

Skor aktivitas prebiotik growol (makanan fermentasi tradisional dari singkong) terhadap *Lactobacillus sp.* dan *Escherichia coli*

Prebiotic activity score of growol (traditional fermented cassava) on the Lactobacillus sp. and Escherichia coli

Puspita Mardika Sari*, Desty Ervira Puspaningtyas

Program Studi S-1 Ilmu Gizi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Respati Yogyakarta

Diterima: 12/10/2018

Ditelaah: 28/11/2018

Dimuat: 26/02/2019

Abstrak

Latar Belakang: Growol adalah makanan fermentasi tradisional dari singkong. Proses fermentasi diduga mampu memperbaiki karakteristik fisik tepung, meningkatkan kadar serat pangan dan kadar pati resisten. Namun demikian, potensi prebiotik dari growol terhadap perubahan bakteri saluran cerna secara *in vitro* belum pernah dipelajari. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi prebiotik growol terhadap bakteri saluran cerna (*Lactobacillus sp.* dan *Escherichia coli*). **Metode:** Bahan yang digunakan adalah tepung growol sebagai produk fermentasi, tepung singkong sebagai kontrol bahan baku, glukosa sebagai kontrol substrat pada medium mikrobiologis, serta FOS dan dekstrin sebagai kontrol positif prebiotik komersial. Growol dibuat melalui fermentasi spontan yang selanjutnya dikeringkan dan digiling hingga berukuran 60 mesh menjadi tepung growol. Pengujian *in vitro* dilakukan pada *Lactobacillus sp.* dan *Escherichia coli* dengan menambahkan 1% (v/v) kultur ke dalam basal MRS dan basal *Nutrient Broth*. Pertumbuhan bakteri diukur pada jam 0, 24 dan 48 dengan metode *plate count*. Skor aktivitas prebiotik dihitung berdasarkan persamaan Huebner, selanjutnya data diolah dengan uji *Kruskal Wallis*. **Hasil:** Tidak terdapat perbedaan skor aktivitas prebiotik yang signifikan baik pada jam 24 ($p=0,193$) maupun jam 48 ($p=0,244$). Namun demikian semua sampel menunjukkan skor aktivitas prebiotik positif dengan nilai skor tertinggi pada jam ke-24 adalah dekstrin (0,46) diikuti FOS (0,07), growol (0,04), dan singkong (0,02). Skor tertinggi pada jam ke-48 adalah FOS (8,56) diikuti growol (1,06), dekstrin (0,61), dan singkong (0,70). **Kesimpulan:** Singkong maupun growol berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan pangan sumber prebiotik. Namun demikian, penelitian lebih lanjut terutama secara *in vivo* diperlukan untuk mengkaji lebih lanjut mengenai potensi prebiotik growol.

Kata kunci: singkong; growol; prebiotik; *Lactobacillus sp.*; *Escherichia coli*

Abstract

Background: Growol is traditionally fermented cassava from Kulonprogo, Yogyakarta. Fermentation process suggested increase physical characteristic of its flour, increase dietary fiber, and resistant starch. However, there has been no any research that studies about this prebiotic potency on the gut microbial (*in vitro*). **Objective:** To evaluate the prebiotic potency of growol through analysis of prebiotic activity score on the *Lactobacillus sp.* and *Escherichia coli*. **Methods:** Growol and cassava flours, glucose, FOS, and dextrin was used as a sample substrate. Growol was made from spontaneous fermentation then dried and ground until 60 mesh of flour. *In vitro* study was did on *Lactobacillus sp.* and *Escherichia coli* through adding of 1% of each substrate into basal MRS and Basal *Nutrient Broth*. The growth of each bacteria was evaluated on 0, 24, and 48 hours by using a standard plate count method. Prebiotic activity score was calculated by using Huebner's formula. Data of prebiotic activity score then analyzed with *Kruskal Wallis* test. **Results:** There were no significant differences in prebiotic activity scores among the sample both in 24 hours ($p=0.193$) and 48 hours ($p=0.244$). However, all sample showed the positive value of prebiotic activity scores. Highest of prebiotic activity score on 24 hours were dextrin (0.46), FOS (0.07), growol (0.04), and cassava (0.02) respectively. While highest of prebiotic activity score on 48 hours were FOS (8.56), growol (1.06), dextrin (0.61), and cassava (0.70). **Conclusion:** Both growol and cassava are potential to be developed as a source of prebiotics, but further *vivo* study was needed.

Keywords: cassava; growol; prebiotic; *Lactobacillus sp.*; *Escherichia coli*

PENDAHULUAN

Singkong (*Manihot utilisima*) merupakan salah satu jenis umbi yang memiliki peranan penting sebagai komoditi pangan bagi masyarakat Indonesia. Singkong selain berperan sebagai sumber bahan makanan pokok, juga memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai produk pangan fungsional, terutama karena memiliki kandungan serat pangan dan pati resisten yang tinggi, serta memiliki indeks glikemik yang rendah (1,2). Growol merupakan makanan tradisional dari Kulonprogo, Yogyakarta, yang dibuat dari singkong melalui tahap fermentasi secara spontan dengan cara perendaman dalam air, selanjutnya dicetak dan dikukus menjadi growol (3,4,5). *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus rhamnosus* adalah bakteri utama yang terlibat dalam pembuatan growol (6).

Terjadi hidrolisis senyawa karbohidrat (pati, selulosa, dan pektin) menjadi senyawa asam-asam organik selama proses fermentasi singkong menjadi growol, seperti makanan fermentasi lainnya. Kandungan karbohidrat seperti gula-gula sederhana yang ada dalam bahan dasar mendukung kehidupan mikroflora alami yang selanjutnya diubah menjadi senyawa asam (7). Bakteri asam laktat merupakan bakteri yang paling dominan tumbuh selama proses fermentasi growol. Jumlah bakteri asam laktat pada growol tiap gramnya sebesar $1,64 \times 10^8$. Bakteri tersebut bersifat anaerob, amilolitik dan fermentatif (8). Bakteri asam laktat amilolitik pada proses fermentasi alami dapat menghasilkan enzim ekstraseluler yaitu amilase dan pululanase yang dapat menghidrolisis sebagian pati alami menjadi gula reduksi, oligosakarida lain atau dekstrin, dan beberapa pati resisten yang tidak tercerna (9).

Tingginya kandungan karbohidrat tidak tercerna seperti serat pangan dan pati resisten pada produk olahan singkong memungkinkan untuk dikembangkan sebagai bahan pangan sumber prebiotik. Prebiotik

adalah polisakarida tak tercernakan yang berperan sebagai pendukung pertumbuhan dan aktivitas mikroflora saluran pencernaan dan terbukti memberikan efek menguntungkan dalam metabolisme. Prebiotik yang banyak diketahui adalah inulin dan berbagai jenis fructo-oligosakarida yang berperan dalam meningkatkan pertumbuhan bakteri seperti *Bifidobacteria* ataupun *Lactobacilli* (10). Prebiotik juga berkontribusi terhadap penurunan bakteri tidak menguntungkan seperti *Escherichia coli*. Selain itu, prebiotik juga berkontribusi terhadap penurunan berat badan, lemak tubuh, dan ukuran sel lemak dengan mengatur asupan makanan yang digunakan oleh tubuh (11,12).

Penelitian mengenai potensi prebiotik singkong dan olahannya seperti gathotan dan gathot pernah dilakukan. Proses pengolahan terbukti mampu meningkatkan potensi prebiotik baik secara *in vitro* maupun *in vivo* (1). Namun demikian, potensi prebiotik dari produk olahan singkong dalam bentuk growol belum pernah dipelajari, sehingga peneliti tertarik untuk menganalisis potensi prebiotik dari growol melalui analisis secara *in vitro* dengan melihat pengaruhnya terhadap bakteri saluran cerna (*Lactobacillus* sp. dan *Escherichia coli*). Metode analisis secara *in vitro* merupakan salah satu metode yang cukup efektif untuk menilai potensi prebiotik suatu produk pangan. Analisis secara *in vitro* merupakan salah satu alternatif metode dengan proses *screening* yang cenderung dapat dilakukan dengan lebih cepat dan biaya yang lebih rendah. Analisis secara *in vitro* juga memberikan keuntungan lain yaitu meminimalisir adanya variasi biologis (13).

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian *observasional laboratory* yang menganalisis potensi prebiotik pada growol melalui analisis skor aktivitas prebiotik menurut persamaan skor aktivitas prebiotik Huebner (13). Substrat yang digunakan adalah tepung growol,

tepung singkong sebagai kontrol bahan baku, glukosa sebagai kontrol substrat pada medium mikrobiologis serta FOS dan dekstrin sebagai kontrol prebiotik komersial.

Penelitian dilaksanakan pada bulan September-November 2018. Tepung singkong dan tepung growol dibuat secara tradisional dari bahan yang sama yaitu singkong (*Manihot utilisima*) yang diperoleh dari pasar lokal Wonosari Yogyakarta. Spesies singkong diidentifikasi terlebih dahulu di Laboratorium Taksonomi, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada (UGM). Prebiotik komersial FOS dan inulin diperoleh dari Fakultas Teknologi Pertanian UGM.

Isolat bakteri *Lactobacillus* sp. dan *Escherichia coli* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Pusat Studi Pangan dan Gizi UGM. Medium mikrobiologi yang digunakan adalah MRS Agar (Oxoid) untuk *Lactobacillus* sp., Nutrient Agar (Oxoid) untuk *Escherichia coli*. Medium pengujian substrat yaitu basal MRS untuk *Lactobacillus* sp. dan basal M9 untuk *Escherichia coli* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Pusat Studi Pangan dan Gizi UGM.

Pengujian potensi prebiotik secara *in vitro* terhadap *Lactobacillus* sp. dan *Escherichia coli*. Medium uji disiapkan sebelum proses pengujian, yaitu MRS *broth* untuk pengujian pada *Lactobacillus* sp. dan M9 *broth* untuk pengujian pada *Escherichia coli*. MRS

broth dipersiapkan dengan cara menyuplai masing-masing 2% (b/v) tepung singkong, tepung growol, FOS, inulin dan glukosa ke dalam tabung berisi medium Basal MRS. Adapun M9 *broth* dipersiapkan dengan cara mensuplementasikan masing-masing 2% (b/v) tepung singkong, tepung growol, FOS, inulin dan glukosa ke dalam medium basal M9.

Pengujian dilakukan dengan menambahkan 1% (v/v) kultur *Lactobacillus* sp. berumur 20-24 jam ke dalam masing-masing medium uji MRS *broth* dan 1% (v/v) kultur *Escherichia coli* berumur 20-24 jam ke dalam masing-masing medium uji M9 *broth*. Kultur diinkubasikan pada suhu 37°C secara aerob. Setelah 0, 24 dan 48 jam inkubasi, sampel ditumbuhkan pada MRS agar untuk *Lactobacillus* sp. dan Nutrient agar untuk *Escherichia coli*, kemudian dihitung dengan metode *plate count*. Skor aktivitas prebiotik dihitung berdasarkan persamaan (13). Data skor aktivitas prebiotik dianalisis secara statistik dengan uji *Kruskal Wallis* menggunakan program *SPSS*.

HASIL

Pengujian potensi prebiotik dari singkong dan growol dilakukan terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus* pada pertumbuhan 24 jam dilanjutkan hingga 48 jam. Prebiotik komersial *fruktooligosakarida* (FOS) dan dekstrin digunakan dalam penelitian ini sebagai kontrol positif. Hasil pengujian aktivitas prebiotik disajikan pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Data rata-rata skor aktivitas prebiotik singkong, growol, FOS dan dextrin

Sampel	Skor Aktivitas Prebiotik <i>Lactobacillus acidophilus</i>	
	Jam 24	Jam 48
Singkong	0,02 ^a	0,70 ^b
Growol	0,04 ^a	1,06 ^b
FOS	0,07 ^a	8,56 ^b
Dextrin	0,46 ^a	0,61 ^b

a,b yang berbeda pada setiap kolom yang sama menunjukkan perbedaan signifikan berdasarkan uji *Kruskal Wallis* ($p < 0,05$).

Hasil penelitian menunjukkan skor aktivitas prebiotik tertinggi pada jam ke-24 adalah dextrin diikuti FOS, growol, dan singkong. Namun demikian, tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara keempat sampel ($p=0,193$). Skor aktivitas prebiotik tertinggi pada jam ke-48 adalah FOS, diikuti growol, dekstrin, dan singkong. Perbedaan skor ini tidak signifikan antara keempat jenis substrat ($p=0,244$).

PEMBAHASAN

Aktivitas prebiotik menunjukkan kemampuan dari substrat dalam meningkatkan pertumbuhan bakteri probiotik dibandingkan dengan bakteri enterik serta relatif pertumbuhannya pada substrat non prebiotik seperti glukosa. Karbohidrat mempunyai aktivitas prebiotik positif jika: dimetabolisme sebaik glukosa oleh bakteri probiotik dan spesifik dimetabolisme oleh probiotik tetapi tidak oleh bakteri usus lainnya (13).

Skor aktivitas prebiotik singkong dan growol pada jam ke-24 dan 48 menunjukkan nilai positif seperti pada prebiotik komersial FOS dan dextrin, yang berarti bahwa substrat singkong maupun growol mendukung pertumbuhan bakteri probiotik. Jika dibandingkan dengan produk umbi lain seperti serat ubi jalar, skor aktivitas prebiotik dari singkong menunjukkan nilai yang lebih rendah. Penelitian terdahulu menunjukkan aktivitas prebiotik ubi jalar terhadap *Lactobacillus plantarum* mencapai skor 1,5 sedangkan terhadap *Bifidobacterium longum* mencapai 1,4 (14). Namun demikian, potensi prebiotik growol menunjukkan nilai lebih tinggi dibandingkan dengan bahan mentahnya yaitu singkong. Tingginya nilai skor aktivitas prebiotik growol diduga karena proses fermentasi dan pengolahan growol. Proses fermentasi memungkinkan terjadinya hidrolisis senyawa karbohidrat (pati, selulosa, dan pektin) menjadi asam-asam organik (9, 15). Bakteri asam laktat amilolitik pada proses

fermentasi alami dapat menghasilkan enzim ekstraseluler yaitu amilase dan pululanase yang dapat menghidrolisis sebagian pati alami menjadi gula sederhana, oligosakarida lain atau dekstrin, dan beberapa pati resisten yang tidak tercerna (9). Skor aktivitas prebiotik pada singkong dan growol menunjukkan nilai yang lebih baik daripada umbi bengkuang. Serat bengkuang kurang mampu mendukung pertumbuhan bakteri probiotik yang ditunjukkan pada skor aktivitas prebiotik yang negatif, baik terhadap *Lactobacillus* sp. maupun *Bifidobacterium* sp. (16).

KESIMPULAN DAN SARAN

Singkong maupun growol berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan pangan sumber prebiotik, ditinjau dari skor aktivitas prebiotik. Skor aktivitas prebiotik singkong dan growol lebih tinggi dibandingkan bengkuang, namun lebih rendah dibandingkan dengan serat ubi jalar. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai potensi growol sebagai sumber prebiotik baik secara *in vitro* dengan menggunakan mikrobia lain seperti *Bifidobacterium* sp., *Clostridium* sp. dan *Bacteroides* maupun penelitian secara *in vivo* dengan menggunakan hewan coba.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Hibah DIPA Kopertis Wilayah V Tahun 2018 dengan Nomor Surat Perjanjian Bantuan Penelitian Tahun Anggaran 2018: 017/HB-LIT.DIP.KOP5/V/2018.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sari PM, Puspaningtyas D, Kusuma RJ. Status Dietary fiber and carbohydrate contents of gathotan and gathot as functional food for people with diabetes mellitus. Indonesia Journal of Nutrition and Dietetics. 2017;5(2):88-89.
2. Masniah Y. Potensi ubi kayu sebagai pangan fungsional. NTT: Balai

- Pengkajian Teknologi Pertanian (BPTP) – NTT; 2013.
3. Lestari LA. Potensi probiotik lokal sebagai makanan fungsional pencegah diare [Internet]. 2012 [diakses tanggal 1 Oktober 2018]. Dari <http://gizikesehatan.ugm.ac.id/article/Potensi-Probiotik-Lokal-Sebagai-Makanan-Fungsional.html>.
 4. Kanetro B, Luwihana S. Komposisi proksimat dan kandungan bakteri asam laktat oyek terbaik dari perlakuan penambahan kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) berdasarkan tingkat kesukaannya. *AGRITECH*. 2015;35(3).
 5. Yogeswara A, Utami T, Rahayu ES. Resistance of lactic acid bacteria isolated from Indonesian fermented foods in simulated gastric juice and bile solution. *Jurnal Virgin*. 2015;1(2):134-141.
 6. Putri WDR, Haryadi, Marseno DW, Cahyanto MN. Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat amilolitik selama fermentasi growol, makanan tradisional Indonesia. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 2012;13(1):52-60.
 7. Nurmalingda, Periadnadi, Nurmiaati. Isolasi dan karakterisasi parsial bakteri indigenous pemfermentasi dari buah durian (*Durio zibethinus* Murr.). *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. 2013;2(1):8-13.
 8. Suharni TT. Pembentukan asam-asam organik oleh bakteri yang berperan pada suatu produk ketela pohon yang difermentasikan [Laporan Penelitian]. Yogyakarta: Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada; 1984.
 9. Astriani. Karakterisasi gatot terfermentasi oleh isolat indigenous gatot singkong (*Rhizopus oligosporus*) dan (*Lactobacillus manihotivorans*) [Skripsi]. Jember: Universitas Jember; 2015.
 10. Festi D, Ramona S, Leonardo HE, Giovanni M, Martina T, Antonio C. Gut Microbia and Metabolic Syndrome. *World J Gastroenterol*. 2014; 20(43): 16079-16094
 11. Neyrinck AM, Possemiers S, Druart C, Van de Wiele T, De Backer F, *et al*. Prebiotic effects of wheat arabinoxylan related to the increase in *Bifidobacteria*, *Roseburia* and *Bacteroides/Prevotella* in diet-induced obese mice". *PLoS One*. 2011; 6: e20944.
 12. Parnell JA, Reimer RA. Prebiotic fibres dose-dependently increase satiety hormones and alter bacteroidetes and firmicutes in lean and obese JCR: LA-cp rats. *Br J Nutr*. 2012;107:601-613.
 13. Huebner J, Wehlin RL, dan Hutkins RW. Functional activity of commercial prebiotics. *International Dairy Journal*. 2007;17:770-775.
 14. Lestari LA, Soesatyo MHNE, Irvati S, dan Harmayani, E. Characterization of bestak sweet potato (*Ipomoea batatas*) variety from Indonesian origin as prebiotic. *International Food Research Journal*. 2013;20(5):2241-2245.
 15. Oktaviana, Ratna S dan Lucia TP. Pengaruh substitusi puree gatot instan terhadap sifat organoleptik roti manis. *E-journal Boga*. 2014;03(03):141-150.
 16. Harmayani E, Utami T, Purwandani L. Potensi tepung serat bengkuang (*Pachyrhizus erosus*) sebagai prebiotik pada *Bifidobacterium longum* dan *Lactobacillus acidophilus*. *Prosiding Seminar Nasional Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia. Peran Teknologi dalam Pengembangan Pangan yang Aman, Bermutu dan Terjangkau bagi Masyarakat*; 15-17 September 2011; Manado, Sulawesi Utara, Indonesia.

