

SINBIOTIK ANTARA EKSTRAKS INULIN DARI BAWANG MERAH (*Allium cepa*) DENGAN *Lactobacillus casei* strain BIO 251 DAN UJI BIOAKTIVITASNYA TERHADAP BAKTERI PENYEBAB DIARE

Nunung Kurniasih

Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri
Sunan Gunung Djati, Bandung

Abstract

Inulin is prebiotic polymers mainly comprising of fructose units in which are bonded by a $\beta(2-1)$ glycosidic link and typically have a terminal glucose. Inulin can be extracted from natural source. At this research, inulin's extraction from dahlia root produces yield of inulin 3.99% and onion (*Allium cepa*) with yield of inulin 0.2%. Extract of inulin from dahlia roots has 3.9% reduce sugar, 7.0% cold water solubility, 1:1.4 water binding capacity and result of TLC analysis shows retention time R_f 0.50. Extract of inulin from onion has 2.5% reduce sugar, 10.5% cold water solubility, 1:1.1 water binding capacity and result of TLC analysis shows R_f 0.49. Extract of inulin at concentration 437.8 ppm both inulin from dahlia root and onion are able to influence *Lactobacillus casei* strain Bio 251 there are 52.6% and 48.1%. Synbiotic that containing extract of inulin, both inulin from dahlia root and from onion with minimum concentration 434.8 ppm can be inhibited *Salmonella typhi* that is one of bacteria causes diarrhea which values 94.6% and 91.4%, respectively.

Keywords : inulin, *Lactobacillus casei*, prebiotic, probiotic.

1 Pendahuluan

Konsep pangan fungsional lahir seiring dengan makin meningkatnya kesadaran masyarakat akan pentingnya hidup sehat, dimana tuntutan konsumen terhadap bahan pangan bukan saja yang mempunyai komposisi gizi yang baik serta penampakan dan cita rasa yang menarik, tetapi juga harus memiliki fungsi fisiologis tertentu bagi tubuh (Wijaya, 2002). Salah satu pangan fungsional adalah makanan yang mengandung probiotik yaitu mikroba hidup yang bila dikonsumsi akan menimbulkan efek terapeutik pada tubuh dengan cara memperbaiki keseimbangan

mikroflora dalam saluran pencernaan (Fuller, 1989). Sebagai komponen makanan yang mengandung mikroba hidup, probiotik memberikan berbagai manfaat klinis, salah satunya adalah untuk terapi dan pencegahan diare (Rolfe, 2000). Bakteri patogen penyebab diare di Indonesia menurut Tjaniadi dkk. (2003) paling banyak adalah *Vibrio cholerae* O1 (37,1%), diikuti *Shigella* spp. (27,3%), *Salmonella* spp. (17,7%), *V. parahaemolyticus* (7,3%), *Salmonella typhi* (3,9%), *Campylobacter jejuni* (3,6%), *V. cholerae* non-O1 (2,4%), dan *Salmonella paratyphi* A (0,7%). Bakteri yang sering digunakan dalam penelitian tentang penggunaan probiotik pada diare

adalah *Lactobacilli* dan *Bifidobacteria* (Isolauri, 2001).

Penggunaan probiotik sebagai pangan fungsional memiliki beberapa kendala antara lain kemampuan bertahan hidup, dan kolonisasi serta kompetisi nutrisi untuk masuk ke dalam satu lingkungan ekosistem yang sudah mengandung beberapa ratus jenis spesies bakteri lainnya. Bouhink dan Pochart (1992) menunjukkan bahwa bila bahan yang dibutuhkan probiotik tidak lagi dimakan, maka bakteri yang ditambahkan itu dengan cepat akan mengalami *wash-out*. Dengan demikian, maka pendekatan lain yang dapat mengatasi keterbatasan pemakaian probiotik adalah dengan penggunaan prebiotik.

Prebiotik adalah komponen pangan yang tidak dapat dihidrolisis oleh enzim-enzim pencernaan manusia namun komponen ini dapat menguntungkan tubuh dengan cara menstimulasi pertumbuhan atau aktivitas sejumlah bakteri misalnya bakteri asam laktat (BAL), *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Bacteroides*, dan *Eubacterium* di dalam usus besar yang pada akhirnya dapat meningkatkan kesehatan tubuh (Gibson dan Roberfroid, 1995). Bahan makanan yang memenuhi kriteria prebiotik adalah dari golongan oligosakarida yang tidak dapat dicerna (*non-digestible oligosaccharide* atau NDO), salah satu diantaranya adalah fruktooligosakarida (FOS). FOS terdiri dari oligofruktosa (OF) yang memiliki derajat polimerisasi (DP) kurang dari 9 (rata-rata 4 atau 8) dan inulin dengan DP sampai dengan 60 (rata-rata 12) (Gibson dan Roberfroid, 1995).

Inulin yang terdapat di alam dapat ditemukan pada tanaman dari famili mono- dan dikotil seperti *Liliceae*, *Amaryllidaceae*, *Gramineae* dan *Compositae* (Kaur dan Gupta, 2002). Sumber inulin dari tanaman famili

Compositae antara lain umbi chicory (41,6%), Jerusalem artichoke (18,0%), globe artichoke (4,4%), dandelion (13,5%) dan dahlia (60%) (Gibson dan Roberfroid, 1995). Sumber inulin dari tanaman *Liliceae* adalah bawang merah (18,3%), bawang putih (12,5%) dan daun bawang (6,5%) (Tungland, 2000).

Inulin termasuk salah satu fruktooligosakarida (FOS) dapat dianalisis dengan teknik kromatografi (KCKT, KG-SM, KLT), teknik spektrometri (FT-IR), dan metode AOAC (Swennen dkk. 2006).

Penggunaan probiotik dan prebiotik dalam diet dapat mempertahankan homeostatis kolonisasi mikroflora normal pada usus manusia. Tetapi gabungan keduanya yang disebut sinbiotik memiliki keuntungan yaitu dapat meningkatkan daya tahan hidup bakteri probiotik karena substrat yang spesifik telah tersedia untuk fermentasi sehingga tubuh mendapat manfaat yang lebih sempurna dari kombinasi ini (Collin dan Gibson, 1999).

Dalam penelitian ini inulin diekstraksi dari umbi dahlia dan bawang merah, kemudian dikarakterisasi dan dibandingkan hasilnya. Ekstrak inulin di uji pengaruhnya terhadap pertumbuhan bakteri probiotik *Lactobacillus casei strain BIO 251* serta bioaktivitasnya sebagai sinbiotik terhadap bakteri penyebab diare.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan alternatif pengobatan diare yang disebabkan oleh bakteri melalui penggunaan prebiotik dan probiotik (sinbiotik).

2 Bahan dan Metode

Bahan - bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain bawang merah

(*Allium cepa*) yang diperoleh dari pasar di Surabaya, umbi dahlia (*Dahlia pinnata*) dari Cihideung Bandung, *Lactobacillus casei* strain BIO 251 dari laboratorium mikrobiologi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Airlangga, *Salmonella thypi* dari laboratorium Salmonella Tropical Disease Center (TDC) Universitas Airlangga, etanol 30%, air distilasi, media de Man Rogosa Sharpe (MRS) broth, media Muller Hinton broth dan agar, fruktosa, glukosa, sukrosa, larutan antron, larutan Benedict, larutan iodine, larutan asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS), eluen (n-butanol, etanol, air).

Ekstraksi Inulin dari Umbi Dahlia (*Dahlia pinnata*) dan Bawang Merah (*Allium cepa*)

Setelah dibersihkan, dicuci dan dikupas, umbi dahlia atau bawang merah dipotong dan diblender dengan penambahan air 1:2 (b:v). Lalu dipanaskan pada penangas air (80-90°C, ± 30 menit). Setelah dingin, disaring dan diambil filtratnya. Selanjutnya ditambahkan etanol 30% sebanyak 40% dari volume filtrat. Larutan kemudian disimpan di dalam freezer (± -10°C) selama 18 jam. Larutan dibiarkan pada suhu ruang (± 2 jam) lalu disentrifugasi (1500 rpm, 15 menit). Endapan (inulin basah I) ditambahi air (1:2) kemudian dipanaskan di penangas air (70°C, 30 menit). Larutan disaring, diukur volumenya, dan didinginkan pada suhu ruang. Kemudian ditambahkan etanol 30% sebanyak 40% dari volume larutan, lalu didinginkan di dalam freezer selama 18 jam. Setelah pendinginan tahap II ini, larutan dikeluarkan dari freezer dan dicairkan pada suhu ruang kemudian disentrifugasi (1500 rpm, 15 menit) sampai diperoleh endapan putih (inulin basah II). Endapan ini dikeringkan (50-60°C, 6-7 jam) lalu dihaluskan (Widowati dkk., 2005).

Karakterisasi Ekstrak Inulin dari Umbi Dahlia (*Dahlia pinnata*) dan Bawang Merah (*Allium cepa*)

Ekstrak inulin dari umbi dahlia dan bawang merah yang diperoleh kemudian diuji titik leleh dan dianalisis adanya sakarida dengan uji antron, Benedict dan iodine (Winarno, 2002).

Analisis adanya inulin dilakukan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). Eluen yang digunakan adalah n-butanol:etanol:air (5:3:2 v/v), hasilnya dibandingkan dengan hasil KLT dari glukosa, fruktosa dan sukrosa (Reiffova dan Nemcova, 2006).

Kadar gula bebas diukur dengan metode DNS (Widowati dkk., 2005). Kelarutan. Estrak inulin bawang merah dilarutkan dalam aquades 1:10 (b/v) secara bertahap dan diaduk. Campuran dibiarkan selama beberapa menit kemudian disaring sampai filtrat terlihat jernih. Filtrat dimasukkan ke cawan yang telah diketahui beratnya kemudian dikeringkan di oven pada suhu 100°C. Setelah kering, didinginkan dan ditimbang sampai berat tetap (Widowati dkk., 2005).

Daya serap air. Ekstrak inulin ditambah aquades 1:10 (b/v) dan diaduk selama 30 detik. Dibiarkan 30 menit pada suhu kamar dan kemudian disentrifugasi selama 30 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Supernatan yang diperoleh dikeringkan dan ditimbang (Widowati dkk., 2005).

Pembuatan Starter *Lactobacillus casei* strain BIO 251

Satu jarum ose dari biakan bakteri *Lactobacillus casei* strain BIO 251 dinokulasikan pada 10 mL media MRS broth yang telah disterilkan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Biakan ini diinkubasi pada suhu 35-37°C. Setelah 17 jam dipanen dan dihitung jumlah koloni

selnya, starter ini digunakan sebagai salah satu komponen sinbiotik.

Uji Pengaruh Ekstrak Inulin Terhadap Pertumbuhan *Lactobacillus casei* strain BIO 251 dan Pembuatan Kultur Sinbiotik

Ekstrak yang mengandung inulin dari umbi dahlia dan bawang merah diujikan pengaruhnya terhadap pertumbuhan *Lactobacillus casei* strain BIO 251. Kultur yang dihasilkan dalam uji ini disebut sinbiotik kemudian digunakan untuk uji bioaktivitas.

Ekstrak inulin baik dari umbi dahlia maupun bawang merah dilarutkan dalam aquades dengan pemanasan, kemudian larutan tersebut diencerkan sampai diperoleh larutan sampel dengan konsentrasi 10000 ppm, 5000 ppm, 2500 ppm, 1250 ppm dan 625 ppm. Kedalam media MRS broth tanpa glukosa ditambah 10 % larutan ekstrak inulin dari umbi dahlia atau bawang merah dan *Lactobacillus casei* strain BIO 251 kemudian diinkubasi pada suhu 35-37°C. Diukur absorbansi pada panjang gelombang 434 nm serta dihitung jumlah koloninya dengan metode *counting plate*. Setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali.

Biomassa dipanen pada saat fase log kemudian disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 30 menit. Supernatan kemudian difilter agar diperoleh supernatan yang bebas sel kultur *Lactobacillus casei* strain BIO 251 (Sgouras, D dkk., 2003).

Uji Bioaktivitas Sinbiotik

Uji bioaktivitas dilakukan di laboratorium Salmonella Tropical Disease Center (TDC) Universitas Airlangga dengan metode *Drops* untuk mengetahui kadar ekstrak inulin terkecil yang dapat menghambat pertumbuhan *Salmonella thypi*. Dengan menggunakan mikropipet diambil 1 mL sampel

sinbiotik yang mengandung ekstrak inulin dengan konsentrasi 10000 ppm, 5000 ppm, 2500 ppm, 1250 ppm dan 625 ppm serta bakteri *Lactobacillus casei* strain BIO 251, lalu dicampur dengan 1 mL suspensi bakteri *Salmonella thypi* (10^5 CFU/mL dalam media cair/Mueller Hinton broth). Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Untuk menentukan MIC, tabung reaksi yang berisi sampel dan suspensi bakteri *Salmonella thypi* diambil sebanyak 50 µL dengan mikropipet dan disubkulturkan pada media padat (Mueller Hinton agar) dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Jumlah bakteri *Salmonella thypi* yang ada dihitung dan jumlahnya disesuaikan dengan volume asal serta dinyatakan dalam CFU/mL.

Analisis Varian

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan *Anova Completely Randomized Design* (Anova CRD) / *Anova One Way* pada tingkat kepercayaan 95%. Dari hasil perhitungan, apabila didapatkan F hitung lebih besar dari F tabel atau signifikansi kurang dari 0,05 maka menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan. Perhitungan dilanjutkan dengan uji *Honestly Significant Difference* (HSD) untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan efek antar pasangan kelompok perlakuan (Gaspersz, 1995).

3 Hasil dan Pembahasan

Ekstrak inulin kering yang dihasilkan dihitung rendemennya dan kemudian dikarakterisasi. Penghitungan rendemen dilakukan berdasarkan bobot inulin yang diperoleh dari 100 gram umbi segar dan berat kering umbi. Dari setiap 100 gram umbi dahlia segar diperoleh ekstrak inulin sebanyak 3,99 gram (rendemen = 3,99%), sedangkan dari setiap 100 gram

bawang merah segar diperoleh ekstrak inulin sebanyak 0,20 gram (randemen = 0,20%).

Identifikasi Keberadaan Inulin dalam Ekstrak

Ekstrak inulin baik dari umbi dahlia maupun bawang merah yang telah kering berbentuk serbuk, berwarna putih dan tidak berbau. Uji titik leleh menunjukkan kedua ekstrak inulin ini meleleh pada suhu 176°C. Inulin standar yang diperoleh dari umbi chicory memiliki titik leleh 178°C (Tungland, 2000).

Keberadaan karbohidrat yang berupa inulin dalam ekstrak diuji dengan uji antron, Benedict dan iodine. Hasil uji antron menghasilkan perubahan warna (hijau) yang menunjukkan adanya karbohidrat, tidak terjadi perubahan warna pada uji Benedict dan iodine menunjukkan sampel tidak memiliki gula reduksi dan bukan pati. Inulin merupakan oligosakarida bukan pati dan tidak memiliki gula reduksi karena seperti

Tabel 1 Perbandingan Nilai R_f dari Glukosa, Fruktosa, Sukrosa, Ekstrak Inulin Umbi Dahlia dan Ekstrak Inulin Bawang Merah

	Glukosa	Fruktosa	Sukrosa	Ekstrak Inulin Umbi Dahlia	Ekstrak Inulin Bawang Merah
Nilai R_f	0,52	0,51	0,47	0,50	0,49

Kadar Gula Bebas

Menurut Franck dan De Leenheer (Widowati dkk., 2005) inulin yang diekstrak dari umbi segar (*native inulin*) selalu mengandung glukosa, fruktosa, sukrosa, dan sedikit oligosakarida. Oleh karena itu, keberadaan komponen ini di dalam inulin umbi dahlia dan bawang merah tidak dapat dihindari. Perbandingan kadar gula bebas inulin hasil ekstraksi dari umbi chicory, dahlia

sukrosa inulin tidak mempunyai gugus OH bebas yang reaktif.

Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Hasil ekstraksi inulin dari umbi dahlia dan bawang merah selanjutnya diuji dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dengan eluen n-butanol-etanol-air (5:3:2 v/v). Uji KLT ini dilakukan untuk mengetahui adanya kandungan senyawa oligofruktosa dalam ekstrak tersebut (Reiffova dan Nemcova, 2006). Penampakan noda KLT dilihat dibawah sinar UV pada panjang gelombang 370 nm. Noda yang dihasilkan dibandingkan dengan hasil KLT glukosa, fruktosa dan sukrosa, hasilnya dapat dilihat pada Tabel 1. Noda ekstrak inulin dari umbi dahlia dan bawang merah tampak berwarna ungu dengan nilai R_f masing-masing 0,50 dan 0,49. Nilai R_f ini mendekati nilai R_f fruktosa, hal ini menunjukkan bahwa monomer pembentuk inulin sebagian besar adalah fruktosa.

dan bawang merah dapat dilihat pada Tabel 2. Pada inulin komersial yang berasal dari tanaman chicory, terdapat gula-gula bebas total maksimal 10% (Tungland, 2000). Hasil analisis menunjukkan gula bebas total inulin dahlia adalah 3,9% sedangkan inulin bawang merah adalah 2,5%. Ini berarti kadar gula bebas inulin dahlia dan bawang merah masih jauh di bawah kadar gula total inulin komersial.

Kelarutan dan Daya Serap Air

Kelarutan dan daya serap air merupakan karakteristik inulin yang cukup penting. Inulin membantu mengikat air, mengentalkan, meningkatkan *mouthfeel* berbagai produk makanan (Tungland, 2000). Dalam kaitan pemanfaatannya sebagai bahan prebiotik, inulin berperan dalam mempertahankan air di dalam lambung (Tungland, 2000). Perbandingan kelarutan inulin dalam air dingin (pada suhu kamar) dari umbi chicory, dahlia dan bawang merah dapat dilihat pada Tabel 2. Inulin umbi dahlia mempunyai kelarutan dalam air dingin lebih rendah yaitu 7,0% dibandingkan inulin bawang merah yaitu 10,5% tetapi keduanya masih dibawah kelarutan inulin dari umbi

chicory (18%). Kemungkinan derajat polimerisasi ekstrak inulin umbi dahlia lebih besar dibandingkan ekstrak inulin bawang merah.

Daya serap air berhubungan dengan sifat fungsional inulin yang dimanfaatkan dalam produk inulin. Perbandingan daya serap air pada inulin hasil ekstraksi dari umbi chicory, dahlia dan bawang merah dapat dilihat pada Tabel 2. Inulin hasil ekstraksi dari umbi dahlia mempunyai daya serap air 1:1,4 sedangkan dari bawang merah adalah 1:1,1. Sebagai perbandingan, inulin chicory mempunyai daya serap air sekitar 1:1,5 (Tungland, 2000). Menurut Dreher yang disitasi oleh Stark dan Madar (Widowati dkk., 2005) daya serap air bersifat spesifik untuk setiap sumber serat pangan.

Tabel 2. Perbandingan Kadar Gula Bebas, Kelarutan dan Daya Serap Inulin Hasil Ekstraksi dari Umbi Chicory, Umbi Dahlia dan Bawang Merah

	Sumber Inulin			
	Umbi Chicory ^{a)}	Umbi Dahlia ^{b)}	Umbi Dahlia	Bawang Merah
Kadar gula bebas (%)	10	3,4	3,9	2,5
Kelarutan (% b/v)	18	7,3	7,0	10,5
Daya serap air	1:1,5	1:2,6	1:1,4	1:1,1

^{a)} Tungland, 2000

^{b)} Widowati dkk., 2005

Pengaruh Ekstrak Inulin Terhadap Pertumbuhan *Lactobacillus casei strain BIO 251*

Inulin sebagai salah satu prebiotik memiliki karakteristik yang khas yaitu dapat menstimulasi pertumbuhan bakteri probiotik. Untuk mengetahui pengaruh ekstrak inulin dari umbi dahlia dan

bawang merah terhadap pertumbuhan *Lactobacillus casei strain BIO 251* dibuat larutan inulin 10000 ppm, lalu dilakukan pengenceran *double dilution* sebanyak 5 tahap pengenceran. Rangkaian pengenceran sediaan uji tersebut digunakan untuk pengujian aktivitas *in vitro* dengan menggunakan media cair.

Sebanyak 2 ml media cair ditambah dengan 1 ml (10^8 CFU/ml) suspensi *Lactobaccillus casei* strain BIO 251 dan 2 ml sediaan uji dari masing-masing kelompok pengenceran (5 kelompok), dan 1 kelompok kontrol yang berisi 2 ml media cair ditambah 1 ml suspensi probiotik dan 2 ml aquades steril. Semua kelompok uji kemudian diinkubasi pada suhu 35-37°C selama 17 jam. Pengukuran absorbansi dilakukan pada

panjang gelombang maksimum dari suspensi *Lactobaccillus casei*, yaitu 434 nm.

Absorbansi ekstrak inulin dari umbi dahlia untuk masing-masing kelompok pengenceran diukur pada jam ke-17. Hasil pengukuran absorbansi masing-masing konsentrasi ekstrak inulin umbi dahlia yang difermentasi oleh *Lactobaccillus casei* strain BIO 251 dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Absorban Masing-Masing Kelompok Pengenceran Ekstrak Inulin dari Umbi Dahlia

Perulangan	Kontrol	Kel I	Kel II	Kel III	Kel IV	Kel V
1	0,541	0,562	0,564	0,603	0,806	0,907
2	0,537	0,544	0,545	0,687	0,813	0,933
3	0,530	0,558	0,602	0,718	0,835	0,942
Jumlah	1,608	1,664	1,711	2,008	2,454	2,782
Rata-Rata	0,536	0,555	0,570	0,669	0,818	0,927
% kenaikan	-	3,5	6,4	24,9	52,6	73,0

Keterangan. Kontrol: media cair + suspensi bakteri + aquades (tanpa inulin) ; Kel I: media cair + suspensi bakteri + larutan inulin 625 ppm; Kel II: media cair + suspensi bakteri +

larutan inulin 1250 ppm; Kel III: media cair + suspensi bakteri + larutan inulin 2500 ppm; Kel IV: media cair + suspensi bakteri + larutan inulin 5000 ppm; Kel V: media cair + suspensi bakteri + larutan inulin 10000 ppm.

Berdasarkan data pada Tabel 3 dapat dilihat jika dibandingkan dengan kelompok kontrol, semua kelompok pengenceran berpengaruh terhadap pertumbuhan *Lactobaccillus casei* strain BIO 251. Data ini diperkuat dengan

analisis statistik menggunakan *Anova Completely Randomized Design* (*Anova CRD*)/*Anova One Way* pada tingkat kepercayaan 95% yang hasilnya seperti tertera pada Tabel 4.

Tabel 4. Ringkasan Hasil Statistik Anova Satu Arah dari Data Absorban Masing-Masing Kelompok Pengenceran Ekstrak Inulin dari Umbi Dahlia

Sumber variasi	Jumlah kuadrat (SS)	Derajat bebas (df)	Kuadrat rata-rata (MS)	F hitung	Signifikansi

Antar Dosis	0,386	5	0,077	51,17	0,000
Antar Perlakuan	0,018	12	0,0015		
Total	0,404	17			

Dari perhitungan Anova diatas diketahui bahwa signifikansi 0,00 berarti lebih kecil dari 0,05, sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan efek antara kelompok perlakuan dan minimal ada satu pasang kelompok yang mempunyai perbedaan bermakna. Untuk menentukan kelompok mana yang memberikan efek bermakna terhadap pertumbuhan *Lactobacillus casei* strain BIO 251 maka perhitungan dilanjutkan dengan uji HSD yang hasilnya dapat dilihat pada Tabel 5.

Dari hasil analisis statistik dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok yang diberi larutan uji

dengan konsentrasi 10000 ppm dan 5000 ppm, sehingga dapat disimpulkan kedua konsentrasi ini mampu meningkatkan pertumbuhan *Lactobacillus casei* strain BIO 251. Dari hasil perhitungan konsentrasi isolat dalam media cair diketahui bahwa kelompok yang ditambahkan 2 ml larutan isolat 10000 ppm setara dengan 869,5 ppm inulin dahlia dapat meningkatkan pertumbuhan *Lactobacillus casei* strain BIO 251 sebesar 73,0%. Sedangkan kelompok yang ditambahkan 2 ml larutan isolat 5000 ppm setara dengan 437,8 ppm ekstrak inulin dahlia dapat meningkatkan pertumbuhan *Lactobacillus casei* strain BIO 251 sebesar 52,6%.

Tabel 5. Ringkasan Hasil Perhitungan HSD dari Data Absorbansi Masing-Masing Kelompok Pengenceran Ekstrak Inulin dari Umbi Dahlia

	Kontrol	Kel I	Kel II	Kel III	Kel IV	Kel V
Kontrol	-----	-0,019	-0,034	-0,133	-0,282*	-0,391*
Kel I		-----	-0,016	-0,115	-0,263	-0,373
Kel II			-----	-0,099	-0,248	-0,357
Kel III				-----	-0,149	-0,258
Kel IV					-----	-0,109
Kel V						-----

* Ada perbedaan bermakna antar kelompok

Jadi bisa disimpulkan bahwa dengan konsentrasi ekstrak inulin dari umbi dahlia minimal sebesar 437,8 ppm dalam media cair mampu meningkatkan

pertumbuhan *Lactobacillus casei* strain BIO 251 sebesar 52,6%.

Hasil pengukuran absorbansi masing-masing konsentrasi ekstrak inulin bawang merah yang difermentasi oleh

Lactobacillus casei strain BIO 251 dapat dilihat pada Tabel 6 berikut ini.

Tabel 6. Absorban Masing-Masing Kelompok Pengenceran Ekstrak Inulin dari Bawang Merah

Perulangan	Kontrol	Kel I	Kel II	Kel III	Kel IV	Kel V
1	0,524	0,551	0,552	0,555	0,781	0,879
2	0,531	0,548	0,549	0,616	0,802	0,903
3	0,537	0,557	0,560	0,652	0,774	0,901
Jumlah	1,592	1,656	1,661	1,823	2,357	2,683
Rata-Rata	0,531	0,552	0,554	0,608	0,786	0,894
% kenaikan	-	4,0	4,3	14,5	48,1	68,5

Keterangan. Kontrol: media cair + suspensi bakteri + aquades (tanpa inulin) ; Kel I: media cair + suspensi bakteri + larutan inulin 625 ppm; Kel II: media cair + suspensi bakteri + larutan inulin 1250 ppm; Kel III: media cair + suspensi bakteri + larutan inulin 2500 ppm; Kel IV: media cair + suspensi bakteri + larutan inulin 5000 ppm; Kel V: media cair + suspensi bakteri + larutan inulin 10000ppm.

Berdasarkan data pada Tabel 6 di atas dapat dilihat jika dibandingkan dengan kelompok kontrol, semua kelompok pengenceran ekstrak inulin bawang merah berpengaruh terhadap pertumbuhan *Lactobacillus casei* strain BIO 251. Data ini diperkuat dengan hasil analisa statistik menggunakan *Anova Completely Randomized Design* (*Anova CRD*)/*Anova One Way* pada tingkat kepercayaan 95%.

Signifikansi hasil perhitungan ANOVA adalah 0,00 berarti lebih kecil dari 0,05, artinya ada satu pasang kelompok yang mempunyai perbedaan bermakna. Perhitungan dilanjutkan dengan uji HSD untuk menentukan kelompok mana yang memberikan efek bermakna terhadap pertumbuhan *Lactobacillus casei* strain BIO 251.

Perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok yang diberi larutan uji terdapat pada inulin bawang merah dengan konsentrasi 10000 ppm dan 5000 ppm, sehingga dapat disimpulkan kedua konsentrasi ini mampu meningkatkan pertumbuhan *Lactobacillus casei* strain BIO 251. Hasil perhitungan konsentrasi isolat dalam media cair diketahui bahwa kelompok yang ditambahkan 2 ml larutan isolat 10000 ppm setara dengan 869,5 ppm inulin bawang merah dapat meningkatkan pertumbuhan *Lactobacillus casei* strain BIO 251 sebesar 68,5%. Sedangkan kelompok yang ditambahkan 2 ml larutan isolat 5000 ppm setara dengan 437,8 ppm ekstrak inulin dari bawang merah dapat meningkatkan pertumbuhan *Lactobacillus casei* strain BIO 251 sebesar 48,1%.

Kesimpulannya adalah ekstrak inulin bawang merah dengan konsentrasi minimal 437,8 ppm dalam media cair mampu meningkatkan pertumbuhan *Lactobacillus casei strain* BIO 251 sebesar 48,1%.

Uji Bioaktivitas Sinbiotik

Gabungan ekstrak inulin sebagai prebiotik dengan probiotik *Lactobacillus casei strain* BIO 251 disebut sinbiotik. Produk akhir metabolisme ekstrak inulin oleh *Lactobacillus casei strain* BIO 251 sebagian besar berupa asam lemak rantai pendek (SCFA). Adanya SCFA ditandai dengan menurunnya pH dari 7 menjadi 5. SCFA ini diduga dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Rolfe, 2000). Produk akhir fermentasi disentrifugasi dan difilter sehingga diperoleh supernatan yang bebas kultur probiotik dan diujikan bioaktivitasnya terhadap *Salmonella thypi*.

Penelitian uji bioaktivitas produk akhir metabolisme dari fermentasi inulin oleh *Lactobacillus casei strain* BIO 251 terhadap *Salmonella thypi* dilakukan dengan *drops method* melalui teknik

Mills Mesra untuk menghitung koloni kuman patogen yang terbentuk. Prinsip perhitungan koloni *Salmonella* dengan metoda Drops melalui teknik Mills Mesra adalah 1 sel kuman hidup, bila dibiakkan pada media padat akan tumbuh menjadi 1 koloni kuman.

Pada uji MIC digunakan MacFarland 0,5 ($1,5 \cdot 10^8$ CFU/ml) sebanyak 1 ml yang kemudian didilusi dengan bahan uji per ml pada media cair (Muller Hinton broth) kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Sel kuman yang terbentuk kemudian dibiakkan pada media padat (Muller Hinton agar) dan diinkubasi selama 24 jam. Koloni *Salmonella thypi* yang tumbuh dipermukaan media agar dihitung

Jumlah koloni *Salmonella thypi* yang masih tumbuh pada permukaan agar dihitung dan rata-ratanya dikalikan faktor pengenceran sehingga diperoleh jumlah koloni *Salmonella thypi* yang sebenarnya (dalam satuan CFU/ml). Hasil perhitungan jumlah koloni *Salmonella thypi* dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Jumlah Koloni *Salmonella thypi* pada Masing-Masing Konsentrasi Sinbiotik Ekstrak Inulin-*Lactobacillus casei strain* BIO 251

Perulangan	Sinbiotik A					Sinbiotik B				
	I	II	III	IV	V	I	II	III	IV	V
1	10	9	8	5	3	10	10	8	6	4
2	10	10	8	6	4	11	10	9	6	5
3	10	9	7	6	4	10	9	8	7	4
Rata-rata	10	9,3	7,7	5,7	3,7	10,3	9,7	8,3	6,3	4,3
Jumlah <i>S. thypi</i> (CFU/ml)	20	18	15	11	74	206	19	16	12	86

	0	6	4	4			4	6	6	
--	---	---	---	---	--	--	---	---	---	--

Keterangan: Sinbiotik A: ekstrak inulin umbi dahlia-*Lactobacillus casei*, Sinbiotik B: ekstrak inulin bawang merah-*Lactobacillus casei*, I: ekstrak inulin 625 ppm, II: ekstrak inulin 1250 ppm, III: ekstrak inulin 2500 ppm, IV: ekstrak inulin 5000 ppm, V: ekstrak inulin 10000 ppm.

Jumlah koloni *Salmonella thypi* yang paling sedikit tumbuh adalah yang berada pada cawan patri yang berisi sinbiotik yang mengandung ekstrak inulin 10000 ppm baik dari umbi dahlia maupun bawang merah dengan *Lactobacillus casei* strain BIO 251. Dosis efektif rata-rata *Salmonella thypi* dapat bersifat patogen adalah $\leq 10^3$ (Alimsardjono, 2005).

Berdasarkan uji bioaktivitas produk akhir metabolisme ekstrak inulin oleh *Lactobacillus casei* strain BIO 251 diatas dapat disimpulkan bahwa konsentrasi minimal ekstrak inulin sebesar 10000 ppm dalam kultur sinbiotik atau setara dengan 434,8 ppm ekstrak inulin dari umbi dahlia dapat menghambat pertumbuhan *Salmonella thypi* hingga 92,6%. Sedangkan 434,8 ppm ekstrak inulin bawang merah menghambat pertumbuhan *Salmonella thypi* sampai 91,4%.

4 Kesimpulan dan Saran

Berdasarkan hasil dan pembahasan diperoleh kesimpulan bahwa inulin dapat diekstrak dari umbi dahlia (*Dahlia pinnata*) dan bawang merah (*Allium cepa*). Rendemen ekstrak inulin yang diperoleh sebesar 3,99% dari umbi dahlia dan 0,20% dari bawang merah mempunyai titik leleh yang sama yaitu 176°C dan hasil KLT menunjukkan kedua ekstrak ini merupakan

fuktoooligosakarida. Ekstrak inulin dari umbi dahlia mengandung 3,9% gula bebas, 7,0% kelarutan dalam air dingin dan daya serap air 1:1,4. Ekstrak inulin dari bawang merah mengandung 2,5% gula bebas, 10,5% kelarutan dalam air dingin dan daya serap air 1:1,1. Ekstrak inulin sebesar 437,8 ppm dari umbi dahlia mampu meningkatkan pertumbuhan *Lactobacillus casei* strain BIO 251 sebesar 52,6% sedangkan dari bawang merah sebesar 48,1%. Sinbiotik yang mengandung 434,8 ppm ekstrak inulin dari umbi dahlia dan bawang merah masing-masing dapat menghambat pertumbuhan *Salmonella thypi* hingga 92,6% dan 91,4%.

Untuk meningkatkan kualitas penelitian selanjutnya disarankan untuk menggunakan varietas bawang merah yang berbeda untuk mendapatkan rendemen ekstrak inulin yang cukup besar. Selain itu perlu dilakukan analisis jenis asam lemak rantai pendek yang dihasilkan sebagai produk akhir metabolisme fermentasi inulin oleh *Lactobacillus casei*.

Daftar Pustaka

Alimsardjono, L. (2005), *Salmonella*, Bahan Kuliah Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Surabaya.

Bouhink Y. dan Pochart, P (1992), "Fecal Recovery in Human of Viable Bifidobacterium Sp Ingested in Fermented Milk", *Gastroenterology*, Vol. 102, hal. 875-878.

Collin, M.D. dan Gibson, G.R. (1999), "Probiotics, Prebiotics and Synbiotics: Approaches for Modulating the Microbial Ecology of the Gut", *American Journal*

of *Clinical Nutrition*, Vol. 69, hal. 1052S-1057S.

Forbes, B.A. (2002), *Diagnostic Microbiology ed. 8*, Bailley and Scott's, St Louis Missouri.

Fuller, R. (1989), "A Review: Probiotics in Man and Animals", *Journal of Applied Bacteriology*, Vol. 66, hal. 365-378.

Gaspersz, Vincent (1995), *Teknik Analisis dalam Penelitian Percobaan*, Tarsito, Bandung.

Gibson, G.R., dan Roberfroid, M.B., (1995), "Dietary Modulation of the Human Colonic Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics", *The Journal of Nutrition* Vol. 125, No. 6, hal. 1401-1412.

Isolauri, E. (2001), "Probiotics in Human Disease", *The American Journal of Clinical Nutrition*, Vol. 73, Vol. 6, hal. 1142S-1146S.

Kaur, N. dan Gupta, A.K. (2002), "Applications of Inulin and Oligofructose in Health and Nutrition", *Journal of Bioscience* Vol. 27, hal.703-714.

Reiffova, K. dan Nemcova, R. (2006), "Thin Layer Chromatography Analysis of Fructooligosaccharides in Biological Sample", *Journal of Chromatography A*, Vol. 1110, hal. 214-221.

Rolfe, R.D. (2000), "Role of Probiotic Cultures in the Control of Gastrointestinal Health", *The Journal of Nutrition*, Vol. 130, hal. 396S-402S.

Sgouras, D., Maragkoudakis, P., Petraki, K., Gonzalez, B.M., Eritou, E., Michopoulos, S., Kalantzopoulos, G., Tsakalidou, E., dan Mentis, A., (2003),

"In Vitro and In Vivo Inhibition of *Helicobacter pylori* by *Lactobacillus casei* Strain Shirota", *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 70, No. 1, hal. 518-526.

Swennen, K., Courtin, C.M., dan Delcour, J.A., (2006), "Non-digestible Oligosaccharides with Prebiotic Properties", *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* Vol. 46, No. 6, hal. 459-470.

Tjaniadi, P., Lesmana, M., Subekti, D., Machpud, N., Komalarini, S., Santoso, W., Simanjuntak, C.H., Punjabi, N., Campbell, J.R., Alexander, W.K, Beecham III, H.J., Corwin, A.L. dan Ofoyo, B.A. (2003), "Antimicrobial Resistance of Bacterial Pathogens Associated with Diarrheal Patients in Indonesia", *The American Journal of Tropical Medicine Hygiene*, Vol. 68, No. 6, hal. 666-670.

Tungland, B.C. (2000), *Inulin - A Comprehensive Scientific Review*, Duncan Crow Wholistic Consultan.

Widowati, S., Sunarti, T.C., dan Zaharani, A. (2005), *Ekstraksi, Karakterisasi, dan Kajian Potensi Prebiotik Inulin dari Umbi Dahlia (*Dahlia pinnata L.*)*, Seminar Rutin Puslitbang Tanaman Pangan, Bogor, 16 Juni.

Wijaya, Hanny, (2002), *Pangan Fungsional dan Kontribusinya bagi Kesehatan*, Kharisma; Women and Education, Jakarta.

Winarno, F.G. (2002), *Kimia Pangan dan Gizi*, Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.