

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Inulin adalah polisakarida alami yang tersusun dari gabungan monosakarida fruktosa. Inulin termasuk prebiotik, yaitu komponen pangan yang tidak dapat langsung dicerna saluran pencernaan manusia secara enzimatis sehingga akan difermentasikan oleh mikroorganisme pada usus (Angeline, 2023). Menurut Permatasari & Fauziah (2024), fermentasi inulin oleh mikroflora usus memberikan berbagai manfaat bagi tubuh, antara lain merangsang pertumbuhan probiotik, menekan bakteri patogen, memperbaiki kondisi konstipasi, menurunkan pH usus serta bisa mengembalikan mikroflora di usus setelah terjadi perubahan akibat penggunaan antibiotik, diare maupun stress. Potensi lain dari inulin adalah kemampuannya dapat menurunkan kolesterol darah dengan cara mengurangi lipogenesis serta memiliki efek antioksidan (Amara *et al.*, 2025; Sunarti *et al.*, 2022).

Secara alami, inulin berfungsi sebagai cadangan energi bagi tanaman dan menjadi salah satu sumber karbon yang tersedia di lingkungan, terutama di tanah dan perakaran (rizosfer). Bakteri yang hidup di lingkungan tanah atau perakaran (rizosfer) membutuhkan sumber karbon untuk pertumbuhan dan metabolisme, sehingga memanfaatkan inulin sebagai substrat. Inulin dapat dimanfaatkan ketika bakteri menghasilkan enzim inulinase yang menghidrolisis polisakarida menjadi

fruktosa dan fruktooligosakarida (FOS) sederhana. Kemampuan inulinolitik merupakan bentuk adaptasi ekologis bakteri agar mampu bertahan hidup, berkompetisi dan daur ulang karbon (Azhar *et al.*, 2025).

Bakteri inulinolitik merupakan salah satu mikroorganisme utama penghasil enzim inulinase. Bakteri inulinolitik memiliki beberapa keunggulan sebagai agen biologis penghasil inulinase, yaitu pertumbuhan yang cepat, kemampuan adaptasi yang tinggi, serta kemudahan dalam manipulasi genetik untuk mempercepat peningkatan produksi enzim. Menurut Tsigoriyna *et al* (2024), tingkat produksi inulinase pada bakteri umumnya lebih rendah dari *yeast* dan jamur. Meskipun demikian, bakteri memiliki keunggulan dalam kemampuan bertahan pada suhu tinggi dan laju pertumbuhan cepat, sehingga memiliki potensi untuk dikembangkan. Terdapat beberapa jenis bakteri inulinolitik yang dapat menghasilkan inulinase diantaranya beberapa strain *Lactobacillus*, yaitu *Ligilactobacillus agilis* yang memiliki kemampuan fermentasi inulin dan beberapa strain *Bacillus* seperti *Bacillus subtilis*, *Bacillus velezensis*, dan *Bacillus licheniformis* (Zhu *et al.*, 2021). Bakteri inulinolitik memecah inulin menjadi fruktosa melalui enzim inulinase.

Menurut Hartati *et al* (2023), inulin banyak ditemukan pada umbi-umbian dan menunjukkan bahwa variasi kadar inulin pada umbi seperti ubi garut, ubi jalar madu, dan jenis lain berbeda-beda. Umbi merupakan sumber yang relevan untuk eksplorasi bakteri inulinolitik karena mengandung inulin yang dapat dimanfaatkan sebagai substrat. Penelitian Mangguali *et al* (2024) melaporkan bahwa kentang memiliki kandungan inulin yang berada pada kisaran 7,72% persen berat kering. Kandungan

inulin pada berbagai umbi bervariasi tergantung pada varietas dan kondisi tumbuh tanaman. Varietas kentang granola memiliki beberapa keunggulan, sehingga digunakan pada penelitian ini. Varietas granola merupakan kentang unggul yang banyak dibudidayakan di Indonesia, khususnya di daerah Wonosobo, Jawa Tengah. Varietas granola dikenal memiliki produktivitas tinggi, tahan terhadap penyakit, serta memiliki kandungan gizi yang baik termasuk karbohidrat, vitamin, dan mineral. Muin *et al* (2022), melaporkan kentang memiliki kandungan nutrisi lain sehingga dapat mendukung pertumbuhan bakteri inulinolitik seperti karbohidrat, mineral, serta pati sekitar 19% dengan kadar air tinggi. Kandungan nutrisi pada umbi kentang memiliki mampu menyediakan substrat yang diperlukan bagi bakteri inulinolitik dalam perkembangan biakannya untuk menghasilkan enzim inulinase.

Inulinase (E.C.3.2.1.7) adalah suatu enzim fructo-furanosylhydrolase yang berperan penting dalam menghidrolisis inulin menjadi fruktosa atau fruktooligosakarida (FOS) (Canatar *et al.*, 2023). Inulinase terdiri dari 2 tipe utama, yaitu endo-inulinase dan exo-inulinase. Endo-inulinase ini dapat memecah inulin secara acak sehingga menghasilkan fruktooligosakarida (FOS) sebagai prebiotik sedangkan exo-inulinase memutuskan unit fruktosa bebas, yang sangat diperlukan untuk industri pangan sebagai bahan baku sirup fruktosa tinggi. Menurut Yusuf & Wijanarka (2024), melaporkan bahwa inulinase mampu menghasilkan fruktosa hingga 90-95% dalam satu tahap reaksi, sehingga lebih efisien dibandingkan metode konvensional.

Identifikasi bakteri secara molekuler merupakan langkah penting dalam memastikan bahwa isolat yang ditemukan merupakan berasal dari spesies bakteri yang diisolasi. Dalam studi mengenai bakteri inulinolitik, proses identifikasi umumnya dilakukan dengan pendekatan analisis makroskopis dan mikroskopis serta analisis molekuler. Pada penelitian Wijanarka *et al* (2018) menunjukkan bahwa untuk memastikan isolat tersebut memiliki kemampuan mendegradasi inulin melalui skrining dengan media ISM (*Inulinase Selecting Medium*) dan uji aktivitas enzim untuk pengukuran enzim secara kuantitatif. Setelah aktivitas inulinase telah terbukti, dilakukan identifikasi molekuler untuk mengetahui spesies isolat tersebut melalui teknik DNA *barcoding*. Pada bakteri, gen yang biasa digunakan untuk DNA *barcoding* adalah 16S rRNA (Noer, 2021). Gen 16S rRNA merupakan penanda universal pada bakteri yang terdiri dari daerah konservatif dan variabel sehingga mampu memberikan informasi hubungan filogenetik dan perbedaan antarspesies secara akurat. Penggunaan 16S rRNA telah menjadi standar internasional untuk identifikasi bakteri karena keandalan dan konsistensinya dalam membedakan spesies melalui variasi urutan basanya. (Akihary & Kolondam 2020; Mai *et al.*, 2025).

Berdasarkan uraian tersebut, eksplorasi bakteri inulinolitik dari umbi kentang masih terbatas, padahal umbi kentang (*Solanum tuberosum* L.) mengandung fruktan serta senyawa kompleks yang secara ekologis berpotensi menyeleksi bakteri endofit dengan kemampuan inulinolitik (Rajapaksha *et al.*, 2024). Crespo *et al* (2020), membahas bahwa kentang merupakan umbi yang berpotensi menghasilkan inulin

meskipun tidak sebesar umbi dahlia. Pada penelitian Afrianti *et al* (2023) membahas mengenai keragaman endofit dan peran mikrobioma pada kentang sebagai agen biokontrol, sementara aspek fungsional berupa kemampuan menghasilkan enzim inulinase belum banyak dieksplorasi. Selain itu, identifikasi molekuler penting dilakukan untuk mendapatkan spesies bakteri inulinolitik yang valid. Sehingga penelitian mengenai eksplorasi dan identifikasi molekuler bakteri inulinolitik penghasil inulinase pada kentang perlu dilakukan. Penelitian ini bertujuan mengeksplorasi bakteri inulinolitik penghasil inulinase dari umbi kentang serta mengidentifikasinya secara molekuler melalui DNA *barcoding*, guna memperoleh spesies bakteri potensial sebagai penghasil inulinase.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, didapatkan rumusan masalah sebagai berikut:

1. Bagaimana karakteristik makroskopis dan mikroskopis bakteri inulinolitik potensial yang terdapat pada umbi kentang (*Solanum tuberosum* L.)?
2. Bagaimana aktivitas enzimatik bakteri inulinolitik potensial dari umbi kentang (*Solanum tuberosum* L) dengan variasi suhu inkubasi dan pH?
3. Bagaimana hasil identifikasi molekuler bakteri inulinolitik potensial yang ditemukan pada umbi kentang (*Solanum tuberosum* L) menggunakan metode DNA *barcoding*?

1.3. Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah di atas, didapatkan tujuan penelitian sebagai berikut:

1. Mengeksplorasi dan mengisolasi mikroba inulinolitik potensial dari umbi kentang (*Solanum tuberosum* L.).
2. Menganalisis aktivitas enzim inulinase bakteri inulinolitik potensial yang berhasil diisolasi dengan variasi suhu inkubasi dan pH.
3. Mengidentifikasi bakteri inulinolitik potensial yang ditemukan pada umbi kentang (*Solanum tuberosum* L.) secara molekuler menggunakan metode DNA *barcoding*.

1.4. Manfaat

Manfaat dari penelitian ini sebagai berikut:

1. Memberikan informasi ilmiah baru mengenai bakteri inulinolitik penghasil inulinase yang diisolasi dari umbi kentang.
2. Mengidentifikasi bakteri inulinolitik yang menghasilkan enzim inulinase yang berpotensi digunakan dalam berbagai industri.
3. Memberikan dasar pengembangan produksi enzim inulinase berbasis sumber daya lokal yang ekonomis dan berkelanjutan.