



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

SKRIPSI

Oleh
Eka Yanuarti Ningsih
NIM 141810401030

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

2018



**PENGARUH PREBIOTIK EKSTRAK ETANOL UMBI BAWANG
MERAH (*Allium cepa* 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

Eka Yanuarti Ningsih

NIM 141810401030

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

2018

PERSEMBAHAN

Dengan nama Allah SWT Yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang, skripsi ini penulis persembahkan kepada:

1. kedua orang tua tercinta, Ibunda Sutiani dan Ayahanda Sujani tercinta, terimakasih atas segala limpahan doa, kasih sayang, nasehat, pengorbanan, serta dukungan yang tiada henti;
2. keluarga besar tercinta yang telah memberi doa, motivasi dan dukungan;
3. guru-guruku sejak taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi yang telah mendidik dan membagikan ilmunya;
4. Almamater Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember;
5. Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

MOTTO

“Barang siapa yang bersungguh-sungguh, sesungguhnya kesungguhan tersebut untuk kebaikan dirinya sendiri.”

(QS. Al-Ankabut: 6)*

“Bertaqwalah kepada Allah, maka Dia akan membimbingmu. Sesungguhnya Allah mengetahui segala sesuatu.”

(QS. Al-Baqarah: 282)**

*) Departemen Agama Republik Indonesia. 2007. *Al-Qur'an dan Terjemahnya Special for Woman*. Bogor: Syaamil Al-Qur'an.

***) Yayasan Penyelenggara Penerjemah/Penafsir Al Quran. 1971. *Al Quran dan Terjemahan*. Saudi Arabia.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Eka Yanuarti Ningsih

NIM : 1418104010230

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Pengaruh Prebiotik Ekstrak Etanol Umbi Bawang Merah (*Allium cepa* 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, 24 Juli 2018

Yang menyatakan,

Eka Yanuarti Ningsih

NIM 141810401030

SKRIPSI

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

Oleh:

Eka Yanuarti Ningsih
NIM 141810401030

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 Merah (*Allium cepa* 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,

Sekretaris,

Drs. Rudju Winarsa, M.Kes.
NIP 196008161989021001

Drs. Siswanto, M.Si.
NIP 196012161993021001

Anggota I,

Anggota II,

Dr. Kahar Muzakhar, S.Si
NIP196805031994011001

Dra. Susantin Fajariyah, M.Si.
NIP 196411051989022001

Mengesahkan
Dekan,

Drs. Sujito Ph.D.
NIP 196102041987111001

RINGKASAN

Pengaruh Prebiotik Ekstrak Etanol Bawang Merah (*Allium cepa* L.) Pada Pertumbuhan Bakteri Probiotik *Lactobacillus casei* Secara *In Vitro*; Eka Yanuarti Ningsih, 141810401030; 36 halaman; Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Probiotik merupakan suplemen pangan berupa mikroba hidup yang memiliki efek menguntungkan bagi saluran pencernaan hewan inang. Mikroba tersebut bermanfaat dalam meningkatkan fungsi usus dengan menjaga keseimbangan mikroba usus, menghambat mikroba patogen penyebab keracunan makanan dan menjaga kondisi lingkungan pada saluran pencernaan. Probiotik yang terdapat pada saluran pencernaan manusia yaitu golongan *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium*. Salah satu bakteri yang berperan sebagai probiotik adalah *L. casei*. Prebiotik merupakan bahan makanan yang tidak dapat dicerna oleh tubuh tetapi dapat dimanfaatkan karena dapat merangsang pertumbuhan/aktivitas mikroba dalam usus. Prebiotik yang banyak digunakan saat ini yaitu fruktooligosakarida (FOS), transoligosakarida (TOS) dan inulin. Inulin ditemukan pada tanaman pangan antara lain asparagus, bawang putih, daun bawang, artichoke Yerusalem, sawi putih, dan lain-lain. Inulin merupakan salah satu jenis prebiotik yang terdiri dari unit-unit fruktosa yang tidak dapat dicerna tetapi dapat dimanfaatkan oleh mikroba dalam saluran pencernaan.

Penelitian dilakukan dalam 2 tahapan utama yaitu tahap pertama, persiapan penelitian yang meliputi: pembuatan medium GYP, peremajaan bakteri *L. casei*, pembuatan ekstrak etanol umbi bawang merah, pembuatan larutan stok ekstrak etanol umbi bawang merah, pembuatan medium GYP + ekstrak etanol bawang merah, dan pembuatan suspensi bakteri *L. casei*. Tahap kedua adalah uji pertumbuhan bakteri yang meliputi: menumbuhkan bakteri *L. casei* pada medium GYP + ekstrak etanol bawang merah, perhitungan jumlah sel, pengukuran diameter koloni bakteri *L. casei* serta pembuatan kurva pertumbuhan bakteri *L. casei*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol umbi bawang merah tidak berpengaruh terhadap ukuran diameter koloni. Diameter koloni bakteri *L.*

casei berkisar antara 1,2 mm – 1,6 mm. Ekstrak etanol umbi bawang merah berpengaruh dalam meningkatkan jumlah sel bakteri *L. casei*. Jumlah sel yang tumbuh paling banyak pada konsentrasi 20% yaitu sebanyak $7,0 \times 10^8$ cfu/ml. Kurva pertumbuhan bakteri dibuat pada medium kontrol (0%) dan pada medium dengan konsentrasi ekstrak 20 % selama 48 jam. Hasil kurva pertumbuhan menunjukkan tidak ada perbedaan fase antar konsentrasi 0% dan konsentrasi 20%. Berdasarkan penelitian ini diketahui bahwa pemberian ekstrak etanol umbi bawang merah tidak berpengaruh terhadap ukuran diameter koloni tetapi berpengaruh terhadap peningkatan jumlah sel bakteri *L. casei*. Peningkatan jumlah sel bakteri *L. casei* yang tinggi yaitu pada medium yang disuplementasi ekstrak etanol umbi bawang merah pada konsentrasi 20% (b/v) dengan jumlah sel $7,0 \times 10^8$ cfu/ml.

PRAKATA

Puji Syukur kehadiran Allah SWT. Atas segala rahmat dan Karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Prebiotik Ekstrak Etanol Umbi Bawang Merah (*Allium cepa* 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.

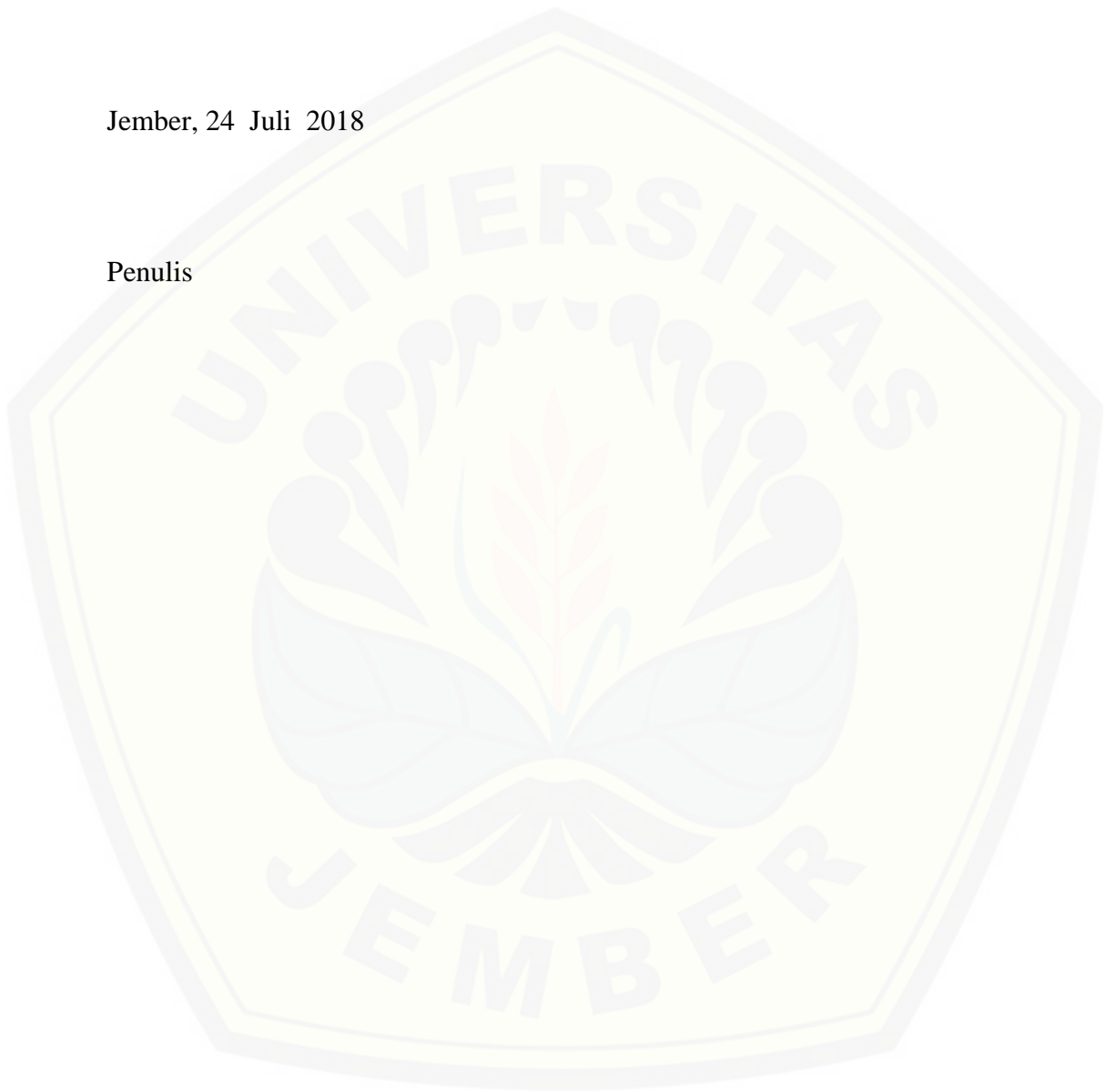
Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, sehingga penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Dosen pembimbing utama Drs. Rudju Winarsa, M.Kes., dosen pembimbing anggota Drs. Siswanto, M.Si., dosen sekaligus penguji saya Dr. Kahar Muzakhar, S.Si. dan Dra. Susantin Fajariyah, M.Si. yang telah memberikan ilmu, saran, kritik dan bimbingan yang sangat bermanfaat;
2. Drs. Rudju Winarsa, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Akademik (DPA) yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
3. Ir. Endang Soesetyaningsih, selaku teknisi Laboratorium Mikrobiologi yang banyak membantu penulis selama penelitian;
4. teman sepenelitian saya, Siti Nurhalimah, Dela Dwi, Zunairoh, dan Khilia Nisa' yang telah banyak mendukung dan memberikan pencerahan pada proses penyelesaian skripsi saya;
5. teman-teman di Labarotorium Mikrobiologi yang telah memberi bantuan dan dukungan selama penelitian;
6. sahabat-sahabat terdekat saya, Arina, Emitria, Nindy, Ike, Novia, Rini, Sara, Reiyang serta teman-teman angkatan 2014 yang tidak bisa saya sebut satu persatu yang telah memberi dukungan, doa dan semangat untuk saya;
7. semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis memohon maaf apabila terdapat kesalahan penulisan. Penulis juga menerima kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Jember, 24 Juli 2018

Penulis



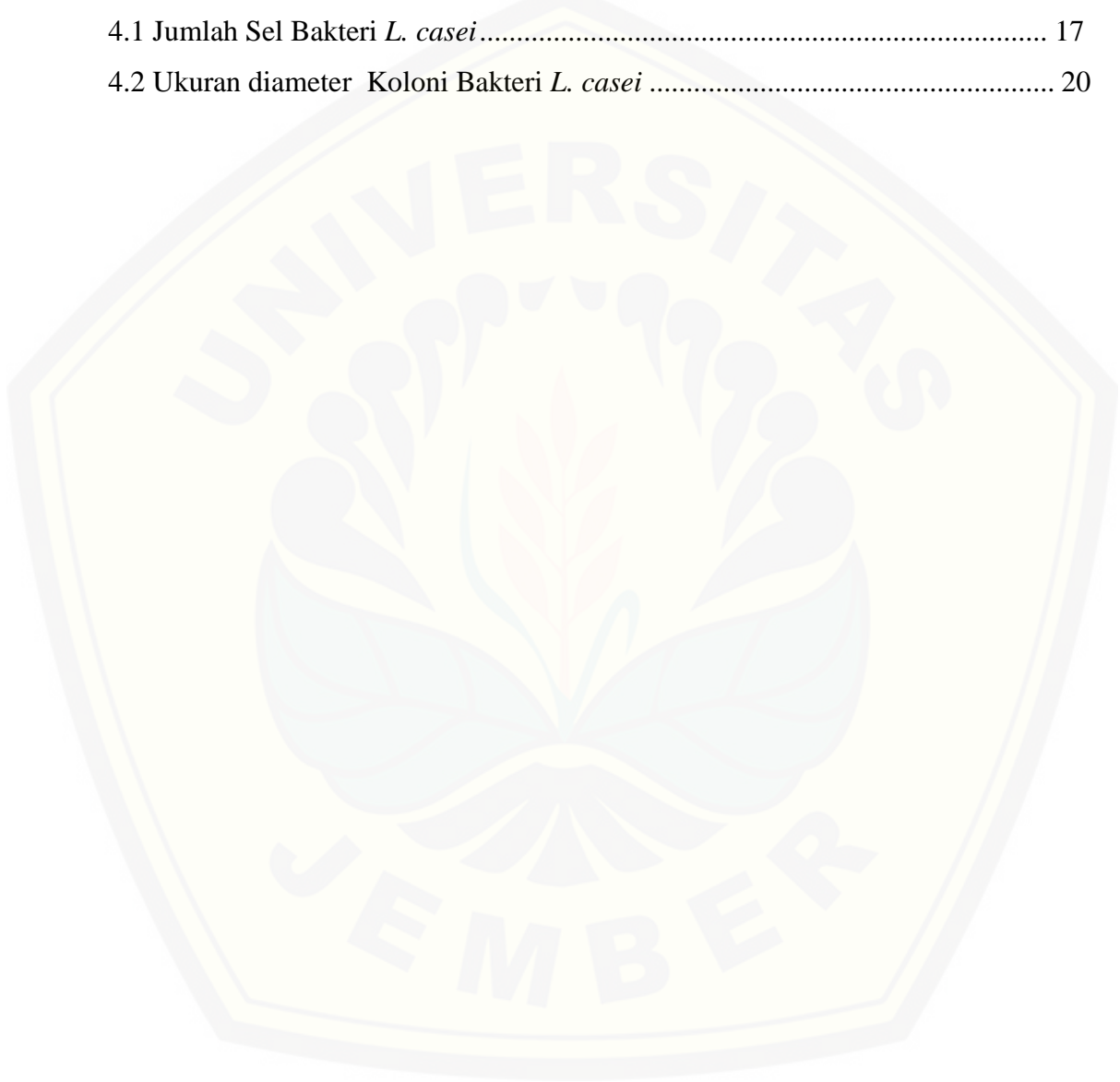
DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN.....	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
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	2
1.4 Tujuan	2
1.5 Manfaat	3
BAB. 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Probiotik	4
2.2 Prebiotik.....	5
2.3 Bawang Merah Sebagai Prebiotik.....	6
2.4 <i>L. casei</i> Sebagai Probiotik	9
2.5 Hipotesis.....	10
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	11
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	11
3.2 Alat dan Bahan.....	11
3.3 Prosedur Penelitian.....	12

3.3.1 Persiapan Penelitian	13
3.3.2 Uji pertumbuhan bakteri	14
3.5 Analisis Data	16
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	17
4.1 Pertumbuhan Bakteri <i>L. casei</i>	17
4.2 Diameter Koloni Bakteri <i>L. casei</i>	19
4.4 Kurva Pertumbuhan Bakteri <i>L. casei</i>	21
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	23
4.1 Kesimpulan	23
4.2 Saran	23
DAFTAR PUSTAKA	23
LAMPIRAN.....	29

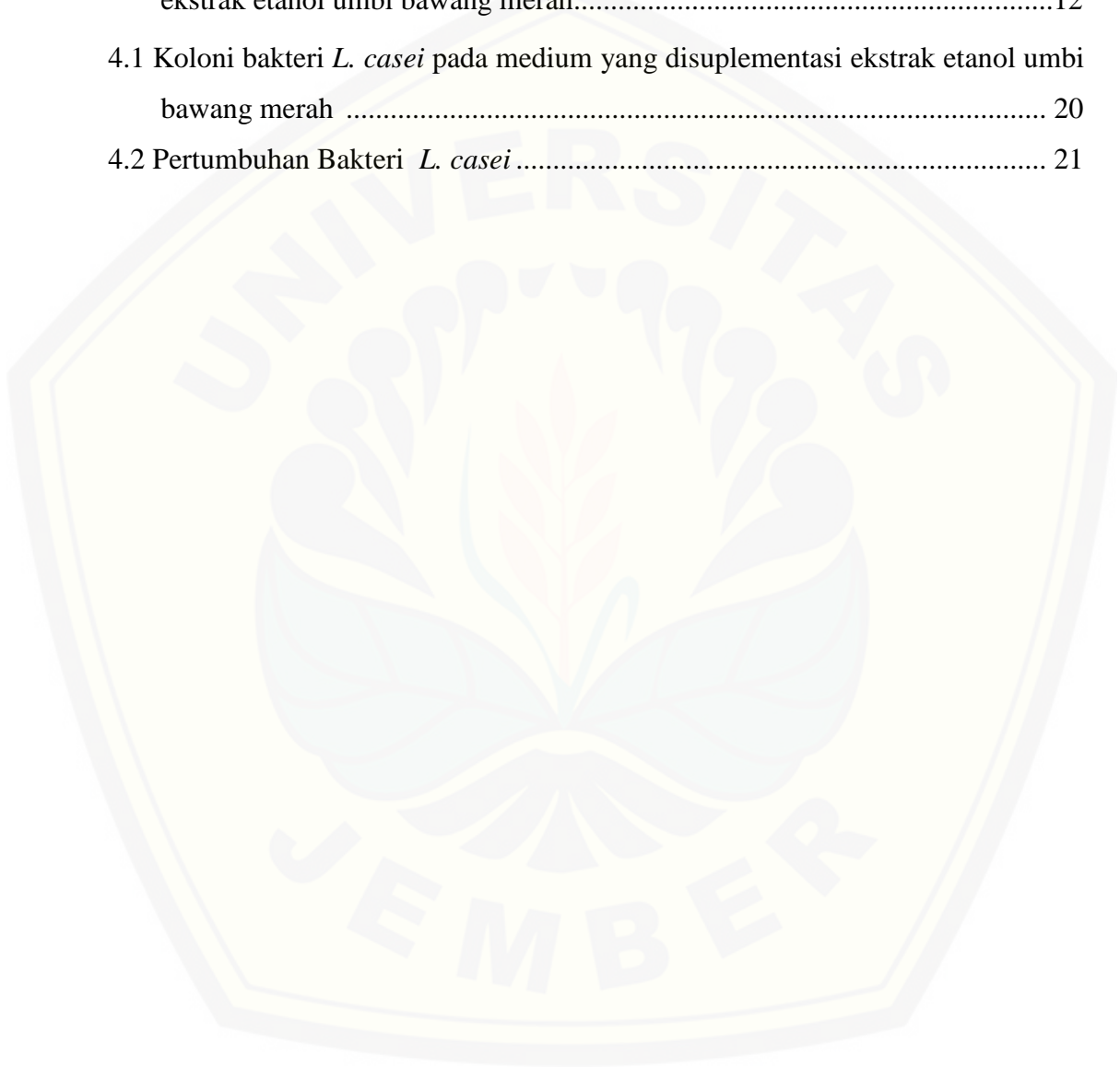
DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Kandungan Inulin dan Oligofruktosa pada Beberapa Tumbuhan.....	6
4.1 Jumlah Sel Bakteri <i>L. casei</i>	17
4.2 Ukuran diameter Koloni Bakteri <i>L. casei</i>	20



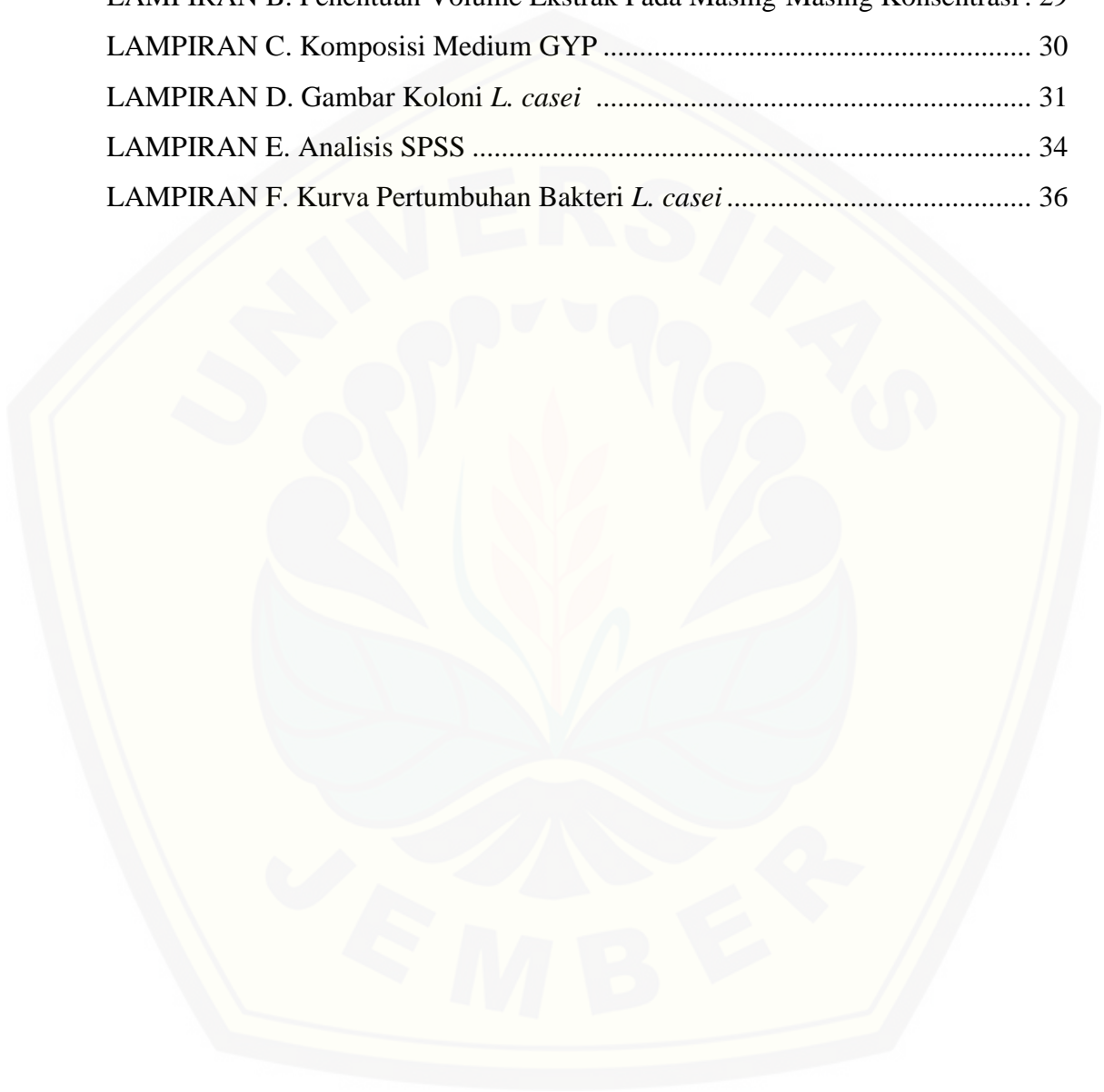
DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Struktur inulin	7
3.1 Diagram alur penelitian pertumbuhan bakteri <i>L. casei</i> yang disuplementasi ekstrak etanol umbi bawang merah.....	12
4.1 Koloni bakteri <i>L. casei</i> pada medium yang disuplementasi ekstrak etanol umbi bawang merah	20
4.2 Pertumbuhan Bakteri <i>L. casei</i>	21



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
LAMPIRAN A. Penentuan Konsentrasi Stok.....	29
LAMPIRAN B. Penentuan Volume Ekstrak Pada Masing-Masing Konsentrasi .	29
LAMPIRAN C. Komposisi Medium GYP	30
LAMPIRAN D. Gambar Koloni <i>L. casei</i>	31
LAMPIRAN E. Analisis SPSS	34
LAMPIRAN F. Kurva Pertumbuhan Bakteri <i>L. casei</i>	36



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Probiotik merupakan mikroba hidup yang memiliki efek menguntungkan bagi saluran pencernaan hewan inang (Fuller, 1989). Mikroba tersebut bermanfaat dalam meningkatkan fungsi usus dengan menjaga keseimbangan mikroba usus, menghambat mikroba patogen penyebab keracunan makanan dan menjaga kondisi lingkungan pada saluran pencernaan (Rautry *et al.*, 2011). Probiotik juga bermanfaat dalam meningkatkan sistem kekebalan tubuh, menurunkan kolesterol darah, dan menurunkan resiko penyakit kanker (Gilliland *et al.*, 1985; Kumar *et al.*, 2010; Nova *et al.*, 2007).

Probiotik yang terdapat pada saluran pencernaan manusia yaitu golongan *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium*. Kelompok bakteri tersebut dapat berperan sebagai probiotik, baik sebagai spesies tunggal atau kultur campuran dengan bakteri lainnya (Gibson dan Roberfroid, 1995). Salah satu bakteri yang berperan sebagai probiotik adalah *Lactobacillus casei*. *L. casei* menjadi kandidat bakteri probiotik karena telah memenuhi kriteria sebagai probiotik. Hal ini dibuktikan dengan hasil penelitian Sunaryanto *et al.*, (2014) yang menunjukkan bahwa *L. casei* tahan terhadap kondisi asam sampai pH 2, tahan terhadap adanya garam empedu sampai dengan konsentrasi garam empedu 15%, dan memiliki kemampuan menekan atau menghambat mikroba patogen seperti *E. coli*, *S. aureus* dan *E. faecalis*.

Keberadaan bakteri probiotik dalam saluran pencernaan dipengaruhi oleh sejumlah nutrisi sebagai sumber makanan yang disebut prebiotik. Prebiotik merupakan bahan makanan dan suplemen makanan yang tidak dapat dicerna oleh tubuh tetapi dapat dimanfaatkan karena dapat merangsang pertumbuhan/aktivitas mikroba dalam usus (Gibson dan Roberfroid, 1995). Prebiotik yang banyak digunakan saat ini yaitu frukto oligosakarida (FOS), transoligosakarida (TOS) dan inulin, yang secara sengaja ataupun tidak sengaja telah berada dalam bahan makanan (Gibson dan Roberfroid, 1995).

Inulin merupakan salah satu jenis prebiotik yang terdiri dari unit-unit fruktosa yang tidak dapat dicerna tetapi dapat dimanfaatkan oleh mikroba dalam saluran pencernaan (Roberfroid, 2007). Inulin ditemukan pada tanaman pangan antara lain asparagus, bawang putih, bawang merah, daun bawang, artichoke Yerusalem, sawi putih, dan lain-lain (Kaur dan Gupta, 2002). Hasil penelitian oleh Hartono *et al.*, (2013) menunjukkan bahwa inulin yang diekstraksi dari bawang merah (*Allium cepa*) dengan konsentrasi 10.000 ppm mampu meningkatkan jumlah sel bakteri *Lactobacillus acidophilus* menjadi $2,84 \times 10^9$ cfu/ml.

Berdasarkan permasalahan tersebut maka dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol umbi bawang merah (*Allium cepa*) pada konsentrasi tertentu terhadap pertumbuhan bakteri *L. casei* secara *in vitro*.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini yaitu bagaimana pengaruh pemberian ekstrak etanol bawang merah (*Allium cepa*) terhadap pertumbuhan bakteri probiotik *L. casei* secara *in vitro*?

1.3 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini yaitu umbi bawang merah yang diekstraksi dengan pelarut etanol 96% dan dibuat konsentrasi 0 % , 0,5 % , 10 % , 15 % , 20 % (b/v) untuk pertumbuhan bakteri *L. casei* pada medium GYP (Glukosa Yeast Pepton) secara *in vitro*.

1.4 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini yaitu mengetahui pengaruh ekstrak etanol umbi bawang merah (*Allium cepa*) pada konsentrasi tertentu terhadap pertumbuhan bakteri *L. casei* secara *in vitro*.

1.5 Manfaat

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini yaitu dapat memberikan informasi ilmiah bagi peneliti tentang manfaat umbi bawang merah dalam meningkatkan pertumbuhan bakteri *L. casei* serta sebagai dasar penelitian selanjutnya.



BAB. 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Probiotik

Probiotik merupakan istilah yang digunakan untuk memberi nama bakteri yang menguntungkan bagi manusia dan hewan (FAO, 2001). Menurut Fuller (1989) probiotik didefinisikan sebagai suplemen pangan berupa mikroba hidup yang memiliki efek menguntungkan bagi saluran pencernaan hewan inang. Definisi tersebut dapat diartikan bahwa produk probiotik misalnya yogurt mengandung mikroba hidup yang berperan dalam memperbaiki kesehatan inang dengan memanfaatkan efek menguntungkan pada saluran pencernaan (Huis in't Veld dan Havenaar, 1991 dalam Lourens-Hattingh dan Viljoen, 2001)

Beberapa efek menguntungkan yang dimiliki bakteri probiotik diantaranya yaitu meningkatkan sistem kekebalan tubuh. Hal ini dikarenakan keberadaan bakteri probiotik dalam saluran pencernaan dapat meningkatkan aktivitas fagositik, meningkatkan produksi sel T dan B serta produksi antibodi, terutama IgM, IgA dan IgG (Rautray *et al.*, 2011). Probiotik dapat menurunkan kadar kolesterol darah dengan menghasilkan metabolit yang menghambat sintesis kolesterol dalam tubuh (Gilliland *et al.*, 1985).

Karakteristik yang harus dipenuhi sebagai syarat utama probiotik yaitu mampu menghasilkan senyawa bakteriosin yang dapat digunakan sebagai agen anti mikroba (Ahmed *et al.*, 2010). Bakteri yang paling banyak digunakan sebagai probiotik yaitu kelompok bakteri *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* (Guarner *et al.*, 2012). Berdasarkan pengujian yang dilakukan oleh Sunaryanto *et al.* (2014) *L. casei* terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*, *S. aureus* dan *E. faecalis*. Syarat lain yang harus dipenuhi sebagai probiotik yaitu :

1. Dapat dikultur dalam skala besar (misalnya untuk tujuan industri).
2. Dapat bertahan hidup dalam waktu yang lama, baik saat penyimpanan maupun selama pemakaian di lapangan.

2. Dapat bertahan hidup dalam ekosistem saluran pencernaan yaitu tahan terhadap garam empedu dan juga pH lambung.
3. Memberikan manfaat bagi inang (Fuller, 1991).

Probiotik bekerja melalui 3 cara yaitu menekan jumlah mikroba patogen dengan memproduksi senyawa anti bakteri seperti asam organik dan hidrogen peroksida. Persaingan situs adhesi pada mukosa usus sehingga dapat menekan kolonisasi bakteri patogen. Perubahan metabolisme mikroba untuk meningkatkan/menurunkan aktivitas enzim serta menstimulasi peningkatan kadar antibodi dan makrofag (Fuller, 1989).

2.2 Prebiotik

Prebiotik merupakan bahan makanan yang tidak dapat dicerna tubuh tetapi mampu memberikan efek menguntungkan bagi inang dengan cara merangsang pertumbuhan bakteri atau mempengaruhi aktivitas bakteri probiotik secara selektif ataupun keduanya. Bahan makanan yang dapat diklasifikasikan sebagai prebiotik harus memiliki syarat-syarat tertentu yaitu tidak terhidrolisis atau terserap di bagian saluran pencernaan bagian atas, menjadi substrat selektif untuk satu atau sejumlah bakteri komensal yang menguntungkan di usus besar, merangsang pertumbuhan dan metabolisme mikroba di saluran pencernaan dan bermanfaat bagi kesehatan inang (Gibson dan Roberfroid, 1995).

Beberapa contoh kandidat prebiotik meliputi lactulosa, inulin tipe fruktan, *galactooligosaccharides*, *soybean oligosaccharides* (*raffinose* dan *stachyose*), *isomaltooligosaccharides*, *glucooligosaccharides* dan *xylooligosaccharides* (Gibson dan Fuller, 2000). Sementara beberapa prebiotik yang memenuhi kriteria sebagai prebiotik yaitu inulin dan oligofruktosa (Roberfroid, 2007).

2.3 Bawang Merah Sebagai Prebiotik

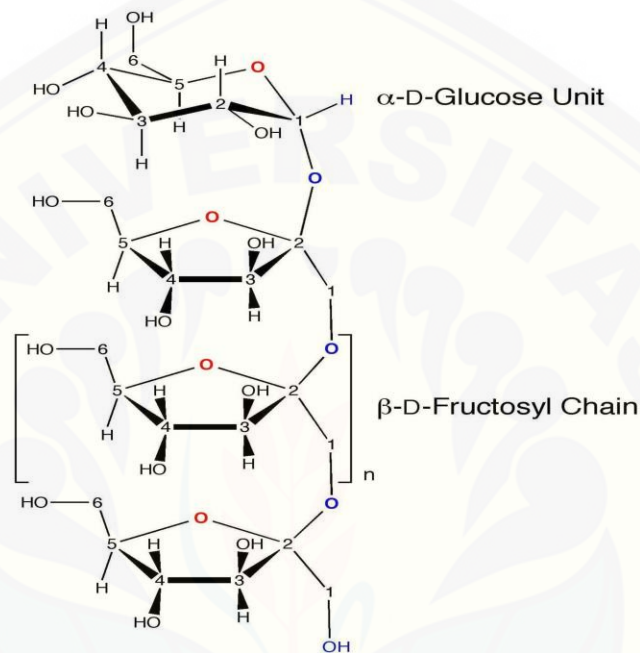
Bawang merah merupakan salah satu sayuran dari famili Liliaceae yang memiliki ciri-ciri berumbi lapis, berakar serabut dan bentuk daun silindris. Klasifikasi bawang merah adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Ordo	: Liliales
Famili	: Liliaceae
Genus	: <i>Allium</i>
Spesies	: <i>Allium cepa</i> L. (Fritsch dan Friesen, 2002)

Berdasarkan *screening* fitokimia umbi bawang merah mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, polifenol, seskuiterpenoid, monoterpenoid, steroid dan triterpenoid serta kuinon (Soebagio *et al.*, 2007). Umbi bawang merah juga 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 (Loo *et al.*, 1995). Fruktan merupakan oligosakarida yang terdiri dari rantai pendek unit fruktosa dengan unit tunggal D-glukosil. Fruktan dikenal sebagai molekul penyimpanan pada beberapa tanaman seperti *Cichorium intyubus* (chicory), *Innula helenium* (elecampane) dan *Helianthus tuberosus* (Jerusalem artichoke). Yang termasuk dalam fruktan yaitu inulin dan fruktooligosakarida (Miremadi dan Shah, 2012).

Inulin merupakan kelompok polisakarida alami dari karbohidrat yang tersusun dari gabungan monosakarida fruktosa. Inulin bermanfaat sebagai bahan makanan fungsional karena memiliki kandungan kalori sangat rendah dibandingkan dengan jenis karbohidrat lainnya yaitu sekitar 12 kJ/g (Mavumengwana, 2004). Inulin memiliki struktur umum GF_n (G= Glukosa, F_n = Fruktosa dan n= jumlah fruktosa yang dihubungkan oleh ikatan β (2-1) fruktosil (Cho *et al.*, 1999). Jumlah molekul fruktosa dalam rantai inulin bervariasi dari

beberapa sampai puluhan (Niness, 1999). Inulin memiliki berat molekul yang lebih tinggi dibandingkan dengan oligosakarida dan polisakarida lainnya. Berat molekul ini juga berkaitan dengan kelarutan yang lebih rendah dan akan meleleh pada suhu yang tinggi (Mensink, 2015). Struktur inulin dapat dilihat pada Gambar 2.2



Gambar 2.1 Struktur Inulin
(Sumber : Barclay *et al.*, 2010)

Inulin memiliki sifat fisiologis dan struktural yang khas sehingga sulit dihidrolisis dan dapat secara utuh sampai ke usus besar (Roberfroid, 2007). Hal ini dikarenakan didalam saluran pencernaan bagian atas, enzim amilase yang terdapat pada kelenjar ludah tidak memiliki daya afinitas terhadap fruktan dan didalam usus halus tidak terdapat enzim yang dapat menghidrolisis ikatan $\beta(2-1)$ pada inulin (Mavumengwana, 2004). Di dalam usus besar, inulin akan difermentasi oleh bakteri probiotik yang ada di dalam usus menjadi asam-asam lemak rantai pendek dan beberapa mikroflora spesifik menghasilkan asam laktat. Hal tersebut akan memberikan efek positif terhadap kesehatan tubuh (Roberfroid, 2007).

Tabel 2.1. Kandungan inulin dan oligofruktosa pada beberapa tumbuhan (Moshfegh *et al.*, 1999)

		Inulin		Oligofruktosa	
		Range	Rata-rata	Range	Rata-rata
g/100 g					
Pisang	Mentah	0,3-0,7	0,5	0,3-0,7	0,5
	Kering mentah	0,9-2,0	1,4	0,9-0,2	1,4
	Kalengan	0,1-0,3	0,2	0,1-0,3	0,2
Asparagus	Mentah	2,0-3,0	2,5	2,0-3,0	2,0
	Rebus	1,4-2,0	1,7	1,4-2,0	1,7
Akar Chicory		35,7-47,6	41,6	19,6-26,2	22,9
Dandelion hijau	Mentah	12,0-15,0	13,5	9,6-12,0	10,8
	Matang	8,1-10,1	9,1	6,5-8,1	7,3
Bawang putih	Mentah	9,0-16,0	12,5	3,6-6,4	5,0
	Kering mentah	20,3-36,1	28,2	8,1-14,5	11,3
Globe Artichoke		1,0-6,8	4,4	0,2-0,7	0,4
Jerusalem artichoke		16,0-20,0	18,0	12,0-15,0	13,5
Daun bawang	Mentah	3,0-10,0	6,5	2,4-8,0	5,2
Bawang merah	Mentah	1,1-7,5	4,3	1,1-7,5	4,3
	Kering mentah	4,7-31,9	18,3	4,7-31,9	18,3
	Matang	0,8-5,3	3,0	0,8-5,3	3,9
Gandum	Mentah	1,0-4,0	2,5	1,0-4,0	2,5
	Tepung rebus	1,0-3,8	2,4	1,0-3,8	2,4
	Tepung panggang	0,2-0,6	0,4	0,2-0,6	0,4
Barley	Mentah	0,5-1,0	0,8	0,5-1,0	0,8
	Matang	0,1-0,2	0,2	0,1-0,2	0,2
Gandum hitam	Panggang	0,5-0,9	0,7	0,5-0,9	0,7

Tabel 2.1 menunjukkan kandungan inulin dan oligofruktosa pada berbagai macam tumbuhan dalam berbagai kondisi. Pada bawang merah, dalam kondisi mentah (segar) mengandung inulin dan oligofruktosa sekitar 4,3 g/100 g, dalam kondisi kering mentah sekitar 18,3 g/100g, dan dalam kondisi matang mengandung inulin sekitar 3,0 g/100g dan oligofruktosa sekitar 3,9 g/100g.

2.4. *L. casei* Sebagai Probiotik

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan bakteri yang memproduksi asam laktat sebagai produk utama dari proses katabolisme glukosa. BAL dibagi menjadi dua kelompok yaitu homofermentatif dan heterofermentatif. Homofermentatif yaitu bakteri yang menghasilkan asam laktat (<85%) sebagai satu-satunya produk akhir sedangkan heterofermentatif menghasilkan asam laktat, CO₂ dan etanol/asetat (König dan Fröhlich, 2009). Bakteri asam laktat tidak hanya berperan dalam menentukan rasa dan tekstur dari produk yang difermentasi tetapi juga berpengaruh dalam menghambat bakteri. Kelompok bakteri yang termasuk bakteri asam laktat yaitu genera *Carnobacterium*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* dan *Weissella*. Salah satu kelompok bakteri asam laktat yang banyak digunakan dalam produk fermentasi adalah genus *Lactobacillus* (Vandamme *et al.*, 1996).

Lactobacillus merupakan kelompok bakteri Gram positif yang berbentuk batang, biasanya nonmotil, dan tidak membentuk spora. Memiliki bentuk sel yang bervariasi dari yang sangat pendek (hampir coccoid) hingga batang yang sangat panjang, ramping atau agak tebal. Dapat tumbuh pada suhu antara 25-40 °C sebagai kultur starter dalam memfermentasi makan (Ray dan Bhunia, 2012). Dapat bersifat homofermentatif atau heterofermentatif. Homofermentatif artinya dapat memfermentasi glukosa untuk menghasilkan lebih dari 85% asam laktat, heterofermentatif menghasilkan asam laktat, karbon dioksida, etanol atau asamasetat (Hammes dan Vogel, 1995). Genus *Lactobacillus* memiliki kebutuhan nutrisi yang kompleks (misalnya untuk karbohidrat, asam amino, peptida, asam lemak, ester, garam, turunan asam nukleat dan vitamin) (Desai, 2008).

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

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

L. casei bersifat homofermentatif fakultatif, dengan memfermentasi karbohidrat menjadi asam laktat. Suhu optimum yang diperlukan untuk memfermentasi karbohidrat yaitu antara 28°C-2°C (Desai, 2008). *L. casei* dijumpai pada air susu yang berperan dalam memfermentasi air susu membentuk asam laktat sehingga menyebabkan air susu memiliki rasa asam (Burrows *et al.*, 1959). *L. casei* juga berperan sebagai probiotik karena memiliki efek antimikroba (Sunaryanto *et al.*, 2014). Daya antimikroba terjadi karna adanya senyawa antibakteri yang berupa asam-asam organik seperti asam laktat (Branen dan Davidson, 1993).

2.5 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini yaitu pemberian ekstrak etanol umbi bawang merah berpengaruh dalam meningkatkan pertumbuhan bakteri *L. casei* secara *in vitro*.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember dan dimulai pada bulan Februari 2018 sampai Mei 2018.

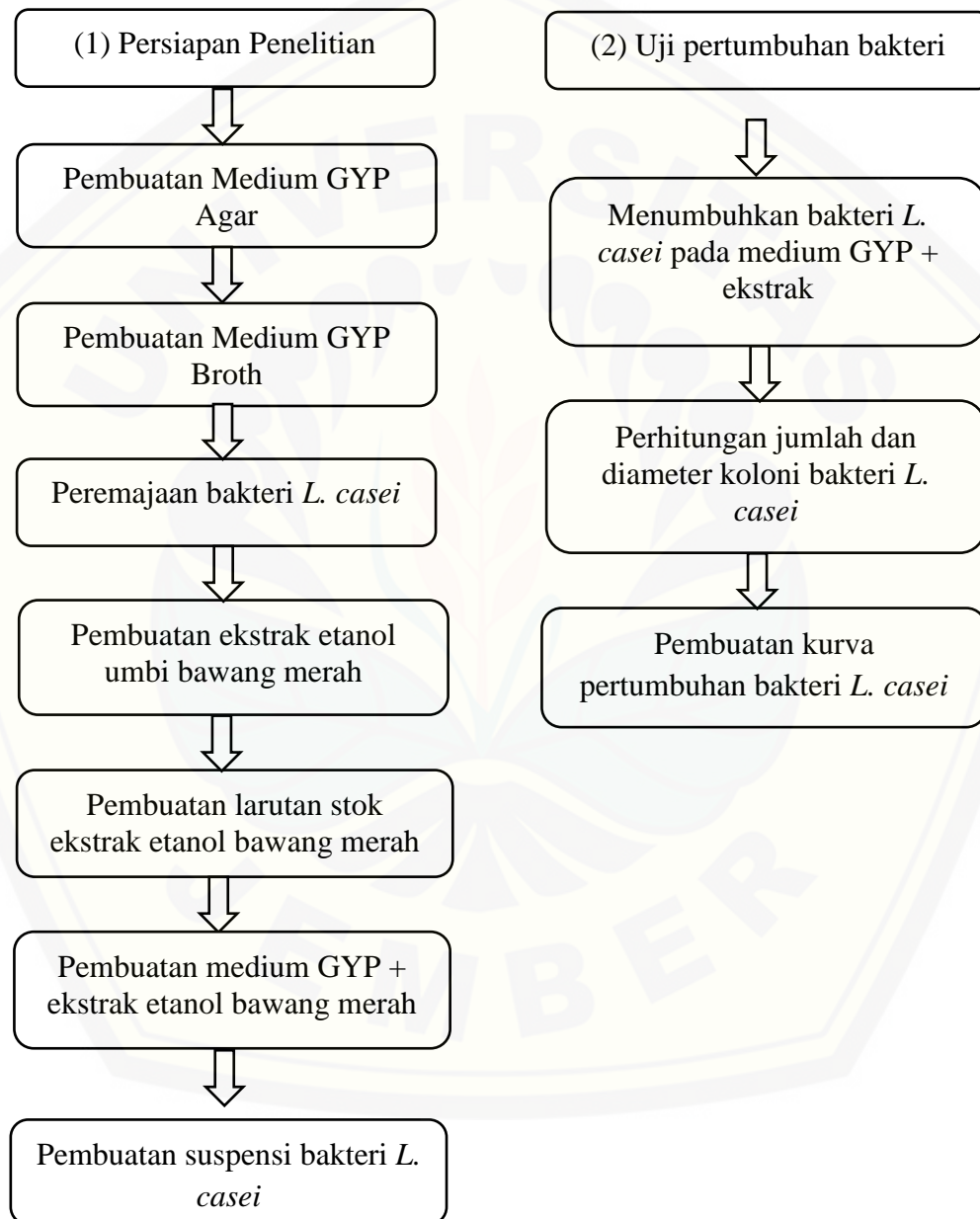
3.2 Alat dan Bahan

Adapun alat-alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain cawan petri, jarum ose, bunsen, *autoclave*, *Laminar Air Flow* (LAF), inkubator, vortex, gelas ukur, tabung reaksi, *Beaker glass*, spatula, mikro pipet, pipet, rak tabung, *handsprayer*, blender, penangas air, corong buchner, *hand counter*, kamera Iphone, inkubator, timbangan, *hot plate*, cawan porselin, *rotary evaporator*, kain saring, botol schoot, mikroskop stereo, optilab dengan software *Optilab Viewer* dan *Image Raster*.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain isolat bakteri *L. casei* yang diperoleh dari PAU Universitas Gadjah Mada, akuades, mineral GYP, alkohol 70%, bawang merah (*Allium cepa* L.) segar yang diperoleh dari Pasar Tanjung Jember, etanol 96 %, kapas, korek api, kertas tisu, kertas label, kertas *doorslag*, pulpen, aluminium foil.

3.3 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian dilakukan dalam 2 tahapan utama yaitu tahap persiapan penelitian dan uji pertumbuhan bakteri *L. casei*. Tahapan-tahapan tersebut dirancang dalam bagan prosedur penelitian yang dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Diagram alur penelitian pertumbuhan bakteri *L. casei* yang disuplementasi ekstrak etanol umbi bawang merah

3.3.1 Persiapan Penelitian

a. Pembuatan Medium GYP Agar

Pembuatan medium GYP (Glukosa Yeast Pepton) Agar dilakukan dengan memasukkan mineral GYP sebanyak 4,7 gram dan Tween 80 sebanyak 1 ml dalam *Beaker glass* 100 ml. Kemudian ditambahkan CaCO_3 0,5 gram dan *Bacto-Agar* 1,2 gram. Selanjutnya dipanaskan dengan *hot plate* sampai mendidih, dan dituang dalam cawan petri untuk disimpan pada suhu ruang. Komposisi medium dan cara pembuatannya merujuk pada lampiran C.

b. Pembuatan Medium GYP Broth

Pembuatan medium GYP broth dilakukan dengan memasukkan mineral GYP sebanyak 4,7 gram dan Tween 80 sebanyak 1 ml dalam *Beaker glass* yang berisi 100 ml akuades. Selanjutnya dipanaskan dengan *hot plate* sampai mendidih, dan dituang dalam tabung reaksi untuk disimpan pada suhu ruang. Komposisi medium dan cara pembuatannya merujuk pada lampiran C.

c. Peremajaan Bakteri *L. casei*

Peremajaan bakteri dilakukan dengan mengambil 1 ose isolat bakteri kemudian digoreskan pada cawan petri yang berisi medium GYP yang telah dibuat sebelumnya. Kemudian dibungkus dengan kertas doorslag dan simpan pada suhu ruang sampai bakteri tumbuh yang ditandai adanya zona bening di sekitar koloni. Bakteri yang tumbuh kemudian diambil 1 ose dan di goreskan pada medium GYP miring lalu ditutup dengan kapas dan disimpan pada suhu ruang.

d. Pembuatan Ekstrak Etanol Umbi Bawang Merah

Pembuatan ekstrak umbi bawang merah dilakukan dengan cara ekstraksi. Ekstraksi diawali dengan menimbang bawang merah (*Allium cepa* L.) sebanyak 400 g kemudian dikupas dan diblender dan ditambahkan etanol 96 % dengan perbandingan 1:2 (b/v). Kemudian dimaserasi selama 24 jam pada suhu kamar, setelah itu disaring menggunakan kertas saring dan di evaporasi pada suhu 80°C

untuk mendapatkan ekstrak berbentuk pasta. Setelah itu disimpan pada suhu ruang (Hartono *et al.*, 2013).

e. Pembuatan Larutan Stok Ekstrak Etanol Umbi Bawang Merah

Larutan stok dibuat dengan konsentrasi 50% yaitu dengan melarutkan 5 gram ekstrak dalam 10 ml GYP broth. Sebelum dilarutkan dengan GYP broth, ekstrak terlebih dahulu diberi Tween 80 sebanyak 1-2 tetes agar ekstrak bisa larut dengan baik.

f. Pembuatan Medium GYP + Ekstrak Etanol Umbi Bawang Merah

Mencampur 4 ml ekstrak dari stok kemudian dihomogenkan dengan 6 ml GYP untuk konsentrasi 20 %, mencampur 3 ml ekstrak dari stok kemudian dihomogenkan dengan 7 ml GYP untuk konsentrasi 15 %, mencampur 2 ml ekstrak dari stok kemudian dihomogenkan dengan 8 ml GYP untuk konsentrasi 10 %, mencampur 1 ml ekstrak dari stok kemudian dihomogenkan dengan 9 ml GYP untuk konsentrasi 5%, dan menggunakan 10 ml GYP tanpa penambahan ekstrak etanol bawang merah untuk medium kontrol (0%). Setelah itu ditutup dengan kapas dan disimpan dalam suhu ruang selama 24 jam. Penentuan volume ekstrak yang ditambahkan merujuk pada lampiran B.

g. Pembuatan Suspensi Bakteri

Pembuatan suspensi bakteri dilakukan dengan mengambil 1 ose dari stok bakteri *L. casei* pada medium GYP agar miring yang telah dibuat. Kemudian diinokulasikan pada medium GYP broth 10 ml selanjutnya diinkubasi shaker 100 rpm selama 24 jam pada suhu pada suhu ruang.

3.3.2 Uji pertumbuhan bakteri

a. Menumbuhkan Bakteri *L.casei* pada Medium GYP + Ekstrak Etanol Umbi Bawang Merah

Menyiapkan masing-masing medium GYP broth yang telah ditambahkan dengan ekstrak etanol umbi bawang merah dengan konsentrasi tertentu.

Selanjutnya memipet 1 ml suspensi bakteri *L. casei* kedalam medium GYP broth yang telah diberi ekstrak pada masing-masing konsentrasi. Medium yang telah diinokulasikan bakteri *L. casei* kemudian di inkubasi *shaker* 100 rpm selama 24 jam pada suhu ruang.

b. Perhitungan Jumlah Sel *L. casei* dan Pengukuran Diameter Koloni Bakteri *L. casei*

Pertumbuhan bakteri pada medium GYP agar dilakukan menggunakan metode *drop plate*. Masing-masing konsentrasi diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam garfis (garam fisiologis 0,85% NaCl) 9 ml sampai pengenceran 10^{-8} . Selanjutnya dari masing-masing seri pengenceran di homogenkan dan diambil 10 μ l yang di teteskan pada medium GYP agar. Kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang. Perhitungan jumlah sel bakteri dilakukan menggunakan SPC (*Standart Plate Count*) dengan rumus:

$$\text{Jumlah koloni per cawan} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$$

Pengukuran diameter koloni dilakukan menggunakan mikroskop dan optilab perbesaran 40 kali dan menggunakan software *Optilab Viewer* dan *Image Raster*.

c. Pembuatan Kurva Pertumbuhan Bakteri

Pembuatan kurva pertumbuhan bakteri dilakukan dengan menginokulasikan bakteri *L.casei* pada medium GYP broth kemudian diinkubasi *shaker* dengan kecepatan 100 rpm pada suhu ruang selama 48 jam. Setiap interval 4 jam, diambil 1 ml dan dimasukkan kedalam 9 ml garam fisiologis sebagai pengenceran 10^{-1} dan dimasukkan ke dalam ependorf yang berisi 900 μ l garam fisiologis sebagai pengenceran 10^{-2} dan dilakukan sampai pengenceran 10^{-8} . Kemudian dari masing-masing pengenceran diambil 10 μ l untuk di *drop* pada medium GYP agar dan diinkubasi ada suhu ruang selama 48 jam.

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

4.1 Kesimpulan

Pemberian ekstrak etanol umbi bawang merah tidak berpengaruh terhadap ukuran diameter koloni tetapi berpengaruh terhadap peningkatan jumlah sel bakteri *L.casei*. Peningkatan jumlah sel bakteri *L. casei* yang tinggi yaitu pada medium yang disuplementasi ekstrak etanol umbi bawang merah pada konsentrasi 20% (b/v) dengan jumlah sel $7,0 \times 10^8$ cfu/ml.

4.2 Saran

Penelitian selanjutnya sebaiknya dilakukan identifikasi untuk memastikan kandungan inulin didalam ekstrak, sehingga ekstrak yang disuplementasi tidak bercampur dengan senyawa lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, Z., Y. Wang, Q. Cheng, M. Imran. 2010. Review *Lactobacillus acidophilus* Bacteriocin, From Production To Their Application: An overview. *African Journal of Biotechnology*. 9 (20).
- Al-Qadiri, H.M., N. I. Al-Alami, M. Lin , M. Al-Holy, A.G. Cavinato, dan B. A. Rasco. 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.
- Barclay , T., M. G. Markovic , P. Cooper , N. Petrovsky. J. 2010. Inulin - A Versatile Polysaccharide With Multiple Pharmaceutical And Food Chemical Uses. *Journal Excipients and Food Chem*. 1 (3): 27-50.
- Burrows, W. 1959. *Text Book Microbiology*. USA: W.B. Saunders Company.
- Cho, S.S., L. Prosky, dan M. Dreher. 1999. *Complex Carbohydrates in Foods*. New york : Marcel Dekker, Inc.
- Chen, C., G. Zhao, W. Chen. B. Guo. 2015. Metabolism of fructooligosaccharides in *Lactobacillus plantarum* ST-III via differential gene transcription and alteration of cell membranefluidity. *Applied and Environmental Microbiology* . 81 (22) : 7697-7707.
- Christopher, K. dan Bruno, E. 2003. *Identification of Bacterial Species*. Association for Biology Laboratory Education (ABLE). 103-130.
- Cummings, J. H., Macfarlane, G. T. & Englyst, H. N. 2001. Prebiotic digestion and fermentation. *American Journal of Clinical Nutrition*. 73: 415–420.
- Davidson, P. M., Sofos J. N., Branen, A. L. 2005. *Antimicrobials In Food:Third Edition*. Taylor & Francis Group.
- Desai, Ankur. 2008. Strain Identification, Viability And Probiotics Properties Of *Lactobacillus casei*. *Tesis*. Victoria : School Of Biomedical And Health Sciences Victoria University.
- FAO. 2001. *Health and Nutrition Properties of Probiotics in Food including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria*. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional.

- Fritsch ,R.M. dan N. Friesen. 2002. *Evolution, Domestication, and Taxonomy*. Editor: Rabinowitch dan Currah dalam *Allium Crop Science : Recent Advances*. New York: Cabi Publishing.
- Fuller, R. 1989. Probiotics In Man And Animals. *Journal of Applied Bacteriology*. 66: 365-378.
- Garrity, G.M., J.A. Bell, and T.G. Lilburn. 2004. *Taxonomic Outline of the Procaryotes. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd edition. New York : Springer.
- Gibson, G.R., dan M.B. Roberfroid. 1995. Dietary Modulation of the Human Colonie Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics. *Journal American Institute of Nutrition*. 1401-1412.
- Gibson, G.R. dan R. Fuller. 2000. Aspects of In Vitro and In Vivo Research Approaches Directed Toward Identifying Probiotics and Prebiotics for Human Use. *Journal Of Nutrition*. 130: 391–395.
- Gilliland, S.E., C.R. Nelson, dan C. Maxwell. 1985. Assimilation of Cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*. *Applied And Environmental Microbiology*. (49): 377–381.
- Goh,Y.J., C. Zhang, A.K. Benson, V. Schlegel, J. W. Lee, dan R.W. Hutkins . 2006. Identification of a Putative Operon Involved in Fructooligosaccharide Utilization by *Lactobacillus paracasei*. *Applied And Environmental Microbiology*. 72 (12) : 7518–7530.
- Gomes, A.M.P. and F.X. Malcata. 1999. *Bifidobacterium* spp. and *L. acidophilus*: Biological, Technological and Therapeutical Troperities Relevant for Use as Probiotics. *Trends in Food Science and Technology*. 10: 139-157.
- Hammes, W. E. dan R.F. Vogel 1995. The genus *Lactobacillus*: The lactic acid bacteria Vol. 2. The general of lactic acid bacteria. J.B. Wood Brian and W.H. Holzapfel. Blackie academic & Professional, London, United Kingdom.
- Hartono, C. Muthiadin, dan A. I. Ayu. 2013. Pengaruh Ekstrak Senyawa Inulin Dari Bawang Merah (*Allium cepa* Linn.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Probiotik *Lactobacillus acidophilus*. *Jurnal Bionature*. 14 (1).
- Ingraham J.L., O.Maaloe. F.C. Neidhardt. *Growth of The Bacterial cell*. Sunderland MA : Sinauer Associates.130.

- Kaur N, dan Gupta A. N. 2002 . Applications of inulin and oligofructose in Health and Nutrition. *Journal Bioscience*. 27: 703-714.
- König, H dan J. Fröhlich. 2009. *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Kumar M, A. Kumar, R. Nagpal, D. Mohania, P. Behare, V. Verma, P. Kumar, D. Poddar, P. K. Aggarwal, C. J. K. Henry, S. Jain Dan H.Yadav. 2010. Cancer-Preventing Attributes Of Probiotics. *International Journal Of Food Sciences And Nutrition*. 61 (5): 473–496.
- Kusumawati, I dan N.C. Zaini. 2005. Pengaruh Senyawa Prebiotik Dari Bawang Merah (*Allium cepa*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Probiotik. *Majalah Farmasi Airlangga* . 5(1).
- Lourens-Hattingh A., dan B.C. Viljoen. 2001. Yogurt as Probiotic Carrier Food. *International Dairy Journal* .11: 1-7.
- Maier, Raina M.. 2009. *Environmental Microbiology*. 2009.USA: Academic press of Elsevier.
- Mensink, M. A. H.W. Frijlink, K. V. D. V. Maarschalk, W. L. J. Hinrichsa. 2015. Carbohydrate Polymers . Inulin, a flexible oligosaccharide. *Journal homepage*. 134: 418–428
- Mishra, C., and J. Lambert. 1996. Production Of Anti-Microbial Substances By Probiotics. *Asia Pasific J Clin Natr*. 5 : 20-24.
- Monod, J. 1949. The Growth Of Bacterial Cultures. *Annu. Rev. Microbiol*. 3:371-394.
- Moshfegh, A. J., J. E. Friday, J. P. Goldman dan J.K. C. Ahuja. 1999. Presence of Inulin and Oligofructose in the Diets of Americans. *Journal of Nutrition*. 129: 1407–1411.
- Miremadi, F. dan N.P. Shah 2012. Applications of Inulin and Probiotics in Health and Nutrition. *International Food Research Journal* .19 (4) : 1337-1350.
- Mavumengwana, V.B. 2004. Isolation, Purification And Characterization Of Inulin And Fructooligosaccharides From Chicorium Intybus And Inulinase From *Aspergillus niger*. *Tesis*. Rhodes : Department of Biochemistry, Microbiology and Biotechnology Faculty of Science, Rhodes University.

- Nova, E., J. Wanrberg, S. Gomez-Martinez, L. E. Diaz, J. Romeo, dan A. Marcos. 2007. Immunomodulatory Effects of Probiotics In Different Stages Of Life. *British Journal of Nutrition*. 98 (1) : 90–95.
- Rautry, Amiya K, R.C Patra, K.K.Sardar dan G. Sahoo. 2011. Potential Of Probiotics In Livestock Production.1(1).
- Roberfroid, M. B. 2007. Inulin-Type Fructans: Functional Food Ingredients. *Journal of Nutrition*. 137: 2493S–2502S.
- Seeley, H.W., P.J. Van Demark dan J.J. Lee. 2001. *Microbes in Action: A Laboratory Manual of Microbiology 4th Edition*. New York: W.H. Freeman and Company.
- Soebagio, B., Rusdiana, T. dan Khairudin. 2007. Pembuatan Gel Dengan Aqupec HV-505 dari Ekstrak Umbi 145 Bawang Merah (*Allium cepa* L.) sebagai Antioksidan. Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran. Bandung.
- Sousa, Valéria Maria Caselato de, E. F. dos Santos , V. C. Sgarbieri. 2011. The Importance of Prebiotics in Functional Foods and Clinical Practice. *Food and Nutrition Sciences*. 2 : 133-144.
- Suharyono, S. Rizal , F. Nurainy, M. Kurniadi. 2012. Pertumbuhan *L.casei* Pada Berbagai Lama Fermentasi Minuman Sinbiotik Dari Ekstrak Cincau Hijau (*Premna oblongifolia* Merr). *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*. 5 (2).
- Sunaryanto, R., E. Martius, dan B Marwoto. 2014. Uji Kemampuan *Lactobacillus casei* Sebagai Agensia Probiotik. *Jurnal Bioteknologi Dan Biosains Indonesia*. 1 (1).
- Sundari, E. E. R.Desfitri, M. Martynis dan E. Praputri.2014. Identifikasi Dan Kondisi Ekstraksi Inulin dari Umbi Dahlia di Sumatera Barat. *Prosiding Snstl I*. 11 September 2014 : 2356-4938.
- Tshikhudo P, R. Nnzeru, K. Ntushelo, F. Mudau. 2013. Bacterial Species Identification Getting Easier. *African Journal of Biotechnology*. 12(41): 5975–5982.
- Vandame, 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).
- Wang, X. dan Gibson, G.R. (1993). Effects of the in vitro fermentation of oligofructose and inulin by bacteria growing in the human large intestine. *J. Appl. Bacteriol*. 75: 373–380.

Zhou, X. dan Li, Y. 2015. *Atlas of Oral Microbiology, First Edition*. USA: Academic Press.



LAMPIRAN

Lampiran A. PENENTUAN LARUTAN STOK

Konsentrasi 50 %= 50 gram ekstrak dalam 100 ml aquades atau 5 gram ekstrak dalam 10 ml aquades

Lampiran B. PENENTUAN VOLUME EKSTRAK DALAM MASING-MASING KONSENTRASI

Pembuatan media dengan konsentrasi tertentu dilakukan dengan rumus $M1 \times V1 = M2 \times V2$, $M1$ = Konsentrasi pada media ; $M2$ = Konsentrasi stok; $V1$ = Volume media yang akan dibuat; $V2$ = Volume yang akan diambil dari stok

1. Konsentrasi 0 %

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$0 \times 10 = 50 \times V2$$

$$0 = 50 \times V2$$

$$V2 = 0 + 10 \text{ ml GYP}$$

2. Konsentrasi 5 %

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$5 \times 10 = 50 \times V2$$

$$50 = 50 V2$$

$$V2 = 1 + 9 \text{ ml GYP}$$

3. Konsentrasi 10 %

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$10 \times 10 = 50 \times V2$$

$$100 = 50 V2$$

$$V2 = 2 + 8 \text{ ml GYP}$$

4. Konsentrasi 15 %

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$15 \times 10 = 50 \times V2$$

$$150 = 50 V2$$

$$V2 = 3 + 7 \text{ ml GYP}$$

5. Konsentrasi 20%

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$20 \times 10 = 50 \times V2$$

$$200 = 50 V2$$

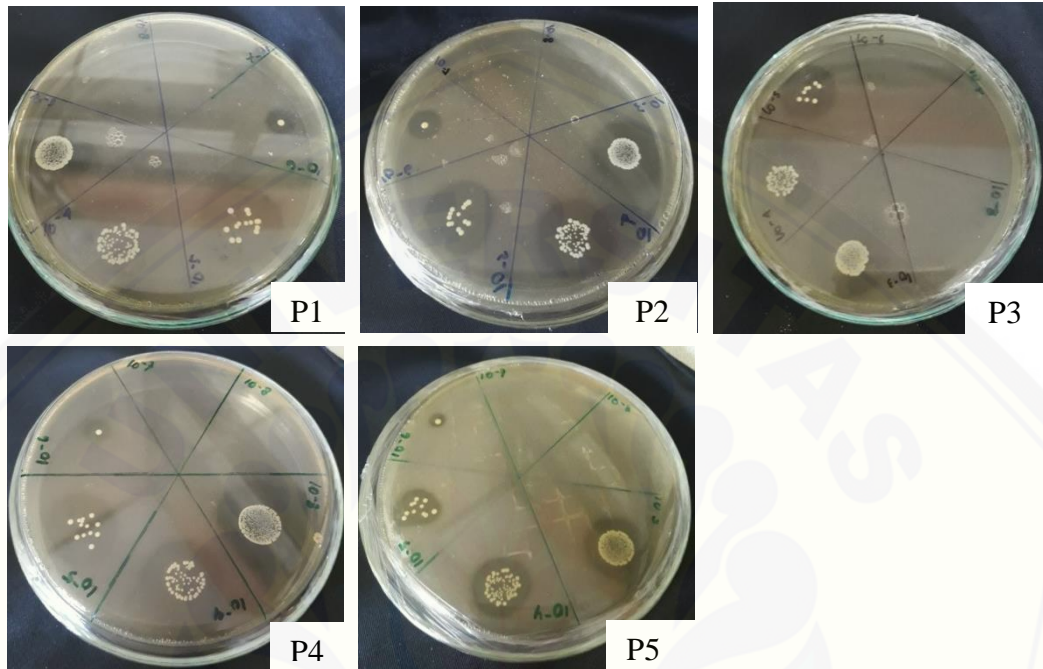
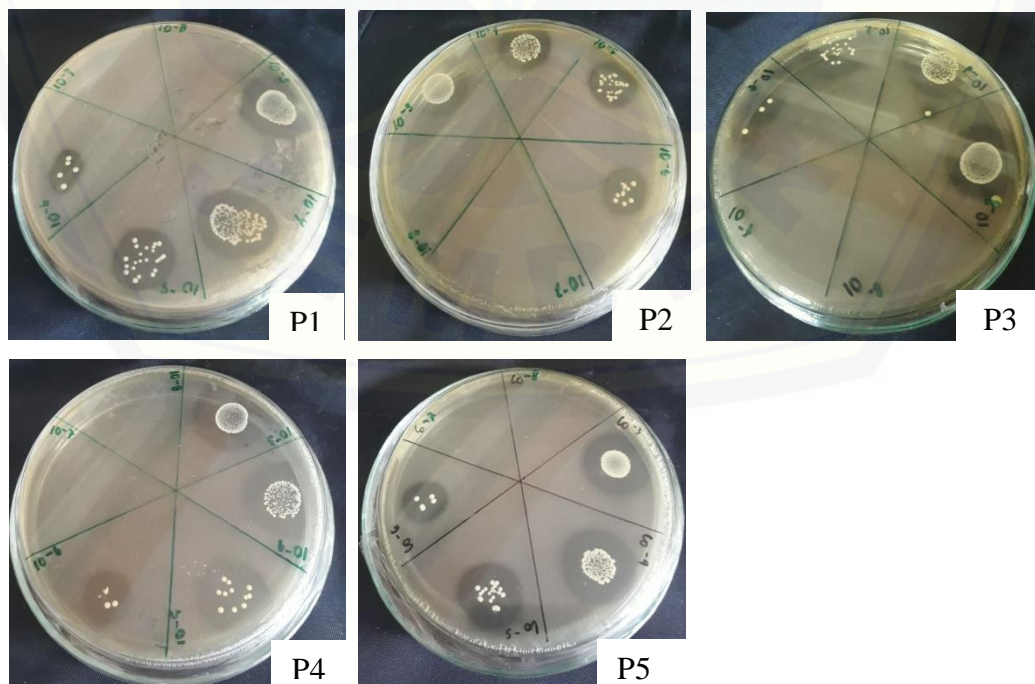
$$V2 = 4 + 6 \text{ ml GYP}$$

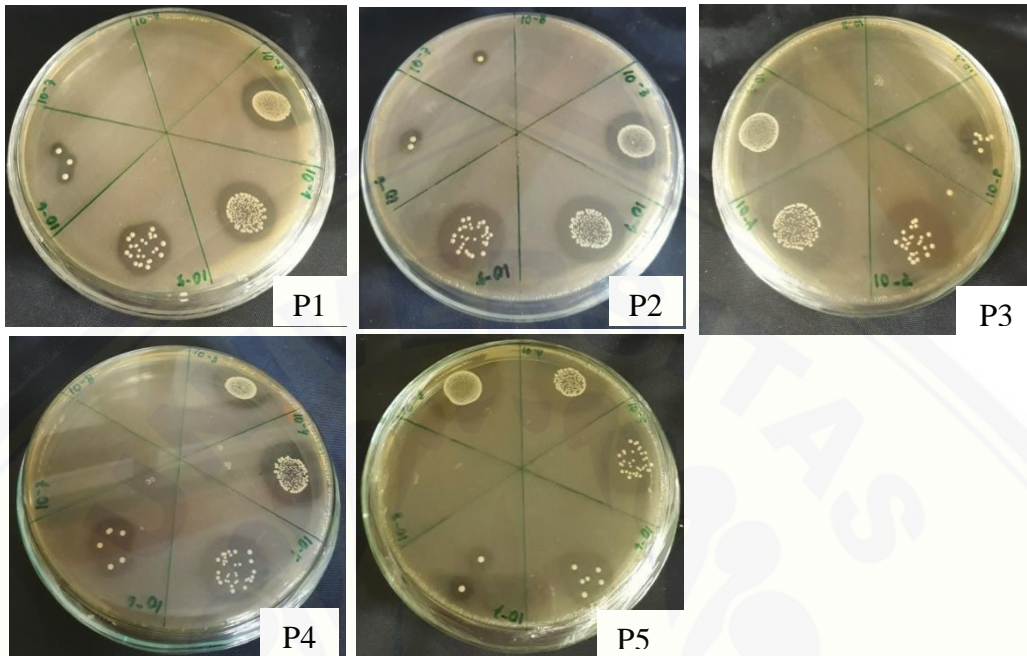
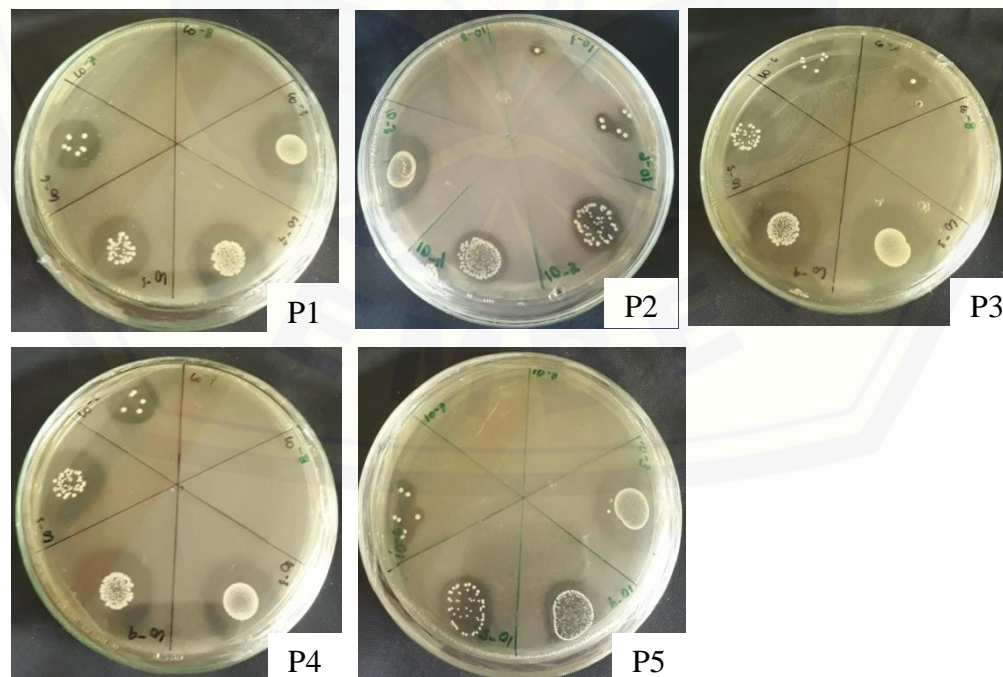
Lampiran C. KOMPOSISI MEDIUM GYP (GLUCOSA YEAST PEPTON)

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

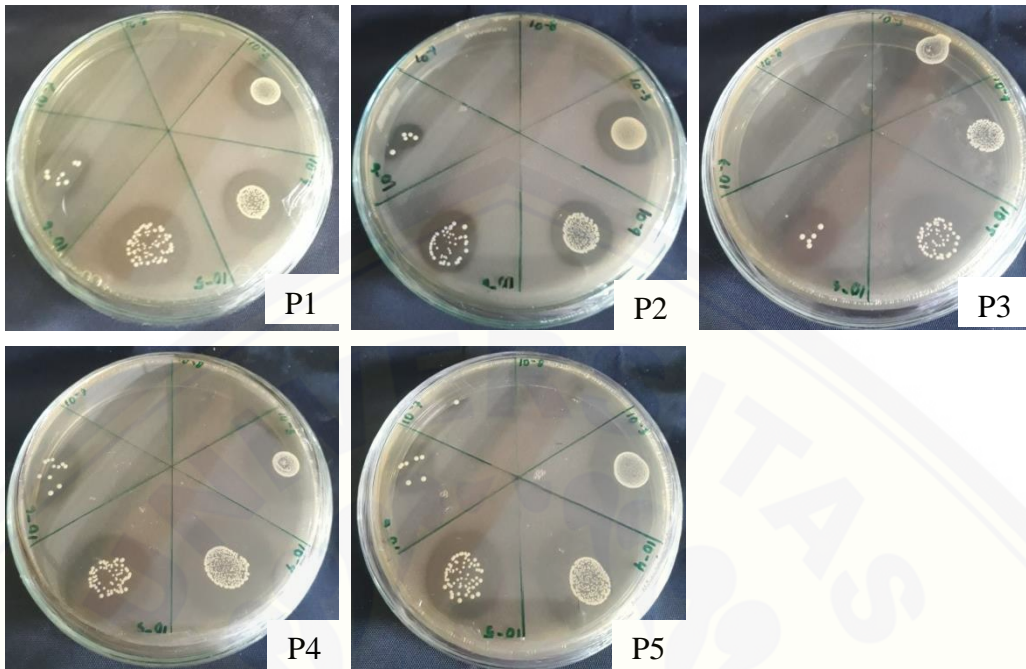
Langkah – Langkah Pembuatan :

1. Menimbang bahan-bahan yang tercantum diatas menggunakan 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 D. GAMBAR KOLONI *L. casei***Lampiran D.1 Gambar koloni yang tumbuh pada konsentrasi 0 % (kontrol)****Lampiran D.2 Gambar koloni yang tumbuh pada konsentrasi 5%**

Lampiran D.3 Gambar koloni yang tumbuh pada konsentrasi 10%**Lampiran D.4 Gambar koloni yang tumbuh pada konsentrasi 15%**

Lampiran D.5 Gambar koloni yang tumbuh pada konsentrasi 20%



Lampiran E. ANALISIS SPSS

Konsentrasi (%)	Jumlah Bakteri (sel/ml)	Diameter Koloni (mm)
0	13	1,80
0	13	1,45
0	8	1,45
0	13	1,65
0	11	1,65
5	22	1,10
5	21	1,10
5	27	1,35
5	17	1,20
5	18	1,15
10	27	1,40
10	25	1,60
10	28	1,50
10	50	1,25
10	25	1,80
15	60	1,55
15	60	1,15
15	80	1,25
15	50	1,65
15	70	1,20
20	80	1,40
20	50	1,15
20	50	1,15
20	110	1,15
20	60	1,14

E.1 Hasil Uji ANOVA jumlah koloni

Sumber Variasi	Jumlah Kuadrat (SS)	Derajat Bebas (df)	Kuadrat Rata rata (MS)	F. Hitung	F. Tabel (0,05)	Sign.
Konsentrasi ekstrak	12768,02	1	12768,02	64,535*	4,26	0,000
Galat	4550,44	23	197,845			
Total	17318,46	24				

Nilai $F_{hitung} > F_{tabel}$ sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol umbi bawang merah berpengaruh terhadap jumlah koloni

E.2 Hasil Uji DMRT jumlah koloni

Konsentrasi (%) (m/v)	Jumlah bakteri (cfu/ml)	DMRT
0	$1,2 \times 10^8$	$(1,2 \times 10^8)^a$
5	$2,1 \times 10^8$	$(2,1 \times 10^8)^{ab}$
10	$3,1 \times 10^8$	$(3,1 \times 10^8)^b$
15	$6,4 \times 10^8$	$(6,4 \times 10^8)^c$
20	$7,0 \times 10^8$	$(7,0 \times 10^8)^c$

Angka – angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5%

E.3 Hasil Uji ANOVA diameter koloni

Sumber Variasi	Jumlah Kuadrat (SS)	Derajat Bebas (df)	Kuadrat Rata rata (MS)	F. Hitung	F. Tabel (0,05)	Sign.
Konsentrasi ekstrak	0,195	1	0,195	4,245	7,82	0,051
Galat	1,055	23	0,046			
Total	1,249	24				

Nilai $F_{hitung} < F_{tabel}$ sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol umbi bawang merah tidak berpengaruh terhadap diameter koloni.

Lampiran F. KURVA PERTUMBUHAN BAKTERI *L. casei*

jam ke-	0%		20%	
	cfu/ml	log (cfu/ml)	cfu/ml	log (cfu/ml)
0	733000	5,87	4000000	6,60
4	867000	5,94	7000000	6,85
8	950000	5,98	14666666	7,17
12	12330000	6,60	130000000	8,11
16	126700000	7,60	1500000000	9,18
20	450900000	8,30	2725000000	9,44
24	1533333300	9,18	2950000000	9,47
28	2520000000	9,38	3000000000	9,48
32	2416666600	9,38	5850000000	9,77
36	2133000000	9,33	5000000000	9,70
40	1733000000	9,24	5000000000	9,70
44	1200000000	9,08	3000000000	9,48
48	800000000	8,90	2533333333	9,40

