

Pengaruh Lama Fermentasi Umbi Gembili (*Dioscorea esculenta* L.) dengan Kultur Starter *Lactobacillus plantarum* B1765 Terhadap Produksi Fruktooligosakarida

Nur Wanda Aini Natasya and Prima Retno Wikandari*
Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences
Universitas Negeri Surabaya
Jl. Ketintang, Surabaya (60231), Telp. 031-8298761

*Corresponding author, telp. 081328262678, email: primaretno@unesa.ac.id

Abstrak. Fruktooligosakarida (FOS) merupakan bahan aditif yang sering digunakan dan dimanfaatkan dalam industri pangan, farmasi serta kimia yang bernilai fungsional terhadap kesehatan tubuh. *Lactobacillus plantarum* B1765 telah diketahui mempunyai aktivitas inulinase. Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi lebih lanjut potensi *L. plantarum* B1765 dalam produksi FOS dari inulin umbi gembili yang ditinjau dari total pertumbuhan bakteri asam laktat (BAL) dan derajat polimerisasi (DP) selama waktu fermentasi tertentu. Lama fermentasi dilakukan selama 24, 48, dan 72 jam. Pengujian total BAL menggunakan metode total plate count (TPC) dengan medium MRS Agar. Pengujian penentuan total gula dan gula pereduksi menggunakan metode Nelson Somogyi. Penentuan derajat polimerisasi (DP) FOS yang terbentuk berdasarkan dari hasil pembagian total gula yang terbentuk dengan gula pereduksi yang dibebaskan selama proses fermentasi. Hasil total BAL yang tumbuh dari masing-masing lama waktu fermentasi ialah $2,11 \times 10^7$; $1,55 \times 10^8$; dan $3,3 \times 10^9$ CFU/mL, dengan derajat polimerisasi yang terbentuk dari masing-masing lama fermentasi berturut-turut ialah 3,470; 2,286; dan 1,740. FOS komersial mempunyai nilai DP 3-5. Penelitian ini mampu menghasilkan FOS yang memenuhi persyaratan komersial dengan DP 3.470, sehingga dapat digunakan untuk pengembangan industri FOS dari fermentasi umbi gembili.

Kata kunci : *Lactobacillus plantarum* B1765, umbi gembili, inulin, FOS, derajat polimerisasi

Abstract. Fructooligosaccharides (FOS) are additives that are often used and utilized in the food, pharmaceutical, and chemical industries that have functional value for health. *Lactobacillus plantarum* B1765 has been known to have inulinase activity. This research aimed to further explore the potential of *L. plantarum* B1765 in the production of FOS from lesser yam tuber inulin by looking at the total growth of lactic acid bacteria (LAB) and the degree of polymerization (DP) during a certain fermentation time. The duration of fermentation was carried out for 24, 48, and 72 hours. The testing of Total LAB using total plate count (TPC) method with MRS Agar medium. The Testing determination of total sugar and reduction sugar using the Nelson Somogyi method. Determination of the degree of polymerization (DP) of the formed FOS is based on the result of dividing the total sugar formed with the reducing sugar released during the fermentation process. The results of total LAB that grows from each fermentation time is $2,11 \times 10^7$; $1,55 \times 10^8$; and $3,3 \times 10^9$ CFU/mL, with degree of polymerization formed from each fermentation time are 3,470; 2,286; and 1,740. Comercial FOS has a DP value of 3-5. This study was able to produce a commercially acceptable fructooligosaccharide with a DP of 3,470, which could be used for industrial development of fermented lesser yam tuber fructooligosaccharides.

Key words: *Lactobacillus plantarum* B1765, lesser yam tuber, inulin, FOS, degree of Polymerization.

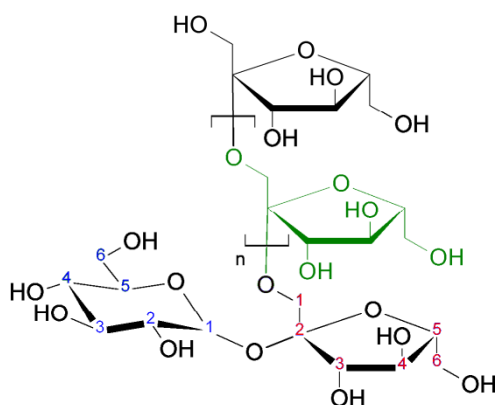
PENDAHULUAN

Pesatnya perkembangan zaman di era modern ini, banyak sekali ditemukan

perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi yang berperan untuk membantu mencukupi kehidupan manusia. Manusia memiliki sistem pencernaan yang begitu penting untuk kesehatan

tubuh. Salah satu teknologi dalam bidang pangan yang berkembang pesat di era saat ini ialah pemanfaatan prebiotic untuk menunjang kesehatan tubuh. Prebiotik adalah komponen pangan yang tidak dapat dihidrolisis oleh enzim yang dimiliki mamalia namun dapat difermentasi oleh mikroorganisme yang hidup dalam saluran cerna serta dapat menstimulasi aktivitas pertumbuhan bakteri baik pada saluran pencernaan. Prebiotik juga membantu meningkatkan kekebalan mikroorganisme dalam saluran cerna dari berbagai zat asing. Menurut Nisa [1] prebiotic umumnya berupa komposisi pangan yang tidak dapat dicerna oleh tubuh manusia namun berfungsi sebagai sumber karbohidrat untuk berbagai bakteri baik yang menguntungkan di dalam saluran pencernaan.

Salah satu sumber prebiotik yang bermanfaat ialah inulin dan hasil hidrolisisnya yakni Fruktooligosakarida (FOS) [2]. Inulin memiliki fungsi sebagai prebiotik dan serat yang memberikan banyak manfaat untuk kesehatan manusia [3]. Menurut Zain [4] inulin adalah polisakarida (khususnya fruktan) terdiri dari beberapa unit fruktosa dengan ikatan glikosidik β -(2-1) fructofuranosyl dan pada ujungnya terdapat terminal glukosa. Banyaknya jumlah monomer inulin pada setiap untaian bergantung dari sumbernya [5]. Struktur inulin seperti tercantum pada gambar 1.



Gambar 1. Struktur Inulin.

Polimer inulin (Gambar 1) dituliskan GF_n , yang merupakan fruktan dengan terdapat glukosa pada ujung terminal dan F_n merupakan fruktan tanpa ujung terminal glukosa. Symbol n pada rumus struktur merupakan derajat polimerisasi (DP) yang dimiliki molekul tersebut. DP inulin bergantung dari asal inulin tersebut

dihasilkan. Inulin memiliki sifat larut di dalam air dan tidak dapat dicerna oleh enzim pencernaan, namun difermentasi oleh mikroorganisme di dalam kolon (usus besar). Inulin dihidrolisis menggunakan bantuan enzim inulinase. Enzim inulinase merupakan sebuah enzim yang bersifat induktif ekstraseluler yang menargetkan rantai inulin pada ikatan β -2,1 di mana ikatan tersebut ialah polifruktan yang terdiri dari rantai fruktosa β -2,1 yang akan dihidrolisis menjadi fruktosa [3].

Fruktooligosakarida (FOS) merupakan sebuah oligosakarida yang tersusun dari 2-10 unit monomer fruktosa yang memiliki ikatan β -(2-1) glikosidik dan pada ujungnya terdapat satu monomer glukosa dengan ikatan α -(2-1) glikosidik. FOS adalah bahan aditif yang sering dimanfaatkan dalam industri kimia, farmasi serta pangan. FOS memiliki nilai fungsional karena bermanfaat sebagai prebiotic, factor stimulat *Bifidus*, baik untuk kesehatan pencernaan, serat larut (*soluble dietary fiber*), pemanis rendah kalori, dan bersifat non-karsinogenik [6,7]. Umumnya, FOS memiliki nilai DP berkisar 2-10 karena FOS merupakan oligosakarida yang tersusun atas 2-10 unit monomer fruktosa. Menurut FDA [8] Fruktooligosakarida (FOS) memiliki nilai derajat polimerisasi (DP) berkisar 3-5. Besar nilai derajat polimerisasi menunjukkan banyaknya jumlah unit fruktosa yang terkandung dalam satu molekul polisakarida.

Dalam dunia industri pangan, FOS yang sering digunakan untuk komersil ialah FOS dengan derajat polimerisasi 3-5. Kandungan gula dalam FOS komersil antara lain *Kestose* (GF2) yakni FOS yang memiliki DP bernilai 3, FOS dengan campuran gula *Nystose* (GF3) memiliki nilai DP 4, dan FOS dengan DP 5 mengandung campuran gula *Fructosyl nystose* (GF4) [9]. FOS dapat diperoleh dari fruktan alami yang berasal dari tanaman, dan dari oligofruktosa yang dibentuk oleh hidrolisis inulin dengan penambahan enzimatis gugus fruktosil, dan memiliki derajat polimerisasi (DP_{av}) rata-rata 3,6 yang disebut sebagai fruktooligosakarida rantai pendek [10]. Fruktooligosakarida diproduksi dengan bahan baku inulin secara enzimatis menggunakan bantuan mikroorganisme [6]. FOS sebagai prebiotic diketahui berfungsi mencegah kolonisasi usus manusia oleh mikroorganisme patogen karena mendorong pertumbuhan bakteri menguntungkan [1].

Menurut Cardarelli [11] inulin terdapat dalam kandungan beberapa jenis umbi-umbian

seperti umbi Dahlia (*Dahlia sp. L*), chicory, umbi gembili (*Dioscorea esculenta*), umbi Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*), umbi yacon (*Chicoryum intybus L*), dandelion (*Taraxacum officinale Weber*). Kemudian terkandung juga dalam bawang merah, bawang putih, asparagus, pisang serta gandum namun berjumlah kecil. Sumber lain inulin berasal dari oat mentah, barley dan gandum.

Gembili memiliki keunggulan dapat tumbuh di bawah tegakan hutan yang merupakan tanaman subsiten dan bukan dalam kelompok tanaman pokok yang dibudidayakan karena kurangnya pemanfaatan yang baik. Sebenarnya umbi gembili memiliki kandungan senyawa bioaktif atau senyawa fungsional, yakni inulin, dioscorin, dan diosgenin yang bermanfaat bagi kesehatan tubuh [12]. Selain itu, gembili juga mengandung senyawa inulin yang berperan sebagai komponen dalam bahan pangan. Inulin yang terkandung dalam gembili masih kurang pemanfaatannya, sedangkan berdasarkan penelitian yang telah dilakukan Zubaidah dan Wilda [13] umbi gembili mengandung kadar inulin sebesar 67,66%. Kadar inulin gembili tersebut dapat dimanfaatkan sebagai bahan dasar pembuatan fruktooligosakarida. Bahan dasar pembuatan FOS juga belum terkenal banyak, serta inovasi teknologi dalam produksi FOS masih bersifat eksploratif dan belum diasosiasikan kepada masyarakat luas, oleh sebab itu ekplorasi dalam menghasilkan FOS masih diperlukan, terutama di Indonesia.

FOS dapat dihasilkan dari proses fermentasi inulin melalui enzim inulinase yang dimiliki oleh mikroorganisme seperti bakteri atau jamur. Beberapa penelitian menunjuk bahwa beberapa spesies bakteri asam laktat (BAL) mampu tumbuh pada medium inulin. Peningkatan total isolate BAL *Lactobacillus plantarum* ditemukan di media dengan penambahan inulin dari umbi gembili. Diketahui dalam sebuah penelitian bahwa *Lactobacillus plantarum* WCFS1 tumbuh dengan baik di dalam medium inulin [13,14]. Menurut Rafsanjani dan Prima [15] tidak semua bakteri asam laktat mampu memanfaatkan golongan fruktan, namun spesies *Lactobacillus plantarum* mampu memanfaatkan FOS dan inulin sebagai media pertumbuhannya.

Zubaidah dan Wilda [13] telah melakukan penelitian dengan hasil di mana aktivitas enzim inulinase dari *Lactobacillus plantarum* memiliki aktivitas yang baik, hal ini

dapat diketahui dari peningkatan tertinggi total isolate BAL *L. plantarum* ditemukan di media dengan penambahan inulin dari umbi gembili dalam jumlah $2,69 \times 10^{10}$ cfu/ml. Hasil penelitian juga menunjukkan enzim inulase dapat dihasilkan oleh bakteri *L. plantarum* B1765 yang optimumnya diproduksi pada lama inkubasi selama 18 jam, dengan aktivitas inulase sebesar 0,047 Unit/mL [3].

Pengujian pertumbuhan *Lactobacillus plantarum* B1765 sebagai probiotik pada umbi gembili kaya inulin serta penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas potensi enzim inulinase yang dihasilkan dari *Lactobacillus plantarum* B1765 dalam menghidrolisis inulin pada umbi gembili dalam menghasilkan FOS juga belum pernah dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi lebih lanjut potensi *L. plantarum* B1765 dalam produksi FOS dari inulin umbi gembili yang ditinjau total pertumbuhan bakteri asam laktat dan derajat polimerisasi (DP) selama waktu fermentasi tertentu. Manfaat dari penelitian ini ialah agar masyarakat dapat mengeksplorasi pemanfaatan inulin gembili dalam proses produksi FOS dengan bantuan enzim inulinase dari bakteri *Lactobacillus plantarum* B1765.

METODE PENELITIAN

Bahan

Penelitian ini menggunakan bahan yang terdiri dari, Isolat BAL *Lactobacillus plantarum* B1765, MRS Broth, CaCO₃, larutan NaCl 0,85%, agar *i*, standar fruktosa (Fructose Merck), tepung umbi gembili, aquades, larutan HCl 0.5 N, reagen Nelson Somogyi, reagen Arsenomolibdat.

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah pH meter (Fisher Scientific Eutech pH 700 Meter), termometer, peralatan gelas, tabung sentrifuge, Neraca (Denver Instrument SI-234), Mikropipet (Brand), Sentrifuge (Eppendorf), Vortex Mixer (Labnet), Autoclaf (Hirayama HVE-50), Spektrofotometer UV-VIS. Laminar Air Flow (Thermo Scientific 1300-Series A2), Inkubator (Memmert.)

Prosedur Penelitian

Persiapan Kultur Starter

Persiapan kultur starter dilakukan dengan menambahkan 1% isolate bakteri *Lactobacillus*

plantarum B1765 ke dalam 9 mL media MRS Broth yang kemudian diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Setelah diinkubasi, isolate yang telah direfresh disentrifuge dan dibuang filtratnya. Endapan isolate kemudian dicuci menggunakan 9 mL larutan NaCl 0,85% dan divortex sampai seluruh isolate tercampur dengan larutan NaCl, setelah itu disentrifuge kembali dan filtrate hasil sentrifuge dibuang, sedangkan endapan isolate ditambahkan kembali dengan larutan NaCl 0,85% sebanyak 10 mL dan isolate divortex hingga homogen.

Proses Fermentasi Inulin Gembili

Persiapan sampel dilakukan dengan menimbang 10 gram tepung umbi gembili, selanjutnya sampel tepung umbi gembili ditambahkan dengan 100 mL aquades mendidih dan diaduk hingga bercampur. Selanjutnya kultur *L. plantarum* B1765 yang telah dipersiapkan sebelumnya dimasukkan ke dalam sampel tepung gembili sebanyak 5% (v/v), kemudian difermentasi selama 24, 48, dan 72 jam.

Proses Hidrolisis Fruktosa

Pada penelitian ini hidrolisis fruktosa dilakukan menggunakan hidrolisis enzimatis dengan bantuan isolate bakteri *Lactobacillus plantarum* B1765. Sampel yang telah difermentasi selanjutnya diambil sebanyak 2 mL dan diencerkan dalam 10 mL aquades. Sampel yang telah diencerkan diambil sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kosong, selanjutnya sampel pengenceran ditambah dengan 3 mL reagen Nelson Somogyi, kemudian dipanaskan menggunakan penangas selama 15 menit dan didinginkan kurang lebih 10 menit, selanjutnya 1,5 mL larutan arsenomolibdat dan 10 mL aquades ditambahkan ke dalam tabung reaksi, larutan dikocok hingga homogen dan dihitung absorbansinya pada panjang gelombang 653,50 nm.

Hidrolisis Gula Total

Hidrolisis gula total dilakukan dengan metode hidrolisis asam menggunakan larutan HCl 0,5 N. persiapan sampel dilakukan dengan menimbang tepung umbi gembili sebanyak 10 gram, kemudian ditambahkan dengan 85 mL aquades mendidih, dan diaduk hingga semua tepung gembili tercampur dalam aquades. Selanjutnya sampel yang sudah dibuat

ditambahkan dengan larutan HCl 0,5 N sebanyak 15 mL dan dihidrolisis selama 30 menit.

Sampel yang telah dihidrolisis diambil sebanyak 2 mL dan diencerkan dalam 10 mL aquades. Sampel yang telah diencerkan diambil 1 mL dan ditambahkan dengan 3 mL reagen nelson somogyi, kemudian dipanaskan menggunakan penangas selama 15 menit dan didinginkan 10 menit. Selanjutnya 1,5 mL larutan arsenomolibdat dan 10 mL aquades ditambahkan ke dalam tabung reaksi, larutan dikocok hingga homogen dan dihitung absorbansinya pada panjang gelombang 653,50 nm.

Penentuan Pertumbuhan BAL

Pertumbuhan BAL ditentukan menggunakan metode TPC (*Total Plate Count*) dengan metode tuang, di mana sampel yang telah difermentasi dengan kultur *Lactobacillus plantarum* B1765 selama 24, 48, dan 72 jam dituang ke dalam cawan petri steril yang kemudian diisi dengan media agar MRS Broth.

Sampel yang telah difermentasi kemudian dipipet sebanyak 1 mL untuk dilakukan pengenceran sampai pengenceran 10⁻⁸. Masing-masing sampel yang telah diencerkan kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri steril, selanjutnya media agar MRS Broth dituang ke dalam cawan petri yang berisi sampel dan diinkubasi selama 48 jam dan dihitung jumlah koloni BAL yang tumbuh di dalamnya. Jumlah koloni BAL yang dapat dihitung ialah apabila terbentuk sekitar 25 hingga 250 koloni.

Penentuan Derajat Polimerisasi FOS

Penentuan jumlah FOS yang terbentuk pada penelitian ini ditentukan oleh hasil derajat polimerisasi FOS dari perbandingan jumlah total gula dengan jumlah gula pereduksi dalam sampel yang telah dihidrolisis.

$$DP = \frac{\text{Jumlah total gula}}{\text{gula pereduksi (Fruktosa)}}$$

Untuk mengetahui konsentrasi gula yang terbentuk, langkah awal yang dilakukan ialah menentukan panjang gelombang maksimal dan membuat kurva standar larutan fruktosa.

Teknik Analisis Data

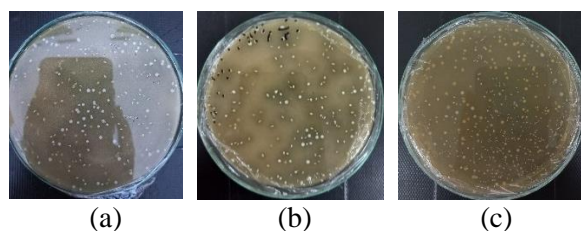
Analisis One Way ANNOVA menggunakan SPSS 16 digunakan untuk analisis data yang diperoleh pada penelitian ini.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian pengaruh lama waktu fermentasi terhadap hasil FOS yang terbentuk ini dilakukan penentuan pertumbuhan bakteri *Lactobacillus plantarum* B1765 yang terbentuk dalam media agar, yang selanjutnya diuji kemampuannya untuk menghasilkan produk Fruktooligosakarida ditinjau dari besar derajat polimerisasi FOS yang terbentuk.

Pertumbuhan BAL

Kurva pertumbuhan BAL ditentukan melalui jumlah koloni yang tumbuh dalam media agar, yakni dengan menghitung jumlah koloni BAL *Lactobacillus plantarum* B1765 yang hidup dalam media agar padat, jumlah koloni yang dapat dihitung berkisar mulai 25 hingga 250 koloni. Pada penentuan kurva pertumbuhan BAL, metode yang digunakan ialah metode *Total Plate Count* (TPC), di mana media agar padat dituang ke dalam cawan petri yang telah diisi sampel fermentasi inulin umbi gembili dengan variabel lama fermentasi yang berbeda. Proses fermentasi inulin umbi gembili berlangsung pada waktu 24, 48, dan 72 jam.



Gambar 2. Pertumbuhan Total BAL pada Setiap Lama Fermentasi (a) 24 Jam, (b) 48 Jam, dan (c) 72 Jam.

Pengamatan pertumbuhan Bakteri *Lactobacillus plantarum* B1765 yang terbentuk pada media agar masing-masing lama waktu fermentasi (Gambar 2) mengalami kenaikan jumlah koloni yang signifikan pada penelitian ini. (Tabel 1).

Tabel 1. Pertumbuhan Total BAL *Lactobacillus plantarum* B1765 terhadap Lama Fermentasi.

No	Lama Fermentasi (Jam)	Total BAL (CFU/mL)
1	24	$2,11 \times 10^7$ ^a
2	48	$1,55 \times 10^8$ ^b
3	72	$3,3 \times 10^9$ ^c

Keterangan: huruf yang berbeda menunjukkan kenaikan secara signifikan ($p > 0.05\%$).

Berdasarkan data yang diperoleh, lama waktu fermentasi berpengaruh terhadap jumlah pertumbuhan BAL *Lactobacillus plantarum* B1765. Kenaikan tertinggi pertumbuhan *Lactobacillus plantarum* B1765 terjadi pada lama fermentasi 72 jam, sedangkan pertumbuhan BAL terendah terjadi pada lama fermentasi 24 jam. Pertumbuhan bakteri *Lactobacillus plantarum* B1765 dalam media inulin umbi gembili mengalami kenaikan sebesar 2 log cycle, yakni pertumbuhan terendah pada 24 jam sebesar $2,11 \times 10^7$ dan pertumbuhan tertinggi pada 72 jam sebesar $3,3 \times 10^9$. Hal ini menunjukkan bahwa semakin lama fermentasi berjalan, semakin tinggi pertumbuhan BAL yang terbentuk. Semakin meningkatnya jumlah BAL *Lactobacillus plantarum* B1765 yang diperoleh seiring bertambahnya lama fermentasi sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya [15], di mana jumlah koloni *Lactobacillus plantarum* B1765 yang tumbuh pada yakon sebagai sumber FOS dan inulin sebesar $6,90 \times 10^7$ CFU/mL pada lama fermentasi 24 jam, dan sebesar $3,25 \times 10^8$ pada lama fermentasi 48 jam.

Hasil penelitian ini serupa dengan penelitian yang pernah dilakukan oleh Zubaidah dan Wilda [13] dalam media inulin gembili, yang mengatakan bahwa BAL *Lactobacillus plantarum* ditemukan dalam media dengan penambahan inulin, dengan jumlah koloni sebesar $2,69 \times 10^{10}$ CFU/mL dengan lama fermentasi 24 jam. Perbedaan kenaikan jumlah BAL tertinggi dengan penelitian yang dilakukan ini dapat terjadi karena adanya perbedaan kemampuan *Lactobacillus plantarum* dalam menghidrolisis inulin yang terkandung dalam umbi gembili. Kemampuan hidrolisis inulin oleh *Lactobacillus plantarum* dalam penelitian [13] lebih besar dibandingkan dengan kemampuan hidrolisis inulin oleh *Lactobacillus plantarum* B1765, karena pertumbuhan BAL mencapai kenaikan tertinggi hanya dalam waktu 24 jam, sementara pertumbuhan tertinggi BAL *Lactobacillus plantarum* B1765 tercapai dalam waktu 72 jam. Penjelasan tersebut menyatakan bahwa inulin yang terkandung dalam umbi gembili mampu dijadikan sebagai media tumbuh kembang yang baik untuk *Lactobacillus plantarum* B1765.

Penelitian lain menjelaskan bahwa BAL *Lactobacillus plantarum* IS-10506 hidup dalam media inulin dengan jumlah koloni sebesar $1,03 \times 10^3$ CFU/mL dengan lama fermentasi 12 jam [16]. Perbedaan kenaikan tertinggi jumlah BAL

Lactobacillus plantarum B1765 dibandingkan dengan kenaikan jumlah BAL *Lactobacillus plantarum* IS-10506 juga mengalami perbedaan. Jumlah BAL *Lactobacillus plantarum* IS-10506 yang tumbuh pada penelitian [16] lebih rendah dibandingkan jumlah BAL yang terbentuk oleh *Lactobacillus plantarum* B1765, hal ini disebabkan karena adanya perbedaan lama waktu fermentasi yang dilakukan, sehingga jumlah pertumbuhan total BAL yang terbentuk berbeda. Namun, dari beberapa penjelasan tersebut dapat diketahui bahwa golongan BAL *Lactobacillus Plantarum* terbukti dapat hidup dalam media inulin.

Hidrolisis Gula Total

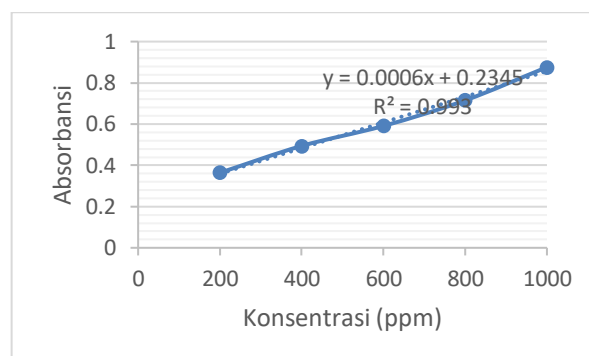
Hidrolisis gula total dilakukan dengan metode hidrolisis kimiawi menggunakan larutan asam. Hidrolisis merupakan sebuah proses pemecahan kimiawi di mana suatu molekul akan terikat dengan air dan menghasilkan molekul-molekul yang lebih kecil. Karena hidrolisis menggunakan air saja kurang berjalan dengan cepat sehingga dibantu dengan katalisator asam yang berfungsi untuk mempercepat pemecahan molekul kompleks menjadi molekul yang lebih kecil. Hidrolisis bertujuan untuk menghidrolisis inulin menjadi monomer-monomernya guna mengetahui kadar fruktosa dan glukosa total yang terkandung dalam umbi gembili.

Penentuan konsentrasi total gula dan gula pereduksi (fruktosa) yang terbentuk ditentukan menggunakan persamaan linier dari kurva standar fruktosa. Kurva standar fruktosa dibuat dengan tujuan untuk menentukan konsentrasi fruktosa dan total gula yang terbentuk dalam sampel dengan cara membandingkan hasil yang diperoleh dengan konsentrasi standar fruktosa yang telah diketahui.

Pada pembuatan kurva standar ini digunakan metode Nelson-Somogyi, di mana fruktosa yang terbentuk akan bereaksi dengan cupri oksida (CuO) (berwarna biru) dan tereduksi membentuk cupro oksida (Cu₂O) yang diindikasikan dengan terbentuknya endapan berwarna merah bata, kemudian cupro oksida akan kembali dioksidasi oleh reagen arsenomolibdat menjadi CuO hingga menjadi larutan berwarna biru. Setelah itu masing-masing larutan standar fruktosa dibaca absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 653,50 nm.

Berdasarkan data yang diperoleh, didapatkan nilai regresi sebesar $R^2=0.993$, dengan

persamaan $y = 0,0006x + 0,2345$. Selanjutnya persamaan yang diperoleh tersebut digunakan untuk mencari nilai konsentrasi sampel (Gambar 3).



Gambar 3. Grafik Kurva Standar Larutan Fruktosa.

Pengujian hidrolisis total gula dilakukan dengan lama hidrolisis 30, 60, dan 90 menit. Hidrolisis total gula terbaik dalam waktu 30 menit dengan konsentrasi total gula yang diperoleh pada masing-masing lama hidrolisis tercantum dalam Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Hidrolisis Gula Total Umbi Gembili terhadap Lama Hidrolisis HCl.

No	Lama Hidrolisis (Menit)	Gula Total (mg/mL)
1.	30	565,110 ^a
2.	60	559,946 ^b
3.	90	556,499 ^b

Keterangan: huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan secara signifikan ($p>0.05\%$).

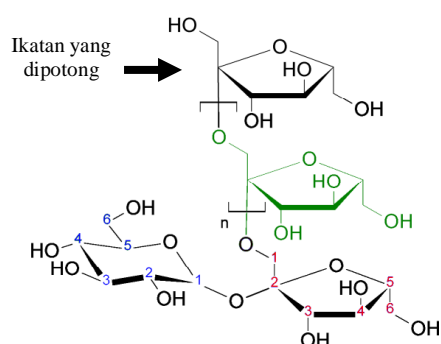
Berdasarkan data yang diperoleh (Tabel 2), konsentrasi total gula tertinggi sebesar 565,110 mg/mL diperoleh pada lama hidrolisis 30 menit, selanjutnya konsentrasi total gula mengalami penurunan pada lama hidrolisis 60 menit dan 90 menit secara berturut-turut sebesar 559,946 mg/mL dan 556,499 mg/mL. Penurunan jumlah total gula dalam kurun waktu 60 menit dan 90 menit tidak berbeda jauh, atau selisih yang diperoleh tidak signifikan, di mana dapat dinyatakan bahwa gula total sudah tidak terhidrolisis lagi. Sehingga untuk penentuan gula total diambil data terbesar yang diperoleh pada lama hidrolisis 30 menit sebesar 565,110 mg/mL.

Perolehan kadar total gula pada penelitian ini lebih besar dibandingkan dengan perolehan kadar total gula pada penelitian sebelumnya [17], Whinarsih menjelaskan bahwa kadar total gula

yang diperoleh pada proses hidrolisis gula total ialah sebesar 3,569, sehingga dapat diketahui bahwa kadar total gula yang terdapat dalam umbi gembili pada penelitian ini lebih besar dibandingkan dengan kadar total gula penelitian sebelumnya.

Fermentasi Umbi Gembili (Hidrolisis Fruktosa)

Berdasarkan kurva pertumbuhan BAL pada uji sebelumnya, inulin yang terkandung dalam umbi gembili mampu berperan sebagai media pertumbuhan atau substrat yang baik bagi bakteri *Lactobacillus plantarum* B1765. Bakteri *L. plantarum* B1765 dapat mendegradasi inulin umbi gembili karena mampu mensekresikan enzim inulinase. Selama proses fermentasi berlangsung, terdapat interaksi antara enzim inulinase dengan substrat inulin yang membentuk kompleks enzim dan substrat (ES). Enzim inulinase berperan sebagai biokatalisator dalam hidrolisis fruktosa untuk menghasilkan FOS [17]. Selanjutnya enzim inulinase akan bekerja untuk memutus ikatan β -2-1 fruktosiduransida pada struktur inulin sehingga menghasilkan produk berupa fruktooligosakarida (Gambar 4).



Gambar 4. Proses Hidrolisis Inulin Menjadi Fruktooligosakarida oleh Enzim Inulinase.

Hasil fermentasi umbi gembili selanjutnya diuji gula pereduksi yang terbentuk menggunakan metode Nelson Somogyi. Hasil gula pereduksi hasil fermentasi umbi gembili pada waktu fermentasi tertentu disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Hidrolisis Gula Pereduksi Umbi Gembili Terhadap Lama Fermentasi.

No	Lama Fermentasi (Jam)	Gula Pereduksi (mg/mL)
1.	24	163,44 ^a
2.	48	246,109 ^b

3. 72 324,67^c

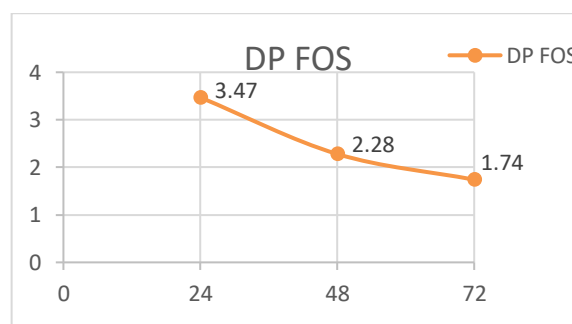
Keterangan: huruf yang berbeda menunjukkan kenaikan secara signifikan ($p > 0.05\%$).

Berdasarkan data (Tabel 3). Kadar gula pereduksi yang dihasilkan mengalami kenaikan seiring lamanya waktu fermentasi, hal ini disebabkan karena semakin lama fermentasi yang berjalan, semakin banyak pemutusan ikatan rantai dalam struktur inulin menjadi monomernya. Penelitian lain juga menjelaskan bahwa lama waktu fermentasi berpengaruh terhadap banyaknya jumlah gula pereduksi yang terhidrolisis [6].

Derajat Polimerisasi FOS

Penentuan terbentuknya produk fruktooligosakarida (FOS) didasarkan pada besarnya derajat polimerisasi yang terbentuk. Derajat polimerisasi diperoleh dari perbandingan total gula dengan gula pereduksi hasil fermentasi umbi gembili. Semakin besar konsentrasi gula pereduksi (Fruktosa) yang diperoleh maka semakin kecil nilai DP yang terbentuk, dan begitu pula sebaliknya. Besar nilai derajat polimerisasi menunjukkan banyaknya jumlah unit fruktosa yang terkandung dalam satu molekul polisakarida. Hasil derajat polimerisasi yang diperoleh pada lama fermentasi 24, 48, dan 72 jam secara berturut-turut yakni sebesar 3,470; 2,286; dan 1,740.

DP FOS yang diperoleh seiring lama fermentasi mengalami penurunan (Gambar 4). Hal ini disebabkan karena semakin lama proses fermentasi berlangsung, jumlah gula pereduksi (fruktosa) yang dihasilkan semakin banyak, di mana semakin banyak fruktosa yang dihasilkan menyebabkan semakin kecilnya nilai derajat polimerisasi yang terbentuk.



Gambar 5. Grafik Penurunan Nilai Derajat Polimerisasi terhadap Lama Fermentasi.

Dari ketiga perlakuan lama fermentasi, diperoleh nilai derajat polimerisasi yang menghasilkan FOS adalah hasil hidrolisis pada lama fermentasi 24 jam dengan nilai DP sebesar 3,470. FOS yang terbentuk termasuk dalam golongan *Kestose* (GF2). Hasil DP FOS yang terbentuk pada penelitian ini diperkuat dengan hasil penelitian [18] yang memperoleh DP FOS pada lama fermentasi 48 jam sebesar 3,545; 3,125; dan 3,049 yang merupakan golongan *kestosa*. Penelitian lain juga menyatakan bahwa pada lama fermentasi 60 jam, DP FOS yang dihasilkan ialah sebesar 3,08 yang merupakan golongan *kestosa* [6]. Nilai derajat polimerisasi yang dinyatakan bahwa fruktooligosakarida (FOS) telah terbentuk pada penelitian ini dan penelitian lain terdahulu ialah sama, yakni FOS terbentuk pada derajat polimerisasi 3 yang merupakan golongan FOS *Kestosa*. Menurut FDA [8] Fruktooligosakarida (FOS) memiliki nilai derajat polimerisasi (DP) berkisar 3-5 yang sering digunakan untuk kebutuhan komersil.

Berdasarkan hasil data penelitian terdahulu dengan data penelitian yang telah dilakukan, terdapat beberapa perbedaan lama fermentasi pada setiap penelitian untuk dapat memperoleh produk fruktooligosakarida (FOS), hal ini disebabkan karena setiap penelitian menggunakan kultur starter dan media tumbuh inulin yang berbeda. Pada penelitian ini, *Lactobacillus plantarum* B1765 mampu memproduksi FOS dengan lama fermentasi 24 jam dengan media inulin umbi gembili, sedangkan pada penelitian lain produk FOS yang terbentuk membutuhkan waktu lebih dari 24 jam. Kultur *Aspergillus niger* DUCC membutuhkan waktu untuk memproduksi FOS selama 48 jam [18] dan Khamr *Kluyveromyces marxianus* DUCC-Y-003 membutuhkan waktu untuk

memproduksi FOS selama 60 jam [6] dengan media inulin dari umbi dahlia. Sehingga dapat diketahui bahwa kemampuan aktivitas inulinase *Lactobacillus plantarum* B1765 dalam memproduksi FOS lebih baik dibandingkan dengan kultur lainnya yang membutuhkan waktu lebih lama untuk memproduksi FOS. Sedangkan pada perlakuan lama fermentasi 48 dan 72 jam dari *Lactobacillus plantarum* B1765 pada penelitian ini, derajat polimerisasi yang terbentuk ialah sebesar 2,286; dan 1,740, di mana derajat polimerisasi tersebut sudah bukanlah derajat polimerisasi yang dimiliki oleh FOS, karena DP yang terbentuk kurang dari 3-5.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian pengaruh lama fermentasi umbi gembili terhadap produksi fruktooligosakarida (FOS), enzim inulinase yang dimiliki oleh *Lactobacillus plantarum* B1765 mampu untuk memproduksi fruktooligosakarida (FOS) golongan *Kestose* (GF2) dari umbi gembili pada lama fermentasi 24 jam dengan aktivitas pertumbuhan BAL sebesar $2,11 \times 10^7$ dan nilai DP FOS yang dihasilkan sebesar 3,470 yang diharapkan mampu untuk dikembangkan dalam pembuatan FOS dalam skala industri.

SARAN

Diharapkan untuk dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap proses produksi FOS oleh bakteri *Lactobacillus plantarum* B1765 dalam rentang lama fermentasi kurang dari 24 jam untuk meninjau apakah bakteri *Lactobacillus plantarum* B1765 dapat menghasilkan produk FOS selain FOS dari golongan *Kestose* yang dapat dijadikan sebagai sumber FOS dalam kebutuhan komersil saat ini dan beberapa tahun ke depan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Nisa, Hafifah C., Miftahul J., Fikka R., & Eka Kurniasih. (2021). Review Sintesis Fruktooligosakarida Berbasis Sukrosa Jalur Fermentasi: *Sinbiotic Applied. Jurnal Teknik dan Teknologi*. 16(31), 22-27.
2. Fajrih, N., M. Khoirudin, & A. F. Fanani. (2020). Pertumbuhan dan Status Kesehatan Broiler yang Diberi Umbi Gembili sebagai Prebiotik Inulin. *Jurnal Peternakan Indonesia*. 22(2), 141-149.
3. Nabila, L., & Prima Retno Wikandari. (2018). Penentuan Aktivitas Enzim Inulinase Hasil Purifikasi dari Bakteri *Lactobacillus plantarum* B1765. *UNESA Journal of Chemistry*, 7(2), 44-47.
4. Fajrih, N., & M. Khoirudin. (2020). Penggunaan Umbi Gembili sebagai Prebiotik Alami terhadap Presentase Karkas dan Lemak Abdominal Broiler. *Jurnal Ternak*. 11(1), 8-17.

5. Sunarti, Chrismis N. G., & Sahna F. G. (2022). Narrative Review: Potensi Inulin Umbi Dahlia Sebagai Anti Diabetes. *Jurnal Keperawatam Priority*. 5(1), 53-65.
6. Yuliana, R. (2014). Potensi Tepung Umbi Dahlia dan Ekstrak Inulin Dahlia sebagai Sumber Karbon dalam Produksi Fruktooligosakarida (FOS) oleh Khamr *Kluyveromyces marxianus* DUCC-Y-003. *Jurnal BIOMA*, 16(1), 39-49.
7. Mamujaja, Naomi M., & Dokri G. (2018). Uji Tumbuh Kapang *Aspergillus niger* pada Beberapa Media Bahan Pangan Asal Sulawesi Utara. *Fullerene Journal of Chemistry*. 3(2), 44-51.
8. Romano, Nelson, Leonardo S., Pablo M., Maria C. P., & Andrea G. (2018). Flour from Mature *Prosopis nigra* Pods as Suitable Substrate for the Synthesis of Prebiotic Fructo-oligosaccharides and Stabilization of Dehydrate *Lactobacillus bulgaricus*. *Food Research International*.
9. Ibrahim, Obama O. (2021). Technological Aspects of Fructo-Oligosaccharides (FOS) Production Processes, Physiological Properties, Applications and Health Benefits. *Journal of Food Chemistry & Nanotechnology*. 7(2), 41-46.
10. Khanvilkar, S., & Shalini, S. Arya. (2015). Fructooligosaccharides: Applications and Health Benefits. *Agrofood Industry Hi-Tech*, 26(6), 8-12.
11. Wan, Xinhuan, Hao Guo, *etc.* (2020). The Physiological Functions and Pharmaceutical Applications of Inulin: A Review. *Journal Carbohydrate Polimers*. 1-48.
12. Fera, M., & Rifatul Masrikhiyah. (2019). Ekstraksi Inulin dari Umbi Gembili (*Dioscorea esculenta* L) dengan Pelarut Etanol. *Jurnal Pangan dan Gizi*, 9(2), 110-119.
13. Zubaidah, E., & Wilda Akhadiana. (2013). Comparative Study of Inulin Extracts from Dahlia, Yam, and Gembili Tubers as Prebiotic. *Journal Food and Nutritions Sciences*, 4, 8-12.
14. Delphine. (2007). Identification of Prebiotic Fruktooligosaccharide Metabolism in *Lactobacillus plantarum* WCFS1 through Microarrays. *Journal Societyof Microbiology*, 73(6).
15. Rafsanjani, E., & Prima Retno Wikandari. (2017). Pengaruh Lama Fermentasi Bakteri Asam Laktat *Lactobacillus plantarum* B1765 Terhadap Mutu Pikel Umbi Yakon (*Smallanthus sonchifolius*). *UNESA JOurnal of Chemistry*, 6(2), 76-80.
16. Artanti, A. (2009). *Pengaruh Prebiotik Inulin dan Fruktooligosakarida terhadap Pertumbuhan Tiga Jenis Probiotik*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
17. Whinarsih, A., & Isworo Rukmi. (2013). Uji Kemampuan Produksi Fruktooligosakarida (FOS) dari Kelompok *Aspergillus niger* DUCC. *BIOMA*, 15(1), 42-45.
18. Ruswandi, B., & Minda Azhar. (2018). Penentuan Kadar Fruktosa Hasil Hidrolisis Inulin dengan DNS sebagai Pengoksidasi. *Jurnal EKSAKTA Universitas Negeri Padang*, 19(1), 14-23.