

DAYA HAMBAT SINBIOTIK EKSTRAK INULIN BAWANG MERAH (*Allium cepa L.*) DENGAN BAKTERI *Lactobacillus acidophilus* TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Escherichia coli*.

Hartono⁽¹⁾, Cut Muthiadin⁽²⁾, Zakia Bakri⁽²⁾

⁽¹⁾Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Makassar

⁽²⁾Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN

Gunung Sari Baru, Jl. A.P.Pettarani Makassar 90222

e-mail: hartono_biotechugm@yahoo.com

Abstract: The Inhibitory Synbiotic Inulin Extract From Red Onion (*Allium cepa L.*) with *Lactobacillus acidophilus* on The Growth of *Escherichia coli*. This study aims to see the ability to extract inulin from red onion (*Allium cepa L.*) with *Lactobacillus acidophilus* bacteria in inhibiting the growth of the *Escherichia coli* bacteria. This research used completely randomized design (CRD) consisting of one control and three treatments, namely MRS Broth medium + bacteria *Lactobacillus acidophilus* as a control (A0), and extract with a concentration of 2500 ppm inulin (A1), 5000 ppm (A2), and 10.000 ppm (A3). Parameters measured were diameter of inhibitory zone formed around synbiotic bacteria *Escherichia coli* at 24 and 48 hours incubation. Data were analyzed by variety as well as continued fingerprint test real differences (LSD) α 0.05. The results showed giving of the extract with various concentrations of inulin significant effect in increasing the inhibitory synbiotic *Lactobacillus acidophilus* on the growth of *Escherichia coli* bacteria. The average diameter of inhibitory zone formed during 24 hours incubation in a row is 2,60 mm, 4,60 mm, 5,80 mm and 5,93 mm where as in the 48 hours incubation in a row is 2,13 mm, 3,23 mm, 4,56 mm and 4,96 mm. Inulin concentration which inhibits the growth of *Escherichia coli* bacteria is 10.000 ppm both the 24 and 48 hours incubation.

Abstrak: Daya Hambat Sinbiotik Ekstrak inulin dari Bawang Merah (*Allium cepa L.*) dengan bakteri *Lactobacillus acidophilus* Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. Penelitian ini bertujuan untuk melihat kemampuan ekstrak inulin dari bawang merah (*Allium cepa L.*) dengan bakteri *Lactobacillus acidophilus* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri atas satu kontrol dan 3 perlakuan yaitu medium MRS Broth + bakteri *Lactobacillus acidophilus* sebagai kontrol (A0), serta pemberian ekstrak inulin dengan konsentrasi 2500 ppm (A1), 5000 ppm (A2), dan 10.000 ppm (A3). Parameter yang diukur adalah diameter zona hambat sinbiotik yang terbentuk disekeliling bakteri *Escherichia coli* pada waktu inkubasi 24 dan 48 jam. Data yang diperoleh dianalisis dengan Uji Sidik Ragam serta dilanjutkan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) α 0,05. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak inulin dengan berbagai konsentrasi berpengaruh nyata dalam meningkatkan daya hambat sinbiotik *Lactobacillus acidophilus* terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk pada masa inkubasi 24 jam secara berturut-turut adalah 2,60 mm, 4,60 mm, 5,80 mm, dan 5,93 mm sedangkan pada masa inkubasi 48 jam secara berturut-turut adalah 2,13 mm, 3,23 mm, 4,56 mm, dan 4,96 mm. Konsentrasi inulin yang paling menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* adalah 10.000 ppm baik itu masa inkubasi 24 dan 48 jam.

Kata kunci: prebiotik, inulin, *Lactobacillus acidophilus*, dan *Escherichia coli*.

A. PENDAHULUAN

Salah satu kelompok bahan makanan yang sedang dikembangkan saat ini adalah prebiotik, probiotik dan sinbiotik yang bermanfaat bagi

kesehatan pencernaan manusia. Beberapa isu kesehatan yang berkaitan dengan manfaat prebiotik, probiotik, dan sinbiotik adalah peningkatan toleransi laktosa (bagi penderita

intoleransi laktosa), perlindungan terhadap gastroenteritis, sintesis vitamin-vitamin tertentu, peningkatan fungsi saluran pencernaan, metabolisme kolesterol dalam usus dan respon alergi terhadap makanan. Pendekatan penggunaan prebiotik, probiotik dan sinbiotik sebagai langkah pencegahan dan penurunan resiko penyakit-penyakit tertentu menjadi semakin berarti dengan besarnya biaya dan kerugian yang dapat ditimbulkan penyakit-penyakit tersebut (Ibid).

Prebiotik merupakan pangan yang dapat memacu pertumbuhan mikroflora usus, khususnya bakteri asam laktat. Beberapa jenis prebiotik yang kini populer termasuk dalam kelompok oligosakarida. Oligosakarida adalah polisakarida rantai pendek dengan struktur kimia yang unik sehingga tidak dapat dicerna oleh enzim pencernaan manusia. Oligosakarida tersebut akan menjadi media yang baik untuk pertumbuhan bakteri asam laktat yang menguntungkan di dalam usus. Kelompok oligosakarida dalam bahan pangan ini, seperti rafinosa, stakiosa, galakto oligosakarida, frukto oligosakarida, inulin, serta beberapa jenis peptida dan protein tidak dapat dicerna manusia sehingga mencapai usus dan mendukung pertumbuhan bakteri probiotik dalam usus sebagai substrat pertumbuhan (Ibid). Bakteri patogen tidak menyukai nutrisi ini sehingga pada akhirnya bakteri probiotik mendominasi populasi. Berbagai senyawa hasil metabolisme bakteri probiotik, seperti asam laktat, dan bacteriocin, bersifat antimikroba bagi bakteri patogen (Sanjaya et al. 2008).

Beberapa prebiotik seperti inulin dan oligosakarida telah diisolasi dari sumber alami. Beberapa jenis bahan pangan yang banyak terdapat di Indonesia dan berpotensi sebagai sumber prebiotik misalnya bawang merah. Bawang merah merupakan salah satu jenis umbi-umbian yang pemanfaatannya di Indonesia baru sebatas untuk memenuhi kebutuhan kalori dari karbohidrat yang dikandungnya, sedangkan kandungan komponen-komponen potensial lainnya belum dimanfaatkan dengan optimal. Berdasarkan penelitian dan analisis diketahui bahwa kandungan inulin pada bawang merah sebanyak 2,8%.

Probiotik merupakan bakteri non patogen yang diasup sebagai suplemen makanan, yang mampu melewati lambung dan usus halus karena tahan terhadap asam lambung, empedu dan getah pankreas. Probiotik berfungsi

memperbaiki keseimbangan mikrobiologi dalam saluran pencernaan, terutama keseimbangan antara jumlah bakteri baik khususnya bakteri *Lactobacillus* dan bakteri patogen seperti *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan lain-lain (Ibid).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa probiotik cukup efektif untuk pencegahan dan pengobatan terhadap bermacam-macam kelainan gastrointestinal misalnya diare karena pemakaian antibiotik yang berlebihan, diare nosokomial, diare karena infeksi bakteri maupun virus. Penelitian di Polandia tahun 1998-1999 menunjukkan bahwa pemberian probiotik dapat mencegah terjadinya diare nosokomial pada anak yang dirawat di rumah sakit (Berlianto. 2004).

Sinbiotik merupakan gabungan dari prebiotik dan probiotik yang masing-masing komponennya dapat memberikan keuntungan bagi kesehatan manusia jika dikonsumsi. Keuntungan dari kombinasi ini adalah 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. Dalam kondisi ini dipastikan bakteri tetap hidup dan melekat dalam mukosa usus, karena terdapat substrat atau makanannya (prebiotik) sehingga mereka tetap bisa hidup dan bekerja dalam saluran pencernaan (Rahmat. 2010).

Sebelumnya telah dilakukan penelitian pengaruh senyawa prebiotik dari bawang merah (*Allium cepa*) terhadap pertumbuhan bakteri probiotik *Lactobacillus casei*. Pada penelitian tersebut diperoleh hasil bahwa inulin dari bawang merah dengan konsentrasi 2500 ppm, 5000 ppm, dan 10.000 ppm dapat meningkatkan pertumbuhan bakteri asam laktat (*Lactobacillus casei*) secara in vitro sehingga bawang merah berpotensi menjadi salah satu sumber prebiotik (Kusumawati. 2005). Pada penelitian ini belum diketahui bagaimana pengaruh kombinasi (sinbiotik) antara inulin dengan bakteri *Lactobacillus sp* terhadap pertumbuhan bakteri patogen seperti *Escherichia coli*.

B. METODE

1. Pembuatan Ekstrak Inulin

Umbi bawang merah ditimbang sebanyak 1 kg dan diblender dengan penambahan air 500 ml, kemudian dipanaskan dengan penangas air selama 30 menit dengan suhu 85 oC. Setelah dingin, larutan kemudian disaring dengan

menggunakan corong buchner. Setelah itu, filtrat yang diperoleh ditambahkan etanol 96% sebanyak 40% dari volume filtrat, kemudian larutan disimpan dalam freezer dan didinginkan selama 18 jam dengan suhu -2 oC. Setelah didinginkan dalam freezer, maka larutan dibiarkan pada suhu ruang selama 2 jam, setelah itu disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 1500 rpm.

Endapan kemudian ditambahkan air dengan perbandingan 1 : 2, kemudian dipanaskan kembali selama 30 menit dengan suhu 85 oC. Setelah itu ditambahkan karbon aktif dan didinginkan pada suhu ruang selama 2 jam. Setelah dingin larutan kemudian diukur volumenya. Filtrat yang diperoleh ditambahkan etanol 96% sebanyak 40% dari volume filtrat, kemudian didinginkan dalam freezer selama 18 jam dengan suhu -2 oC.

Filtrat kemudian dibiarkan pada suhu ruang selama 2 jam, setelah itu disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 1500 rpm. Endapan dalam desikator selama 2 hari. Setelah itu, endapan ini dihaluskan hingga terbentuk bubuk. kemudian 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. Lempeng KLT kemudian dimasukkan ke dalam bejana kromatografi yang sudah jenuh dengan cairan pengembang. Dibiarkan mengembang sampai batas 0,5 cm – 1 cm dari tepi atas lempeng.

Lempeng kemudian dikeluarkan dari bejana dan diangin-anginkan hingga cairan pengembangnya menguap dan selanjutnya noda yang dihasilkan diamati di bawah lampu UV 366 nm. 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 bahawa isolat yang diperoleh adalah inulin murni.

3. Peremajaan Mikroba Uji

Mengambil 1 mata ose masing-masing bakteri yaitu *Lactobacillus acidophilus* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Universitas Hasanuddin, bakteri *Escherichia coli* dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Negeri, kemudian diinokulasikan dengan cara digores pada medium NA miring untuk bakteri *Escherichia coli* dan medium MRSA miring untuk bakteri *Lactobacillus acidophilus* dalam tabung reaksi dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama ± 24 - 48 jam.

4. Penyiapan Suspensi Bakteri *Escherichia coli*

Biakan *Escherichia coli* yang telah diremajakan diambil dalam beberapa ose lalu diinokulasikan ke dalam 10 ml aquadest steril kemudian digoyangkan hingga homogen.

5. Penyiapan Suspensi Bakteri *Lactobacillus acidophilus*

Mengambil 1 mata ose dari stock bakteri yang telah dibuat pada medium MRSA miring kemudian diinokulasikan pada medium MRS Broth 10 ml, selanjutnya diinkubasi dalam incubator selama 24 jam pada suhu 37 C.

6. Pembuatan Larutan Stok Inulin

Larutan uji dibuat dari randemen hasil konsentrasi inulin dari bawang merah (*Allium cepa*) kemudian dibuat stock dengan konsentrasi 100.000 ppm dengan menimbang sebanyak 1 gram isolat kemudian dilarutkan dalam 10 ml aquades steril.

7. Pembuatan Medium MRS Broth yang Disuplemen dengan Inulin

a. Medium MRSB + Inulin 2500 ppm

Memipet inulin sebanyak 0,5 ml dari stock larutan uji yang telah dibuat, setelah itu menambahkan 1 ml suspensi bakteri *Lactobacillus acidophilus* kemudian dihomogenkan bersama dengan medium MRS Broth sebanyak 20 ml dalam labu erlenmeyer. Medium MRS Broth tersebut kemudian dibagi secara aseptis ke dalam 3 tabung reaksi dengan volume masing-masing sebanyak 4 ml di dalam Laminar air flow cabinet, setelah itu menutup tabung reaksi dengan baik menggunakan kapas dan aluminium foil, kemudian diinkubasi dalam shaker incubator dengan

kecepatan 150 rpm selama 3 x 24 jam pada suhu 370C.

- b. Medium MRSB + Inulin 5000 ppm
Memipet inulin sebanyak 1 ml dari stock larutan uji yang telah dibuat, setelah itu menambahkan 1 ml suspensi bakteri *Lactobacillus acidophilus* kemudian dihomogenkan bersama dengan medium MRS Broth sebanyak 20 ml dalam labu erlenmeyer. Medium MRS Broth tersebut kemudian dibagi secara aseptis ke dalam 3 tabung reaksi dengan volume masing-masing sebanyak 4 ml di dalam Laminar air flow cabinet, setelah itu menutup tabung reaksi dengan baik menggunakan kapas dan aluminium foil, kemudian diinkubasi dalam shaker incubator dengan kecepatan 150 rpm selama 3 x 24 jam pada suhu 370C.
- c. Medium MRS Broth + Inulin 10.000 ppm
Memipet inulin sebanyak 2 ml dari stock larutan uji yang telah dibuat, setelah itu menambahkan 1 ml suspensi bakteri *Lactobacillus acidophilus* kemudian dihomogenkan bersama dengan medium MRS Broth sebanyak 20 ml dalam labu erlenmeyer. Medium MRS Broth tersebut kemudian dibagi secara aseptis ke dalam 3 tabung reaksi dengan volume masing-masing sebanyak 4 ml di dalam Laminar air flow cabinet, setelah itu menutup tabung reaksi dengan baik menggunakan kapas dan aluminium foil, kemudian diinkubasi dalam shaker incubator dengan kecepatan 150 rpm selama 3 x 24 jam pada suhu 370C.

8. Pengujian Daya Hambat

Pengujian daya hambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan dilakukan dengan menggunakan slinder pada medium NA dengan metode difusi agar. Medium NA steril didinginkan hingga suhu 40-450 C kemudian dituang secara aseptis ke dalam cawan petri sebanyak 15 ml dan dibiarkan membeku, disebut lapisan dasar (seed layer). Setelah itu 10 ml medium NA dicampur dengan 1 ml suspensi bakteri *Escherichia coli* yang telah disiapkan kemudian dituang diatas medium NA yang telah membeku tadi dan dibiarkan hingga membeku (lapisan kedua). Pencadang dengan diameter dalam 6 mm, diameter luar 8 mm, dan tinggi 10 mm, diletakkan secara aseptis pada permukaan media yang telah membeku. Tiap pencadang diisi

dengan suspensi bakteri *Lactobacillus acidophilus* yang ditambahkan inulin dengan konsentrasi 2500 ppm, 5000 ppm, dan 10.000 ppm sebanyak 0,1 ml, setelah itu diinkubasi pada suhu 370C selama 2 x 24 jam. Selanjutnya dilakukan pengukuran diameter zona hambat sinbiotik (zona bening) yang dihasilkan pada waktu inkubasi 2 x 24 jam dengan menggunakan jangka sorong.

9. Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data dilakukan dengan pengamatan dan pengukuran diameter zona hambat sinbiotik dengan menggunakan metode difusi agar. Parameter yang diamati adalah mengukur zona hambat sinbiotik atau zona bening pertumbuhan *Escherichia coli* yang terbentuk disekitar pencadang. Pengukuran diameter dilakukan sebanyak 3 kali menggunakan jangka sorong, pada masa inkubasi 2 x 24 jam setelah itu dijumlahkan lalu dirata-ratakan. Hasil rata-rata ini disebut diameter zona hambat sinbiotik ekstrak inulin dengan *Lactobacillus acidophilus* terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

10. 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

1. Hasil Penelitian

- a. Berat Randemen dan Karakteristik Ekstrak Inulin dari Bawang Merah (*Allium cepa*)

Hasil pengamatan ekstrak inulin dari bawang merah (*Allium cepa*) memperlihatkan bahwa terjadi perbedaan berat randemen ekstrak inulin 1 dengan randemen ekstrak inulin 2. Hasil randemen dan karakteristik ekstrak inulin dapat dilihat pada tabel 1.

- b. Rata-rata Diameter Zona Hambat Sinbiotik Ekstrak Inulin pada Berbagai Konsentrasi dengan Bakteri *Lactobacillus acidophilus* Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*.

Hasil pengukuran besarnya rata-rata diameter zona hambat sinbiotik ekstrak inulin pada berbagai konsentrasi terhadap pertumbuhan

bakteri *Escherichia coli* dapat dilihat pada tabel 2 dan 3. Perbandingan rata-rata diameter zona hambat sinbiotik ekstrak inulin pada berbagai konsentrasi dengan bakteri *Lactobacillus acidophilus* terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* pada waktu inkubasi 24 dan 48 jam disajikan pada gambar 1. Berdasarkan gambar pada

grafik tersebut menunjukkan bahwa pada waktu inkubasi 24 jam semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan, maka semakin besar pula zona hambat sinbiotik yang terbentuk. Sebaliknya terjadi penurunan zona hambat sinbiotik setelah memasuki hari kedua (48 jam).

Tabel 1. Berat Randemen dan Karakteristik Ekstrak Inulin Dari Bawang Merah (*Allium cepa*)

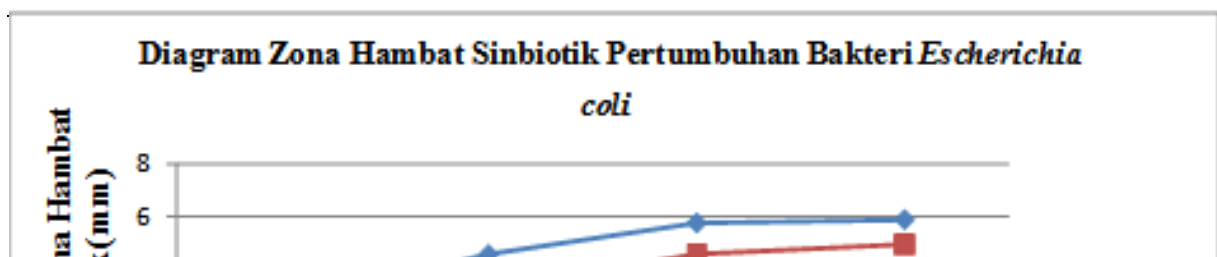
Jenis Prebiotik	Berat Randemen (gram)		Berat Akhir (gram)	Hasil Identifikasi
	Ekstraksi 1	Ekstraksi 2		
Inulin	19	10,25	6,8	berwarna putih, sedikit berbau bawang, larut dalam air, tidak menunjukkan perubahan warna setelah diberikan larutan iodium.

Tabel 2. Rata-rata Diameter Zona Hambat Sinbiotik Ekstrak Inulin pada Berbagai Konsentrasi dengan Bakteri *Lactobacillus acidophilus* Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* Waktu Inkubasi 24 Jam.

Perlakuan Konsentrasi	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata Perlakuan Konsentrasi
	Ulangan I	Ulangan II	Ulangan III	
(kontrol)	2,6	3,2	2	2,60
(2500 ppm)	5,5	4,3	4	4,60
(5000 ppm)	6,3	6	5,1	5,80
(10.000 ppm)	7,4	6,4	4	5,93

Tabel 3. Rata-rata Diameter Zona Hambat Sinbiotik Ekstrak Inulin pada Berbagai Konsentrasi dengan Bakteri *Lactobacillus acidophilus* Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* Waktu Inkubasi 48 Jam.

Perlakuan Konsentrasi	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata Perlakuan Konsentrasi
	Ulangan I	Ulangan II	Ulangan III	
(kontrol)	2,4	3	1	2,13
(2500 ppm)	3,4	3,2	3,1	3,23
(5000 ppm)	4,5	4,2	5	4,56
(10.000 ppm)	5	6	3,9	4,96



Gambar 1. Perbandingan Rata-rata Diameter Zona Hambat Sinbiotik Ekstrak Inulin pada Berbagai Konsentrasi dengan Bakteri *Lactobacillus acidophilus* Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* pada Waktu 24 dan 48 jam.

Tabel 4. Analisis Sidik Ragam Diameter Zona Hambat Sinbiotik Ekstrak Inulin pada Berbagai Konsentrasi dengan Bakteri *Lactobacillus acidophilus* Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* waktu inkubasi 24 jam.

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel 5 %
Perlakuan	3	21,44	7,1466	6,44*	4,07 %
Galat Percobaan	8	8,867	1,1083		
Umum	11	30,307			

Keterangan:
 (koefisien keragaman) = 22,3 %
 (*) = nyata (signifikan) pada tingkat 5 %

Tabel 5. Analisis Sidik Ragam Diameter Zona Hambat Sinbiotik Ekstrak Inulin pada Berbagai Konsentrasi dengan Bakteri *Lactobacillus acidophilus* Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* waktu inkubasi 48 jam.

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel 5 %
Perlakuan	3	15,078	5,026	8,57*	4,07 %
Galat Percobaan	8	4,684	0,586		
Umum	11	30,307			

Keterangan:
 (koefisien keragaman) = 20,6 %
 (*) = nyata (signifikan) pada tingkat 5 %

Tabel 6. Hasil Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Diameter Zona Hambat Sinbiotik Ekstrak Inulin pada Berbagai Konsentrasi dengan Bakteri *Lactobacillus acidophilus* Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* pada Waktu Inkubasi 24 jam.

Perlakuan	Rataan Hasil (mm)	Perbedaan dengan Kontrol (mm)
Kontrol	2,60	2,60 ^a
2500 ppm	4,60	4,60 ^b
5000 ppm	5,80	5,80 ^c
10.000 ppm	5,93	5,93 ^{cd}
BNT α 0,05 = 1,98		

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang tidak sama berarti berbeda nyata (5%).

Tabel 7. Hasil Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Diameter Zona Hambat Sinbiotik Ekstrak Inulin pada Berbagai Konsentrasi dengan Bakteri *Lactobacillus acidophilus* Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* pada Waktu Inkubasi 48 jam.

Perlakuan	Rataan Hasil (mm)	Perbedaan dengan Kontrol (mm)
Kontrol	2,60	2,13 ^a
2500 ppm	4,60	3,23 ^b
5000 ppm	5,80	4,56 ^c
10.000 ppm	5,93	4,96 ^{cd}
BNT α 0,05 = 0,45		

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang tidak sama berarti berbeda nyata (5%).

c. Analisis Statistik Perbandingan Rata-rata Diameter Zona Hambat Sinbiotik Ekstrak Inulin pada Berbagai Konsentrasi dengan Bakteri *Lactobacillus acidophilus* Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*.

Hasil analisis statistik rata-rata diameter zona hambat sinbiotik ekstrak inulin pada berbagai konsentrasi dengan bakteri *Lactobacillus acidophilus* terhadap pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dapat dilihat pada tabel 4 dan 5.

Data yang diperoleh berdasarkan analisis statistik dengan menggunakan uji F (α 0,05) yang dilakukan untuk melihat perbedaan antar perlakuan konsentrasi terhadap bakteri *Escherichia coli* menunjukkan bahwa pemberian ekstrak inulin pada berbagai konsentrasi berpengaruh nyata dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* yang dapat diamati melalui zona hambat sinbiotik

yang terbentuk disekeliling pencadang pada pengamatan 24 dan 48 jam.

Hasil uji Beda nyata terkecil (BNT) diameter zona hambat sinbiotik ekstrak inulin pada berbagai konsentrasi dengan bakteri *Lactobacillus acidophilus* terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dapat dilihat pada tabel 6 dan 7.

Hasil Uji BNT α 0,05 inkubasi 24 jam menunjukkan bahwa pemberian ekstrak inulin dengan konsentrasi 2500 ppm berbeda nyata dengan kontrol dan demikian juga pada konsentrasi 5000 ppm dan 10.000 ppm. Untuk uji BNT α 0,05 inkubasi 48 jam diperoleh hasil yang sama dengan uji BNT α 0,05 inkubasi 24 jam.

2. PEMBAHASAN

Berdasarkan tabel 1, diperoleh berat randemen inulin basah I sebanyak 19 gram, inulin basah II sebesar 10,25 gram dan setelah dikeringkan dalam oven beratnya menjadi 6,8 gram. Hasil ini lebih kecil bila dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan Kusumawati (2007), dimana berat randemen yang dihasilkan sebesar 20,28 gram. Perbedaan hasil randemen inulin antara penelitian ini dengan penelitian sebelumnya disebabkan umbi bawang merah yang digunakan bervariasi jenisnya. Selain itu pada bawang merah hasil yang diekstraksi pertama cenderung lebih banyak mengandung pati yang terlarut dalam air pengestraksi dan memiliki kandungan air yang tinggi, sedangkan pada ekstraksi kedua, merupakan endapan yang masih tersisa dari hasil ekstraksi yang pertama, jadi endapan dan filtrat yang dihasilkan lebih sedikit.

Hasil ekstraksi kemudian diidentifikasi dengan cara kromatografi lapis tipis (KLT). Hasil KLT menunjukkan bahwa nilai R_f untuk senyawa standar fruktosa adalah 0 sehingga nilai R_f adalah 0. Pada lempeng KLT terlihat inulin tidak bergerak dari titik awal. Tidak bergernaknya inulin pada lempeng KLT disebabkan karena penggunaan eluen yang tidak tepat. Selain itu inulin berukuran sangat besar dimana inulin mempunyai derajat polimerisasi kurang dari 25 dengan ukuran rata-rata sebesar 14. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Hana (2007). Oleh karena itu, identifikasi dilanjutkan dengan uji organoleptik.

Hasil identifikasi menunjukkan inulin yang diekstraksi dari bawang merah (*Allium cepa*) berwarna putih dalam bentuk serbuk, sedikit berbau bawang, larut dalam air dan ketika diberikan larutan iodum ekstrak inulin tersebut tidak menunjukkan perubahan warna. Ini membuktikan senyawa inulin yang diperoleh dari bawang merah (*Allium cepa*) merupakan kelompok polisakarida yang tidak mempunyai sifat mereduksi. Seperti yang dikemukakan oleh Anna Poedjiadi (1994), umumnya kelompok polisakarida berupa senyawa berwarna putih, tidak membentuk kristal dan tidak mempunyai sifat mereduksi.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Andi Indra Ayu (2011), menyatakan bahwa penambahan inulin dengan konsentrasi 5000 ppm dan 10.000 ppm ke dalam medium MRS Broth dapat meningkatkan pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus*. Ini membuktikan bahwa inulin tersebut dapat berperan sebagai prebiotik dalam hal meningkatkan pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus*.

Setelah dilakukan serangkaian ekstraksi, dan identifikasi, dilakukan uji aktivitas bakteri untuk melihat kemampuan daya hambat sinbiotik ekstrak inulin dengan bakteri *Lactobacillus acidophilus* terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Berdasarkan hasil pengamatan, pada waktu inkubasi 24 dan 48 jam terjadi perbedaan rata-rata diameter zona hambat sinbiotik pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan konsentrasi ekstrak inulin 2500 ppm, 5000 ppm, 10.000 ppm dan kontrol (tabel 2). Pada waktu inkubasi 24 jam, besar rata-rata diameter zona hambat sinbiotik yang terbentuk setiap perlakuannya adalah 2,60 mm; 4,60 mm; 5,80 mm, dan 5,93 mm. Sementara untuk inkubasi 48 jam, besar rata-rata diameter zona hambat sinbiotik yang terbentuk setiap perlakuannya adalah 2,13 mm; 3,23 mm; 4,56 mm; dan 4,96 mm (tabel 3).

Berdasarkan hasil analisis sidik ragam dengan uji F α 0,05 yang dilakukan untuk melihat tingkat keberhasilan dan pengaruh perbedaan perlakuan setiap konsentrasi terhadap bakteri *Escherichia coli* maka, pengukuran diameter zona hambat sinbiotik bakteri *Escherichia coli* waktu inkubasi 24 dan 48 jam diperoleh nilai F hitung 6,44 dan 8,57 dan hasil ini lebih besar dari nilai F tabel yang diperoleh yaitu 4,07 (tabel 4 dan 5) . Hal ini berarti perlu dilakukan uji lanjutan yaitu Uji Beda Nyata (BNT) untuk melihat perbedaan antar perlakuan dengan pembanding (kontrol).

Hasil uji BNT α 0,05 (tabel 8 dan 9) memperlihatkan hasil rata-rata diameter zona hambat sinbiotik ekstrak inulin dengan berbagai konsentrasi berpengaruh nyata dalam meningkatkan daya hambat sinbiotik *Lactobacillus acidophilus* terhadap pertumbuhan

bakteri *Escherichia coli*. Dimana pemberian ekstrak inulin dengan konsentrasi 2500 ppm berbeda nyata dengan kontrol dan hal ini juga terjadi pada konsentrasi 5000 ppm dan 10.000 ppm.

Berdasarkan hasil analisis sidik ragam dengan uji F dan uji BNT menunjukkan bahwa pemberian ekstrak inulin dengan konsentrasi (2500 ppm, 5000 ppm, 10.000 ppm dan kontrol) pada waktu inkubasi 24 dan 48 jam yang dilakukan dengan tiga kali pengulangan berpengaruh nyata dalam meningkatkan daya hambat sinbiotik (*Lactobacillus acidophilus* dan inulin) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Dari ketiga konsentrasi yang diberikan, diameter zona hambat sinbiotik terbesar terbentuk pada konsentrasi 10.000 ppm yang dapat diamati melalui zona hambat sinbiotik yang terbentuk disekeliling pencadang pada waktu inkubasi 24 dan 48 jam. Pada grafik (gambar 1) menunjukkan bahwa ekstrak inulin dengan konsentrasi 10.000 ppm memberikan zona hambat sinbiotik terbesar dengan rata-rata diameter 5,93 mm.

Hasil uji daya hambat bakteri menunjukkan bahwa penambahan inulin sebagai prebiotik ke dalam medium *Lactobacilli* MRS Broth dapat meningkatkan daya hambat bakteri *Lactobacillus acidophilus* terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Semakin besar konsentrasi inulin yang ditambahkan, maka daya hambat sinbiotik semakin besar. Hal ini terlihat dari diameter zona hambat sinbiotik yang terbentuk disekitar pencadang seiring dengan besarnya konsentrasi inulin yang diberikan.

Hasil pengukuran yang diperoleh dalam penelitian ini sesuai dengan pendapat Pelczar (1986), dimana kemampuan suatu bahan dalam menghambat atau membentuk mikroba tergantung pada tinggi rendahnya konsentrasi yang diberikan. Artinya semakin tinggi konsentrasi yang diberikan maka semakin tinggi zat antimikroba yang dihasilkan.

Adanya perbedaan diameter zona hambat sinbiotik yang terbentuk antara kontrol dengan perlakuan disebabkan karena adanya aktivitas bakteri *Lactobacillus acidophilus* dalam hal

menghasilkan asam laktat melalui proses fermentasi. Asam laktat yang dihasilkan dengan cara tersebut akan menurunkan pH lingkungan pertumbuhannya. Pada fermentasi asam laktat oleh bakteri *Lactobacillus acidophilus*, pH medium mengalami penurunan dari pH 6 menjadi sekitar 4. pH merupakan salah satu faktor yang dominan dimana bakteri patogen seperti *Escherichia coli* tidak tahan terhadap kondisi asam sehingga hadar pH tersebut tergolong rendah dan tidak cocok untuk pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* yang tumbuh optimum pada pH 6-7. Selain pH, faktor lain yang dapat mempengaruhi besarnya zona hambat sinbiotik yang terbentuk adalah adanya bakteriosin. Bakteriosin merupakan senyawa protein yang dieksresikan oleh bakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri lain terutama yang bersifat patogen (Tagg et al. 1976). Pada umumnya produk akhir prebiotik adalah asam lemak rantai pendek seperti asetat, propionate, butirrat dan gas seperti karbondioksida dan hydrogen. Penurunan pH oleh asam-asam rantai pendek tersebut akan menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* (Hiwin. 2010).

Kemampuan bakteri *Lactobacillus acidophilus* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dalam penelitian ini, dapat dilihat dari aktivitas bakteri tersebut dalam hal memfermentasi asam laktat. Asam laktat merupakan salah satu metabolit primer yang dihasilkan dalam proses fermentasi. Metabolit primer adalah senyawa-senyawa kimia yang dihasilkan oleh mikroba dan dibutuhkan oleh mikroba tersebut untuk pertumbuhannya. Lama fermentasi dan banyaknya pemberian konsentrasi inulin berpengaruh terhadap total asam yang akan dihasilkan bakteri *Lactobacillus acidophilus* (Astawan. 2007). Semakin banyak inulin yang diberikan dan lama waktu yang digunakan untuk fermentasi, maka pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus* akan semakin meningkat, sehingga bakteri tersebut lebih banyak menghasilkan asam laktat dari hasil metabolisme glukosa.

Bakteri *Lactobacillus acidophilus* merupakan bakteri homofermentatif yang mampu memfermentasi gula (glukosa, fruktosa, galaktosa, sukrosa, dan laktosa) menjadi asam laktat. Proses fermentasi asam laktat dilakukan melalui jalur glikolisis. Glikolisis adalah pemecahan glukosa menjadi piruvat atau asam laktat, dimana asam laktat yang dihasilkan akan menurunkan pH. Proses pembentukan asam laktat pada bakteri *Lactobacillus acidophilus* yaitu inulin yang terdapat pada medium MRS Broth akan dibawa masuk ke dalam sel bakteri dan dipecah menjadi unit yang lebih sederhana, yaitu fruktosa. Di dalam sel bakteri, fruktosa akan melalui proses glikolisis menjadi asam piruvat. Asam piruvat kemudian akan diubah oleh enzim laktat dehidrogenase menjadi asam laktat. Dari proses tersebut asam laktat akan disekresikan oleh bakteri ke dalam cairan ekstraselularnya yaitu medium MRS Broth sebagai hasil metabolisme bakteri sedangkan dari proses metabolisme ini bakteri memperoleh energi untuk pertumbuhannya.

Hasil pengujian pertumbuhan *Escherichia coli* ternyata memperlihatkan penurunan daya hambat dengan melihat berkurangnya diameter zona hambat pada waktu inkubasi 48 jam. Ini terlihat dimana pada daerah sekeliling pencadang kemudian kembali ditumbuhi bakteri. Berkurangnya diameter zona hambat disebabkan

oleh berkurangnya jumlah prebiotik inulin yang merupakan sumber energi bagi bakteri *Lactobacillus acidophilus*, sehingga keefektifan kerja dari bakteri tersebut dalam menghasilkan asam laktat dan senyawa bakteriocin berkurang. Penurunan ini menunjukkan bahwa bakteri *Lactobacillus acidophilus* yang disuplemen dengan inulin bersifat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* atau berfungsi sebagai bakteriostatik yang berarti bakteri ini hanya mampu menghambat pertumbuhan dari bakteri *Escherichia coli*.

D. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penilitan dan pembahasan, disimpulkan bahwa:

- (1) Karakteristik inulin yang dihasilkan dari bawang merah (*Allium cepa*) berwarna putih, larut dalam air, sedikit berbau bawang tidak menunjukkan perubahan warna setelah diberikan larutan iodium.
- (2) Ekstrak inulin dari bawang merah (*Allium cepa*) dengan berbagai konsentrasi berpengaruh dalam hal meningkatkan daya hambat sinbiotik bakteri *Lactobacillus acidophilus* terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Konsentrasi inulin yang paling efektif adalah pada 10.000 ppm dengan diameter zona hambat yang terbentuk sebesar 5,93 mm.

E. DAFTAR PUSTAKA

- Alimuddin. Mikrobiologi Dasar. Makassar: Universitas Negeri Makassar, 2006.
- Arizah, Dia. Skrining Senyawa Antibakteri dari *Caulerpa sertularioides* Sekitar Pulau Lae-lae Kecamatan Ujung Pandang Makassar. Skripsi Sarjana, Fakultas Farmasi UNHAS: Makassar, 2009.
- Ardiansyah. Antimikroba dari Tumbuhan. Artikel Iptek. <http://www.beritaipstek.com>. Diakses Tanggal (04/11/2011).
- Astawan M.Brem. <http://www.cybermed.cbn.net>, 2007. Diakses tanggal (27/11/2011).
- Arifin Achmad, Sjamsul dan Euis Holiston Hakim. Ilmu Kimia dan Kegunaan Tumbuh-Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 5. Bandung: Penerbit ITB, 2009.
- Ariyati Rum, Ira. Optimasi Pembuatan Cocogurt (Yogurt Santan Kelapa) dengan Kultur Campuran *Lactobacillus acidophilus* Moro dan *Streptococcus thermophilus* Orla-Jensen. Jurnal, Fakultas Teknologi Industri Pertanian: Jatinangor, 2009.
- Bell, Garrity GM J.A and Liburn, T.G, Taxonomic Outline of The Prokaryotes Bergey's Mnaual of Sistemaitic Bacteriologi, 2nd Edition. United State of Amerika: Berlin Heidelberg, 2004.
- Berlianto, Wisnu , "Terapi Sinbiotik Terhadap Diare Akut dengan Intoleransi Laktosa Sekunder", Tesis, Progam Pascasarjana Universitas Diponegoro: Semarang, 2005.
- Bioma Undip, Inulin untuk Kesehatan, [http://www.mybioma.wordpress.com/2008/06/04/Inulin-untuk kesehatan/html](http://www.mybioma.wordpress.com/2008/06/04/Inulin-untuk%20kesehatan/html). Diakses tanggal (17/10/2010).
- Buttris, J. Nutritional properties of fermented milk products. International Journal of Dairy Technology, 1997.
- Cracken, Mc. Probiotics and The Immune System In Probiotics. Norfolk USA: Horizon Scientific Press, 1999.
- Departemen Agama. Al Qur'an dan Terjemahannya. Magfirah Pustaka: Jakarta, 2009.

- Djidje, Natsir, Sartini dan Syahrudin Kadir, Analisis Mikrobiologi Farmasi. Laboratorium Mikrobiologi Farmasi UNHAS: Makassar, 2006.
- Dwidjoseputro. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Jakarta: Djambatan, 1998.
- Dwi Suharmoko, Bambang. Fermentasi. http://bambangdwisuharmoko.blogspot.com/2009_05_01_archive. (17/10/2010).
- Hala, Yusminah dan Muhammad Khalifah. Biologi Umum. Makassar: Alauddin pres, 2006.
- Hana. Pengaruh Pemanasan Terhadap Kemampuan Ekstrak Gula Talas (*Calocasia esculenta* (L)) untuk Mendukung Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat dan Evaluasi In Vivo Potensi Prebiotik. (Jurnal, Sarjana Teknologi Pertanian: IPB Bogor, 2007).
- Hoan Tjay, Tan dan Kirana Rahardja. Obat-obat Penting: Khasiat, Penggunaan dan Efek-efek Sampingnya Edisi. 5. Jakarta: Elex Media Komputindo, 2002.
- Hiwin. Probiotik, Prebiotik dan Sinbiotik. <http://www.hiwin@restomesin.com>. Diakses tanggal (14/10/2010).
- Houghton, P.J. dan Raman A. Laboratory Handbook for The Fractionation of Natural Extracts. London: Chapman & Hall, 1998.
- Irianto, Koes. Mikrobiologi Menguak Dunia Mikroorganisme. Bandung: Yrama Widja, 2006.
- Jaelani, Khasiat. Bawang Merah. Yogyakarta: Kanisius, 2007.
- JE, Spiegel. Safety and Benefits of Fructo Oligosaccharides as. Food ingrediedints, 1994.
- Jawetz, Melnik, dan Adelbergs. Mikrobiologi Kedokteran. Jakarta: Salemba Medika, 2009.
- Jaelani. Khasiat Bawang Merah. Yogyakarta: Kanisius, 2007.
- Kusharto, Clara M. dan Rusilanti. Hidup Sehat dengan Mengonsumsi Serat Makanan. Jakarta: Agro Media Pustaka. 2007.
- Kusumawati, Ida. Pengaruh Senyawa Prebiotik dari Bawang Merah (*Allium cepa*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Proiotik. Jurnal. Fakultas Farmasi Air Langga: Semarang, 2005.
- Mc Cracken. Probiotics dan The Immune System In Probiotics. Horizon Scientific Press: Norfolk USA, 1999.
- Manning, T.S & Gibson, G.R. Probiotics Best Practice Clinical Gastroenterology Vol (18) No.2. 2004.
- Murtidjo, Bambang Agus. Pemotongan dan Penangan Daging Ayam. Kanisius: Yogyakarta, 2003.
- Pelczar, M, J., dan E. C. S. Chan, Dasar-dasar Mikrobiologi Edisi 1, Terjemahan R. S. Hadioetomo, dkk. Jakarta: Universitas Indonesia Press, 1986.
- Poedjiadi, Anna. Dasar-dasar Biokimia. Jakarta: Universitas Indonesia Press, 1994.
- Purwoko, Thahjadi. Fisiologi Mikroba. Jakarta: Bumi Aksara, 2009.
- Rahmat, Makanan Murah Meriah dan Bergizi, <http://www.puskesmas-simpang-empat.wordpress.com>. (10/10/2010).
- Samadi, Budi. Bawang Merah Intensifikasi Usaha Tani. Yogyakarta: Kanisius, 2005.
- Sandi, Evika Savitri. Rahasia Tumbuhan Berkhasiat Obat Perspektif Islam. Malang: UIN Malang Press, 2008.
- Supardi, Imam dan Sukamto. Mikrobiologi dalam Pengolahan dan Keamanan Pangan. Bandung: Alumni, 1999.
- S. G. Ganiswarna. Farmakologi dan Terapi, Edisi 4. Jakarta: Kedokteran EGC. 1995.
- Swandari, Swestika, "Probiotik dan Prebiotik, Serupa Tapi Tak Sama". [Http://www.serambisehat.net/content/prebiotik-dan-probiotik-serupa-tapi-tak-sama](http://www.serambisehat.net/content/prebiotik-dan-probiotik-serupa-tapi-tak-sama). Diakses tanggal (14/10/2010).
- Sri, Widowati. Ekstraksi Karakterisasi dan Kajian Potensi Prebiotik Inulin dari Umbi Dahlia (*Dahlia Pannita* L). <http://www.Puslitan.bogor.net/indeks>. Diakses Tanggal (04/12/2011).
- Sudarmo, SM. Peranan Probiotik dan Probiotik dalam Upaya Pencegahan dan Pengobatan Diare Pada Anak: Dalam Kongres BKGAI . Bandung: BKGAI. 2003.
- Sujaya, dkk. Health Secret of Kefir: Menguak Keajaiban Susu Asam untuk Penyembuhan Berbagai Penyakit. Jakarta: Gramedia Media Komputindo, 2008.
- Tagg JR, Dajani AS, Wannamaker LW. Bacteriocins of Gram positive bacteria. Bacteriol Rev. 1976.
- Tjitrosoepomo, Gembong. Taksonomi Tumbuhan Obat-obatan. Yogyakarta: Gajah Mada. 2005.
- WE, Sandine. Roles of *Lactobacillus* in the Intestinal Tract. J Food Protection, 1979.
- Wattimena, JR, dkk. Farmakodinami dan Terapi Antibiotik. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada, 1981.
- Wikipedia. *Lactobacillus acidophilus*. <http://id.wikipedia.org/wiki/Lactobacillus-acidophilus/html>. Diakses tanggal (05/02/2011).
- Wikipedia. *Escherichia coli*. <http://id.wikipedia.org/wiki/Escherichia-coli/html>. Diakses tanggal (05/02/2011).
- Wikipedia. *Bawang Merah*. http://id.wikipedia.org/wiki/Bawang_merah/html. Diakses tanggal (05/02/2011).
- Pelczar, M, J., dan E. C. S. Chan, Dasar-dasar Mikrobiologi Edisi 2, Terjemahan R. S. Hadioetomo, dkk. Jakarta: Universitas Indonesia Press, 1986.