



**PENGARUH PREBIOTIK EKSTRAK ETANOL UMBI BAWANG PUTIH
(*Allium sativum* L.) PADA PERTUMBUHAN BAKTERI PROBIOTIK
Lactobacillus casei SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh

**Siti Nurhalimah
NIM 141810401029**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2018**



**PENGARUH PREBIOTIK EKSTRAK ETANOL UMBI BAWANG PUTIH
(*Allium sativum* L.) PADA PERTUMBUHAN BAKTERI PROBIOTIK
Lactobacillus casei SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Biologi (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Sains

oleh

**Siti Nurhalimah
NIM 141810401029**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2018**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Ibunda Sudartik dan Ayahanda Mistari, Nenek Misnayah dan Alm. Kakek Bonari, Kakakku tercinta Andi Siswanto dan Elok, Adekku Azkya Munggi Elsandi serta seluruh keluarga yang telah memberikan banyak pengorbanan, doa, motivasi serta kasih sayang kepada penulis sehingga bisa melangkah sejauh ini;
2. Almamater tercinta yaitu Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember;
3. bapak dan ibu Dosen di Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember yang telah membimbing dan mendukung dengan memberikan ilmu pengetahuan dan pengalaman kepada penulis;
4. bapak dan ibu guru mulai TK, SD, SMP, SMA yang telah membimbing penulis dari kecil hingga sekarang;
5. Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

MOTO

“Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Maka apabila kamu telah selesai (dari suatu urusan), kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain, dan hanya kepada Tuhanmulah hendaknya kamu berharap.”
(QS. Al-Insyiroh ayat 6-8)*)

“Jika kita hanya mengerjakan yang sudah kita ketahui, kapankah kita akan mendapatkan pengetahuan yang baru? Melakukan yang belum pernah kita ketahui adalah pintu menuju pengetahuan.”
(Mario Teguh)**)

*) Departemen Agama Republik Indonesia. 2007. *Al-Qur'an dan Terjemahannya*. Bandung: Sinar Baru Algesindo.

***) Bagus, P. 2010. *Motivasi dan Inspirasi Sukses dan Kaya Hari Ini*. Jakarta: Tjap Djempol.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Siti Nurhalimah

NIM : 141810401029

menyatakan dengan sebenarnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Pengaruh Prebiotik Ekstrak Etanol Umbi Bawang Putih (*Allium sativum* L.) Pada Pertumbuhan Bakteri Probiotik *Lactobacillus casei* Secara *In Vitro* adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institut mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia menerima sanksi akademik jika di kemudian hari pernyataan yang saya tulis ini terbukti tidak benar.

Jember, 26 Juli 2018

Yang menyatakan,

Siti Nurhalimah

NIM 141810401029

SKRIPSI

**PENGARUH PREBIOTIK EKSTRAK ETANOL UMBI BAWANG PUTIH
(*Allium sativum* L.) PADA PERTUMBUHAN BAKTERI PROBIOTIK
Lactobacillus casei SECARA *IN VITRO***

Oleh

Siti Nurhalimah
NIM 141810401029

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Drs. Rudju Winarsa, M.Kes.

Dosen Pembimbing Anggota : Drs. Siswanto M.Si.

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul “Pengaruh Prebiotik Ekstrak Etanol Umbi Bawang Putih (*Allium sativum* L.) Pada Pertumbuhan Bakteri Probiotik *Lactobacillus casei* Secara *In Vitro*” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember pada:

hari, tanggal :

tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas
Jember

Tim Penguji:

Ketua,

Drs. Rudju Winarsa, M.Kes.
NIP 196008161989021001

Anggota II,

Dr. rer.nat. Kartika Senjarini, S.Si., M.Si
NIP 197509132000032001

Anggota I,

Drs. Siswanto, M.Si.
NIP 196012161993021001

Anggota III,

Eva Tyas Utami, S.Si., M.Si.
NIP 197306012000032001

Mengesahkan
Dekan,

Drs. Sujito Ph.D.
NIP 196102041987111001

RINGKASAN

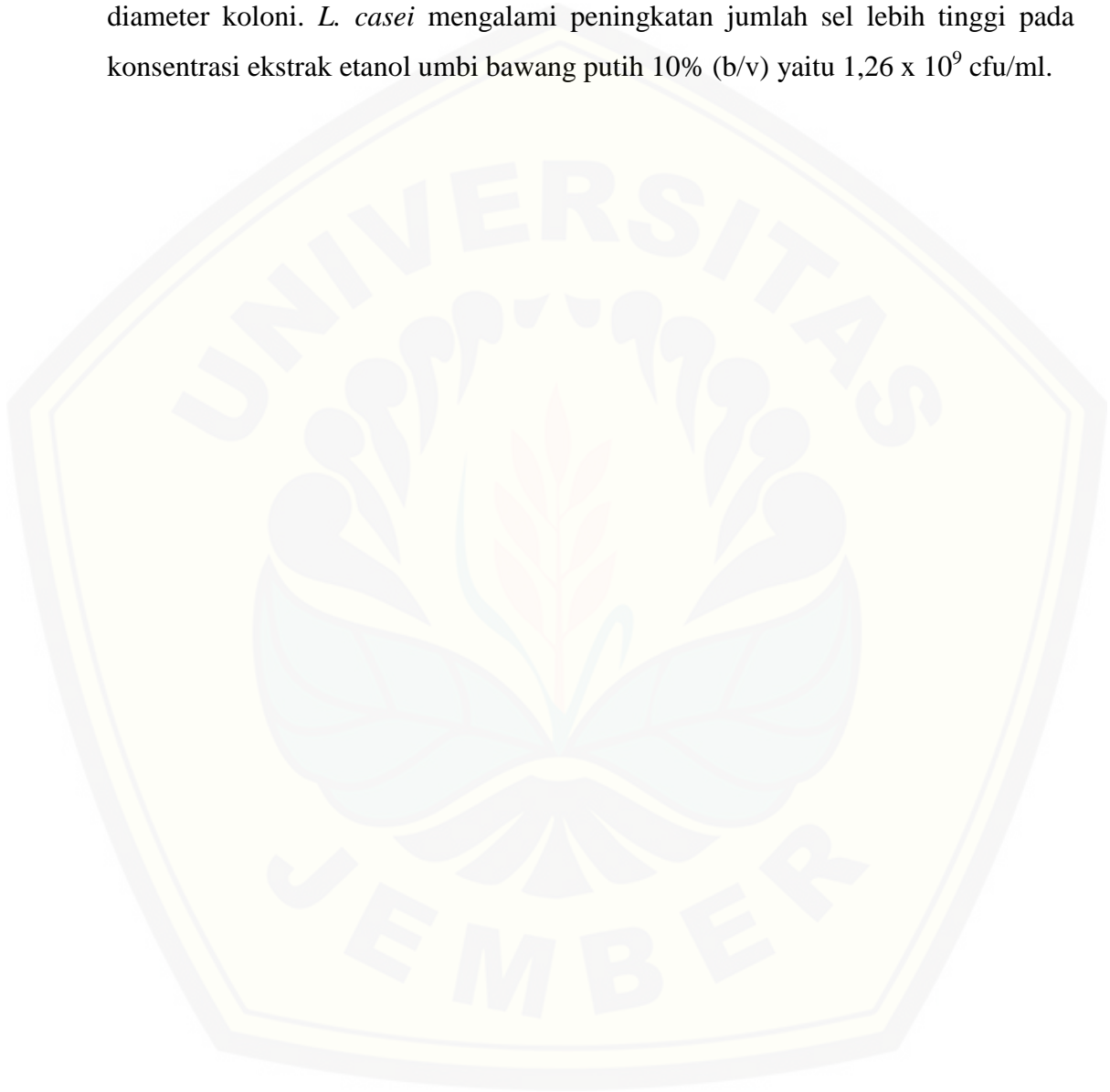
Pengaruh Prebiotik Ekstrak Etanol Umbi Bawang Putih (*Allium sativum* L.) Pada Pertumbuhan Bakteri Probiotik *Lactobacillus casei* Secara *In Vitro*; Siti Nurhalimah, 141810401029; 2018; 43 halaman; Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Probiotik merupakan istilah untuk bakteri baik di dalam sistem pencernaan yang memberikan efek menguntungkan bagi inangnya. Probiotik yang paling banyak digunakan adalah *Lactobacillus* (*L. acidophilus*, *L. casei*, *L. delbruekii*), *Bifidobacterium* (*B. adolescentis*, *B. bifidum*, *B. longum*, *B. infantis*) dan *Streptococcus* (*S. salivarius*, *S. thermophilus*, *S. lactis*). Probiotik berfungsi dalam menjaga keseimbangan mikroba usus dengan menghambat mikroba patogen menggunakan asam laktat yang dihasilkan dari produk fermentasinya. *L. casei* merupakan salah satu spesies bakteri asam laktat yang telah banyak dimanfaatkan sebagai probiotik. Pertumbuhan probiotik dapat dipicu oleh suplai nutrisi dari prebiotik.

Prebiotik merupakan senyawa yang tidak dapat dihidrolisis enzim pencernaan tetapi mampu difermentasikan selektif oleh mikroba usus untuk menstimulasi pertumbuhan dan aktivitas bakteri yang menguntungkan inangnya. Salah satu tanaman yang termasuk prebiotik adalah bawang putih (*Allium sativum* L.). Bawang putih mengandung senyawa inulin sebesar 9-16%. Inulin merupakan fruktooligosakarida yang tidak dapat dihidrolisis enzim pencernaan tetapi dapat difermentasi oleh mikroba usus halus untuk meningkatkan pertumbuhan inangnya.

Prebiotik yang diaplikasikan pada probiotik mampu meningkatkan pertumbuhan inang karena suplai nutrisi dari prebiotik. *L. casei* mampu memfermentasikan senyawa inulin yang ada dalam umbi bawang putih menjadi asam laktat yang berfungsi menghambat bakteri patogen dalam sistem pencernaan. Pertumbuhan *L. casei* dapat dilihat dari jumlah sel dan diameter koloni. Pada penelitian ini dilakukan dengan lima konsentrasi perlakuan ekstrak etanol umbi bawang putih sebesar 0%, 2,5%, 5%, 7,5% dan 10%. Data dianalisis menggunakan

uji ANOVA dengan taraf signifikansi 5%, dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT). Berdasarkan hasil analisis statistik menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) mampu meningkatkan jumlah sel bakteri *L. casei* tetapi tidak berpengaruh terhadap diameter koloni. *L. casei* mengalami peningkatan jumlah sel lebih tinggi pada konsentrasi ekstrak etanol umbi bawang putih 10% (b/v) yaitu $1,26 \times 10^9$ cfu/ml.



PRAKATA

Puji Syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan karuniaNya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Prebiotik Ekstrak Etanol Umbi Bawang Putih (*Allium sativum* L.) Pada Pertumbuhan Bakteri Probiotik *Lactobacillus casei* Secara *In Vitro*”. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan program strata satu (S1) pada Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, sehingga penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Dosen pembimbing utama Drs. Rudju Winarsa, M. Kes, dosen pembimbing anggota Drs. Siswanto, M.Si, dosen penguji saya Dr. rer.nat. Kartika Senjarini, S.Si., M.Si dan Eva Tyas Utami, S.Si., M.Si. yang telah memberikan ilmu, saran, kritik dan bimbingan yang sangat bermanfaat;
2. Drs. Rudju Winarsa, M.Kes selaku dosen pembimbing akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
3. Ir. Endang Soesetyaningsih, selaku teknisi Laboratorium Mikrobiologi yang banyak membantu penulis selama penelitian;
4. ibu, bapak, nenek, alm. kakek dan seluruh keluarga yang telah memberikan banyak do'a, motivasi, materi, dan dukungan yang tiada henti;
5. sahabat-sahabat penelitian saya Eka Yanuarti Ningsih dan Dela Dwi Allawiyah yang selalu menemani dan menyemangati selama proses penyelesaian skripsi saya;
6. sahabat-sahabat terdekat saya Ambulu Mengajar (Dawam Muhtar, Agung Wicaksono, M. Ainul, Lailatus Sa'adah, Qorina Mifta, Siti Fellatul Jannah, Ektiara Framori Yudanti, Widi Oktaviani, Qurotul A'yuni, Yesi Kumalasari) senantiasa memberikan doa, dukungan dan semangat untuk saya;
7. sahabat-sahabat terdekat saya selama kuliah (Emitria Rahmawati, Eka Yanuarti N, Nindi Agusti W, Arina Amalia P, Dela Dwi A, Sara Fati Indra, Reiyang Vivi I, Rini Agustina, Zunairoh Nidaan Khofiya, Ike Nurrohmah, Novia Nur Endah L.) senantiasa memberikan doa, dukungan dan semangat untuk saya;

8. sahabat seperjuangan jurusan Biologi angkatan 2014 yang tidak dapat disebut satu persatu, khususnya (Khilia Nisa, Zunairoh Nidaan Khofiya, Fianda, Dwi Nur, Erlinka, Anisatul Ulamah) senantiasa memberikan doa, dukungan, perhatian dan kebersamaan;
9. sahabat KKN 92 Sabrang, Ambulu (Eka Zahria Siska, Devi Lavitasari, Gafinda Andri Aswari, Fahmi Maulana, Asrul Afani Rohmatul Akbar, Shabrina Aldilia Anandiba, Muchamad Verizal Setyo Wardana, Randhu Brilliant Al Farezi, Laurensia Jeany) terima kasih buat doa dan waktu kebersamaan yang kalian berikan;
10. sahabat-sahabat terdekat saya (Zulfa Sinta F, Pristinia Wirasanti, Ingrid, Fitroh, Riska, Rina Puji Astutik, Sri Wahyuni, Nurul Vita, Desi Trisakti, Ulfi Dyah) yang telah memberikan doa, perhatian, dan motivasi dalam menyelesaikan skripsi ini;
11. semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna, seperti ketidaksempurnaan pada diri manusia. Oleh karena itu, penulis menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis khususnya dan pembaca pada umumnya.

Jember, Juli 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN.....	v
HALAMAN PENGESAHAN.....	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Batasan Masalah.....	3
1.4 Tujuan	3
1.5 Manfaat	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Pengertian, Fungsi dan Syarat-Syarat Probiotik	4
2.2 Pengertian, Fungsi dan Syarat-Syarat Prebiotik	5
2.3 Klasifikasi, Morfologi dan Karakteristik <i>Lactobacillus casei</i>	7
2.4 Klasifikasi, Morfologi dan Kandungan Kimia Bawang Putih (<i>Allium sativum</i> L.)	9
2.5 Hipotesis	12

BAB 3. METODE PENELITIAN	13
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	13
3.2 Alat dan Bahan	13
3.3 Rancangan Penelitian	13
3.4 Prosedur Penelitian	14
3.4.1 Persiapan Penelitian.....	15
3.4.2 Uji Pertumbuhan Bakteri	16
3.5 Analisis Data	18
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	19
4.1 Hasil Ekstraksi Umbi Bawang Putih (<i>Allium sativum</i> L.)	19
4.2 Pengaruh Ekstrak Etanol Umbi Bawang Putih (<i>Allium sativum</i> L.) Terhadap Pertumbuhan bakteri <i>Lactobacillus casei</i>	19
4.3 Perbedaan Kurva Pertumbuhan Bakteri <i>Lactobacillus casei</i> Konsentrasi Kontrol dan Konsentrasi Optimum	24
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	26
5.1 Kesimpulan	26
5.2 Saran	26
DAFTAR PUSTAKA	27
LAMPIRAN	33

DAFTAR TABEL

Halaman

2.1 Kandungan Inulin dan Oligofruktosa pada beberapa tumbuhan 11



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Struktur morfologi <i>Lactobacillus casei</i>	8
2.2 Struktur Umbi Bawang Putih (<i>Allium sativum</i> L.).....	10
3.1 Bagan Prosedur Penelitian	14
4.1 Jumlah Sel Bakteri <i>Lactobacillus casei</i> pada Medium GYP Agar yang disuplementasi Ekstrak Etanol Umbi Bawang Putih (<i>Allium sativum</i> L.) pada berbagai konsentrasi	20
4.2 Diameter Koloni <i>Lactobacillus casei</i> pada Medium GYP agar.....	23
4.3 Diameter Koloni <i>Lactobacillus casei</i> pada Medium GYP Agar yang disuplementasi Ekstrak Etanol Umbi Bawang Putih (<i>Allium sativum</i> L.) pada berbagai konsentrasi	23
4.4 Pertumbuhan Bakteri <i>Lactobacillus casei</i>	24

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Komposisi Medium GYP (<i>Glucose Yeast Peptone</i>).....	33
Lampiran 2. Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Etanol Umbi Bawang Putih (<i>Allium sativum L.</i>).....	34
Lampiran 3. Hasil Analisis Statistik Jumlah Sel <i>Lactobacillus casei</i> pada masing-masing Konsentrasi Ekstrak Etanol Umbi Bawang Putih (<i>Allium sativum L.</i>)	36
Lampiran 4. Hasil Analisis Statistik Diameter Koloni <i>Lactobacillus casei</i> pada masing-masing Konsentrasi Ekstrak Etanol Umbi Bawang Putih (<i>Allium sativum L.</i>)	37
Lampiran 5. Perhitungan Total Jumlah Sel <i>Lactobacillus casei</i> pada Medium GYP agar tanpa suplementasi Ekstrak Etanol Umbi Bawang Putih (<i>Allium sativum L.</i>) dan Konsentrasi 10% (b/v)	38
Lampiran 6. Foto Jumlah Koloni <i>Lactobacillus casei</i> pada Medium GYP Agar yang disuplementasi Ekstrak Etanol Umbi Bawang Putih (<i>Allium sativum L.</i>) pada berbagai konsentrasi.....	39
Lampiran 7. Foto Diameter Koloni <i>Lactobacillus casei</i> pada Medium GYP Agar yang disuplementasi Ekstrak Etanol Umbi Bawang Putih (<i>Allium sativum L.</i>) pada berbagai konsentrasi.....	42

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Probiotik merupakan istilah yang dipergunakan untuk bakteri baik di dalam sistem pencernaan yang memberikan efek menguntungkan bagi inangnya (Fuller, 1989). Probiotik yang paling banyak digunakan adalah *Lactobacillus* (*L. acidophilus*, *L. casei*, *L. delbruekii*), *Bifidobacterium* (*B. adolescentis*, *B. bifidum*, *B. longum*, *B. infantis*) dan *Streptococcus* (*S. salivarius*, *S. thermophilus*, *S. lactis*) (Gibson dan Roberfroid, 1995). Probiotik berfungsi dalam menjaga keseimbangan mikroba usus dengan menghambat mikroba patogen menggunakan asam laktat yang dihasilkan dari produk fermentasinya (Rautry *et al.*, 2011).

Karakteristik yang harus dipenuhi sebagai probiotik yaitu mampu bertahan pada kondisi asam lambung serta konsentrasi garam empedu yang tinggi di dalam usus halus dan memberikan efek yang menguntungkan bagi tubuh. (Fuller, 1991). *L. casei* merupakan salah satu spesies bakteri asam laktat yang telah banyak dimanfaatkan sebagai probiotik (Widodo *et al.*, 2003). Menurut Sunaryanto *et al.*, (2014) *L. casei* terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*, *S. aureus* dan *E. faecalis*. Keunggulan dari *L. casei* juga mampu hidup sampai dengan konsentrasi garam empedu 15% dan tahan terhadap media asam hingga pH 2 (Sunaryanto *et al.*, 2014). Hal yang tidak kalah pentingnya terkait probiotik adalah prebiotik.

Polisakarida merupakan senyawa prebiotik yang tidak dapat dihidrolisis enzim pencernaan tetapi mampu difermentasikan selektif oleh mikroba usus guna menstimulasi pertumbuhan dan aktivitas bakteri yang menguntungkan inangnya (Roberfroid, 2001). Senyawa-senyawa yang termasuk kelompok prebiotik yaitu *fructooligosaccharides* (FOS), *transgalactooligosaccharides* (TOS), *lactulose*, *inulin type fructans*, *galactooligosaccharides*, *soybean oligosaccharides* (*raffinose and stachyose*), *isomaltooligosaccharides* (IOS), *glucooligosaccharides* dan *xylooligosaccharides* (Gibson dan Roberfroid, 1995; Gibson dan Fuller, 2000). Menurut Roberfroid (2007) inulin dan oligofruktosa termasuk senyawa prebiotik

karena senyawa tersebut secara selektif dapat merangsang pertumbuhan bakteri probiotik yang menguntungkan sistem pencernaan. Inulin ditemukan pada berbagai jenis tanaman pangan antara lain asparagus, bawang merah, bawang putih, daun bawang, artichoke Yerusalem, sawi putih, dan lain-lain (Kaur dan Gupta, 2002).

Hasil penelitian Kusumawati dan Zaini (2005) menunjukkan bahwa inulin yang diekstrak dari bawang merah dengan konsentrasi 10.000 ppm dapat meningkatkan pertumbuhan bakteri *L. casei*. Penelitian oleh Hartono *et al.*, (2013) menunjukkan bahwa inulin yang diekstraksi dari bawang merah (*Allium cepa* L.) dengan konsentrasi 10.000 ppm mampu meningkatkan jumlah sel bakteri *Lactobacillus acidophilus* menjadi $2,84 \times 10^9$ cfu/ml lebih tinggi dibandingkan kontrol. Inulin pada bawang merah sebesar 1,1-7,5% (Moshfegh *et al.*, 1999).

Tanaman lain yang mengandung prebiotik adalah bawang putih (*Allium sativum* L.). Bawang putih mengandung senyawa inulin sebesar 9-16% (Moshfegh *et al.*, 1999). Inulin sebagai substrat (prebiotik) merupakan fruktooligosakarida yang tidak dapat dihidrolisis enzim pencernaan tetapi dapat difermentasi oleh bakteri usus (Roberfroid, 2007). Menurut Wiryawan *et al.*, (2005) pemberian tepung bawang putih sebanyak 2,5% di dalam ransum mampu meningkatkan efisiensi pakan ayam broiler yang terinfeksi *Salmonella typhimurium*. Menurut Prihandani *et al.*, (2015) bubuk bawang putih efektif sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, dan *Pseudomonas aeruginosa* sehingga cocok untuk menjaga kualitas dan meningkatkan keamanan pangan pada bahan makanan seperti daging ayam. Berdasarkan latar belakang tersebut maka perlu dilakukan penelitian mengenai efek prebiotik ekstrak etanol umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) terhadap pertumbuhan bakteri probiotik *L. casei* secara *in vitro*.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah penelitian ini adalah bagaimana pengaruh prebiotik ekstrak etanol umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) pada pertumbuhan bakteri probiotik *L. casei* secara *in vitro*?

1.3 Batasan Masalah

Batasan masalah penelitian ini adalah;

- 1.3.1 Medium yang digunakan standar dan pembanding untuk pertumbuhan bakteri probiotik *L. casei* adalah GYP (*Glucose Yeast Peptone*).
- 1.3.2 Pelarut yang digunakan adalah pelarut etanol 96%.

1.4 Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh prebiotik ekstrak etanol umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) pada pertumbuhan bakteri probiotik *L. casei* secara *in vitro*.

1.5 Manfaat

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini yaitu dapat memberikan informasi ilmiah tentang manfaat umbi bawang putih dalam meningkatkan pertumbuhan bakteri *L. casei* sehingga menjadi acuan pemilihan prebitoik yang dapat mendukung pertumbuhan *L. casei* untuk aplikasi produk sinbiotik.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pengertian, Fungsi dan Syarat-Syarat Probiotik

Probiotik merupakan istilah untuk bakteri baik di dalam sistem pencernaan yang memberikan efek menguntungkan bagi inangnya (Fuller, 1989). Salah satu manfaat klinis dari probiotik sebagai komponen makanan yang mengandung mikroba hidup adalah sebagai pencegah diare. Beberapa probiotik yang digunakan dalam upaya pencegahan diare terkait antibiotik meliputi *Saccharomyces*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* dan *Streptococcus*. Namun hanya *Saccharomyces boulardii*, *Enterococcus faecium* dan *Lactobacillus* yang telah terbukti efektif secara klinis dalam mencegah diare terkait antibiotik (Rolfe, 2000).

Probiotik di dalam saluran pencernaan penting untuk menjaga keseimbangan ekosistem mikroba dalam usus. Probiotik berfungsi memperbaiki keseimbangan mikrobiologi dalam pencernaan antara bakteri non patogen seperti *Lactobacillus*, *Streptococcus*, dan *Bifidobacterium* dan bakteri patogen seperti *Escheria coli*, *Salmonella enteritidis* dan *Clostridium botulinum* (Fuller, 1991). Menurut Sunaryanto *et al.*, (2014) bakteri *L. casei* terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*, *S. aureus* dan *E. faecalis*. Pertumbuhan bakteri patogen dapat ditekan oleh bakteri menguntungkan yang terdapat dalam minuman probiotik sehingga dapat menjaga keseimbangan mikroba dalam usus.

Probiotik yang sering digunakan adalah *Lactobacillus* (*L. acidophilus*, *L. casei*, *L. delbruekii*), *Bifidobacterium* (*B. adolescentis*, *B. bifidum*, *B. Longum*, *B. infantis*) dan *Streptococcus* (*S. salivarius*, *S. Thermophilus*, *S. lactis*) (Gibson dan Roberfroid, 1995). Seleksi mikroba khususnya bakteri asam laktat (BAL) sangat diperlukan untuk mendapatkan strain-strain probiotik yang unggul. Menurut Fuller (1991) strain BAL yang sering digunakan dalam probiotik sebagian besar adalah isolat usus seperti *L. acidophilus*, *L. casei*, *E. faecium* dan *B. Bifidum*. Keberadaan probiotik dalam usus sangat penting dipertahankan karena mampu memperbaiki sistem kekebalan tubuh, meningkatkan fungsi usus dengan menjaga keseimbangan

mikroba, mensintesis vitamin, menekan pertumbuhan bakteri patogen dan menurunkan kolesterol darah.

Syarat yang harus dipenuhi sebagai probiotik yaitu bersifat nonpatogenik dan memberikan efek yang menguntungkan bagi tubuh. Selain itu mampu bertahan pada kondisi asam lambung serta konsentrasi garam empedu yang tinggi di dalam usus (Fuller, 1991). Probiotik melakukan kegiatan metabolisme dalam usus dengan memproduksi asam-asam organik sebagai hasil fermentasi sehingga bersifat antimikroba terhadap bakteri yang merugikan (Rolfe, 2000).

2.2 Pengertian, Fungsi dan Syarat-Syarat Prebiotik

Prebiotik merupakan bahan makanan yang tidak dapat dicerna usus tetapi dapat difermentasi oleh mikroba usus guna menstimulasi pertumbuhan dan aktivitas bakteri yang menguntungkan inangnya (Roberfroid, 2001). Prebiotik merupakan senyawa polisakarida yang tidak terhidrolisis oleh enzim pencernaan tetapi dapat difermentasikan oleh mikroba usus untuk merangsang pertumbuhan dan aktivitas bakteri yang menguntungkan dalam saluran pencernaan (Roberfroid, 2007). Bakteri tersebut meliputi *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* dan *Streptococcus* yang terdapat didalam pencernaan (Gibson dan Roberfroid, 1995).

Prebiotik umumnya berupa oligosakarida dan serat pangan seperti inulin yang tidak dapat dicerna dan diserap sistem pencernaan (Reddy, 1999). Collins dan Gibson (1999) menyatakan beberapa jenis prebiotik antara lain fruktooligosakarida (FOS) (contoh: oligofruktosa dan neosugar), inulin, galaktooligosakarida (GOS), laktulosa, dan laktitol. Gibson dan Fuller (2000) melengkapi bahwa jenis prebiotik lainnya yaitu *lactulose*, *inulin type fructans*, *galactooligosaccharides*, *soybean oligosaccharides* (*raffinose* dan *stachyose*), *isomaltooligosaccharides* (IOS), *glucooligosaccharides* dan *xylooligosaccharides*. Menurut Roberfroid (2007) inulin dan oligofruktosa termasuk senyawa prebiotik karena senyawa tersebut secara selektif dapat merangsang pertumbuhan bakteri probiotik yang menguntungkan sistem pencernaan.

Sumber prebiotik secara alami diperoleh dari Air Susu Ibu (ASI) yaitu dalam bentuk oligosakarida *N-acetyl glucosamine* dalam kolustrum. Prebiotik ini hanya tercerna kurang dari 5% di usus serta dapat mendukung pertumbuhan probiotik *Bifidobacterium* (Surono, 2004). Prebiotik dapat diperoleh dari sumber tanaman seperti bawang, asparagus, pisang dan beberapa oligosakarida pada kedelai. Oligosakarida yang telah banyak digunakan dan memenuhi syarat sebagai prebiotik adalah GOS (galaktooligosakarida) dan FOS (fruktooligosakarida, termasuk inulin). FOS diperoleh melalui ekstraksi tanaman yang mengandung inulin atau dengan polimerisasi monomer fruktosa secara enzimatik, sedangkan GOS dibuat dengan transgalaktosilasi secara enzimatik (Roberfroid, 2007). Menurut Grizard dan Barthomeuf (1999) prebiotik dapat diperoleh dengan beberapa cara, yaitu ekstraksi langsung polisakarida alami dari tumbuhan, hidrolisis polisakarida alami atau sintesis enzimatik dengan enzim hidrolase atau glikosil transferase yang mengkatalisis reaksi transglikosilasi hingga terbentuk oligosakarida sintetik dari monoakarida dan disakarida.

Bahan pangan dapat diklasifikasikan sebagai prebiotik bila memenuhi persyaratan antara lain (1) tidak terhidrolisa atau terserap dalam saluran pencernaan bagian atas sehingga dapat mencapai usus tanpa perubahan struktur; (2) berperan sebagai substrat yang secara selektif dapat merangsang pertumbuhan bakteri yang menguntungkan pada usus; (3) mengubah komposisi mikroba usus sehingga menguntungkan bagi kesehatan dengan menekan pertumbuhan bakteri patogen; (4) meningkatkan efek yang positif bagi kesehatan inang (Gibson, 1999). Menurut Brownawell *et al.*, (2012) syarat suatu pangan bisa dikatakan sebagai prebiotik adalah pertama mampu bertahan hidup dalam pH asam, tidak hidrolisis oleh enzim dan absorpsi di saluran pencernaan mamalia, kedua dapat difermentasi oleh mikroba usus, dan yang ketiga adalah selektif merangsang pertumbuhan dan atau aktivitas bakteri probiotik di dalam sistem pencernaan.

2.3 Klasifikasi, Morfologi dan Karakteristik *Lactobacillus casei*

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan bakteri yang memproduksi asam laktat sebagai produk utama dari proses katabolisme glukosa. Kelompok bakteri yang termasuk BAL meliputi *Carnobacterium*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* dan *Weissella*. Kelompok BAL yang banyak digunakan dalam produk fermentasi adalah *Lactobacillus* (Vandamme *et al.*, 1996).

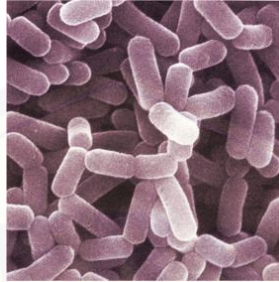
Salah satu jenis *Lactobacillus* adalah *Lactobacillus casei*. Berikut adalah klasifikasi *Lactobacillus casei* :

Filum : Firmicutes
Kelas : Bacilli
Ordo : Lactobacillales
Famili : Lactobacillaceae
Genus : *Lactobacillus*
Spesies : *Lactobacillus casei*
(Garrity *et al.*, 2004)

L. casei merupakan salah satu spesies bakteri asam laktat yang telah banyak dimanfaatkan sebagai probiotik. Keunggulan dari *L. casei* sebagai probiotik yaitu mempunyai efek antagonistik dengan membunuh bakteri patogen, membantu aktifitas *Bifidobacterium* dan bakteri berguna lainnya serta menyerap bahan berbahaya dalam sistem pencernaan (Widodo *et al.*, 2003). Selain itu *L. casei* merupakan mikroba probiotik karena memiliki aktivitas antimikroba (positif menghambat *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Enterococcus faecalis*), mampu hidup sampai dengan konsentrasi garam empedu 15% dan tahan terhadap media asam hingga pH 2 (Sunaryanto *et al.*, 2014).

Berdasarkan morfologinya, *L. casei* berbentuk batang pendek dan tidak mempunyai flagela. *L. casei* bersifat Gram positif, tidak membentuk endospora maupun kapsul, toleran terhadap asam, melakukan metabolisme karbohidrat, memproduksi asam laktat sebagai produk akhir dan tumbuh dengan baik pada kondisi anaerob fakultatif. Berdasarkan suhu pertumbuhannya, *L. casei* termasuk bakteri mesofil yang hidup pada suhu 15 - 41°C dan tahan terhadap media asam

hingga pH 2 (Burrows, 1959). Bentuk penampakan bakteri *L. casei* dapat dilihat pada Gambar 2.1



Gambar 2.1 Struktur morfologi *Lactobacillus casei* (Sumber: Burrows, 1959).

L. casei merupakan jenis BAL yang tergolong homofermentatif (Burrows, 1959). Homofermentatif adalah kelompok bakteri yang hanya memproduksi asam laktat ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OHCOOH}$) dari karbohidrat yang difermentasikan (Volk dan Wheeler, 1989). *Lactobacillus* memiliki kemampuan untuk mengkonversikan laktosa menjadi asam organik seperti asam laktat dan asetat. *Lactobacillus* menghasilkan asam laktat yang aktif yaitu *d*-asam laktat. Selain asam laktat, *Lactobacillus* juga menghasilkan asam sitrat, malat, suksinat, asetaldehid, diasetil dan asetoin dalam jumlah kecil (Speck, 1978). *L. casei* tumbuh optimum pada suhu 28 °C sampai 32 °C (Burrows, 1959). Berdasarkan percobaan yang telah dilakukan oleh Ayuti *et al.*, (2016) pertumbuhan *L. casei* tidak optimal apabila dilakukan penyimpanan pada suhu 10-16 °C. Hal ini disebabkan oleh kadar asam yang tinggi pada produk akan mengakibatkan *L. casei* mati dan kemudian tumbuh ragi dan kapang yang lebih toleran terhadap asam.

L. casei termasuk organisme utama sebagai bagian mikroba yang khas dari air susu. *L. casei* menyebabkan rasa asam pada air susu karena memiliki kemampuan dalam memfermentasi karbohidrat untuk membentuk asam (terutama asam laktat) sehingga pH air susu turun hingga 4,5 (Volk dan Wheeler, 1989). Menurut Prastyaharasti dan Zubaidah (2014) penurunan pH berbanding terbalik dengan total asam yang dihasilkan selama metabolisme oleh bakteri *L. casei* yaitu semakin tinggi total asam yang terbentuk maka semakin menurun derajat keasaman

(pH) dalam medium fermentasi. Jumlah total *L. casei* dalam susu fermentasi sebagai minuman probiotik harus memiliki jumlah total sel yang masih hidup yaitu $>10^8$ cfu/ml. Hal ini disebabkan pertumbuhan bakteri probiotik untuk *L. casei* dapat sampai kesaluran pencernaan dengan kadar tertentu (10^6 - 10^8 cfu/ml) dan tumbuh baik pada penambahan kadar asam laktat yang tidak terlalu tinggi (Ayuti *et al.*, 2016).

2.4 Klasifikasi, Morfologi dan Kandungan Kimia Bawang Putih (*Allium sativum* L.)

Klasifikasi bawang putih (*Allium sativum* L.) dalam sistematika tumbuhan adalah sebagai berikut;

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Liliopsida
Ordo : Liliales
Famili : Liliaceae
Genus : *Allium*
Spesies : *Allium sativum* L.

(CABI, 2017).

Bawang putih (*Allium sativum* L.) adalah umbi lapis yang merupakan salah satu spesies dari genus *Allium*. Bawang putih (*Allium sativum* L.) memiliki hubungan kekerabatan dekat dengan bawang kucai (*Allium schoenoprasum* L.) dan bawang ganda (*Allium odorum* L.) (Stavelikova, 2008).



Gambar 2.2 Struktur Umbi Bawang Putih (*Allium sativum* L.) (Sumber: CABI, 2017).

Struktur morfologi bawang putih terdiri atas akar, batang utama, batang semu, tangkai bunga dan daun. Akar bawang putih (*Allium sativum* L.) terbentuk dipangkal bawah batang sebenarnya (discus) dengan sistem perakaran menyebar. Batang semu bawang putih (*Allium sativum* L.) mencapai ketinggian hingga 30 cm. Batang semu ini terbentuk diatas discus yang dapat berubah bentuk dan berfungsi sebagai tempat penyimpanan cadangan makanan (umbi) (Stavelikova, 2008). Umbi terdiri atas beberapa bagian umbi (siung). Siung dibungkus oleh selaput tipis kuat sehingga seolah-olah umbi yang berukuran besar. Tangkai bawang putih (*Allium sativum* L.) umumnya berukuran pendek sehingga membengkak pada bagian batang semu dan seolah-olah terbentuk umbi kecil. Sekalipun tangkai bunga dapat muncul dari ujung tanaman namun tetap saja pertumbuhannya tidak akan normal (Kumar, 2015).

Bawang putih (*Allium sativum* L.) selain digunakan sebagai bumbu masakan juga sebagai alternatif pengobatan. Pada era modern ini khasiat bawang putih (*Allium sativum* L.) telah banyak dibuktikan secara ilmiah dengan memanfaatkan senyawa kimia yang dikandungnya (Palungkun dan Budiarti, 1992). Umbi bawang putih mengandung beberapa kandungan senyawa yang penting antara lain kalori, karbohidrat, lemak, protein, dan serat makanan serta karbohidrat non struktural yang meliputi glukosa, fruktosa, dan sukrosa yang secara bersama-sama membentuk oligosakarida yang disebut fruktan (Moshfegh *et al.*, 1999). Kandungan inulin dan oligofruktosa bawang putih dapat dilihat pada Tabel 2.1

Tabel 2.1 Kandungan Inulin dan Oligofruktosa pada beberapa tumbuhan (g/100g)

Jenis tanaman	Inulin		Oligofruktosa	
	Range	Nilai tengah	Range	Nilai tengah
Bawang putih				
Basah	9,0-16,0	12,5	3,6-6,4	5,0
Kering	20,3-36,1	28,2	8,1-14,5	11,3
Bawang merah				
Basah	1,1-7,5	4,3	1,1-7,5	4,3
Kering	4,7-31,9	18,3	4,7-31,9	18,3
Pisang				
Basah	0,3-0,7	0,5	0,3-0,7	0,5
Asparagus				
Basah	2,0-3,0	2,5	2,0-3,0	2,5
Akar chicory				
Basah	35,7-47,6	41,6	19,6-26,2	22,9
Dandelion hijau				
Basah	12,0-15,0	13,5	9,6-12,0	10,8
Kering	8,1-10,1	9,1	6,5-8,1	7,3
Globe Artichoke				
Basah	2,0-6,8	4,4	0,2-0,7	0,4
Jerusalem artichoke				
Basah	16,0-20,0	18,0	12,0-15,0	13,5
Daun bawang				
Basah	3,0-10,0	6,5	2,4-8,0	5,2

(Sumber: Moshfegh *et al.*, 1999).

Berdasarkan Tabel 2.1 bawang putih basah mengandung inulin sebesar 9-16% dan oligofruktosa 3,6-6,4% sedangkan keadaan kering mengandung inulin sebesar 20,3-26,1% dan oligofruktosa 8,1-14,5% (Moshfegh *et al.*, 1999). Inulin merupakan kelompok karbohidrat yang tidak dapat dihidrolisis oleh enzim tubuh manusia tetapi difermentasi oleh mikroba usus sehingga menguntungkan sistem pencernaan. Sifat inulin yang mampu difermentasi oleh *Lactobacillus* dapat dikelompokkan sebagai *food ingredient* yang diklasifikasikan sebagai prebiotik (Azhar, 2009). Selain berfungsi untuk merangsang pertumbuhan atau aktivitas bakteri dalam usus, inulin juga mampu mengoptimalkan penyerapan mineral seperti kalsium dan magnesium oleh tubuh.

Selain itu bawang putih (*Allium sativum* L.) juga mengandung zat kimia lain seperti allicin, selenium, sterol, steroida-glikosida dan scordinin. Allicin (diallyl thiosulfinate atau allyl 2-propene thiosulfinate) termasuk kelompok senyawa

organosulfur reaktif dan tidak stabil yang disebut thiosulfinat. Allicin berpotensi sebagai agen antimikroba terkuat pada bawang putih (Singh and Singh, 2008). Sterol terdiri atas kolestrol, kampesterol, beta-sisterol, stigmasterol dan brasikosterol. Steroida-glikosida antara lain saponin yang berfungsi sebagai anti hemolisis, anti tumor dan penawar racun. Selenium dan scordinin berfungsi sebagai antioksidan (Palungkun dan Budiarti, 1992).

Menurut Wijayanti dan Rosyid (2015) ekstrak bawang putih (*Allium sativum* L.) juga mengandung senyawa aktif saponin, minyak atsiri, polifenol dan flavonoid. Ichsan (2009) menyebutkan beberapa saponin bekerja sebagai antimikroba. Minyak atsiri adalah zat bebas yang terkandung dalam tanaman yang memiliki daya antibakteri, antiserangga dan anjamur. Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang memiliki 15 atom karbon. Flavonoid yang terdapat dalam tumbuhan terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon. Flavonoid yang terkandung dalam bawang putih juga memiliki daya antibakteri (Ichsan, 2009).

2.5 Hipotesis

Pemberian prebiotik ekstrak etanol umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) mampu meningkatkan pertumbuhan bakteri probiotik *L. casei* secara *in vitro*.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Jember pada bulan Januari 2018 sampai Mei 2018.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri, jarum ose, bunsen, mikroskop stereo, tabung reaksi, gelas ukur, *Beaker glass*, labu Erlenmeyer, spatula, mikropipet, pipet tetes, pipet volume, rak tabung reaksi, *hand sprayer*, *hot plate*/penangas air, autoklaf, inkubator, Laminar Air Flow (LAF), *hand counter*, kamera *handphone* iphone, timbangan, optilap, blender, *shaker*, vorteks, corong buchner, rotary evaporator, cawan porselin dan botol schott.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat bakteri *L. casei* yang dibeli dari PAU Universitas Gadjah Mada, umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) yang diperoleh dari Pasar Tanjung Jember, medium *Glucose Yeast Peptone* (GYP) agar, medium GYP *broth*, etanol 96%, tween 80, aquades, alkohol 70%, kapas, korek api, tisu, kertas label, kertas *doorslag* dan kertas saring.

3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). RAL berfungsi untuk membandingkan pengaruh konsentrasi yang berbeda terhadap pertumbuhan bakteri probiotik *L. casei* dengan perlakuan kontrol sehingga dapat diketahui konsentrasi yang optimum untuk pertumbuhan bakteri probiotik *L. casei*. Perlakuan konsentrasi meliputi:

A1 : 10 ml medium GYP *broth* tanpa penambahan ekstrak etanol umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) (konsentrasi 0%).

A2 : 9,5 ml medium GYP *broth* + 0,5 ml ekstrak etanol umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) (konsentrasi 2,5%).

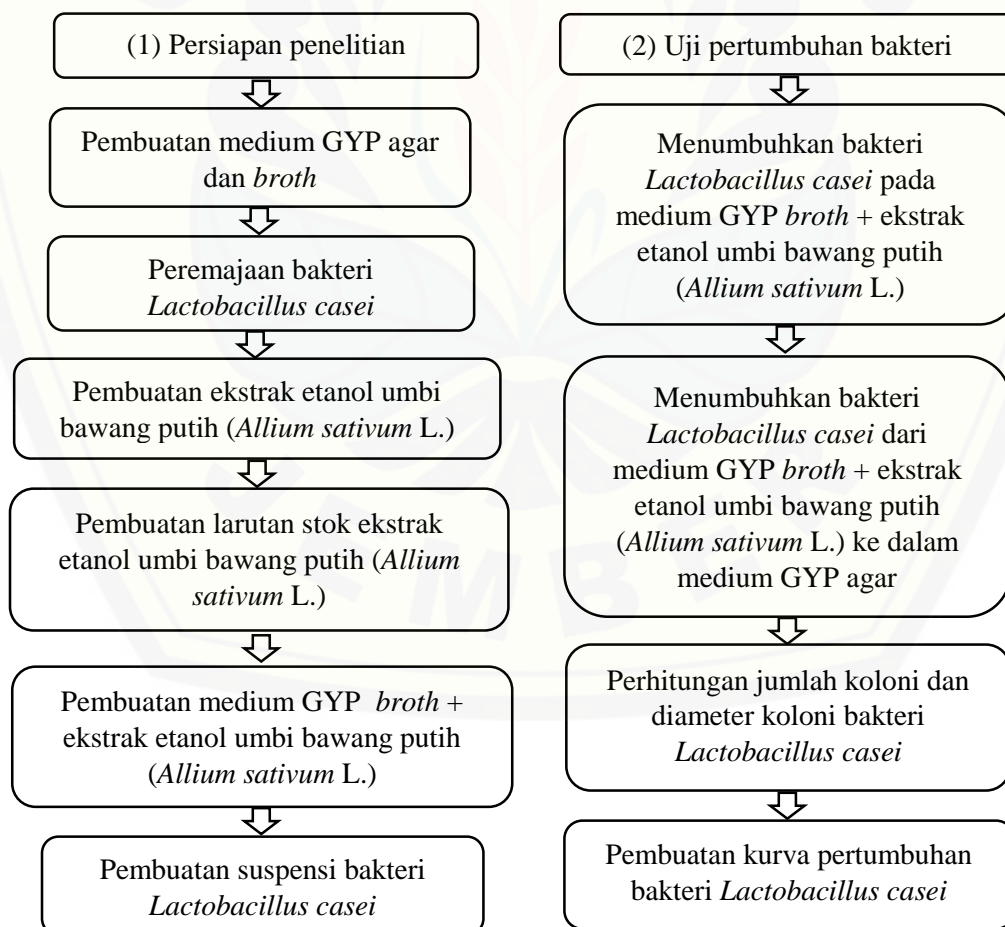
A3 : 9 ml medium GYP *broth* + 1 ml ekstrak etanol umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) (konsentrasi 5%).

A4 : 8,5 ml medium GYP *broth* + 1,5 ml ekstrak etanol umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) (konsentrasi 7,5%).

A5 : 8 ml medium GYP *broth* + 2 ml ekstrak etanol umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) (konsentrasi 10%).

3.4 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian dilakukan dalam 2 tahapan utama. Tahapan-tahapan tersebut dirancang dalam bagan prosedur penelitian Gambar 3.1



Gambar 3. 1 Bagan Prosedur Penelitian

3.4.1 Persiapan Penelitian

a. Pembuatan Medium GYP Agar dan *Broth*

Pembuatan medium GYP (*Glucose Yeast Peptone*) agar dilakukan dengan memasukkan mineral GYP sebanyak 4,7 gram dan tween 80 4 ml kedalam *Beaker glass* 100 ml kemudian dilarutkan dalam 100 ml akuades, sedangkan pembuatan medium GYP *broth* dilakukan dengan memasukkan mineral GYP sebanyak 3 gram dan tween 80 4 ml kedalam *Beaker glass* 100 ml yang kemudian dilarutkan dalam 100 ml akuades. Setelah semua bahan tercampur kemudian dipanaskan sampai mendidih. Medium GYP *broth* dituang dalam tabung reaksi dan GYP agar dituang dalam cawan petri. Langkah berikutnya diautoklaf dan disimpan dalam suhu ruang.

b. Peremajaan Bakteri Probiotik *L. casei*

Isolat bakteri probiotik *L. casei* diambil sebanyak 1 jarum ose yang digoreskan pada cawan petri medium GYP agar. Langkah berikutnya dibungkus dengan kertas *doorslag* dan disimpan dalam suhu ruang. Selanjutnya ditunggu hingga bakteri tumbuh (ditandai adanya zona bening disekitar sel).

Bakteri yang tumbuh diambil 1 jarum ose dan digoreskan pada medium GYP agar miring. Langkah berikutnya ditutup dengan kapas dan disimpan dalam suhu ruang hingga bakteri tumbuh.

c. Pembuatan Ekstrak Etanol Umbi Bawang Putih (*Allium sativum* L.)

Pembuatan ekstrak etanol dilakukan dengan cara menimbang bawang putih yang sudah dikupas dan dibersihkan sebanyak 400 gram (berat basah). Selanjutnya bawang putih diblender dan ditambahkan etanol 96% dengan perbandingan 1:2 (b:v). Langkah berikutnya didiamkan selama 24 jam pada suhu ruang. Proses pendiaman ini bertujuan supaya *crude extract* larut dalam etanol 96%. Setelah itu disaring dengan kertas saring. Filtrat yang diperoleh dievaporasi selama 2-3 jam dengan suhu 80°C untuk mendapatkan ekstrak berupa pasta. (Hartono *et al*, 2013).

d. Pembuatan Larutan Stok Ekstrak Etanol Umbi Bawang Putih (*A. sativum* L.)

Larutan stok ekstrak etanol umbi bawang putih dibuat dengan konsentrasi 50% yaitu dengan menimbang 5 gram ekstrak etanol umbi bawang putih yang dilarutkan dengan tween 80 dalam 10 ml GYP *broth*.

e. Pembuatan Medium GYP *Broth* + Ekstrak Etanol Umbi Bawang Putih (*Allium sativum* L.)

Ekstrak etanol umbi bawang putih dari larutan stok diambil menggunakan pipet tetes yang kemudian dihomogenkan dengan GYP *broth* dalam labu Erlenmeyer (volume ekstrak etanol dan GYP *broth* sesuai dengan masing-masing konsentrasi) yaitu konsentrasi 0% menggunakan 0 ml ekstrak etanol + 10 ml GYP *broth*, konsentrasi 2,5% menggunakan 0,5 ml ekstrak etanol + 9,5 ml GYP *broth*, konsentrasi 5% menggunakan 1 ml ekstrak etanol + 9 ml GYP *broth*, konsentrasi 7,5% menggunakan 1,5 ml ekstrak etanol + 8,5 ml GYP *broth* dan konsentrasi 10 % menggunakan 2 ml ekstrak etanol + 8 ml GYP *broth*. Selanjutnya ditutup kapas dan di autoklaf. Langkah berikutnya disimpan pada suhu ruang selama 24 jam.

f. Pembuatan Suspensi Bakteri Probiotik *L. casei*.

Pembuatan suspensi bakteri dilakukan dengan mengambil 1 ose dari stok bakteri *L. casei* dari medium GYP agar miring umur 24 jam ke medium GYP *broth* 10 ml. Langkah berikutnya diinkubasi *shaker* 100 rpm pada suhu ruang selama 24 jam.

3.4.2 Uji Pertumbuhan Bakteri

a. Menumbuhkan Bakteri *L. casei* Pada Medium GYP *Broth* + Ekstrak Etanol Umbi Bawang Putih (*Allium sativum* L.).

Disiapkan medium GYP *broth* yang telah ditambahkan dengan ekstrak etanol umbi bawang putih. Diambil 1 ml suspensi bakteri *L. casei* untuk diinokulasi kedalam medium GYP *broth* yang telah diberi ekstrak etanol umbi bawang putih sesuai masing-masing konsentrasi. Medium yang telah diinokulasikan bakteri *L.*

casei kemudian diinkubasi *shaker* 100 rpm pada suhu ruang selama 24 jam. Pertumbuhan bakteri ditandai dengan kekeruhan pada medium GYP *broth*.

- b. Menumbuhkan Bakteri *L. casei* dari Medium GYP *Broth* + Ekstrak Etanol Umbi Bawang Putih (*Allium sativum* L.) ke dalam Medium GYP Agar.

Penumbuhan sel bakteri pada medium GYP agar dilakukan menggunakan metode *drop plate*. Dari masing-masing konsentrasi diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam NaCl 0,85% 9 ml dari seri pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-8} . Selanjutnya dari masing-masing seri pengenceran dihomogenkan dan diambil 10 μ l yang di *drop plate* ke medium GYP agar dari seri pengenceran 10^{-3} sampai 10^{-8} , kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam.

- c. Perhitungan Jumlah Sel dan Diameter Koloni *L. casei*

Perhitungan mikroba dilakukan dengan menghitung jumlah sel dan diameter koloni yang tumbuh pada media yang telah diinkubasi pada suhu ruang selama 2 x 24 jam. Diameter koloni dapat dilihat menggunakan mikroskop stereo perbesaran 40x yang dilengkapi dengan optilap. Diameter koloni diukur menggunakan *software image raster*. Jumlah mikroba diperoleh dengan rumus (Hartono *et al.*, 2013):

$$\sum \text{ sel (cfu/ml) } = \sum \text{ sel terhitung (cfu/ml) } \times 1/\text{fp} \times 1\text{ml/vol sampel (ml)}$$

Keterangan:

fp = faktor pengenceran

- d. Pembuatan Kurva Pertumbuhan Bakteri *L. casei*.

Pembuatan kurva pertumbuhan dilakukan dengan membuat grafik hubungan jumlah sel bakteri *L. casei* dan waktu pada konsentrasi 0% (kontrol) dan konsentrasi yang optimum dengan interval waktu 4 jam dari jam ke-0 sampai jam ke-48.

3.5 Analisis Data

Hasil pengamatan pengaruh ekstrak etanol umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) terhadap bakteri probiotik *L. casei* dianalisis menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan jumlah pengulangan mengacu pada rumus:

$$(t - 1)(r - 1) \geq 15,$$

Keterangan:

t = perlakuan,

r = ulangan.

Data jumlah sel dan diameter koloni dianalisis menggunakan uji ANOVA dengan taraf signifikansi $\alpha = 0,05$. Apabila dari analisis tersebut menunjukkan hasil beda nyata maka dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) (Sastrosupadi, 2000).

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 KESIMPULAN

Pemberian ekstrak etanol umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) meningkatkan jumlah sel bakteri *L. casei* tetapi tidak berpengaruh terhadap diameter koloni. *L. casei* mengalami peningkatan jumlah sel lebih tinggi pada konsentrasi ekstrak etanol umbi bawang putih 10% (b/v) yaitu $0,40 \times 10^9$ cfu/ml.

5.2 SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pemberian konsentrasi ekstrak etanol umbi bawang putih lebih dari 10% (b/v) untuk mengetahui jumlah optimum prebiotik dalam menunjang pertumbuhan probiotik dan lebih lanjut untuk melakukan purifikasi hasil *crude extract* supaya yang didapat benar-benar spesifik senyawa inulin.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Qadiri, H., N. Al-Alami, M. Lin dan M. Al-Holi. 2008. Studying Of The Bacterial Growth Phases Using Fourier Transform Infrared Spectroscopy and Multivariate Analysis. *Journal of Rapid Methods & Automation in Microbiology*. 16: 73–89
- Ayuti, S.R., Nurliana, Yulistiani, Sugito dan Darmawi. 2016. Dinamika Pertumbuhan *Lactobacillus casei* dan Karakteristik Susu Fermentasi Berdasarkan Suhu dan Lama Penyimpanan. *Jurnal Agripet*. 1(1).
- Azhar, M. 2009. Inulin Ssebagai Prebiotik. *Jurnal Saintsek*. 7(1).
- Aziz, T., R. Cindo K N dan A. Fresca. 2009. Pengaruh Pelarut Heksana dan Etanol, Volume Pelaru dan Waktu Ekstraksi Terhadap Hasil Ekstraksi Minyak Kopi. *Jurnal Teknik Kimia*. 1(16).
- Brady, LJ., D. D.Gallher dan F. F. Busta. 2000. The Role Of Probiotic Cultures in The prevention of The Colon Cancer. *J. Nutrition*. 130: 410-414.
- Brownawell, A.M., W. Caers, G. R. Gibson, C. W. C. Kendall, K. D. Lewis, Y. Ringel, dan J. L. Slavin. 2012. Prebiotics and the Health Benefits of Fiber: Current Regulatory Status, Future Research, and Goals. *The Journal of Nutrition Supplement*. 142: 962–974
- Burrows, W. 1959. *Textbook of Microbiology Seventeenth Edition*. Philadelphia and London: W.B. Saunders Company.
- Center for Agricultur and Biosciences International. 2017. *Allium sativum*. <https://www.cabi.org/isc/datasheet/4250>. [Diakses pada tanggal 25 Juli 2018].
- Chen, C., G. Zhao, W. Chen dan B. Guo. 2015. Metabolism of Fructooligosaccharides in *Lactobacillus plantarum* ST-III via differentialgene Transcription and Alteration of Cell Membrane fluidity. *Applied and Enviromental Microbiology*. 81 (22): 7697-7707.

- Clifton, C.E. 1958. *Introduction to The Bacteria*. 2nd Edition of International Student Edition. McGraw-Hill Book Company, Inc., New York.
- Collins, M.D dan G.R. Gibson. 1999. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. *The American Journal Clinical Nutrition*. 69: 1052-1057.
- Cummings, J. H., G. T. Macfarlane dan H. N. Englyst. 2001. Prebiotic digestion and fermentation. *American Journal of Clinical Nutrition*. 73: 415–420.
- Fuller, R. 1989. A Review Probiotics in Man and Animals. *Jurnal of Applied Bacteriology*. 66: 365-378.
- Fuller, R. 1991. Probiotics in Human Medicine. *Gut*. 32: 439-442.
- Gao, S. 2011. *Bacterial Survival During Long-term Stationary Phase*. Biology Education Centre and Department of Cell and Molecular Biology, Uppsala University.
- Garrity, G.M., J.A. Bell, dan T.G. Lilburn. 2004. *Taxonomic Outline of the Procaryotes*. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd edition. New York : Springer.
- Gibson, G. R dan Roberfroid, M. B. 1995. Dietary Modulation of the Human Colonic Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics. *The Journal of Nutrition*. 125:1401-1412.
- Gibson, G.R. 1999. Dietary Modulation of the Human Gut Microflora Using the Prebiotics Oligofructose and Inulin. *The Journal of Nutrition*. 129: 1438–1441.
- Gibson G. R dan Fuller, R. 2000. Aspects of In Vitro and In Vivo Research Approaches Directed Toward Identifying Probiotics and Prebiotics for Human Use. *The Journal of Nutrition*. 130: 391–395.

- Goh, Y.J., C. Zhang , A. K. Benson, V. Schlegel, J. W. Lee dan R.W. Hutkins. 2006. Identification of Putatif Operon Involved in Fruktooligosaccharide Utilization by *Lactobacillus paracasei*. *Applied and Enviromental Microbiology*. 72 (12): 7518-7530.
- Grizard, D dan C. Barthelemy. 1999. Non-digestible oligosaccharides used as prebiotic agents: mode of production and beneficial effects on animal and human health. *Reproduction Nutrition Development, EDP Sciences*. 39: 563-588.
- Hartono, C. Muthiadin dan A. Indra Ayu. 2013. Pengaruh Ekstrak Senyawa Inulin dari Bawang Merah (*Allium cepa* Linn.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Probiotik *Lactobacillus acidophilus*. *Jurnal Bionature*. 14(1): 61-69.
- Ichsan, B.Z. 2009. Efek Antibakteri Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum*) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans* secara in vitro. *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret.
- Kaur N, dan Gupta A. N. 2002 . Applications of inulin and oligofructose in Health and Nutrition. *Journal Bioscience*. 27: 703-714.
- Kumar, M. 2015. Morphological Characterization of Garlic (*Allium sativum* L.) Germplasm. *Journal of Plant Development Sciences*. 7 (5) : 473-474.
- Kusumawati, I dan Zaini, N. C. 2005. Pengaruh Senyawa Prebiotik dari Bawang Merah (*Allium cepa*) Terhadap Paertumbuhan Bakteri Probiotik. *Majalah Farmasi Airlangga*. 5(1).
- Macfarlane, G.T dan Cumming, J.H. 1999. Probiotics and prebiotics: can regulating the activities of intestinal bacteria benefit health. *Western Journal of Medicine*. 171
- Moshfegh, A., J. E. Friday, J. P. Goldman dan J.K. Chug Ahuja. 1999. Nutritional and Health Benefits of Inulin and Oligofructose. *The Journal of Nutrition*. 129: 1407–1411.

- Palungkun, R dan A. Budiarti. 1992. *Bawang Putih Dataran Rendah*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Prastyaharasti, L dan E. Zubaidah. 2014. Evaluasi Pertumbuhan *Lactobacillus casei* dalam Medium Susu Skim yang Disubstitusi Tepung Beras Merah. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 2(4): 285-296
- Prihandani, S.S., M. Poeloengan, S. Maphilidawati Noor dan Andriani. 2015. Uji Daya Antibakteri Bawang Putih (*Allium sativum* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* dan *Pseudomonas aeruginosa* dalam Meningkatkan Keamanan Pangan. *Jurnal Informatika Pertanian*. 24(1): 53-58.
- Rautry, Amiya K, R.C Patra, K.K.Sardar dan G. Sahoo. 2011. Potential Of Probiotics In Livestock Production. *The Journal of Nutrition*. 1(1).
- Reddy, B.S. 1999. Possible Mechanisms by Which Pro- and Prebiotics Influence Colon Carcinogenesis and Tumor Growth. *The Journal of Nutrition*. 129: 1478–1482.
- Roberfroid, M.B. 2001. Prebiotics: Preferential Substrates For Specific Germs. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 73(2): 406-409.
- Roberfroid, M.B. 2007. Inulin Type Fructans: Functional Food Ingredient. *The Journal of Nutrition*. 137: 2493-2502.
- Rolfe, R.D. 2000. The Role of Probiotic Cultures in the Control of Gastrointestinal Health. *The Journal of Nutrition*. 130: 396-402.
- Rolfe, M.D., C .J. Rice dan S. Luuchini. 2011. Lag Phase is a Distinct Growth Phase That Prepares Bacteria for Exponential Growth and Involves Transient Metal Accumulation. *Journal of Bacteriology*. 686 –701.
- Sastrosupadi, A. 2000. *Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian*. Yogyakarta: Kanisius.

- Singh, V.K dan D. K. Singh. 2008. Pharmacological Effects of Garlic (*Allium sativum L.*). *ARBS Annual Review of Biomedical Sciences*. 10: 6-26
- Speck, M. L. 1978. *Development in Industrial Microbiology. Economic Microbiology Fermented Food VII*. London: Academic Press.
- Stavelikova, H. 2008. Morphological characteristics of garlic (*Allium sativum L.*) genetic resources collection. *Hort. Sci. (Prague)*. 35(3): 130–135
- Sunaryanto, R., E. Martius dan B. Marwoto. 2014. Uji Kemampuan *Lactobacillus casei* Sebagai Agensia Probiotik. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia*. 1(1).
- Surono, I.S. 2004. *Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan*. Jakarta: YAPMMI
- Vandamme, P., B. Pot, M. Gillis, P. De Vos, K. Kersters, dan J. Swings. 1996. Polyphasic Taxonomy, A Consensus Approach to Bacterial Systematics. *Microbiological Reviews*. 60 (2).
- Volk, W.A dan M.F.Wheeler. 1989. *Mikrobiologi Dasar Edisi Kelima Jilid 2*. Jakarta: Erlangga.
- Widodo, Soeparno dan E. Wahyuni. 2003. Bioenkapsulasi Probiotik (*Lactobacillus casei*) Dengan Pollard dan Tepung Terigu Serta Pengaruhnya Terhadap Viabilitas dan Laju Pengasaman. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 14(2).
- Wijayanti, R dan A. Rosyid. 2015. Efek Ekstrak Kulit Umbi Bawang Putih (*Allium sativum L.*) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Aloksan. *Jurnal Ilmu Farmasi & Farmasi Klinik*. 12(1).
- Wiryanawan, K.G., S. Suhardi dan M. Bintang. 2005. Kajian Antibakteri Temulawak, Jahe dan Bawang Putih Terhadap *Salmonella typhimurium* serta Pengaruh Bawang Putih Terhadap Performans dan Respon Imun Ayam Pedaging. *Media Peternakan*. 28(26).

Zhou dan Li. 2015. *Atlas of Oral Microbiology*. USA: Academic Press.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Komposisi Medium GYP (*Glucose Yeast Pepton*)

No	Bahan	Jumlah/ Liter
1	Glukosa	10 gr
2	Yeast ekstrak	10 gr
3	Pepton	5 gr
4	Beef ekstrak	2 gr
5	Na asetat	2 gr
6	Tween 80	10 ml
7	CaCO ₃	5 gr
8	<i>Bacto-Agar</i>	12 gr
9	MgSO ₄ 7H ₂ O	400 mg
10	MnSO ₄ 4H ₂ O	20 mg
11	FeSO ₄ 7H ₂ O	20 mg
12	NaCl	20 mg

Langkah – Langkah Pembuatan :

1. Menimbang bahan-bahan yang tercantum diatas mnggunakan kertas alumunium foil.
2. Memasukkan bahan-bahan diatas ke dalam akuades (volume akuades tergantung volume media yang akan dibuat)
3. Memasukkan *Bacto Agar* dan CaCO₃ untuk pembuatan medium GYP agar.
4. Dipanaskan di atas *hot plate* sambil diaduk terus sampai mendidih.
5. Mengangkat medium apabila sudah mendidih dan agar sudah larut seluruhnya.
6. Memasukkan medium kedalam tabung reaksi sebanyak 10 ml menggunakan pipet ukur 10 ml.
7. Menutup/menyumbat tabung reaksi dengan kapas sampai tertutup rapat, kemudian ditutup dengan kertas dorslag dan diikat dengan karet.
8. Melakukan sterilisasi dengan menggunakan *autoclave* pada tekanan 1 atm suhu 121°C selama 15- 20 menit.

Lampiran 2. Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Etanol Umbi Bawang Putih (*Allium sativum* L.)

Penentuan konsentrasi larutan stok menggunakan konsentrasi 50% yaitu 5 gram ekstrak dalam 10 ml GYP broth.

1.1 Ekstrak Etanol Umbi Bawang Putih (*Allium sativum* L.) konsentrasi 2,5%

$$\begin{aligned}V_1 \cdot N_1 &= V_2 \cdot N_2 \\V_1 &= \frac{V_2 \cdot N_2}{50\%} \\&= \frac{10 \text{ ml} \cdot 2,5\%}{50\%} \\&= 0,5 \text{ ml}\end{aligned}$$

Maka untuk membuat ekstrak etanol umbi bawang putih konsentrasi 2,5% dibutuhkan *crude extract* umbi bawang putih sebanyak 0,5 ml kemudian ditambahkan GYP broth 9,5 ml.

1.2 Ekstrak Etanol Umbi Bawang Putih (*Allium sativum* L.) Konsentrasi 5%

$$\begin{aligned}V_1 \cdot N_1 &= V_2 \cdot N_2 \\V_1 &= \frac{V_2 \cdot N_2}{50\%} \\&= \frac{10 \text{ ml} \cdot 5\%}{50\%} \\&= 1 \text{ ml}\end{aligned}$$

Maka untuk membuat ekstrak etanol umbi bawang putih konsentrasi 5% dibutuhkan *crude extract* umbi bawang putih sebanyak 1 ml kemudian ditambahkan GYP broth 9 ml.

1.3 Ekstrak Etanol Umbi Bawang Putih (*Allium sativum* L.) Konsentrasi 7,5%

$$V1 \cdot N1 = V2 \cdot N2$$

$$\begin{aligned} V1 &= \frac{V2 \cdot N2}{50\%} \\ &= \frac{10 \text{ ml} \cdot 7,5\%}{50\%} \\ &= 1,5 \text{ ml} \end{aligned}$$

Maka untuk membuat ekstrak etanol umbi bawang putih konsentrasi 7,5% dibutuhkan *crude extract* umbi bawang putih sebanyak 1,5 ml kemudian ditambahkan GYP broth 8,5 ml.

1.4 Ekstrak Etanol Umbi Bawang Putih (*Allium sativum* L.) Konsentrasi 10%

$$V1 \cdot N1 = V2 \cdot N2$$

$$\begin{aligned} V1 &= \frac{V2 \cdot N2}{50\%} \\ &= \frac{10 \text{ ml} \cdot 10\%}{50\%} \\ &= 2 \text{ ml} \end{aligned}$$

Maka untuk membuat ekstrak etanol umbi bawang putih konsentrasi 10% dibutuhkan *crude extract* umbi bawang putih sebanyak 2 ml kemudian ditambahkan GYP broth 8 ml.

Keterangan :

V1 : Volume stok

V2 : Volume yang akan diambil dari stok

N1 : Konsentrasi media yang akan dibuat

N2 : Konsentrasi stok

Lampiran 3. Hasil Analisis Statistik Jumlah Sel *Lactobacillus casei* pada masing-masing Konsentrasi Ekstrak Etanol Umbi Bawang Putih (*Allium sativum* L.)

3.1 Hasil Analisis Statistik ANOVA dari Data Jumlah Sel *L. casei* pada masing-masing Konsentrasi Ekstrak Etanol Umbi Bawang Putih

SK	DB	JK	KT	F Hitung	F5%	Signifikansi
Konsentrasi	4	45682,160	11420,540	34,851*	2,87	0,000
Galat	20	6554,000	327,700			
Total	24	52236,160				

*= Berbeda Nyata

3.2 Jumlah Sel Bakteri *L. casei* pada Medium GYP Agar yang disuplementasi ekstrak etanol Umbi Bawang Putih (*Allium sativum* L.) pada berbagai konsentrasi

Konsentrasi (%) (b/v)	Jumlah sel (cfu/ml) x 10 ⁹					Rerata Jumlah Sel (cfu/ml) x 10 ⁹ ± sd
	I	II	III	IV	V	
0	0,07	0,08	0,04	0,11	0,11	0,08 ± 0,03 ^a
2,5	0,13	0,13	0,08	0,11	0,13	0,12 ± 0,02 ^a
5	0,40	0,30	0,60	0,30	0,40	0,40 ± 0,12 ^b
7,5	0,50	0,45	0,70	0,90	0,30	0,57 ± 0,23 ^b
10	1,30	1,50	0,90	1,60	1,00	1,26 ± 0,30 ^c

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

Lampiran 4. Hasil Analisis Statistik Diameter Koloni *Lactobacillus casei* pada masing-masing Konsentrasi Ekstrak Etanol Umbi Bawang Putih (*Allium sativum* L.)

4.1 Hasil Analisis Statistik ANOVA dari Data Diameter Koloni *Lactobacillus casei* pada masing-masing Konsentrasi Ekstrak Etanol Umbi Bawang Putih

SK	DB	JK	KT	F Hitung	F 5%	Signifikansi
Konsentrasi	4	0,320	0,080	0,607	2,87	0,662
Galat	20	2,635	0,132			
Total	24	2,955				

*= Berbeda Nyata

4.2 Diameter Koloni *L. casei* pada Medium GYP Agar yang disuplementasi ekstrak etanol Umbi Bawang Putih (*Allium sativum* L.) pada berbagai konsentrasi

Konsentrasi (%) (b/v)	Diameter koloni (mm)					Rerata Diameter koloni (mm) ± sd
	I	II	III	IV	V	
0	1,48	1,59	1,35	1,46	1,06	1,39 ± 0,20 ^a
2,5	1,40	1,11	1,74	1,69	1,54	1,50 ± 0,25 ^a
5	2,04	1,61	1,59	1,25	1,51	1,60 ± 0,28 ^a
7,5	2,29	1,09	1,79	1,79	1,09	1,61 ± 0,52 ^a
10	1,76	1,76	2,36	1,65	1,08	1,72 ± 0,46 ^a

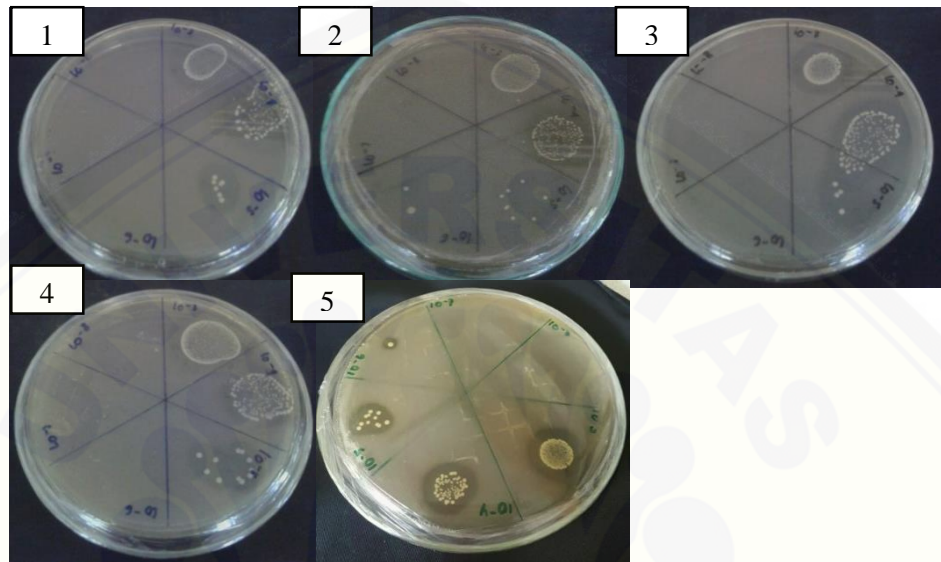
Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama berarti tidak berbeda nyata pada taraf 5%

Lampiran 5. Perhitungan Total Jumlah Sel *Lactobacillus casei* pada Medium GYP agar tanpa suplementasi Ekstrak Etanol Umbi Bawang Putih (*Allium sativum* L.) dan Konsentrasi 10% (b/v)

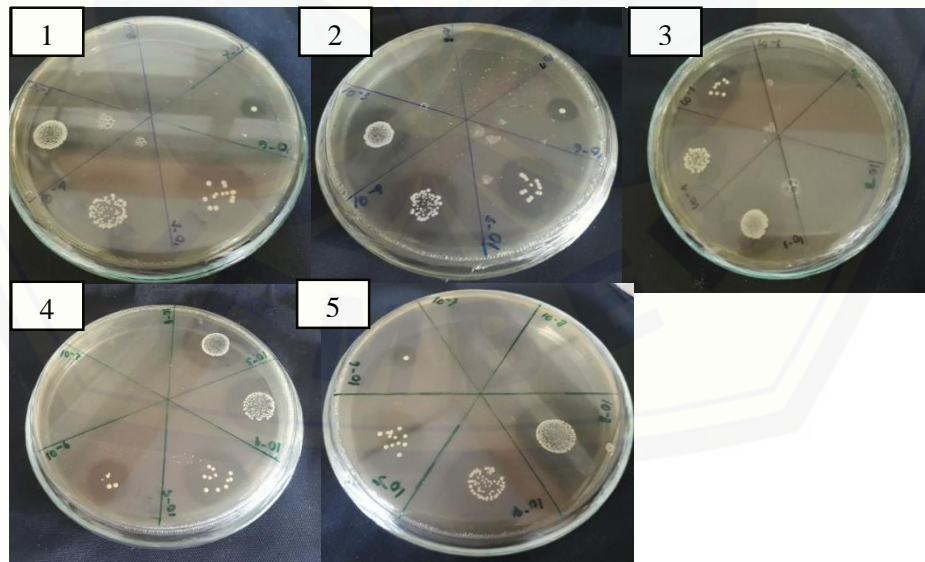
Jam ke-	Jumlah Sel (cfu/ml)		log (cfu/ml)	
	Konsentrasi 0%	Konsentrasi 10%	Konsentrasi 0%	Konsentrasi 10%
0	733000	3000000	5,87	6,48
4	867000	3333333,333	5,94	6,52
8	950000	4000000	5,98	6,60
12	12330000	25000000	7,09	7,40
16	126700000	433333333,3	8,10	8,64
20	450900000	1233333333	8,65	9,09
24	1533333300	2700000000	9,19	9,43
28	2520000000	3000000000	9,40	9,48
32	2416666600	3000000000	9,38	9,48
36	2133000000	2933333333	9,33	9,47
40	1733000000	2800000000	9,24	9,45
44	1200000000	2066666667	9,08	9,32
48	800000000	1466666667	8,90	9,17

Lampiran 6. Foto Jumlah Koloni *Lactobacillus casei* pada Medium GYP Agar yang disuplementasi Ekstrak Etanol Umbi Bawang Putih (*Allium sativum* L.) pada berbagai konsentrasi

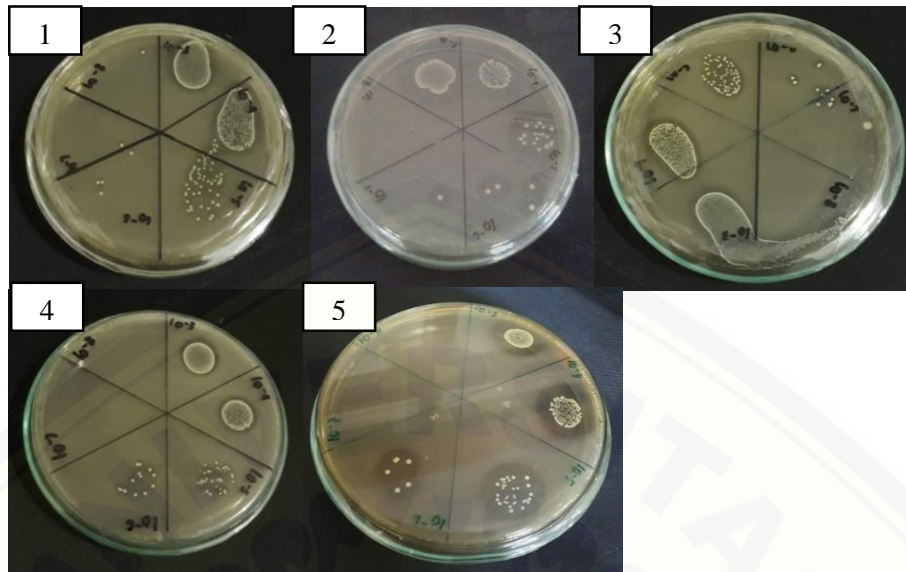
1. Konsentrasi 0%



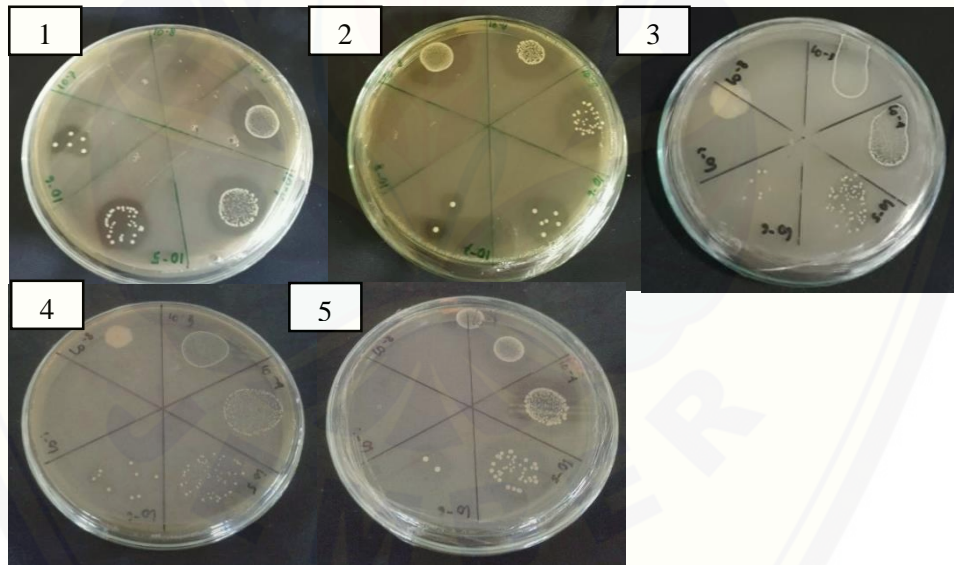
2. Konsentrasi 2,5%



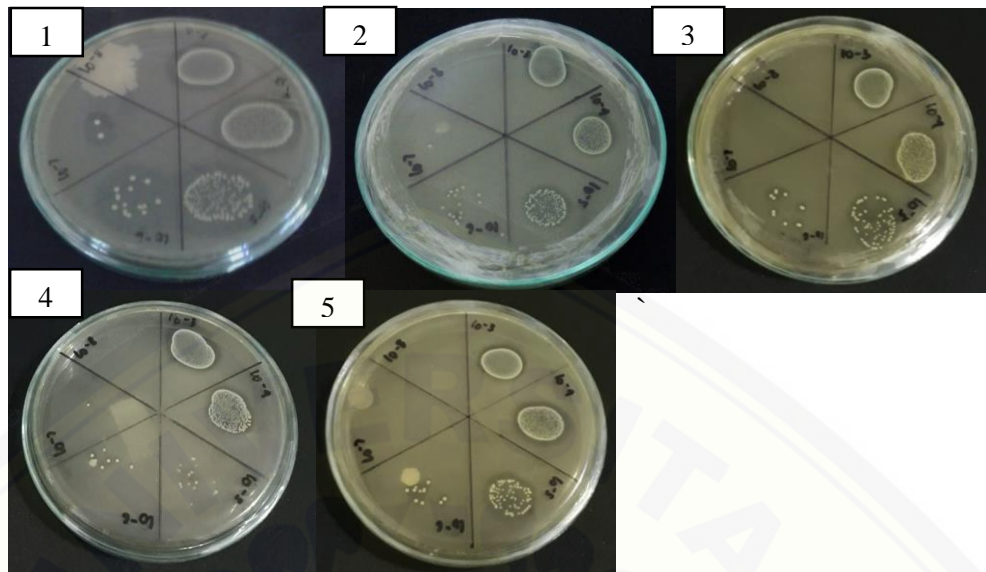
3. Konsentrasi 5%



4. Konsentrasi 7,5%



5. Konsentrasi 10%

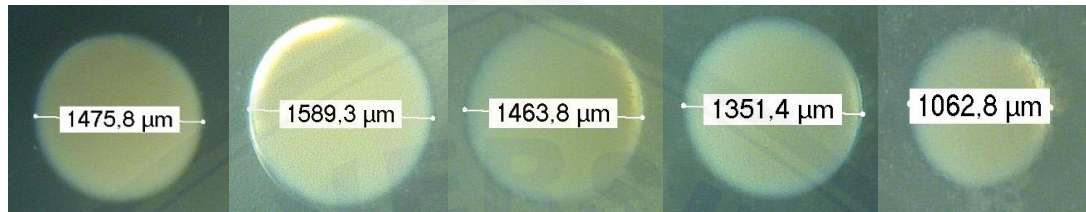


Keterangan:

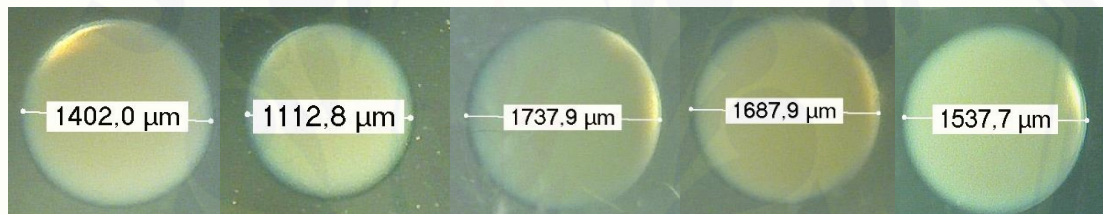
- 1 Pengulangan ke-1
- 2 Pengulangan ke-2
- 3 Pengulangan ke-3
- 4 Pengulangan ke-4
- 5 Pengulangan ke-5

Lampiran 7. Foto Diameter koloni *L. casei* pada Medium GYP Agar yang disuplementasi ekstrak etanol Umbi Bawang Putih (*Allium sativum* L.) pada berbagai konsentrasi

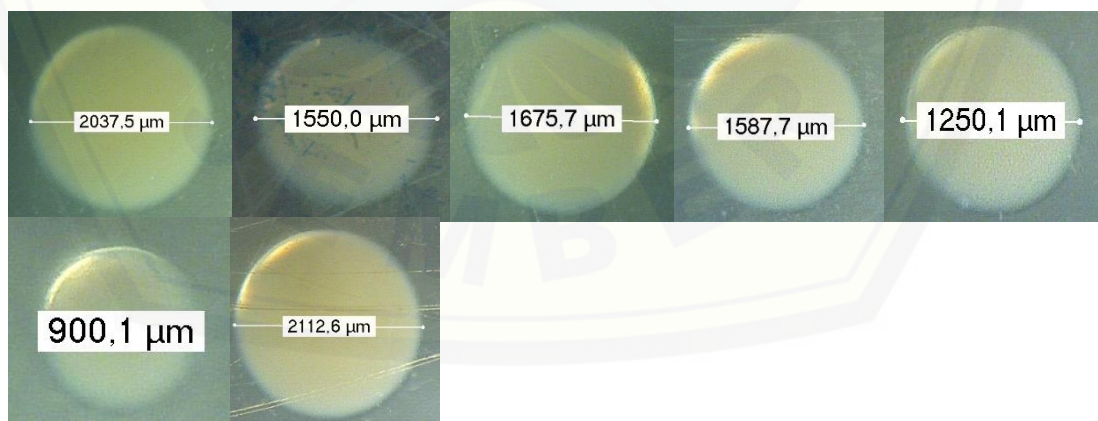
Konsentrasi 0%



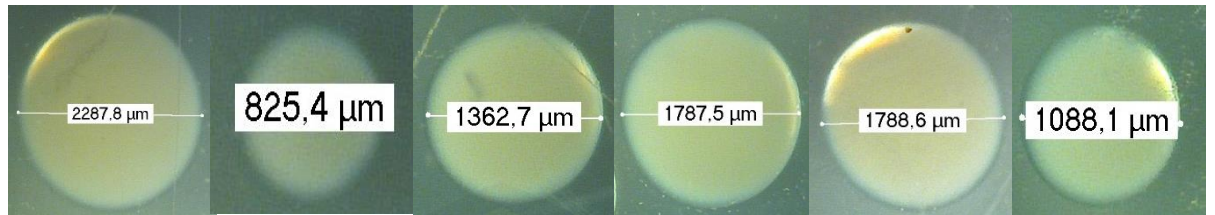
Konsentrasi 2,5%



Konsentrasi 5%



Konsentrasi 7,5%



Konsentrasi 10%

