

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI.....	iv
PRAKATA.....	v
DAFTAR LUARAN	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
DAFTAR SINGKATAN ATAU SIMBOL	xvii
ABSTRAK	xix
<i>ABSTRACT</i>	xx
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	5
1.3. Tujuan Penelitian.....	6
1.3.1. Tujuan Umum	6
1.3.2. Tujuan Khusus	6
1.4. Manfaat Penelitian.....	6
1.5. Kebaruan Penelitian.....	7
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	12
2.1. Glukomanan.....	12
2.1.1. Glukomanan Porang.....	15
2.2. Prebiotik.....	18
2.2.1. Glukomanan sebagai prebiotik.....	21
2.3. Hidrolisis Glukomanan.....	25
2.3.1. β -mananase.....	33
2.4. Mikrobiota saluran cerna dan hubungannya dengan prebiotik.....	38
2.4.1. Mikrobiota saluran cerna pada tikus	41
2.5. Pengujian <i>in vitro</i> dan <i>in vivo</i>	44
2.5.1. Potensi prebiotik <i>in vitro</i>	44

2.5.2. Pengujian <i>in vivo</i>	48
BAB III. LANDASAN TEORI DAN HIPOTESIS	51
3.1. Landasan Teori	51
3.2. Hipotesis	53
BAB IV. METODE PENELITIAN	55
4.1. Bahan Penelitian	55
4.2. Peralatan Penelitian	56
4.3. Waktu dan Lokasi Penelitian	57
4.4. Tahapan Penelitian	58
4.4.1. Penelitian Tahap I: Optimasi hidrolisis glukomanan porang (GMP) .	58
4.4.1.1. Produksi glukomanan porang (GMP).....	59
4.4.1.2. Optimasi hidrolisis GMP dengan RSM	61
4.4.1.2.1. Eksperimen Faktor Tunggal	61
4.4.1.2.2. Rancangan Percobaan	62
4.4.1.3. Produksi hidrolisat glukomanan porang (HGP)	63
4.4.1.4. Parameter penelitian	64
4.4.2. Penelitian Tahap II: Evaluasi potensi prebiotik hidrolisat glukomanan porang (HGP) <i>in vitro</i>	65
4.4.2.1. Penyiapan Media Basal MRS	65
4.4.2.2. Penyiapan media M9 minimal	66
4.4.2.3. Pengujian aktivitas prebiotik <i>in vitro</i>	66
4.4.2.4. Parameter penelitian	69
4.4.3. Penelitian Tahap III: Evaluasi komposisi mikrobiota saluran cerna pada hewan coba tikus (<i>in vivo</i>)	69
4.4.3.1. Masa Adaptasi	70
4.4.3.2. Masa Intervensi.....	71
4.4.3.3. Euthanasia dan pembedahan.....	72
4.4.3.4. Parameter penelitian	73
4.5. Prosedur pengujian dan analisis	73
4.5.1. Pengukuran rendemen GMP	73
4.5.2. Analisis kemurnian glukomanan.....	73
4.5.3. Analisis proksimat.....	77
4.5.4. Analisis pati.....	78

4.5.5. Pengukuran warna.....	78
4.5.6. Pengujian transparansi sol glukomanan.....	78
4.5.7. Pengamatan morfologi GMP dan HGP.....	78
4.5.8. Pengujian gugus fungsi GMP dan HGP.....	79
4.5.9. Analisis derajat polimerisasi.....	79
4.5.10. Pengujian berat molekul.....	80
4.5.11. Pengujian viskositas.....	80
4.5.12. Pengujian kelarutan.....	80
4.5.13. Analisis komposisi HGP.....	81
4.5.14. Pengukuran berat dan kadar air digesta.....	81
4.5.15. Analisis komposisi mikrobiota saluran cerna.....	82
4.5.16. Pengukuran SCFA.....	85
4.5.17. Pengukuran pH.....	85
4.5.18. Pengujian Statistik.....	86
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	87
5.1. Penelitian Tahap I: Optimasi hidrolisis glukomanan porang (GMP).....	87
5.1.1. Produksi GMP.....	87
5.1.2. Optimasi hidrolisis GMP dengan <i>response surface methodology</i> (RSM) menggunakan <i>Box-Behnken Design</i> (BBD).....	90
5.1.2.1. Penentuan titik pusat (0) dan level melalui eksperimen faktor tunggal.....	91
5.1.2.1.1. Pengaruh pH pada hidrolisis GMP oleh β -mananase terhadap nilai DRS, TRS, dan DP.....	91
5.1.2.1.2. Pengaruh waktu pada hidrolisis GMP oleh β -mananase terhadap nilai DRS, TRS, dan DP.....	92
5.1.2.1.3. Pengaruh suhu pada hidrolisis GMP oleh β -mananase terhadap nilai DRS, TRS, dan DP.....	93
5.1.2.1.4. Pengaruh rasio E/S pada hidrolisis GMP oleh β -mananase terhadap nilai DRS, TRS, dan DP.....	95
5.1.2.2. Penentuan model statistik.....	96
5.1.2.3. Analisis statistik (ANOVA).....	100
5.1.2.4. Studi diagnostik.....	103
5.1.2.5. Analisis response surface plot.....	104
5.1.2.6. Optimasi parameter proses.....	107

5.1.2.7. Verifikasi hasil optimasi RSM	109
5.1.3. Perbandingan karakteristik glukomanan porang (GMP) dan hidrolisat glukomanan porang (HGP)	110
5.1.3.1. Morfologi GMP dan HGP	110
5.1.3.2. Gugus fungsi GMP dan HGP	111
5.1.3.3. Karakteristik fisik dan fisikokimia GMP dan HGP	113
5.1.4. Komposisi oligosakarida pada HGP	115
5.2. Penelitian Tahap II: Evaluasi potensi prebiotik hidrolisat glukomanan porang (HGP) <i>in vitro</i>	117
5.2.1. Pertumbuhan strain bakteri	117
5.2.2. Skor aktivitas prebiotik	119
5.3. Penelitian Tahap III: Evaluasi komposisi mikrobiota saluran cerna pada hewan coba tikus (<i>in vivo</i>)	122
5.3.1. Rata-rata asupan pakan dan berat badan tikus	122
5.3.2. Berat dan kadar air digesta sekum	124
5.3.3. Mikrobiota saluran cerna	126
5.3.3.1. Ribosomal intergenic spacer analysis (RISA)	126
5.3.3.2. Sequencing 16S rRNA	128
5.3.3.2.1. Kelimpahan relatif dan komposisi mikrobiota saluran cerna pada tikus	129
5.3.3.2.2. Keragaman komunitas mikrobiota saluran cerna pada tikus	138
5.3.4. SCFA dan pH digesta sekum tikus	143
5.4. Pembahasan Umum	145
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN	152
6.1. Kesimpulan	152
6.2. Saran	153
DAFTAR PUSTAKA	155
LAMPIRAN	177

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1. Penelitian terdahulu terkait hidrolisis glukomanan dan potensi prebiotiknya	8
Tabel 2.1. Perbedaan karakteristik glukomanan konjak dan glukomanan porang	18
Tabel 4.1. Parameter penelitian Tahap I	64
Tabel 4.2. Parameter penelitian Tahap II	69
Tabel 4.3. Komposisi pakan tikus standar dan modifikasi isoserat	71
Tabel 4.4. Parameter penelitian Tahap III.....	73
Tabel 4.5. PCR mix analisis RISA.....	83
Tabel 5.1. Karakteristik kimia dan fisik GMP	87
Tabel 5.2. Variabel independen dan level yang digunakan dalam BBD	96
Tabel 5.3. Desain eksperimen BBD dan nilai respon DRS, TRS, dan DP	97
Tabel 5.4. Hasil analisis <i>Sequential Model Sum of Squares</i> untuk optimasi hidrolisis GMP.....	98
Tabel 5.5. Analisis <i>Lack of Fit</i> optimasi hidrolisis GMP.....	99
Tabel 5.6. <i>Model Summary Statistics</i> optimasi hidrolisis GMP	100
Tabel 5.7. Hasil analisis ANOVA terhadap respon DRS.....	101
Tabel 5.8. Batas optimasi untuk faktor (pH, waktu, suhu, dan rasio E/S) dan respon DRS.....	108
Tabel 5.9. Hasil optimasi parameter proses dari program <i>Design Expert</i>	108
Tabel 5.10. Hasil verifikasi kondisi optimum hidrolisis GMP	109
Tabel 5.11. Derajat polimerisasi (DP), viskositas, dan kelarutan dari glukomanan porang (GMP) dan hidrolisat GMP (HGP)	113
Tabel 5.12. Komposisi oligosakarida dari hidrolisat glukomanan porang (HGP)	116
Tabel 5.13. Berat dan kadar air digesta sekum pada semua kelompok tikus.....	125
Tabel 5.14. Konsentrasi SCFA dan pH digesta untuk setiap kelompok tikus	144

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Struktur Kimia Glukomanan (Zhang <i>et al.</i> , 2014)	14
Gambar 2.2. Jalur pemecahan karbohidrat oleh bifidobacteria melalui <i>bifid shunt</i>	24
Gambar 2.3. Struktur glukomano-oligosakarida dari hidrolisis enzimatis glukomanan konjak menggunakan β -mananase dari <i>Streptomyces sp.</i>	37
Gambar 2.4. Struktur parsial glukomanan konjak dan kemungkinan aksi β -mananase dari <i>Streptomyces sp.</i>	38
Gambar 3.1. Skema landasan teori penelitian	54
Gambar 4.1. <i>Fishbone</i> diagram penelitian	58
Gambar 4.2. Ekstraksi glukomanan porang langsung dari umbi porang segar.....	60
Gambar 4.3. Eksperimen faktor tunggal hidrolisis GMP untuk penentuan level pada analisis BBD	62
Gambar 4.4. Prosedur produksi HGP.....	64
Gambar 4.5. Prosedur pengujian skor aktivitas prebiotik	67
Gambar 4.6. Alur penelitian tahap III	70
Gambar 5.1. Kenampakan GMP	89
Gambar 5.2. Pengaruh pH hidrolisis (4-10) terhadap nilai DP, TRS, dan DRS dari HGP.....	92
Gambar 5.3. Pengaruh waktu hidrolisis (0-6 jam) terhadap nilai DP, TRS, dan DRS dari HGP	93
Gambar 5.4. Pengaruh suhu hidrolisis (30-60°C) terhadap nilai DP, TRS, dan DRS dari HGP	94
Gambar 5.5. Pengaruh rasio E/S (0,1-0,7%) terhadap nilai DP, TRS, dan DRS dari HGP.....	95
Gambar 5.6. Grafik prediksi versus nilai aktual untuk respon DRS	103
Gambar 5.7. Plot kontur yang menunjukkan pengaruh pH, waktu, suhu, dan rasio E/S pada respons DRS.....	105
Gambar 5.8. Grafik 3D yang menunjukkan pengaruh pH, waktu, suhu, dan rasio E/S pada respons DRS.....	106
Gambar 5.9. Gambar SEM (a-c) glukomanan porang (GMP) dan (d-f) hidrolisat GMP (HGP) dengan perbesaran 300 $\times$, 1000 $\times$, dan 5000 $\times$	110
Gambar 5.10. Spektra FTIR glukomanan porang (GMP) dan hidrolisat GMP (HGP).....	112
Gambar 5.11. Profil HPLC oligosakarida dari hidrolisat glukomanan porang (HGP).....	116
Gambar 5.12. Peningkatan jumlah sel hidup strain bakteri (log CFU/mL) untuk yang ditumbuhkan pada berbagai substrat (glukosa, inulin, GMP, dan HGP) selama 24 jam	118

Gambar 5.13. Skor aktivitas prebiotik berbagai strain bakteri yang ditumbuhkan pada berbagai substrat (glukosa, inulin, GMP, dan HGP).....	120
Gambar 5.14. Rata-rata asupan pakan per hari pada semua kelompok tikus.....	122
Gambar 5.15. Berat badan tikus pada semua kelompok tikus selama 21 hari perlakuan	123
Gambar 5.16. Visualisasi amplikon daerah spacer intergenik (16S rRNA – 23S rRNA) menggunakan <i>Ribosomal Intergenic Spacer Analysis</i> (RISA)	126
Gambar 5.17. Dendrogram berdasarkan pola pita DNA dari PCR-RISA.....	128
Gambar 5.18. Kelimpahan relatif dari 10 filum yang dominan pada semua kelompok tikus	129
Gambar 5.19. Kelimpahan relatif dari 10 famili yang dominan pada semua kelompok tikus	132
Gambar 5.20. Kelimpahan relatif dari 10 genus dominan pada semua kelompok tikus	133
Gambar 5.21. <i>Heatmap</i> kelimpahan relatif 35 genus dominan pada semua kelompok tikus	135
Gambar 5.22. Kelimpahan relatif <i>Lactobacillus</i> , <i>Allobaculum</i> , <i>Bifidobacterium</i> , <i>Blautia</i> , dan <i>Prevotella</i> di semua kelompok tikus.....	136
Gambar 5.23. Indeks Chao1 pada semua kelompok tikus	138
Gambar 5.24. Indeks Shannon pada semua kelompok tikus.....	139
Gambar 5.25. Plot PCoA berdasarkan kelimpahan OTU pada setiap kelompok tikus.	141
Gambar 5.26. Diagram Venna pada komunitas bakteri pada semua kelompok tikus	142
Gambar 5.27. Skema hasil penelitian dan kebaruan hasil yang diperoleh.....	151

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. <i>Ethical clearance</i> uji <i>in vivo</i>	177
Lampiran 2. Prosedur isolasi DNA sekum dan feses tikus.....	178
Lampiran 3. Tabulasi analisis proksimat GMP.....	179
Lampiran 4. Tabulasi karakteristik fisik GMP.....	180
Lampiran 5. Tabulasi eksperimen faktor tunggal pengaruh pH hidrolisis.....	180
Lampiran 6. Tabulasi eksperimen faktor tunggal pengaruh waktu hidrolisis.....	181
Lampiran 7. Tabulasi eksperimen faktor tunggal pengaruh suhu hidrolisis.....	181
Lampiran 8. Tabulasi eksperimen faktor tunggal pengaruh rasio E/S.....	182
Lampiran 9. Tabulasi hasil verifikasi optimasi RSM.....	183
Lampiran 10. Tabulasi karakteristik GMP dan HGP.....	183
Lampiran 11. Tabulasi komposisi oligosakarida HGP.....	183
Lampiran 12. Tabulasi analisis prebiotik <i>in vitro</i>	184
Lampiran 13. Tabulasi rata-rata asupan pakan tikus per hari.....	189
Lampiran 14. Tabulasi berat badan tikus.....	190
Lampiran 15. Tabulasi berat dan kadar air digesta tikus.....	191
Lampiran 16. Hasil elektroforesis genome DNA sekum dan feses tikus.....	192
Lampiran 17. Hasil konsentrasi dan kemurnian DNA.....	194
Lampiran 18. Kelimpahan relatif dari 10 filum yang dominan pada semua kelompok tikus.....	195
Lampiran 19. Kelimpahan relatif dari 10 famili yang dominan pada semua kelompok tikus.....	195
Lampiran 20. Kelimpahan relatif dari 10 genus yang dominan pada semua kelompok tikus.....	196
Lampiran 21. Tabulasi konsentrasi SCFA pada digesta tikus.....	196
Lampiran 22. Tabulasi pH digesta tikus.....	198
Lampiran 23. Dokumentasi penelitian.....	199