

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN	iii
PRAKATA	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	xi
DAFTAR SINGKATAN	xiii
INTISARI	xiv
ABSTRACT	xv
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Permasalahan	3
1.3 Keaslian Penelitian	4
1.4 Tujuan	4
1.5 Manfaat	4
II. TINJAUAN PUSTAKA DAN LANDASAN TEORI	5
2.1 Tinjauan Pustaka	5
2.1.1 Probiotik	5
2.1.2 Prebiotik	6
2.1.3 Metabolisme Inulin oleh Bakteri Asam Laktat	9
2.1.4 Proteomik	14
2.2 Landasan Teori	17
2.3 Hipotesis	19
III. METODE PENELITIAN	20
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	20
3.2 Bahan dan Alat Penelitian	20
3.2.1 Bahan Penelitian	20
3.2.2 Alat Penelitian	22

3.3 Cara Kerja.....	23
3.3.1 Peremajaan dan Perlakuan Kultur.....	23
3.3.2 Pembuatan Kurva Pertumbuhan	24
3.3.3 Analisis Gula dengan HPLC.....	24
3.3.4 Isolasi Protein Pendegradasi Inulin.....	25
3.3.5 Analisis Protein pada <i>Lactobacillus casei</i> strain AP dan AG.....	26
3.3.6 Analisis Molekular Gen β -fruktosidase pada kultur AP dan AG	28
IV. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	31
4.1 Pertumbuhan Kultur <i>Lactobacillus casei</i> dalam Medium Inulin	31
4.2 Analisis Gula dengan Metode HPLC	34
4.2.1. Analisis Gula pada <i>Lactobacillus casei</i> strain AP.....	34
4.3.2. Analisis Gula pada <i>Lactobacillus casei</i> strain AG.....	39
4.3 Profil Protein pada <i>Lactobacillus casei</i> strain AP dan AG	43
4.4 Analisis Protein dengan ESI-LC-MS/MS	46
4.5 Analisis Molekular Gen β -fruktosidase.....	54
4.5.1 Desain Primer Gen β -fruktosidase	54
4.5.2 Amplifikasi Gen β -fruktosidase pada <i>L. casei</i> strain AP dan AG	55
4.5.3 Identifikasi Sekuen Produk Amplifikasi <i>L. casei</i> strain AP	58
4.5.2 Identifikasi Sekuen Produk Amplifikasi <i>L. casei</i> strain AG.....	62
V. KESIMPULAN DAN REKOMENDASI	67
5.1. Kesimpulan.....	67
5.2. Rekomendasi	67
DAFTAR PUSTAKA	68
LAMPIRAN.....	73

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
3.1 Komposisi medium MRS tanpa glukosa.....	20
4.1 Konsentrasi gula pada <i>Lactobacillus casei</i> strain AP.....	35
4.2 Konsentrasi gula pada <i>Lactobacillus casei</i> strain AG.....	37
4.3 Beberapa protein pada pita target berdasarkan analisis ESI-LC-MS/MS dengan software Mascot dan MudPIT <i>scoring</i>	46
4.4 Homologi ampikon primer β -fruktosidase dari <i>L. casei</i> strain AP..	60
4.5 Homologi ampikon primer β -fruktosidase dari <i>L. casei</i> strain AG..	62

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Struktur kimia inulin (Franck dan De Leenheer, 2005).....	8
2.2 Metabolisme sukrosa dan fruktooligosakarida pada <i>Lactobacilli</i> (Gänzle dan Follador, 2012).....	13
2.3 Proses glikolisis beberapa karbohidrat melalui jalur Feeder (Nelson dan Cox, 1970).....	14
2.4 Tahapan dalam <i>Liquid Chromatography</i> dengan <i>Electrospray Ionization Mass Spectrometry</i> (Trauger <i>et al.</i> , 2002).....	16
4.1 Kurva pertumbuhan <i>L.casei</i> strain AF, AP dan AG dalam medium inulin	31
4.2 Kurva pertumbuhan <i>L.casei</i> strain AP dalam MRS glukosa (kontrol) dan medium inulin	32
4.3 Kurva pertumbuhan <i>L.casei</i> strain AG dalam MRS (kontrol) dan medium inulin	32
4.4 Kromatogram HPLC medium inulin dengan pengenceran 10 kali.....	35
4.5 Kromatogram HPLC sampel intraseluler <i>L. casei</i> strain AP setelah 6 jam inkubasi dengan nilai pengenceran 10 kali.....	36
4.6 Kromatogram HPLC supernatan <i>Lactobacillus casei</i> strain AP setelah 6 jam inkubasi dengan nilai pengenceran 10 kali.....	36
4.7 Kromatogram HPLC sampel intraseluler <i>L. casei</i> strain AP setelah 20 jam inkubasi dengan nilai pengenceran 10 kali.....	37
4.8 Kromatogram HPLC supernatan <i>L. casei</i> strain AP setelah 20 jam inkubasi dengan nilai pengenceran 10 kali.....	38
4.9 Kromatogram HPLC sampel intraseluler <i>L. casei</i> strain AG setelah 6 jam inkubasi dengan nilai pengenceran 2,5 kali.....	40
4.10 Kromatogram HPLC supernatan <i>L. casei</i> strain AG setelah 6 jam inkubasi dengan nilai pengenceran 10 kali.....	40
4.11 Kromatogram HPLC sampel intraseluler <i>L. casei</i> strain AG setelah 20 jam inkubasi dengan nilai pengenceran 10 kali.....	41
4.12 Kromatogram HPLC supernatan <i>L. casei</i> strain AG setelah 20 jam inkubasi dengan nilai pengenceran 10 kali.....	42
4.13 Profil protein dinding sel dan intraseluler pada <i>L. casei</i> strain AP dan AG dalam MRS glukosa (1) dan medium inulin (2).....	44

4.14	Profil protein intra- dan ekstraselular <i>L. casei</i> strain AP dan AG dalam MRS glukosa (1) dan medium inulin (2).....	45
4.15	Distribusi skor peptida pada analisis bioinformatika Mascot.....	47
4.16	Hasil <i>alignment</i> protein putative PTS manosa komponen spesifik IID dengan PTS manosa/fruktosa/sorbose komponen spesifik IID.....	52
4.17	Hasil PCR koloni dari <i>Lactobacillus casei</i> strain AP dan AG pada MRS glukosa (1) dan medium inulin (2)	56
4.18	Amplifikasi gen β -fruktosidase (<i>inu32</i>) dan <i>GADP</i> pada DNA <i>Lactobacillus casei</i> strain AP dan AG dalam MRS Broth (1) dan medium inulin (2).....	56
4.19	Amplifikasi gen β -fruktosidase (<i>inu32</i>) pada DNA <i>L. casei</i> strain AP (1) dan AG (2) dalam medium inulin.....	57
4.20	Hasil <i>alignment</i> gen β -fruktosidase pada <i>L. casei</i> strain AP dengan <i>L. casei</i> strain Zhang.....	59
4.21	Dendogram parsial sekuen <i>Lactobacillus casei</i> strain AP dari primer β -fruktosidase	60
4.22	Hasil <i>alignment</i> gen β -fruktosidase pada <i>L. casei</i> strain AG dengan <i>L. casei</i> strain Zhang.....	65
4.23	Dendogram parsial sekuen <i>Lactobacillus casei</i> strain AG dari primer β -fruktosidase	66

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Diagram Alir Penelitian.....	73
2. Data Pengujian HPLC terhadap Medium Inulin.....	74
3. Data Pengujian HPLC terhadap Sampel Intraseluler <i>Lactobacillus casei</i> strain AP Pasca Inkubasi 6 jam.....	75
4. Data Pengujian HPLC terhadap Supernatan <i>Lactobacillus casei</i> strain AP Pasca Inkubasi 6 jam.....	76
5. Data Pengujian HPLC terhadap Sampel Intraseluler <i>Lactobacillus casei</i> strain AP Pasca Inkubasi 20 jam.....	77
6. Data Pengujian HPLC terhadap Supernatan <i>Lactobacillus casei</i> strain AP Pasca Inkubasi 20 jam.....	78
7. Data Pengujian HPLC terhadap Sampel Intraseluler <i>Lactobacillus casei</i> strain AG Pasca Inkubasi 6 jam.....	79
8. Data Pengujian HPLC terhadap Supernatan <i>Lactobacillus casei</i> strain AG Pasca Inkubasi 6 jam.....	80
9. Data Pengujian HPLC terhadap Sampel Intraseluler <i>Lactobacillus casei</i> strain AG Pasca Inkubasi 20 jam.....	81
10. Data Pengujian HPLC terhadap Supernatan <i>Lactobacillus casei</i> strain AG Pasca Inkubasi 20 jam.....	82
11. Data Kalibrasi Inulin pada HPLC.....	83
12. Data Kalibrasi Sukrosa pada HPLC.....	83
13. Data Kalibrasi Glukosa pada HPLC.....	84
14. Data Kalibrasi Fruktosa pada HPLC.....	84
15. Hasil Analisis Blastn Amplikon Gen β -fruktosidase <i>L. casei</i> strain AP dengan <i>L. casei</i> strain Zhang.....	85
16. Hasil Analisis Blastn Amplikon Gen β -fruktosidase <i>L. casei</i> strain AP dengan <i>L. casei</i> group.....	85
17. Hasil Analisis Blastx Amplikon Gen β -fruktosidase <i>L. casei</i> strain AP terhadap <i>L. casei</i> group.....	86
18. Hasil Analisis Blastn Amplikon Gen β -fruktosidase <i>L. casei</i> strain AG terhadap <i>L. casei</i> strain Zhang.....	87

19.	Hasil Analisis Blastn Amplikon Gen β -fruktosidase <i>L. casei</i> strain AG terhadap <i>L. casei</i> group.....	87
20.	Hasil Analisis Blastx Amplikon Gen β -fruktosidase <i>L. casei</i> strain AG terhadap <i>L. casei</i> group.....	88

DAFTAR SINGKATAN

ABC	<i>ATP-binding cassette</i>
BSA	Bovine Serum Albumin
BLAST	<i>Basic Local Alignment Search Tool</i>
ESI-LC-MS/MS	<i>Electrospray Ionization-Liquid Chromatography Mass Spectrometry/Mass Spectrometry</i>
FOS	<i>Fructooligosaccharide</i>
GADPH	<i>Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase</i>
GH32	<i>Glycoside Hydrolase 32</i>
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
SDS-PAGE	<i>Sodium Dodecyl Sulphate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis</i>
KDa	kilo Dalton
<i>L. casei</i>	<i>Lactobacillus casei</i>
<i>L. paracasei</i>	<i>Lactobacillus paracasei</i>
<i>L. plantarum</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>
MEGA	<i>Molecular Evolutionary Genetics Analysis</i>
MudPIT	<i>Multidimensional Protein Identification Technology</i>
MultAlin	<i>Multiple Sequence Alignment</i>
MM	<i>Molecular Mass</i>
MRS	<i>De Mann Rogosa and Sharpe</i>
Pb	Pasang basa
PCR	<i>Polymerization Chain Reaction</i>
PTS	<i>Phosphotransferase System</i>
OD	<i>Optical Density</i>