

DAFTAR ISI

SAMPUL DEPAN	i
SAMPUL DALAM	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
LEMBAR PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI	iv
PRAKATA	v
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
ABSTRAK	xix
ABSTRACT	xx
 BAB I PENDAHULUAN	 1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.4 Manfaat Penelitian	7
1.5 Keaslian Penelitian	7
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA, LANDASAN TEORI, DAN HIPOTESIS	 12
2.1 Tinjauan Pustaka	12
2.1.1 Susu	12
2.1.1.a Susu kambing	12
2.1.1.b Standard kualitas fisiko-kimia susu kambing	15
2.1.2 Laktosa	18
2.1.2.a Metabolisme laktosa	19
2.1.2.b Intoleransi laktosa	21
2.1.3 Manajemen Intoleransi Laktosa: Aplikasi Enzim β -Galaktosidase	25
2.1.3.a Enzim β -galaktosidase	25
2.1.3.b Mekanisme katalitik Enzim β -galaktosidase	26
2.1.4 Mikroorganisme Penghasil Enzim β -Galaktosidase	27
2.1.4.a Genus <i>Kluyveromyces</i>	27
2.1.4.b Genus <i>Lactobacillus</i> dan <i>Pediococcus</i>	30
2.1.5 Media Pertumbuhan <i>Kluyveromyces marxianus</i> dan <i>Lactobacillus paracasei</i>	32
2.1.6 Pengaruh Laktosa Terhadap Pertumbuhan <i>Yeast</i> dan Bakteri Asam Laktat	35
2.1.6.a Pengaruh laktosa terhadap pertumbuhan <i>yeast</i>	35
2.1.6.b Pengaruh laktosa terhadap pertumbuhan bakteri asam laktat	43

2.1.7	Metabolisme Laktosa <i>Kluyveromyces marxianus</i> : Regulasi Gen, Tingkat Ekspresi Gen, dan <i>Housekeeping Gene</i>	53
2.1.7.a	Regulasi gen	53
2.1.7.b	Tingkat ekspresi gen	57
2.1.7.c	<i>House-keeping gene</i>	59
2.1.8	Metabolisme Laktosa <i>Lactocaseibacillus paracasei</i> Regulasi Gen, Tingkat Ekspresi Gen, dan <i>Housekeeping Gene</i>	60
2.1.8.a	Regulasi gen	60
2.1.8.b	Tingkat ekspresi gen	65
2.1.8.c	<i>House-keeping gene</i>	66
2.1.9	Aktivitas Enzim β -Galaktosidase <i>Kluyveromyces marxianus</i> dan <i>Lactobacillus</i>	66
2.1.10	Purifikasi Enzim Menggunakan Ammonium Sulfat	67
2.1.11	Hubungan Tingkat Ekspresi Gen dan Aktivitas Enzim β -Galaktosidase	69
2.1.12	Metode ONPG	71
2.1.13	Aplikasi β -Galaktosidase <i>Yeast</i> dan BAL pada Pembuatan Kefir	73
2.1.14	Standard Kualitas Kefir	76
2.1.14.a	Standard kualitas fisiko-kimia	76
i	pH	76
ii	Total asam	78
iii	Kadar laktosa	79
iv	Kadar protein	80
v	Viskositas	81
vi	Kadar air dan total padatan (<i>total solid</i>)	83
2.1.14.b	Standard kualitas mikrobiologi	85
i	Total bakteri asam laktat (BAL)	85
ii	Total <i>yeast</i>	87
2.2	Landasan Teori	88
2.3	Hipotesis	91
BAB III METODE PENELITIAN		92
3.1	Tempat dan Waktu Penelitian	93
3.2	Desain Penelitian	93
3.3	Alat dan Bahan Penelitian	93
3.3.1	Alat	93
3.3.1.a	Alat pelindung diri (APD)	93
3.3.1.b	Alat analisis (<i>laboratory instruments</i>)	93
3.3.1.c	Alat habis pakai (<i>disposable equipments</i>)	94
3.3.1.d	<i>Non-disposable equipments</i>	94
3.3.1.e	<i>Durable equipments</i>	95
3.3.2	Bahan	96
3.3.2.a	Bahan biologis	96
3.3.2.b	Bahan habis pakai (<i>disposable materials</i>)	96
3.3.2.c	Bahan kimia	96

3.3.2.d	Bahan uji.....	97
3.3.2.e	Bahan analisis molekuler.....	97
3.3.2.f	Media pertumbuhan mikroorganisme.....	99
3.3.3	<i>Software</i> Analisis	99
3.4	Cara Kerja.....	99
3.4.1	Preparasi Kultur	99
3.4.2	Analisis Pertumbuhan Kultur (Kurva Pertumbuhan).....	100
3.4.3	Analisis Efisiensi Degradasi Laktosa.....	101
3.4.4	Identifikasi Gen Pengode β -Galaktosidase (PCR)	101
3.4.4.a	Isolasi DNA	101
3.4.4.b	Amplifikasi gen target	102
3.4.4.c	Visualisasi hasil isolasi DNA dan PCR.....	103
3.4.4.d	Sekuensing hasil PCR.....	103
3.4.5	Analisis Hubungan Kekerbatan Gen Pengode β -Galaktosidase (Pohon Filogenetik)	103
3.4.6	Kuantifikasi Tingkat Ekspresi Gen Pengode β -Galaktosidase ...	104
3.4.6.a	Isolasi RNA dan sintesis cDNA	105
3.4.6.b	Evaluasi tingkat ekspresi gen	105
3.4.7	Preparasi Evaluasi Aktivitas β -Galaktosidase	106
3.4.7.a	Ekstraksi enzim.....	106
3.4.7.b	Analisis kadar protein total.....	107
i	Pembuatan reagen.....	107
ii	Pembuatan kurva standard BSA	108
iii	Analisis kadar protein total <i>crude enzyme</i>	109
3.4.8	Evaluasi Aktivitas β -Galaktosidase.....	110
3.4.8.a	Pembuatan kurva standard ONP	110
3.4.8.b	Kuantifikasi aktivitas total dan spesifik enzim.....	111
3.4.9	Evaluasi Kualitas Fisiko-Kimia Susu Kambing.....	111
3.4.9.a	pH	112
3.4.9.b	Total asam.....	112
3.4.9.c	Kadar laktosa	112
3.4.9.d	Kadar protein	114
3.4.9.e	Viskositas.....	114
3.4.9.f	Kadar air dan total padatan.....	115
3.4.10	Produksi Produk Kefir Susu Kambing.....	115
3.4.10.a	Pembuatan starter fermentasi.....	115
3.4.10.b	Fermentasi susu (produksi kefir)	116
3.4.11	Evaluasi Kualitas Fisiko-Kimia Produk.....	117
3.4.12	Evaluasi Kualitas Mikrobiologi Produk.....	117
3.4.12.a	Total <i>yeast</i>	117
3.4.12.b	Total bakteri asam laktat (BAL).....	117
3.4.13	Analisis Data	118
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....		120
4.1	Preparasi Kultur	120

4.2	Pertumbuhan Kultur pada Media Laktosa	121
4.2.1	Pertumbuhan <i>Kluyveromyces marxianus</i> KFA9	123
4.2.2	Pertumbuhan <i>Lactocaseibacillus paracasei</i> M104	128
4.3	Efisiensi Degradasi Laktosa	132
4.4	Identifikasi Gen Penyandi Enzim β -Galaktosidase	134
4.5	Analisis Hubungan Kekekabatan Gen Pengode β -Galaktosidase Berdasarkan Pohon Filogenetik (<i>Phylogenetic Tree</i>)	136
4.6	Eksresi Gen Pengode Enzim β -Galaktosidase	141
4.6.1	Eksresi Gen <i>lac4</i> pada <i>Kluyveromyces marxianus</i> KFA9	141
4.6.2	Eksresi Gen <i>lacZ</i> pada <i>Lactocaseibacillus paracasei</i> M104	147
4.7	Aktivitas Enzim β -Galaktosidase	152
4.7.1	Kadar Protein Total	157
4.7.2	Aktivitas Total Enzim β -Galaktosidase	162
4.7.3	Aktivitas Spesifik Enzim β -Galaktosidase	166
4.8	Kualitas Fisiko-Kimia serta Mikrobiologi Bahan Baku dan Kefir Susu Kambing	170
4.8.1	Kualitas Fisiko-Kimia	170
4.8.1.a	Kualitas fisiko-kimia bahan baku	170
4.8.1.b	Kualitas fisiko-kimia produk	173
i	pH	173
ii	Total asam	175
iii	Kadar laktosa	177
iv	Kadar protein	179
v	Viskositas	180
vi	Kadar air dan total padatan (<i>total solid</i>)	183
4.8.2	Kualitas Mikrobiologi	185
4.8.2.a	Total <i>yeast</i>	185
4.8.2.b	Total bakteri asam laktat (BAL)	186
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		190
5.1	Kesimpulan	190
5.2	Saran	191
DAFTAR PUSTAKA		192
LAMPIRAN		213