

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
PRAKATA	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
DAFTAR SINGKATAN	xii
INTISARI	xiv
ABSTRACT	xv
 I PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Perumusan Masalah	5
1.3. Keaslian Penelitian	6
1.4. Tujuan Penelitian	7
1.5. Manfaat Penelitian	8
 II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Probiotik <i>Lactobacillus casei</i> AP	9
2.2 Lokasi Inulin pada Tanaman dan Perannya sebagai Prebiotik	12
2.3 Ekstraksi Inulin Umbi Dahlia	18
2.4 Enzim Pendegradasi Inulin	21
2.5 Metabolisme Inulin oleh Bakteri Asam Laktat	22
2.6 Metabolisme Asam Lemak Rantai Pendek hasil Fermentasi Produk Sinbiotik	28
2.7 Efektivitas Sinbiotik menekan <i>Enteropathogenic Escherichia coli</i> (EPEC)	32
2.8 Landasan Teori	37
2.9 Hipotesis	40
 III METODE PENELITIAN	
3.1 Tempat Penelitian	41
3.2 Bahan dan Alat	41
3.3 Tahapan Penelitian	43
3.4 Prosedur Kerja	44
3.4.1 Ekstraksi dan pemurnian inulin umbi dahlia untuk menghasilkan konsentrasi inulin tertinggi	44
3.4.1.1 Ekstraksi Inulin	44
3.4.1.1.1 Ekstraksi aduk	44
3.4.1.1.2 Sonikasi tidak langsung	44
3.4.1.1.3 <i>Simultaneous Ultrasonic/Microwave Assisted</i>	45

<i>Extraction (UMAE)</i>	
3.4.1.2 Analisis fisiko-kimia	46
3.4.1.2.1 Gula total	46
3.4.1.2.2 Gula pereduksi	46
3.4.1.2.3 Kadar serat pangan	47
3.4.1.3 Analisis kemurnian inulin	49
3.4.1.3.1 Perbedaan gula total dan gula reduksi	49
3.4.1.3.2 <i>High Performance Liquid Chromatography</i> (HPLC)	50
3.4.1.4 Analisis struktur kimia inulin	51
3.4.1.4.1 Analisis dengan spektrometer FTIR	51
3.4.1.4.2 Analisis dengan spektrometer NMR	51
3.4.2 Ekstrak inulin umbi dahlia sebagai prebiotik dan mendukung pertumbuhan <i>L. casei</i> AP	51
3.4.2.1 Aktivasi kultur dan uji konfirmasi	51
3.4.2.2 Persiapan media	52
3.4.2.3 Perhitungan populasi bakteri dan indeks prebiotik	53
3.4.2.3.1 Penyiapan inokulum	53
3.4.2.3.2 Uji indeks prebiotik	53
3.4.2.4 Parameter pertumbuhan <i>L. casei</i> AP	54
3.4.2.4.1 Penentuan pH	54
3.4.2.4.2 Analisis total mikroba	55
3.4.2.5 Produk metabolit asam lemak rantai pendek	55
3.4.2.6 Efek sinbiotik pada pertumbuhan patogen	56
3.4.2.7 Analisis data	56
3.4.3 Identifikasi protein dan gen yang terlibat dalam degradasi ekstrak inulin dari <i>L. casei</i> AP	57
3.4.3.1 Isolasi protein intraseluler	57
3.4.3.3 Pemurnian parsial enzim	57
3.4.3.2 Elektroforesis gel poliakrilamida-sodium dodesil sulfat (SDS PAGE)	58
3.4.3.4 Sekuensing asam amino dengan ESI-LC-MS/MS	58
3.4.3.5 Pemilihan kandidat gen dan desain primer	59
3.4.3.6 Isolasi RNA dan pembuatan cDNA	59
3.4.3.7 Amplifikasi gen penyandi dari <i>L. casei</i> AP dengan qRT-PCR	60
3.4.4 Peran sinbiotik dari probiotik <i>L. casei</i> AP dan prebiotik inulin umbi dahlia dalam meningkatkan IgA pada mencit yang terinduksi <i>EPEC</i>	60
3.4.4.1 Penyiapan suspensi sel bakteri <i>EPEC</i>	60
3.4.4.2 Penyiapan produk sinbiotik dan perhitungan dosis	61
3.4.4.3 Penentuan hewan coba terinfeksi	62
3.4.4.4 Perlakuan hewan coba	62
3.4.4.5 Pengujian IgA dengan ELISA	63
3.4.4.6 Analisis data	64
3.4.4.7 Pengujian asam lemak rantai pendek	64

IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1	Ekstraksi dan Pemurnian Inulin Umbi Dahlia untuk Menghasilkan Konsentrasi Inulin Tertinggi	65
4.1.1	Ekstraksi inulin umbi dahlia	65
4.1.2	Analisis fisiko-kimia	67
4.1.3	Analisis kemurnian inulin	69
4.1.4	Struktur kimia inulin	71
4.2	Ekstrak Inulin Umbi Dahlia sebagai Prebiotik dan Mendukung Pertumbuhan <i>Lactobacillus casei</i> AP	77
4.2.1	Aktivitas prebiotik ekstrak inulin	78
4.2.2	Pola pertumbuhan <i>L.casei</i> AP di dalam ekstrak inulin	82
4.2.3	Produksi asam lemak rantai pendek dan perubahan pH	83
4.2.4	Efek sinbiotik pada pertumbuhan <i>S.dysentriae</i> dan <i>H.pylori</i>	86
4.3	Protein dan Gen yang terlibat dalam Degradasi Ekstrak Inulin dari <i>Lactobacillus casei</i> AP	88
4.3.1	Analisis protein intraseluler dengan SDS PAGE	88
4.3.2	Sekuensing protein intraseluler dengan ESI-LC-MS/MS	90
4.3.3	Analisis gen penyandi dari <i>L.casei</i> AP yang terlibat dalam degradasi intraseluler ekstrak inulin umbi dahlia dengan qRT-PCR	92
4.4	Peran Produk Sinbiotik dari Probiotik <i>Lactobacillus casei</i> AP dan Prebiotik Inulin Umbi Dahlia terhadap Mencit yang Terinduksi <i>Enteropathogenic Escherichia coli</i> (EPEC)	95
4.4.1	Berat badan, berat feses, dan pH feses mencit	95
4.4.2	Total bakteri asam laktat dan <i>E.coli</i>	98
4.4.3	Kadar IgA pada usus halus	99
4.4.4	Analisis SCFA feses dengan GC dan GCMS	101
IV	KESIMPULAN DAN REKOMENDASI	
5.1	Kesimpulan	106
5.2	Rekomendasi	106
	DAFTAR PUSTAKA	108
	LAMPIRAN	119