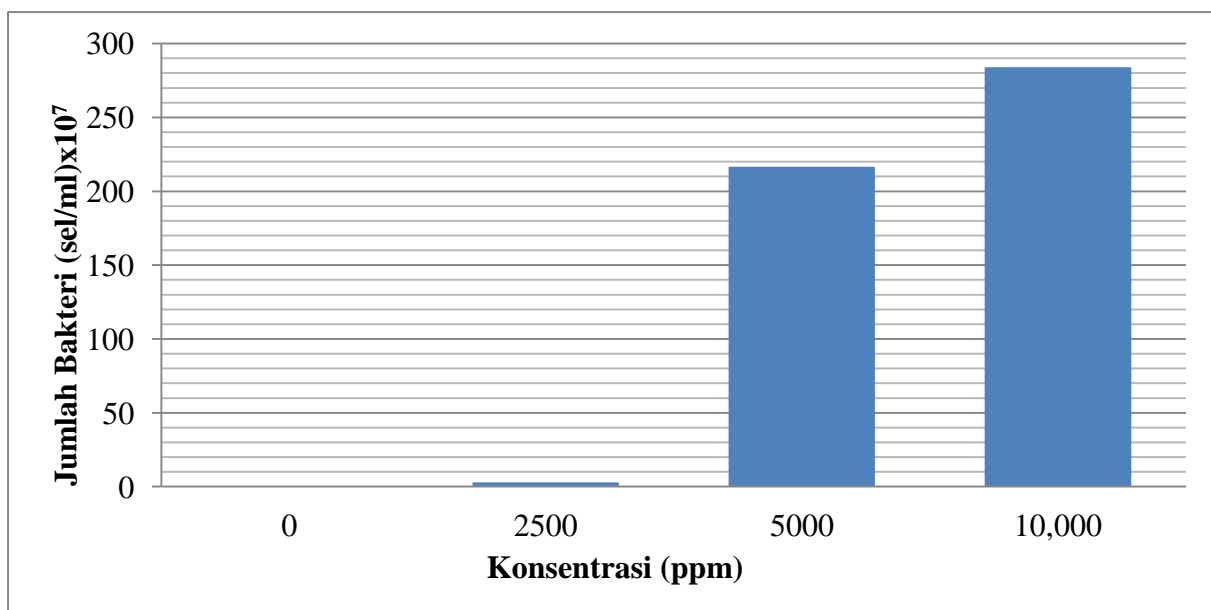
Selanjutnya ekstrak yang diduga inulin ini diidentifikasi dengan uji kualitatif kromatografi lapis tipis, namun, hasilnya tidak begitu memuaskan karena minimnya pengetahuan tentang eluen yang tepat dalam proses kromatografi lapis tipis tersebut sehingga baik nilai  $R_f$  sampel (ekstrak yang diduga inulin) maupun senyawa standar (fruktosa) yang diperoleh adalah 0 karena eluen (fase gerak) yang seharusnya membawa noda dari kedua senyawa yang ditotolkan tidak mampu membawa kedua senyawa tersebut. Oleh karena itu identifikasi kemudian dilakukan dengan uji organoleptik seperti yang dilakukan oleh peneliti sebelumnya (Kusumawati *et al.*, 2005).

**Tabel 1. Karakteristik Ekstrak Inulin dari Bawang Merah (*Allium cepa* Linn.) Berdasarkan Hasil dari Beberapa Jenis Uji yang Dilakukan**

Jenis prebiotik	Berat randemen (gram bb)		Berat akhir (gram bk)	Hasil Identifikasi
	Ekstraksi I	Ekstraksi II		
Inulin	19	10,25	6,8	Serbuk putih, sedikit berbau bawang, larut dalam air (polar), tidak menunjukkan perubahan warna setelah diberikan larutan yodium.

**Tabel 2. Jumlah Bakteri *Lactobacillus acidophilus* (sel/ml) yang Tumbuh pada Medium *Lactobacilli* MRS yang Disuplementasi dengan Inulin pada Berbagai Konsentrasi yang Berbeda**

Konsentrasi (ppm)	Jumlah bakteri (sel/ml)			Rata-Rata
	I	II	III	
0 (kontrol)	$0,31 \times 10^7$	$0,31 \times 10^7$	$0,46 \times 10^7$	$0,36 \times 10^7$
2500	$7,6 \times 10^7$	$0,47 \times 10^7$	$0,57 \times 10^7$	$2,88 \times 10^7$
5000	$163 \times 10^7$	$196 \times 10^7$	$291 \times 10^7$	$216,7 \times 10^7$
10.000	$298 \times 10^7$	$294 \times 10^7$	$260 \times 10^7$	$284 \times 10^7$



**Gambar 1. Pertumbuhan Bakteri *Lactobacillus acidophilus* Setelah Disuplementasi dengan Inulin pada Berbagai Konsentrasi yang Berbeda.**



Hasil dari penelitian tersebut menyebutkan bahwa endapan isolat berwarna putih dan tidak berbau. Selain itu, ekstrak tersebut tidak menunjukkan perubahan warna setelah ditambahkan dengan larutan yodium.

Hal ini sesuai dengan hasil uji organoleptik yang dilakukan dalam penelitian ini, yakni endapan yang diperoleh juga berwarna putih, sedangkan bau dari ekstrak tersebut sedikit berbau bawang merah. Namun, setelah dikeringkan dalam desikator dan dipresipitasi dalam oven pada suhu 80°C selama 2 jam, ekstrak yang diduga inulin tersebut hampir tidak berbau bawang merah lagi. Ekstrak ini juga tidak menunjukkan perubahan warna setelah ditambah dengan larutan yodium. Selain uji organoleptik, juga dilakukan uji kelarutan dan dapat diketahui bahwa ekstrak yang diduga inulin ini larut dalam air. Kemampuan larut ini sesuai dengan sifat fungsional inulin sebagai serat makanan dapat larut (*soluble dietary fiber*) namun tidak dapat dicerna oleh enzim-enzim dalam sistem pencernaan mamalia sehingga mencapai usus tanpa mengalami perubahan struktur.

Setelah dilakukan identifikasi, ekstrak ini kemudian digunakan sebagai suplemen yang diharapkan dapat berperan sebagai prebiotik dalam pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus*. Pertumbuhan bakteri diukur dengan pertambahan jumlah koloni pada medium selektif *Lactobacilli* MRSA yang sebelumnya ditumbuhkan pada medium cair dan telah

disuplementasi dengan ekstrak inulin tersebut dengan beberapa konsentrasi yang berbeda sehingga diperoleh pertumbuhan yang optimal seperti yang disajikan pada Tabel 2 dan Gambar 1.

Dari hasil pengamatan, koloni bakteri yang tumbuh memiliki ukuran kecil, berwarna putih susu, berbentuk sirkular dengan permukaan yang halus dan mengkilap serta memiliki tepi yang rata. Karakteristik koloni tersebut menunjukkan bahwa koloni yang tumbuh adalah koloni dari bakteri *Lactobacillus acidophilus*.

Berdasarkan hasil perhitungan sel yang tumbuh pada cawan dari masing-masing pengenceran, jumlah sel bakteri yang tumbuh terdapat pada medium dengan konsentrasi inulin 2500 ppm, 5000 ppm dan 10.000 ppm lebih banyak dibandingkan koloni yang tumbuh pada medium dengan konsentrasi inulin 0 ppm (kontrol).

Data pertumbuhan yang diperoleh dalam penelitian ini, sejalan dengan data yang diperoleh dari penelitian Kusumawati *et al.* (2005). Jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada medium dengan penambahan inulin dengan konsentrasi 2500 ppm, 5000 ppm dan 10.000 ppm juga dilaporkan lebih banyak dibanding jumlah sel bakteri yang tumbuh pada medium dengan konsentrasi inulin 0 ppm (kontrol). Perbedaan Jumlah koloni dari masing-masing penambahan inulin dengan konsentrasi yang berbeda dalam penelitian tersebut dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3. Jumlah Koloni bakteri *Lactobacillus casei* yang Tumbuh pada Medium Padat Setelah Inkubasi 24 Jam pada suhu 37°C (Kusumawati *et al.*, 2005)**

Kontrol	Kel I	Kel II	Kel III
12	59	37	23
9	70	41	30
10	64	50	19
13	51	30	20
10	67	57	23
12	73	43	17

*Keterangan* : Kontrol = Media cair + suspensi bakteri  
 Kel I = Media cair + suspensi bakteri + larutan Inulin 10.000 ppm.  
 Kel II = Media cair + suspensi bakteri + larutan Inulin 5000 ppm  
 Kel III = Media cair + suspensi bakteri + larutan Inulin 2500 ppm





Dari data-data tersebut, kita dapat mengetahui bahwa ekstrak inulin yang diperoleh dari serangkaian proses ekstraksi sebelumnya dapat dikatakan sebagai prebiotik karena dapat menjadi nutrisi dan meningkatkan pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus* tersebut pada medium *Lactobacilli* MRSB dengan melihat jumlah sel dan koloni yang tumbuh pada medium *Lactobacilli* MRSA. Hal tersebut sesuai dengan syarat-syarat utama yang dikemukakan oleh Sudarmo (2003) bahwa suatu prebiotik merupakan substrat yang selektif untuk satu atau sejumlah mikroflora komensal yang menguntungkan dalam kolon sehingga memicu pertumbuhan mikroflora tersebut serta aktif dalam bermetabolisme.

Substrat tersebut yang dalam hal ini adalah inulin digunakan sebagai sumber energi melalui proses fermentasi. Fermentasi dilakukan oleh bakteri yang berespirasi secara anaerob. Bakteri *Lactobacillus acidophilus* merupakan bakteri yang berespirasi secara anaerob fakultatif, oleh karena itu bakteri tersebut melakukan proses fermentasi untuk memperoleh energi. Dalam fermentasi inulin tersebut, terjadi perubahan suatu molekul tanpa oksidasi sama sekali, ada bagian dari molekul inulin yang kehilangan atom-atom H sedangkan bagian yang lain dari molekul inulin tersebut mendapat tambahan atom-atom H. Dalam penelitian ini, tidak dilakukan uji untuk memastikan susunan gulanya sehingga proses fermentasi yang dapat digambarkan adalah sebagai berikut :



Hasil fermentasi tersebut diperoleh sejumlah energi dan asam laktat (asam susu) sebagai produk sampingannya. Energi tersebut digunakan untuk beraktifitas oleh bakteri sedangkan asam laktat yang dihasilkan dalam konsentrasi tertentu tidak berpengaruh negatif terhadap pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus*, karena bakteri tersebut merupakan bakteri yang toleran terhadap asam dimana pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* terbaik pada konsentrasi 0,6 – 0,7%. Jika akumulasi asam laktat masih terdisosiasi dalam rentang konsentrasi tersebut maka penghambatan asam laktat terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus* itu sendiri dalam pertumbuhannya tidak akan terjadi. Terlepas dari itu, menurut Vijay K

(2005), asam laktat ini dapat mencegah pertumbuhan bakteri patogen dalam saluran pencernaan manusia dan hewan. Oleh karena itu, prebiotik inulin ini mampu merubah mikroflora kolon menjadi komposisi yang menguntungkan. Keberadaan asam laktat tersebut dalam kultur yang telah disuplementasi dengan inulin dapat dilihat melalui perubahan pH yang terjadi antara sebelum dan sesudah inkubasi yang ditunjukkan pada Tabel 4.

**Tabel 4. Kondisi pH Kultur Sebelum dan Sesudah Inkubasi 24 Jam pada Suhu 37°C dengan Rotasi 150 rpm.**

Konsentrasi (ppm)	pH kultur sebelum dan sesudah inkubasi 24 jam, suhu 37°C, 150 rpm	
	Sebelum	Sesudah
0 (kontrol)	6	6
2500	6	5
5000	6	5
10.000	6	5

Pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus* dalam penelitian ini juga ditandai dengan adanya kekeruhan pada medium cair yang telah disuplementasi dengan ekstrak inulin. Berdasarkan Tabel 5, dapat diketahui bahwa tingkat kekeruhan paling tinggi terdapat pada kultur dengan penambahan inulin 10.000 ppm dan 5000 ppm dibandingkan kultur dengan penambahan inulin 2500 ppm dan 0 ppm (kontrol).

Tingkat kekeruhan yang berbeda seperti yang ditunjukkan pada Tabel 5 tersebut, menunjukkan bahwa laju pertumbuhan sel bakteri serta aktifitas metabolisme yang berbeda pula. Diperkirakan waktu inkubasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah waktu dimana pertumbuhan sel bakteri *Lactobacillus acidophilus* berada pada fase logaritmik atau fase eksponensial dimana pada fase ini sel mengalami pembelahan dengan cepat disertai dengan aktifitas metabolisme paling aktif.

Bakteri sebaiknya diisolasi dari fase tersebut agar diperoleh pertumbuhan koloni bakteri pada medium *Lactobacilli* MRSA yang optimal serta dapat merupakan jumlah yang



**Tabel 5. Tingkat Kekeuhan Kultur yang Telah Disuplementasi Inulin dengan Berbagai Konsentrasi Sebelum dan Sesudah Inkubasi 24 Jam pada Suhu 37°C dengan Rotasi 150 rpm.**

Konsentrasi (ppm)	Tingkat kekeuhan kultur sebelum dan sesudah inkubasi 24 jam, suhu 37°C, 150 rpm	
	Sebelum	Sesudah
0 (kontrol)	-	+
2500	-	++
5000	-	+++
10.000	-	+++

*Keterangan:* - = jernih  
+ = sedikit keruh  
+ = keruh  
++ = keruh sedang  
+++ = sangat keruh

representatif dari keseluruhan bakteri yang tumbuh setelah disuplementasi dengan inulin dengan beberapa konsentrasi yang berbeda pada medium *Lactobacilli* MRSB sebelumnya.

Dari hasil analisis statistik menunjukkan bahwa jumlah sel bakteri yang tumbuh pada kultur dengan konsentrasi inulin 10.000 ppm dan 5000 ppm pada taraf 5 % dengan nilai BNT = 65,91 berbeda nyata dengan jumlah sel yang tumbuh pada kultur dengan konsentrasi ekstrak inulin 2500 ppm. Sedangkan kultur dengan konsentrasi 2500 ppm ini tidak berbeda nyata dengan jumlah sel bakteri yang tumbuh pada kultur tanpa penambahan inulin (kontrol).

Hasil analisis statistik tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi terbaik dari

ekstrak inulin untuk pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus* terdapat pada konsentrasi 10.000 ppm. Hasil ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak inulin maka semakin berpengaruh positif terhadap peningkatan pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus*.

Dalam kaitan pemanfaatannya sebagai *soluble dietary fiber* dalam tubuh mamalia, prebiotik inulin diketahui secara fisik dapat larut dalam air namun tidak dapat dicerna oleh enzim-enzim pencernaan (*non digestible*) sehingga akan sampai ke usus secara utuh dan difermentasi oleh mikroflora spesifik. Dengan demikian, semakin banyak jumlah inulin yang dalam hal ini merupakan prebiotik yang disuplementasikan ke dalam medium cair, maka semakin besar pula jumlah sel yang tumbuh dalam medium cair tersebut. Ini disebabkan karena semakin banyaknya jumlah substrat yang tersedia untuk proses fermentasi yang menghasilkan energi yang akan dimanfaatkan oleh bakteri uji dalam aktifitas pertumbuhannya.

Jumlah substrat juga merupakan faktor yang mempengaruhi laju pertumbuhan bakteri karena substrat yang spesifik tersebut akan menjadi sumber energi bagi bakteri. Hal ini sesuai dengan hal yang dikemukakan oleh Guanner dan Schaafsma dalam Brady *et al.* (1998) bahwa mikroorganisme hidup tersebut (probiotik) dapat memberikan efek menguntungkan bagi kesehatan jika dikonsumsi dalam jumlah yang cukup. Kecukupan jumlah ini juga berlaku bagi prebiotik yang digunakan karena semakin banyak prebiotik yang tersedia maka semakin banyak energi yang diperoleh oleh bakteri untuk dimanfaatkan dalam proses pertumbuhannya.

**Tabel 6. Hasil Analisis Sidik Ragam Pengaruh Inulin Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Lactobacillus acidophilus***

SK	DB	JK	KT	F. Hitung	F. Tabel
Inulin	3	192.390,18	64.130,06	52,68*	4,07
Galat	8	9.738,12	1.217,12		
	11	202.128,3			

*Keterangan:* *kk* = 27,71%  
\* = nyata (signifikan) pada taraf 5%

**Tabel 7. Hasil Uji BNT dari Pengaruh Inulin Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Lactobacillus acidophilus* (Menurut RAL dalam Bagan Huruf)**

Konsentrasi Inulin (ppm)	Rerata sel bakteri (sel/ml)	BNT 0,05= 65,91
0 (kontrol)	0,36 x10 <sup>7</sup>	( 0,36 x10 <sup>7</sup> ) <sup>a</sup>
2500	2,88 x10 <sup>7</sup>	( 2,88 x10 <sup>7</sup> ) <sup>ab</sup>
5000	216 x10 <sup>7</sup>	( 216 x10 <sup>7</sup> ) <sup>c</sup>
10.000	284 x10 <sup>7</sup>	( 284 x10 <sup>7</sup> ) <sup>d</sup>

*Keterangan:* Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama berarti tidak berbeda nyata pada taraf 5%.

#### D. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, penulis menyimpulkan sebagai berikut:

1. Inulin yang diperoleh dari hasil ekstraksi bawang merah (*Allium cepa*) berdasarkan uji organoleptik berwarna putih dalam bentuk serbuk dan hampir tidak berbau. Inulin tersebut dapat larut dalam air serta tidak menunjukkan perubahan warna setelah ditambahkan larutan yodium. Selain uji organoleptik juga dilakukan analisis kualitatif yaitu kromatografi lapis tipis. Namun, eluen yang digunakan tidak tepat sebagai fase gerak baik bagi senyawa standar (fruktosa) maupun

sampel (inulin) sehingga nilai rf untuk kedua senyawa tersebut adalah 0.

2. Pemberian inulin ke dalam medium *Lactobacilli* MRSB dalam penelitian ini ternyata dapat berpengaruh positif terhadap pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus*. Pertumbuhan terbaik bakteri *Lactobacillus acidophilus* terdapat pada penambahan konsentrasi inulin 10.000 ppm dibandingkan dengan penambahan inulin dengan konsentrasi 5000 ppm, 2500 ppm dan 0 ppm (kontrol). Jadi, semakin tinggi konsentrasi inulin maka semakin tinggi tingkat pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus*.

#### E. DAFTAR PUSTAKA

- Brady, L.J., Gallher, DD., and Busta, FF. The Role Of Probiotic Cultures in The prevention of The Colon Cancer. J. Nutrition. 2000.
- Duggan, C., Walker WA, and Watkins JB. Nutrition In Pediatrics. 3rd Edn; London: BC Decker, 2003.
- Fuller, R. and Gabriella Perdigon, Probiotik 3: Immunomodulation By Gut Microflora And Probiotics. 3rd Edn; Germany: Springer, 2000.
- Gibson and Roberfroid, Dietary modulation of the human colonic microbiota: introduction the concept of prebiotics. J Nutrition. 1995.
- Havenar, R. Selection of Strain for Probiotic Use. USA: Keats Publishing, 1992.
- K, Vijay. Probiotics In Food Safety And Human Health. USA: CRC Press, 2005.
- Kusumawati, *et al.* Pengaruh Senyawa Prebiotik Dari Bawang Merah (*Allium cepa*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Probiotik. Vol. 5. No. 1. Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. 2005.
- Markowitz, JE. Probiotics in Health and Disease in the Pediatric patient. *Pediatr Clin North Am.* 2003
- Spiegel, JE. Safety and Benefits of Fructooligosaccharida as Food Ingredients. *J. Food Technology.* 1994.
- Sudarmo, S.M. Peranan Prebiotik dalam Upaya Pencegahan dan Pengobatan Diare pada Anak : Dalam Kongres BKGAI. Bandung, 2003.
- Sudarmadji, Analisis Bahan Makanan dan Pertanian. Yogyakarta: Liberty, 1989.
- Szajewska, H., M Kotowska. Efficacy of *Lactobacillus GG* in Prevention of Nosocomial Diarrhea in Infants. *J. Pediatr.* 2001.
- Vanderhoof, JA., DB. Whitney. *Lactobacillus GG* in the Prevention of Antibiotic Assosiated Diarrhea in Children. *J. Pediatr.* 1999.
- W.C., Frazier and Westhoff. D.C., *Food Microbiology* 4th Edn. Bombay.India: McGraw- Hill Book Co., 1988.