



**EVALUASI SIFAT-SIFAT PREBIOTIK *COOKIES BAR*  
BERBASIS PISANG, UBI JALAR, DAN KACANG SECARA *IN*  
*VIVO* PADA TIKUS WISTAR JANTAN**

**SKRIPSI**

Oleh

**Kiky Chily Arum Dalu  
NIM 131710101054**

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN  
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2017**



**EVALUASI SIFAT-SIFAT PREBIOTIK *COOKIES BAR*  
BERBASIS PISANG, UBI JALAR, DAN KACANG SECARA *IN*  
*VIVO* PADA TIKUS WISTAR JANTAN**

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat  
untuk menyelesaikan Program Studi Teknologi Hasil Pertanian (S1)  
dan mencapai gelar Sarjana Teknologi Pertanian

Oleh

**Kiky Chily Arum Dalu  
NIM 131710101054**

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN  
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2017**

## PERSEMBAHAN

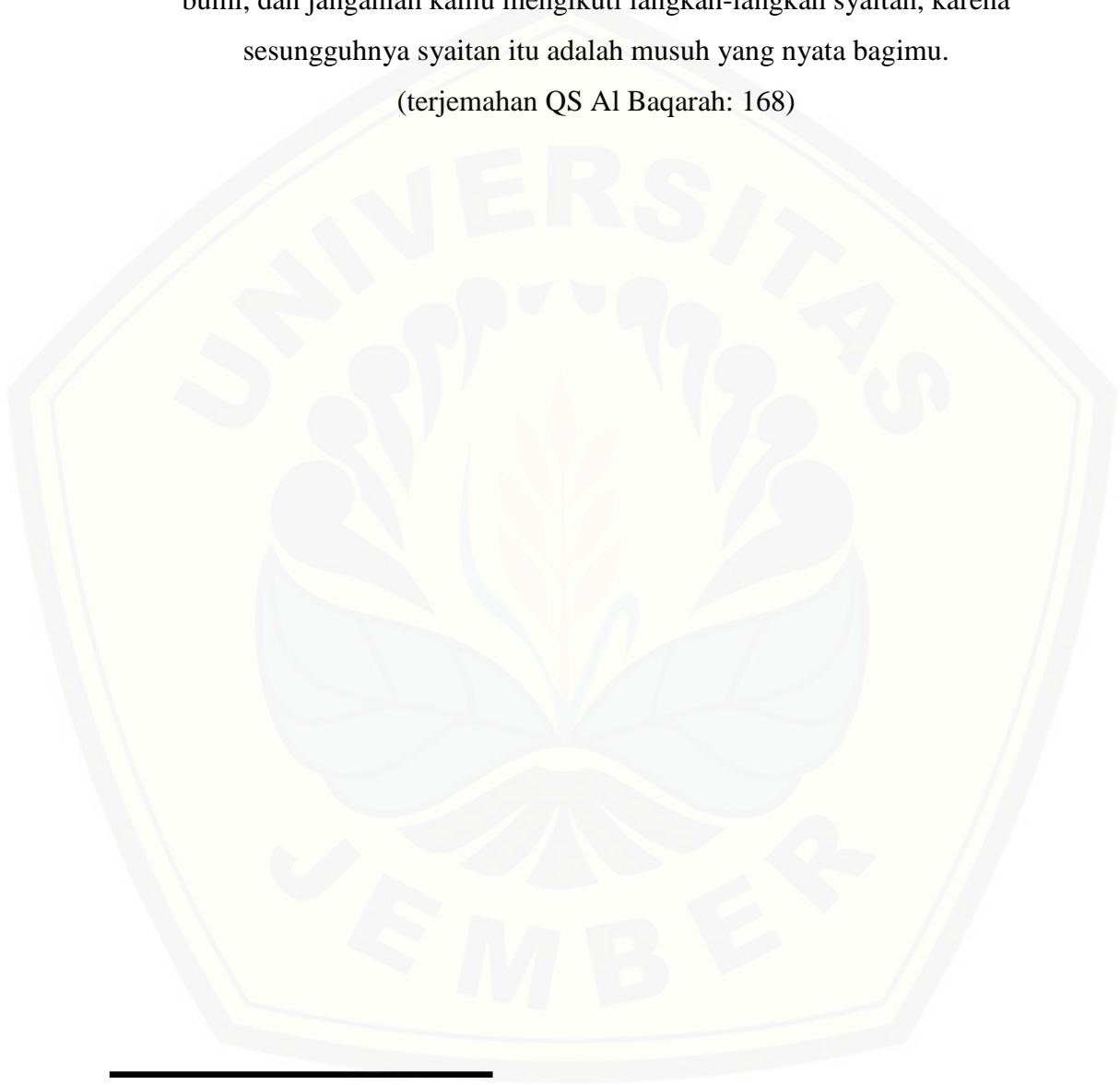
Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik;
2. kedua orang tua, Bapak Sutrawi Jafus dan Ibu Nurul Hidayati, dan keluarga besar saya yang tanpa hentinya memberikan semangat dan do'a;
3. teman-teman seperjuangan tim uji *in vivo cookies bar* dan angkatan 2013 khususnya THP-C yang telah berjuang bersama-sama selama masa penelitian dan perkuliahan;
4. Almamater Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

**MOTO**

Hai sekalian manusia, makanlah yang halal lagi baik dari apa yang terdapat di bumi, dan janganlah kamu mengikuti langkah-langkah syaitan, karena sesungguhnya syaitan itu adalah musuh yang nyata bagimu.

(terjemahan QS Al Baqarah: 168)



---

Departemen Agama Republik Indonesia. 1998. *Al Qur'an dan Terjemahannya*. Semarang: PT Kumudasmoro Grafindo.

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Kiky Chily Arum Dalu

NIM : 131710101054

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah berjudul “Evaluasi Sifat-Sifat Prebiotik *Cookies Bar* Berbasis Pisang, Ubi Jalar, dan Kacang secara *In Vivo* pada Tikus Wistar Jantan” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 20 Februari 2017

Yang menyatakan,

Kiky Chily Arum Dalu  
NIM 131710101054

**SKRIPSI**

**EVALUASI SIFAT-SIFAT PREBIOTIK *COOKIES BAR* BERBASIS  
PISANG, UBI JALAR, DAN KACANG SECARA *IN VIVO* PADA TIKUS  
WISTAR JANTAN**

Oleh

Kiky Chily Arum Dalu  
NIM 131710101054

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dr. Nurhayati, S.TP., M.Si.

Dosen Pembimbing Anggota : dr. Enny Suswati, M.Kes.

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Evaluasi Sifat-Sifat Prebiotik *Cookies Bar* Berbasis Pisang, Ubi Jalar, dan Kacang secara *In Vivo* pada Tikus Wistar Jantan” karya Kiky Chily Arum Dalu telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Rabu, 12 April 2017

tempat : Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember

Dosen Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

Dr. Nurhayati, S.TP., M.Si.  
NIP 197904102003122004

dr. Enny Suswati, M.Kes.  
NIP 197002141999032001

Tim Penguji:

Ketua,

Anggota I,

Dr. Ir. Jayus  
NIP 196805161992031004

Andrew Setiawan Rusdianto, S.TP., M.Si.  
NIP 198204222005011002

Mengesahkan  
Dekan,

Dr. Siswoyo S., S.TP., M.Eng.  
NIP 196809231994031009

## RINGKASAN

**Evaluasi Sifat-Sifat Prebiotik *Cookies Bar* Berbasis Pisang, Ubi Jalar, dan Kacang secara *In Vivo* pada Tikus Wistar Jantan;** Kiky Chily Arum Dalu, 131710101054; 2017: 54 halaman; Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Indonesia adalah negara yang kaya akan pangan lokal seperti pisang, ubi jalar, kacang-kacangan, dan lain sebagainya. Indonesia termasuk dalam produsen pisang dan pengeksport ubi jalar terbesar nomor tujuh di dunia. Tingginya produktivitas tersebut tidak diiringi dengan penggunaan pangan lokal secara optimal. *Cookies bar* dengan bahan pangan lokal seperti pisang agung dan raja, ubi jalar ungu dan putih, serta kacang tunggak dan kacang hijau bisa menjadi solusi olahan pangan lokal yang menyehatkan. *Cookies bar* berbasis bahan pangan lokal, yang diklaim sebagai bahan pangan berprebiotik, belum diketahui pengaruhnya terhadap peningkatan probiotik dan penghambatan bakteri patogen pada sistem pencernaan. Oleh karena itu perlu dilakukan uji *in vivo* prebiotik *cookies bar* untuk mengetahui pengaruh *cookies bar* terhadap profil dan populasi mikroflora pada sistem pencernaan. Tujuan penelitian ini adalah mengidentifikasi populasi dan profil mikroflora yang ada pada feses tikus Wistar jantan, menghitung nilai Indeks Prebiotik (IP), dan mengidentifikasi profil VFA (*Volatille Fatty Acid*).

Terdapat tiga jenis *cookies bar* yang akan diuji sifat prebiotiknya. *Cookies bar* pertama (CB1) berbahan dasar pisang agung dan ubi jalar ungu. Pisang agung, ubi jalar putih, dan kacang tunggak menjadi bahan dasar *cookies bar* kedua (CB2), sedangkan bahan dasar untuk *cookies bar* ketiga (CB3) adalah pisang raja dan kacang hijau. Ketiga jenis *cookies bar* diuji secara *in vivo* pada tikus Wistar jantan dengan persetujuan etik dari Komisi Etik Penelitian Nomor: 942/H25.1.11/KE/2016. Uji *in vivo* dibagi menjadi tiga masa tahapan yaitu masa adaptasi, masa perlakuan, dan masa netralisasi. Setiap 7 hari sekali dilakukan



pengambilan sampel feses tikus untuk diidentifikasi populasi dan profil mikroba, nilai IP, dan kadar VFA.

Ketiga jenis *cookies bar* dapat meningkatkan populasi probiotik dan menurunkan populasi bakteri patogen. *Cookies bar* berbahan dasar pisang agung dan ubi jalar ungu dapat meningkatkan probiotik sebesar 1,79% dan menurunkan bakteri patogen sebesar 13,47%. Peningkatan probiotik dengan asupan *cookies bar* berbasis pisang agung, ubi jalar putih, dan kacang tunggak sebesar 5,41% dengan persentase penghambatan bakteri patogen 7,96%. *Cookies bar* dengan bahan baku pisang raja dan kacang hijau memiliki persentase peningkatan probiotik sebesar 2,31% dan penghambatan bakteri patogen sebesar 12,01%. Nilai IP (Indeks Prebiotik) *cookies bar* yaitu 4,65 pada *cookies bar* berbahan dasar pisang agung dan ubi jalar ungu, 1,03 pada *cookies bar* berbahan dasar pisang agung, ubi jalar putih, dan kacang tunggak, serta 1,80 pada *cookies bar* berbahan dasar pisang raja dan kacang hijau. Semakin tinggi nilai IP, semakin besar pula persentase penghambatan bakteri patogen. Konsumsi *cookies bar* oleh tikus Wistar jantan dapat meningkatkan tingkat fermentabilitas pakan dengan adanya peningkatan konsentrasi VFA feses khususnya asam asetat yaitu sebesar 11,67 mM pada tikus dengan asupan *cookies bar* berbahan dasar pisang agung dan ubi jalar ungu, 6,03 mM pada tikus dengan pakan *cookies bar* berbahan baku pisang agung, ubi jalar putih, dan kacang tunggak, serta 0,76 mM pada tikus yang diberi *cookies bar* dari pisang raja dan kacang hijau.

## SUMMARY

***In Vivo* Evaluation of Prebiotic Properties of Cookies Bar Made from Banana, Sweet Potato, and Beans**; Kiky Chily Arum Dalu, 131710101054; 2017: 54 pages; Department of Agricultural Product Technology, Faculty of Agricultural Technology, University of Jember.

Indonesia is a country that is rich of local food like banana, sweet potato, beans, and the others. Indonesia is number seven in the world on the biggest of banana production and sweet potato importer. The application of local food is not good as the high value of it's production. Cookies bars with basic ingredients like *agung* and *raja* banana, purple and white sweet potato, cowpea, and mung bean can be the solution for healthy application of local food. Cookies bars with local food as ingredients are known as prebiotic ingredients, but it still weren't known about the effect of probiotic increasing and patogenic obstructing in digestion system. The aim of this research were identification about population and profil of Wistar male rat's feces, Prebiotic Index (PI) calculation, and identification of Volatile Fatty Acid (VFA) profil.

Daily feeding for male Wistar rats using three kinds of cookies bar (CB1, CB2, and CB3). The first cookies bar (CB1) was formulated by using *agung* banana and purple sweet potato. The second cookies bar (CB2) was formulated by using *agung* banana, white sweet potato, and cowpea. The third cookies bar (CB3) was formulated by using *raja* banana and mung bean. The *in vivo* evaluation had gotten ethical approval from Research Ethics Committee No: 942/H25.1.11/KE/2016. *In vivo* test was divided in three period steps, there were adaptation period, treatment period, and neutralization period. Prebiotic properties of cookies bars were evaluated once in a week based on microbe population and profil, PI value, and VFA content of feces.

All of three cookies bars could increase the probiotic population and decrease the patogenic population. The increasment percentage of probiotic were 1,79% for cookies bar with *agung* banana and purple sweet potato; 5,41% for

cookies bar from *agung* banana, white sweet potato, and cowpea; and 2,31% for *raja* banana and mung bean cookies bar. It could also decrease pathogenic bacteria population as big as 13,74% for *agung* banana and purple sweet potato cookies bar, 7,96% for cookies bar with *agung banana*, white sweet potato, and cowpea, and 12,01% for *raja* banana and mung bean cookies bar. The Prebiotic Index (PI) value of cookies bar were 4,65 for cookies bar with *agung* banana and purple sweet potato as basic ingredients. PI value for cookies bar with *agung* banana, white sweet potato, and cowpea as basic ingredients was 1,03. Cookies bar with *raja* banana and mung bean as basic ingredients had 1,80 for PI value. Higher value of PI made higher value of patogen microbe obstruction percentage. Consumption of cookies bar could increase the degree of food fermentability with the increasment of feces's VFA concentration especially acetate acid. *Agung* banana and purple sweet potato cookies bar could increase 11,67 mM of acetate acid concentration. Cookies bar made from *agung* banana, white sweet potato, and cowpea could increase 6,03 mM of acetate acid concentration. The increasment of acetate acid concentration in consumption of *raja* banana and mung bean cookies bar was 0,76 mM.

## PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Evaluasi Sifat-Sifat Prebiotik *Cookies Bar* Berbasis Pisang, Ubi Jalar, dan Kacang secara *In Vivo* pada Tikus Wistar Jantan”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Dr. Siswoyo S., S.TP., M.Eng., selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember;
2. Ir. Giyarto, M.Sc., selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Jember;
3. Dr. Nurhayati, S.TP., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Utama dan Dosen Pembimbing Akademik yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi, serta membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
4. dr. Enny Suswati, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
5. Bapak Ibu Tenaga Pendidik dan Tenaga Kependidikan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember;
6. kedua orang tua (Bapak Sutrawi Jafus dan Ibu Nurul Hidayati) sekeluarga yang telah memberikan dorongan semangat dan do'anya demi terselesaikannya skripsi ini;
7. DRPM Kemristekdikti yang telah membiayai penelitian melalui Penelitian Strategis Nasional 2016/2017 atas nama Dr. Nurhayati, S.TP., M.Si.;
8. semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, Maret 2017

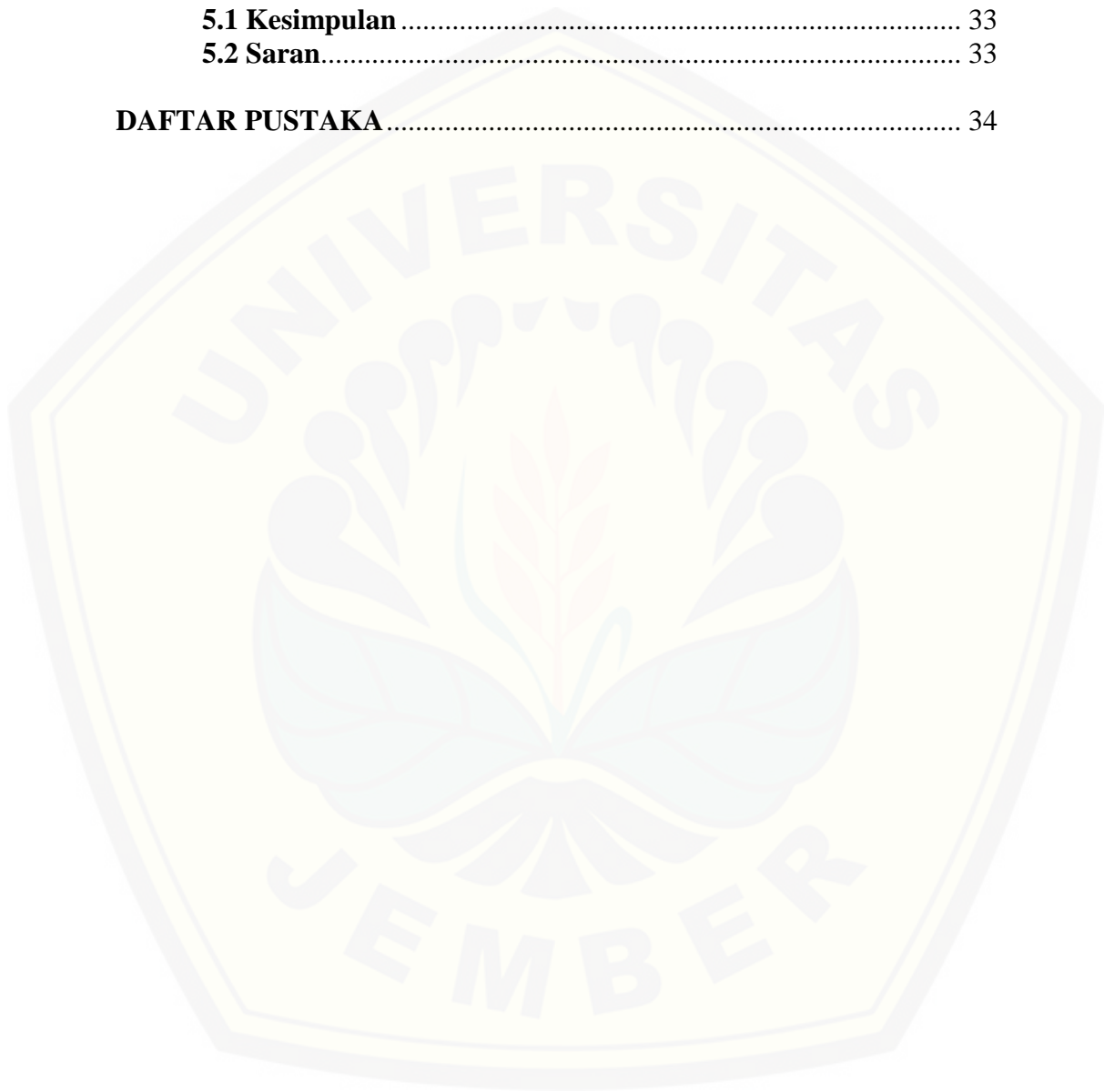
Penulis



## DAFTAR ISI

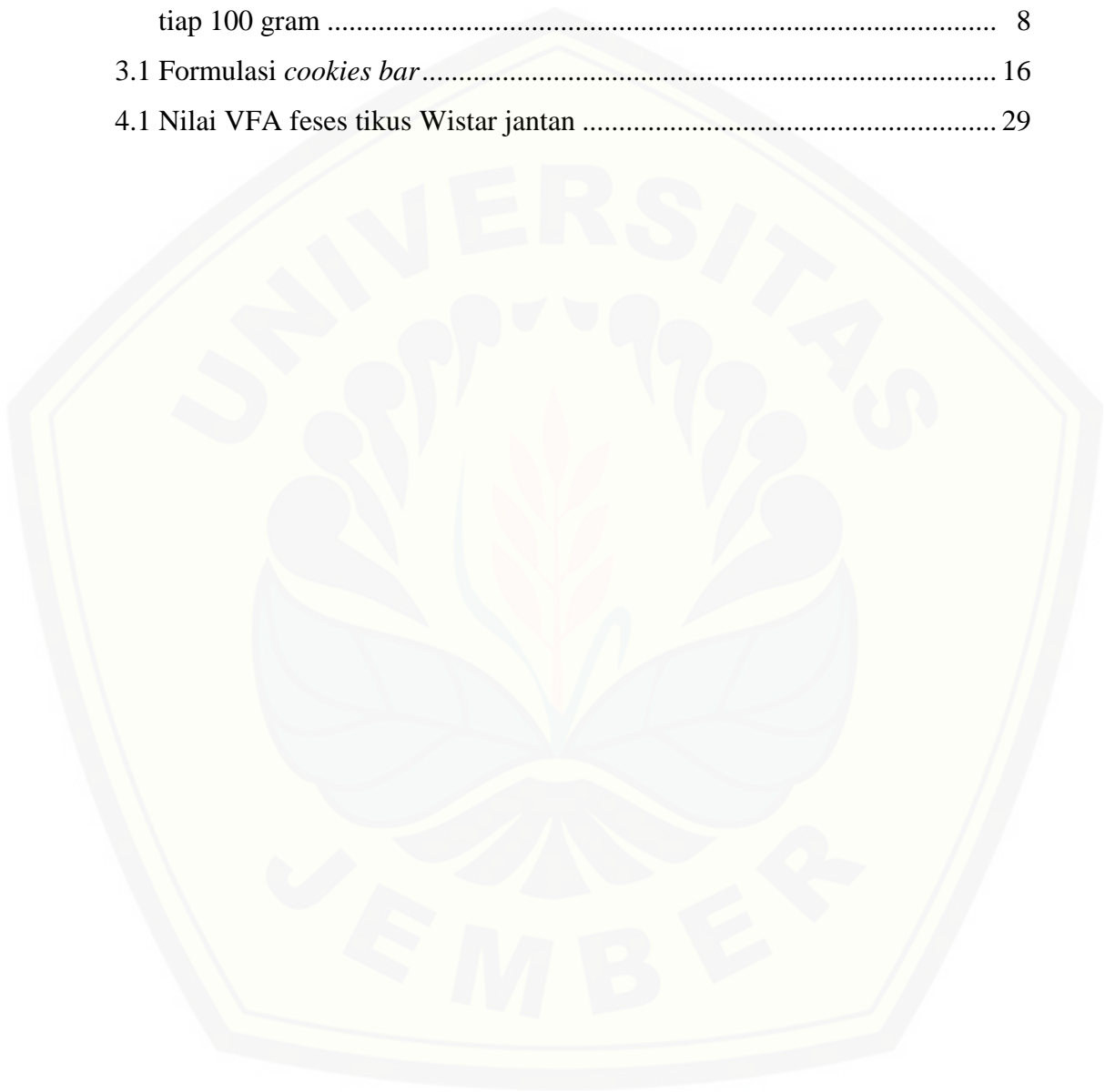
	Halaman
<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	i
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN MOTO</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	v
<b>HALAMAN PEMBIMBINGAN</b> .....	vi
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vii
<b>RINGKASAN/SUMMARY</b> .....	viii
<b>PRAKATA</b> .....	xii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xiv
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xvi
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xvii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xviii
<b>DAFTAR ISTILAH</b> .....	xix
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Perumusan Masalah</b> .....	2
<b>1.3 Tujuan Penelitian</b> .....	2
<b>1.4 Manfaat</b> .....	2
<b>1.5 Hipotesa</b> .....	2
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	4
<b>2.1 Pengolahan <i>Cookies Bar</i></b> .....	4
<b>2.2 Hubungan Prebiotik dan Probiotik</b> .....	4
<b>2.3 Potensi Prebiotik Pisang, Ubi Jalar, Kacang Tunggak, dan Kacang Hijau</b> .....	5
<b>2.4 Mikroflora Usus</b> .....	9
<b>2.5 VFA (<i>Volatile Fatty Acid</i>)</b> .....	10
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b> .....	13
<b>3.1 Tempat dan Waktu Penelitian</b> .....	13
<b>3.2 Alat dan Bahan Penelitian</b> .....	13
<b>3.3 Pelaksanaan Penelitian</b> .....	13
<b>3.4 Parameter Penelitian</b> .....	18
<b>3.5 Prosedur Analisis</b> .....	19
<b>3.6 Analisis Data</b> .....	21
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	22
<b>4.1 Populasi Mikroba</b> .....	22
4.1.1 Populasi Total Mikroba pada Feses Tikus Wistar Jantan .....	22
4.1.2 Populasi Probiotik pada Feses Tikus Wistar Jantan.....	23
4.1.3 Populasi Bakteri Patogen pada Feses Tikus Wistar Jantan .....	25
<b>4.2 Indeks Prebiotik <i>Cookies Bar</i> Berprebiotik</b> .....	27

<b>4.3 VFA (<i>Volatile Fatty Acid</i>) Feses Tikus Wistar Jantan</b> .....	29
4.3.1 Asam Asetat .....	30
4.3.2 Asam Propionat .....	31
4.3.3 Asam Butirat .....	31
4.4.4 Asam Valerat .....	32
<b>BAB 5. PENUTUP</b> .....	33
<b>5.1 Kesimpulan</b> .....	33
<b>5.2 Saran</b> .....	33
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	34



**DAFTAR TABEL**

	Halaman
2.1 Kandungan gizi pisang, ubi jalar, kacang tunggak, dan kacang hijau tiap 100 gram .....	8
3.1 Formulasi <i>cookies bar</i> .....	16
4.1 Nilai VFA feses tikus Wistar jantan .....	29



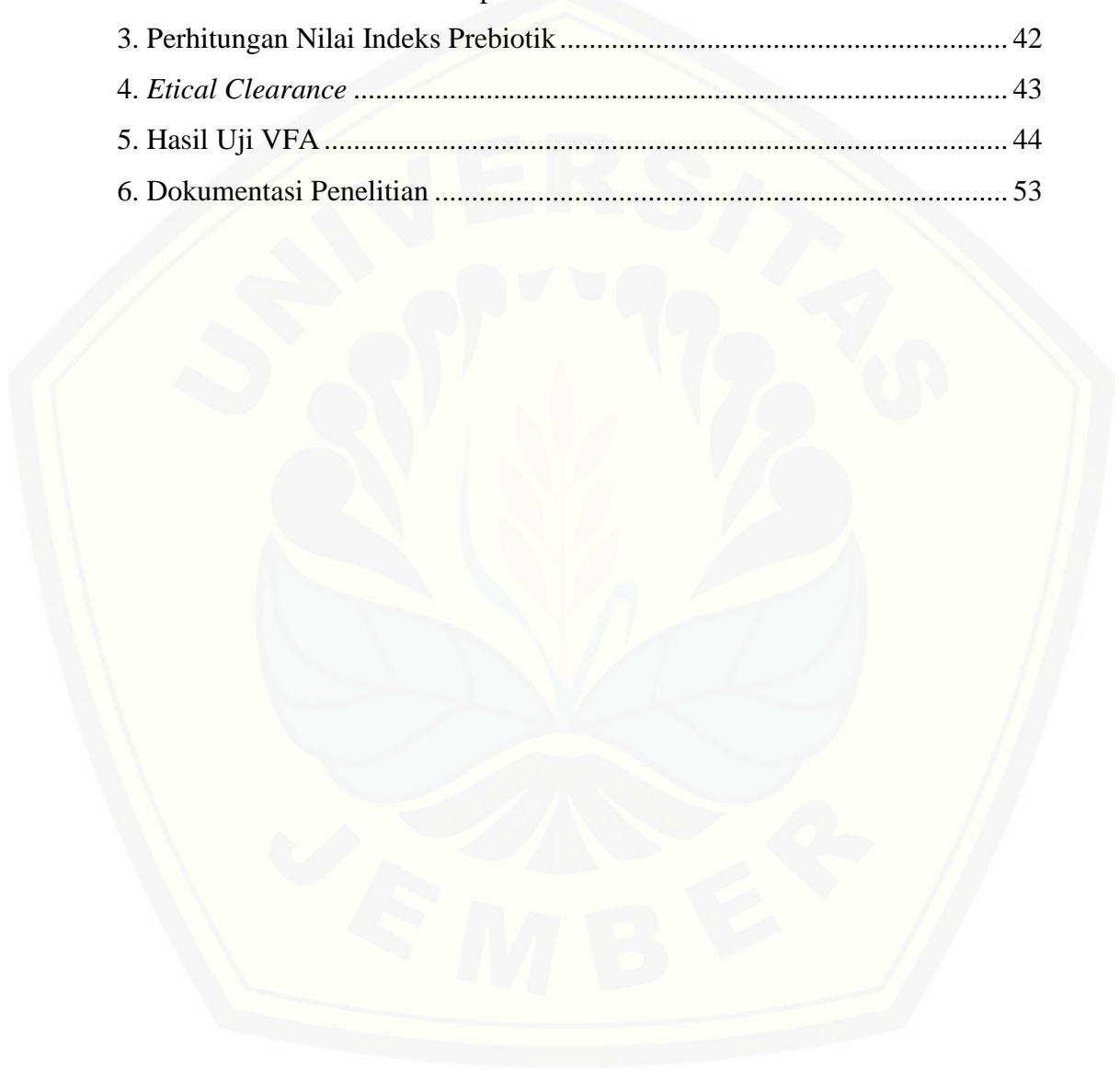


**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
2.1 Pisang agung dan pisang raja .....	6
2.2 Ubi jalar putih dan ungu .....	6
2.3 Biji kacang tunggak .....	7
2.4 Kacang hijau .....	7
3.1 Uji <i>in vivo cookies bar</i> pada tikus Wistar jantan .....	18
4.1 Populasi total mikroba feses tikus Wistar jantan pada M0, M1, M2, dan M3 dari TK , TCB1, TCB2, dan TCB3 .....	22
4.2 Populasi probiotik feses tikus Wistar jantan pada M0, M1, M2, dan M3 dari TK , TCB1, TCB2, dan TCB3 .....	24
4.3 Populasi bakteri patogen feses tikus Wistar jantan pada M0, M1, M2, dan M3 dari TK , TCB1, TCB2, dan TCB3.....	26
4.4 Indeks prebiotik CB1, CB2, dan CB3 terhadap bakteri patogen .....	28

**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
1. Jumlah Pakan yang Dikonsumsi Tikus Wistar Jantan .....	40
2. Hasil Evaluasi Profil dan Populasi Feses Tikus Wistar Jantan.....	41
3. Perhitungan Nilai Indeks Prebiotik.....	42
4. <i>Etical Clearance</i> .....	43
5. Hasil Uji VFA .....	44
6. Dokumentasi Penelitian .....	53



## DAFTAR ISTILAH

### C

- CB1** CB1 (*Cookies Bar 1*) adalah pangan untuk perlakuan 1 dengan bahan dasar pisang agung dan ubi jalar ungu.
- CB2** CB2 (*Cookies Bar 2*) adalah pangan untuk perlakuan 2 dengan bahan dasar pisang agung, ubi jalar putih, dan kacang tunggak.
- CB3** CB3 (*Cookies Bar 3*) adalah pangan untuk perlakuan 3 dengan bahan dasar pisang raja dan kacang hijau.

### K

- K** K (Kontrol) adalah pakan kontrol berupa ransum standar.

### M

- M0** M0 (Minggu ke-0) adalah masa adaptasi.
- M1** M1 (Minggu ke-1) adalah masa perlakuan 1.
- M2** M2 (Minggu ke-2) adalah masa perlakuan 2.
- M3** M3 (Minggu ke-3) adalah masa netralisasi.

### T

- TK** TK (Tikus Kontrol) adalah tikus yang diberi pakan kontrol.
- TCB1** TCB1 (Tikus *Cookies Bar 1*) adalah tikus yang diberi pakan CB1.
- TCB2** TCB2 (Tikus *Cookies Bar 2*) adalah tikus yang diberi pakan CB2.
- TCB3** TCB3 (Tikus *Cookies Bar 3*) adalah tikus yang diberi pakan CB3.



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Indonesia adalah negara yang kaya akan pangan lokal seperti pisang, ubi jalar, kacang-kacangan, dan lain sebagainya. Indonesia termasuk dalam produsen pisang dan pengekspor ubi jalar terbesar nomor tujuh di dunia. Pada tahun 2012, nilai ekspor ubi jalar meningkat 61% dengan peningkatan volume sebanyak 36% (UNDP, 2015). Tingginya produktivitas tersebut tidak diiringi dengan penggunaan pangan lokal secara optimal. Pada umumnya pisang dimakan sebagai buah segar atau keripik. Ubi jalar dan kacang tunggak serta hijau diolah secara sederhana dengan cara perebusan atau pengukusan. *Cookies bar* dengan bahan pangan lokal seperti pisang agung dan raja, ubi jalar ungu dan putih, serta kacang tunggak dan kacang hijau bisa menjadi solusi olahan pangan lokal yang menyehatkan.

*Cookies bar* disebut juga sebagai makanan yang memiliki tekstur kering di luar dan lembut di dalam serta berbentuk batang atau *bar*. Bahan baku berupa pisang, tepung ubi jalar, kacang tunggak, dan kacang hijau dikenal sebagai bahan pangan berprebiotik karena mengandung oligosakarida. Senyawa ini dapat digunakan sebagai substrat bagi mikroflora usus dalam sistem pencernaan. Prebiotik diartikan sebagai bahan pangan tidak tercerna yang menguntungkan mikroflora usus dengan menstimulasi secara selektif pertumbuhan atau aktivitas satu atau beberapa bakteri dalam kolon (usus besar) yang dapat meningkatkan kesehatan bagi usus (Roberfroid, 2007). Adanya prebiotik dapat meningkatkan kinerja dari mikroflora usus yang menguntungkan dan nantinya dapat mencegah beberapa penyakit sistem pencernaan seperti kanker kolon (Winarti, 2010). Contoh mikroflora usus yang menguntungkan adalah *Bifidobacterium sp.* dan *Lactobacillus sp.* Namun, sifat-sifat prebiotik dari *cookies bar* masih belum diketahui, sehingga diperlukan pengujian prebiotik untuk mengetahuinya.

## 1.2 Perumusan Masalah

*Cookies bar* berbasis bahan pangan lokal, yang diklaim sebagai bahan pangan prebiotik, belum diketahui pengaruhnya terhadap peningkatan populasi probiotik dan penghambatan bakteri patogen pada sistem pencernaan. Potensi bahan pangan lokal sebagai prebiotik berbeda-beda karena jumlah dan jenis kandungan prebiotik pada setiap bahan berbeda. Oleh karena itu perlu dilakukan uji *in vivo* prebiotik *cookies bar* untuk mengetahui pengaruh *cookies bar* terhadap peningkatan populasi probiotik dan penghambatan bakteri patogen pada sistem pencernaan. Caranya adalah dengan mengidentifikasi populasi dan profil mikroflora yang ada pada feses tikus Wistar jantan, menghitung nilai indeks prebiotik, dan mengidentifikasi profil VFA (*Volatille Fatty Acid*).

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian adalah sebagai berikut.

1. Mengetahui populasi dan profil mikroflora feses tikus Wistar jantan yang diberi asupan *cookies bar*.
2. Mengetahui nilai indeks prebiotik *cookies bar*.
3. Mengetahui profil VFA (*Volatille Fatty Acid*) feses tikus Wistar jantan yang diberi asupan *cookies bar*.

## 1.4 Manfaat

Manfaat penelitian adalah meningkatkan nilai kegunaan dari bahan pangan lokal seperti pisang, ubi jalar, kacang tunggak, dan kacang hijau, serta *cookies bar* yang dibuat. Selain itu, kepraktisan *cookies bar* dapat meningkatkan keragaman jenis pangan darurat.

## 1.5 Hipotesis

Penggunaan bahan pangan berprebiotik seperti pisang, ubi jalar, kacang tunggak, dan kacang hijau membuat *cookies bar* yang dihasilkan juga bersifat prebiotik. Sifat prebiotik pada *cookies bar* diharapkan dapat meningkatkan jumlah

probiotik dan menurunkan jumlah bakteri patogen pada feses tikus. Perbedaan kombinasi bahan pada *cookies bar* akan menghasilkan nilai IP yang berbeda.



## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Pengolahan *Cookies Bar*

*Cookies bar* disebut juga sebagai makanan yang memiliki tekstur kering di luar dan lembut di dalam serta berbentuk batang atau *bar*. *Cookies bar* termasuk dalam jenis *snack bar*. *Snack bar* dikenal sebagai makanan instan yang kaya akan gizi. *Snack bar* didefinisikan sebagai produk makanan ringan yang memiliki bentuk batang dan merupakan campuran dari berbagai bahan seperti sereal, buah-buahan, kacang-kacangan yang diikat satu sama lain dengan bantuan agen pengikat (*binder*) (Septiani, *et al.*, 2016). Menurut Brown (2006), pengolahan dan pencetakan *cookies bar* dilakukan dengan cara memasukkan adonan ke dalam loyang pembakaran yang sudah diberi alas roti. Kemudian adonan dimasak setengah matang dan dipotong bujur sangkar yang dilanjutkan dengan pembakaran kembali sampai matang.

### 2.2 Hubungan Prebiotik dan Probiotik

Prebiotik didefinisikan sebagai *ingredient* pangan yang tidak dapat dicerna namun secara selektif menstimulir pertumbuhan dan aktivitas mikroba yang menguntungkan dalam saluran pencernaan sehingga memberikan efek kesehatan bagi yang mengonsumsinya (Roberfroid, 2007). Syarat pertama suatu pangan bisa dikatakan sebagai prebiotik adalah resisten terhadap keasaman lambung, hidrolisis oleh enzim dan absorpsi di saluran pencernaan mamalia. Syarat kedua dapat difermentasi oleh mikroflora usus, dan yang ketiga adalah selektif merangsang pertumbuhan dan/ atau aktivitas bakteri di usus yang dihubungkan dengan kesehatan dan keadaan yang lebih baik (Brownawell, *et al.*, 2012).

Prebiotik berfungsi sebagai substansi makanan dari probiotik. Probiotik merupakan bakteri hidup yang memiliki efek menguntungkan pada saluran cerna dari golongan bakteri asam laktat (Mulyawan, 2014). Struktur kimia prebiotik tidak dapat diabsorpsi oleh usus kecil tetapi difermentasi didalam kolon oleh bakteri endogenous, khususnya probiotik, yang digunakan sebagai energi dan



substrat metabolisme (Eamonn dan Rodigro, 2006). Prebiotik merangsang enzim pencernaan pankreas yang memproduksi zat antibakteri atau bakteriosin sehingga dapat menekan pertumbuhan bakteri patogen (Sudarmo, 2003). Prebiotik berasal dari kelompok oligosakarida, contohnya frukto-oligosakarida, rafinosa, galakto-oligosakarida, inulin, dan beberapa jenis peptida yang tidak dicerna sehingga dapat mencapai usus (Soeharsono, 2000).

### **2.3 Potensi Prebiotik Pisang, Ubi Jalar, Kacang Tunggak, dan Kacang Hijau**

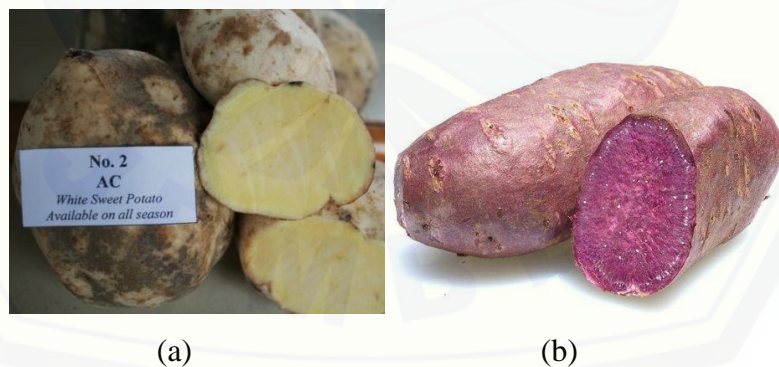
Jenis pisang (*Musa paradisiaca* L) sangat beragam, dua diantaranya adalah pisang agung dan pisang raja, yang dapat dilihat pada Gambar 2.1. Pisang agung (*Musa paradisiaca formatypica*) termasuk dalam kelompok pisang tanduk yang memiliki daging buah putih atau kekuning-kuningan dan rasa tidak manis sampai agak masam. Pisang raja (*Musa paradisiaca* var. Raja) memiliki kulit yang lebih tebal, daging buah berwarna putih kekuningan, kuning muda atau kemerah-merahan, dan memiliki rasa agak manis sampai manis (Rukmana, 1999). Pisang mengandung inulin sebanyak 0,3 – 0,7 % dari buah segar (Ma'aruf, 2011) dan FOS atau fruktooligosakarida sebesar 0,3% (Kusharto, 2006). Zdunczyk (2004) menyatakan bahwa kandungan FOS pada pisang merah adalah 0,3–0,5 mg/g, pisang hijau 0,6–0,7 mg/g, dan pisang secara umum 1–2 mg/g.

Inulin adalah karbohidrat yang termasuk polimer dari fruktosa (Zdunczyk, 2004). Fruktooligosakarida merupakan kelompok oligosakarida yang tersusun atas beberapa unit monosakarida jenis fruktosa dengan panjang rantai 3 sampai 50 unit. Fruktooligosakarida (FOS) memiliki afinitas (daya ikat) terhadap pelekatan bakteri ke sel-sel epitel usus. Bakteri yang telah berikatan dengan FOS tidak dapat menempel dan mengkolonisasi dinding usus, serta terbawa keluar melalui feses (Muwarni, 2009). Kandungan gizi pisang dapat dilihat pada Tabel 2.1.



Gambar 2.1 Pisang agung (a) (Kuzuryu, 2013) dan pisang raja (b) (Infosahabat, 2016)

Ubi jalar merupakan sumber karbohidrat setelah gandum, beras, jagung dan singkong yang terdiri dari beberapa jenis warna yaitu putih, kuning, merah hingga keunguan yang dapat dilihat pada Gambar 2.2 (UNDP, 2015). Kandungan gizi dari ubi jalar putih dan ungu dapat dilihat pada Tabel 2.1. Ubi jalar putih varietas Bestak mengandung 27% serat pangan, 7% serat pangan larut, 7,5% serat pangan tidak larut, dan 12,5% pati resisten yang didasarkan pada basis kering (Lestari, *et al.*, 2013). Ubi jalar ungu mengandung pati resisten sebesar 5,02% yang meningkat menjadi 14,23% ketika diberi perlakuan pemanasan (Zheng, *et al.*, 2016). Total oligosakarida tepung ubi jalar yang dipanggang adalah 0,13% dengan rafinosa 0,1% (Marlis, 2008).



Gambar 2.2 Ubi jalar putih (a) dan ungu (b) (Paramita, 2015)

Kacang tunggak (*Vigna unguiculata* L. Walp.) pada Gambar 2.3 adalah jenis kacang-kacangan yang berasal dari Afrika dengan berat biji rata-rata adalah 5–30 gram / 100 biji (Kay, 1979 dalam Sa'adah, 2009). Kandungan gizi dari 100 gram kacang tunggak dapat dilihat pada Tabel 2.1. Jenis dan jumlah oligosakarida yang ada pada kacang tunggak mentah adalah rafinosa (0,069–0,429 g / 100 g) dan

stakiosa (0,109–0,570 g / 100 g). Proses autoklaf dapat menurunkan kandungan rafinosa sebesar 23–68 % dan stakiosa 12–81 % (Agbenorhevi, *et al.*, 2007).



Gambar 2.3 Biji kacang tunggak (Pertanianku, 2015)

Kacang hijau terdiri dari tiga bagian utama, yaitu kulit biji 10%, kotiledon 88%, dan lembaga 2%. Kotiledon banyak mengandung pati dan serat, sedangkan lembaga merupakan sumber protein dan lemak (Astawan, 2004 dalam Normasari, 2010). Kandungan gizi kacang hijau tiap 100 gram dapat dilihat pada Tabel 2.1. Kacang hijau, dapat dilihat pada Gambar 2.4, mengandung karbohidrat sekitar 58%. Pati kacang hijau terdiri dari 28,8% amilosa dan 71,2% amilopektin. Kandungan lain dalam kacang hijau adalah sukrosa 1,2-1,8 %; rafinosa 0,3-1,1 %; stakiosa 1,65-2,5 %; dan verbakosa 2,1-3,8 % (Somantri, *et al.*, 2009 dalam Normasari, 2010). Protein kacang hijau terdiri dari asam amino esensial seperti isoleusin, leusin, lisin, metionin, fenilalanin, treonin, triptofan, dan valin (Normasari, 2010). Kacang hijau mengandung pati resisten sebesar 11% dari kandungan total patinya dan serat pangan sebesar 15,2 g / 100 g pada biji utuh. Serat pangan tersebut dapat mengurangi waktu transit pangan pada pencernaan (Deraz dan Khalil, 2008).



Gambar 2.4 Kacang hijau (Gil, 2012)

Tabel 2.1 Kandungan gizi pisang, ubi jalar, kacang tunggak, dan kacang hijau tiap 100 gram

Kandungan Gizi	Satuan	Pisang Raja <sup>1</sup>	Pisang Agung <sup>2</sup>	Ubi Jalar Ungu <sup>3</sup>	Ubi Jalar Putih <sup>3</sup>	Kacang Tunggak <sup>4</sup>	Kacang Hijau <sup>5</sup>
Kalori	kcal	116,00	90	123,00	123,00	346	345,00
Karbohidrat	g	31,15	22,84	27,90	27,90	63,4	62,90
Gula	g	nd	12,23	0,40	0,40	nd	nd
Serat	g	2,30	2,26	1,20	0,90	4,5	nd
Lemak	g	0,18	0,33	0,70	0,70	1,3	1,20
Protein	g	0,79	1,09	1,80	1,80	22	22,20
Vitamin A	µg	nd	3	4.620,00	36,00	28	94,20
Tiamin (Vit B1)	mg	nd	0,031	0,09	0,09	0,94	0,64
Riboflavin (Vit B2)	mg	nd	0,073	nd	nd	0,227	nd
Niasin (Vit B2)	mg	nd	0,665	nd	nd	2,36	nd
Asam pantotenat (Vit B5)	mg	nd	0,334	nd	nd	1,39	nd
Vitamin B6	mg	nd	0,367	nd	nd	0,44	nd
Folat (Vit B9)	µg	nd	20	nd	nd	0,545	nd
Kalsium	mg	nd	8,7	30,00	30,00	80,3	125,00
Besi	mg	nd	5	nd	nd	7,54	6,70
Vitamin C	mg	nd	0,26	21,43	28,68	nd	6,00
Magnesium	mg	nd	27	nd	nd	250,2	nd
Fosfor	mg	nd	22	49,00	49,00	426,5	nd
Potasium	mg	nd	358	nd	nd	1.450,3	nd
Seng	mg	nd	0,15	nd	nd	3,77	nd

Keterangan : nd (tidak ada data)

Sumber : <sup>1</sup>Riana (2000); <sup>2</sup>Suyanti dan Supriadi (2008); <sup>3</sup>UNDP (2015); <sup>4</sup>Mathews (1989) dalam Sa'adah (2009);<sup>5</sup>Soeprapto dan Sutarman (1982) dalam Normasari (2010)

## 2.4 Mikroflora Usus

Mikroflora usus terdiri dari bakteri yang menguntungkan (probiotik) dan yang merugikan (patogen). Bakteri probiotik adalah kelompok bakteri yang mampu mengubah karbohidrat (glukosa) menjadi asam laktat. Efek bakterisidal dari asam laktat berkaitan dengan penurunan pH lingkungan menjadi 3 sampai 4,5 sehingga pertumbuhan bakteri lain termasuk bakteri pembusuk akan terhambat. Pada umumnya mikroorganisme dapat tumbuh pada kisaran pH 6-8 (Buckle, 1987). Probiotik dapat mencegah konstipasi, mengurangi kanker kolon, mengurangi insomnia dan memiliki peran mengurangi stress (Winarti, 2010). Bakteri patogen adalah bakteri yang dapat menyebabkan penyakit apabila terdapat dalam jumlah yang besar. Mikroflora yang ada pada usus adalah sebagai berikut.

### 1. Bakteri Asam Laktat

Kelompok bakteri asam laktat mempunyai morfologi yang beragam atau heterogen dan memiliki bentuk batang pendek atau panjang, serta bulat (*coccus*). Semua anggota *Lactobacteriaceae* adalah gram positif, tidak membentuk spora dan umumnya non-motile. Keberadaan bakteri asam laktat tergantung pada karbohidrat yang menjadi suplai energinya dan diubah menjadi asam laktat (Sugiono dan Mahendra, 2004).

### 2. Enterobactericeae

Enterobactericeae adalah kelompok bakteri patogen seperti *Escherichia coli*, *Salmonella* sp, *Enterobacter aerogenes*, dan lain sebagainya. *Escherichia coli* adalah bakteri gram negatif yang bersifat anaerob fakultatif dan termasuk dalam kategori mikroflora usus yang merugikan apabila dalam jumlah besar. Bakteri jenis ini memiliki panjang  $\pm 2 \mu\text{m}$ , diameter  $0,7 \mu\text{m}$ , dan lebar  $0,4 - 0,7 \mu\text{m}$ . *E. coli* berbentuk batang pendek yang membentuk koloni bundar, cembung, dan halus dengan tepi yang nyata (Smith-Keary, 1988; Jawetz *et al.*, 1995 dalam Kusuma, 2010).

*E. coli* termasuk dalam mikroflora usus yang tidak berbahaya apabila jumlahnya tidak terlalu banyak. Peningkatan jumlah *E. coli* membuat bakteri tersebut bersifat patogen karena dapat menghasilkan enterotoksin yang menyebabkan diare (Jawetz, *et al.*, 1995 dalam Kusuma, 2010). Kelompok galur

*E. coli* yang tergolong patogen adalah *E. coli* enteropatogenik, enterotoksinogenik, enteroinvasif, enterohemoragik, dan enteroagregatif.

*Salmonella* sp adalah bakteri gram negatif yang termasuk dalam famili Enterobacteriaceae. Bakteri ini berbentuk batang dengan ukuran 0,7–1,5 µm x 2–5 µm dan memfermentasi glukosa menjadi gas serta asam. *Salmonella* sp dapat digolongkan dalam fakultatif anaerobik, oxidase negatif, dan katalase positif (Cox, 2000 dalam Poeloengan, *et al.*, 2006). Dalam jumlah besar, *Salmonella* sp dapat menyebabkan penyakit salmonellosis, demam tifoid, demam paratifoid, dan infeksi lokal (Poeloengan, *et al.*, 2006).

Dahmojono (2001) dalam Poeloengan, *et al.* (2006) berpendapat bahwa *Salmonella* sp biasanya tunggal atau jarang membentuk rantai lebih dari dua sel. Dalam kultur ekstrak agar, koloni bakteri terlihat licin, mengkilat, dan transparan, namun dalam kultur dengan infusi ayam, koloni tumbuh lebih subur dan aspeknya tidak begitu transparan.

## **2.5 VFA (*Volatile Fatty Acid*)**

Volatile Fatty Acid (VFA) adalah salah satu hasil fermentasi karbohidrat di dalam rumen yang konsentrasinya menunjukkan tingkat fermentabilitas pakan dan berhubungan erat dengan aktifitas mikroba rumen (Parakkasi, 1999 dalam Candra, 2013). Karbohidrat pakan di dalam rumen mengalami dua tahap pencernaan oleh enzim-enzim yang dihasilkan mikroba rumen. Pada tahap pertama karbohidrat mengalami hidrolisis menjadi monosakarida seperti glukosa, fruktosa, dan pentosa. Hasil pencernaan tahap pertama masuk jalur glikolisis untuk mengalami pencernaan tahap kedua yang menghasilkan piruvat. Piruvat selanjutnya akan dirubah menjadi VFA yang umumnya terdiri dari asetat, butirrat, dan propionat (Arora, 1995 dalam Indriani, *et al.*, 2013). Karbohidrat terdiri dari serat kasar dan bahan ekstrak tanpa nitrogen (BETN). BETN merupakan karbohidrat yang dapat larut seperti monosakarida, disakarida, dan polisakarida yang mudah larut dalam larutan asam dan basa serta memiliki daya cerna yang tinggi (Anggorodi, 1994 dalam Ma'rifatunnisa, *et al.*, 2015). Selain diperoleh dari pemecahan karbohidrat,

VFA juga berasal dari protein meskipun dalam jumlah sedikit (Preston dan Leng, 1987 dalam Ma'rifatunnisa, *et al.*, 2015).

VFA digunakan untuk pertumbuhan mikroorganisme pencernaan serat kasar dalam rumen dan sebagai sumber kerangka karbon untuk pembentukan protein mikroba, sehingga VFA disebut sebagai sumber energi yang penting (Sutardi, *et al.*, 1983 dalam Candra, 2013). Menurut Sutardi (1979) dalam Candra (2013), kadar VFA yang dibutuhkan untuk menunjang pertumbuhan optimal mikroba rumen adalah 80-160 mM. Selain itu, ransum yang dikonsumsi mempengaruhi produksi VFA dalam rumen, sedangkan Silalahi (2003) dalam Candra (2013) berpendapat bahwa jumlah mikroba rumen akan mempengaruhi produksi VFA total. Semakin banyak jumlah sel bakteri selulolitik dalam cairan rumen maka produksi VFA total semakin tinggi. Produksi VFA total dalam rumen berkurang karena digunakan oleh mikroba rumen sebagai sumber energi dan diserap dinding rumen. Banyaknya VFA dalam rumen dicirikan oleh aktivitas mikroba, jumlah VFA yang diserap atau keluar dari rumen (Church, 1974 dalam Candra, 2013). Beberapa jenis VFA adalah sebagai berikut.

## 1. Asetat

Asetat adalah produk akhir fermentasi serat yang diperlukan untuk memproduksi lemak susu (Arora, 1995). Preston dan Leng (1987) dalam Ma'rifatunnisa, *et al.* (2015) berpendapat bahwa bahan pakan yang mengandung serat kasar akan menghasilkan asam asetat lebih banyak. Asam asetat dan propionat berperan dalam penyediaan energi yang cepat bagi sel tubuh (Karpinem, 2003 dalam Nurcholis dan Zubaidah, 2011).

## 2. Propionat

Propionat adalah produk akhir fermentasi gula dan pati (Arora, 1995). Menurut Preston dan Leng (1987) dalam Ma'rifatunnisa, *et al.* (2015), bahan pakan yang banyak mengandung BETN akan menghasilkan asam propionat lebih banyak.

## 3. Butirat

Hasil metabolisme butirat dalam hati adalah berupa badan keton. Badan keton digunakan sebagai sumber energi untuk pembentukan asam lemak, otot kerangka,

dan jaringan tubuh lainnya (Arora, 1995). Asam butirat berperan dalam mempercepat regenerasi sel mukosa usus (Karpinem, 2003 dalam Nurcholis dan Zubaidah, 2011).





## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmasi Klinik dan Komunitas Fakultas Farmasi, Laboratorium Rekayasa Proses Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian, serta Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember. Waktu pelaksanaan dimulai pada bulan Juni 2016 sampai Januari 2017.

### 3.2 Alat dan Bahan Penelitian

#### 1. Alat Penelitian

Alat yang digunakan adalah neraca analitik, blender, ayakan, mixer, dan oven untuk membuat *cookies bar*. Alat untuk pemeliharaan dan perlakuan tikus adalah kandang metabolit, wadah minum, dan wadah pakan. Alat untuk uji sifat prebiotik adalah *hot plate*, inkubator (Heraeus instrument D-63450 Hanau tipe B 6200, USA), serta kromatografi gas (Chrompack CP 9002 seri 946253, Belanda).

#### 2. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah pisang varietas agung dari Lumajang, pisang varietas raja, ubi jalar putih dan ungu, kacang tunggak, serta kacang hijau dari Jember untuk pembuatan *cookies bar*. Tikus galur Wistar jantan dari Malang dan ransum standar (AD II) digunakan untuk uji *in vivo*. Media *Salmonella Chromogenic Agar* (Conda cat. 1122.1, Spain), *Hektoen Enteric Agar* (Conda cat. 1030.00, Spain), *De Mann Rogosa Sharpe Agar* (Merck, VM 335160148, Germany), dan *Nutrient Agar* (Merck, VMO35150904, Germany) serta larutan garam fisiologis untuk uji prebiotik.

### 3.3 Pelaksanaan Penelitian

#### 1. Rancangan Percobaan

Penelitian ini termasuk dalam jenis penelitian *experimental* yang terdiri dari satu faktor dengan tiga perlakuan. Faktor yang digunakan adalah formulasi

*cookies bar* yang nantinya akan dijadikan pakan tikus. Perlakuan pertama adalah *cookies bar* dari pisang agung dan tepung ubi jalar ungu. Perlakuan kedua adalah *cookies bar* dari pisang agung, tepung ubi jalar putih, dan kacang tunggak serta perlakuan ketiga adalah pisang raja dan tepung kacang hijau.

## 2. Rancangan Penelitian

Penelitian terdiri dari tiga tahap. Tahap pertama adalah pembuatan *cookies bar* sesuai dengan hasil formulasi kandungan gizi tertinggi (Gandaningarum, 2016; Kurniasari, 2016; Paramita, 2016). Tahap kedua adalah pengujian pada tikus Wistar jantan. Tahap ketiga adalah analisis sifat-sifat prebiotik *cookies bar*.

### a. Pembuatan *Cookies Bar*

Pembuatan *cookies bar* terdiri dari dua langkah yaitu pembuatan tepung ubi jalar, kacang tunggak, dan kacang hijau. Selain itu juga terdapat pembuatan *cookies bar* yang nantinya dijadikan pakan tikus.

- 1.) Pembuatan tepung ubi jalar: hal pertama yang dilakukan adalah mencuci dan mengupas ubi jalar untuk menghilangkan kotoran dan memisahkan kulit dari daging ubi jalar. Kemudian dilakukan pengirisan setebal  $\pm 2$  mm untuk memperluas permukaan ubi jalar sehingga mempercepat pengeringan. Setelah itu dilakukan perendaman dengan air selama  $\pm 15$  menit untuk mencegah terjadinya *browning* dan dilanjutkan dengan proses penirisan. Tahap selanjutnya adalah penjemuran dibawah sinar matahari selama 2-3 hari untuk mengurangi kadar air dari ubi jalar, sehingga menjadi chips ubi jalar. Chips yang kering dikecilkan ukurannya dengan cara pemblenderan dan diayak dengan ayakan 60 mesh untuk menyamakan ukuran tepung sehingga menjadi tepung ubi jalar.
- 2.) Pembuatan tepung kacang tunggak: kacang tunggak disortasi terlebih dahulu untuk memisahkan biji yang rusak. Biji yang lolos sortasi disosoh dengan menggunakan *grain mill* untuk menghilangkan kulit ari atau kulit bagian luarnya. Kemudian dilakukan sortasi kembali untuk memisahkan bagian mata dari biji kacang tunggak. Langkah selanjutnya biji dicuci untuk menghilangkan sisa kulit yang menempel, setelah itu dilakukan perendaman selama 2 jam. Perbandingan air untuk merendam dan kacang

tunggak adalah 3:1. Perendaman bertujuan agar biji mengalami pregelatinisasi saat penyangraian. Kacang tunggak yang telah direndam, ditiriskan terlebih dahulu untuk kemudian masuk pada tahap penyangraian. Penyangraian dilakukan pada suhu 120°C selama 25-30 menit untuk mengurangi kandungan air kacang tunggak, memperbaiki daya cerna, dan menghasilkan rasa serta aroma khas sangrai. Langkah selanjutnya adalah pengecilan ukuran dari kacang tunggak dengan cara penggilingan, kemudian tepung yang dihasilkan diayak dengan ayakan 60 mesh untuk menghomogenkan ukuran tepung (Sa'adah, 2009).

- 3.) Pembuatan tepung kacang hijau: biji kacang hijau dicuci terlebih dahulu untuk menghilangkan kotoran, kemudian dilakukan *steam blanching* selama 10 menit untuk mencegah terjadinya *browning* pada tepung yang dihasilkan dan mempermudah pelepasan kulit. Tahap selanjutnya adalah pengupasan kulit untuk memisahkan kulit dan daging biji kacang hijau. Setelah itu dilakukan pengeringan dengan oven pada suhu 60°C selama 18 jam untuk mengurangi kadar air kacang hijau. Kacang hijau yang telah kering dikecilkan ukurannya dengan cara pemblenderan dan dilanjutkan dengan pengayakan untuk menyamakan ukuran tepung kacang hijau dengan ayakan 80 mesh (Ratnasari dan Yunianta, 2015).
- 4.) Pembuatan *cookies bar*: diawali dengan pengadukan margarin dan gula pasir terlebih dahulu kemudian ditambahkan pisang sesuai formula yang digunakan. Di sisi lain tepung yang sesuai dengan formula dicampur dengan garam dan susu skim. Langkah selanjutnya adalah mencampur semua bahan dan mengaduknya hingga terbentuk adonan. Adonan yang terbentuk dicetak diatas loyang yang telah diolesi mentega. Pemanggangan adonan dilakukan pada suhu 120 °C selama 40 menit. *Cookies bar* yang setengah matang dipotong kemudian dilakukan pemanggangan kembali pada suhu 120 °C selama lima menit (Ladamay dan Yuwono, 2014 dalam Kurniasari, 2015). Formulasi *cookies bar* dapat dilihat pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Formulasi *cookies bar*

Jenis <i>Cookies Bar</i>	Formulasi
1	pisang agung 70 gram, tepung ubi jalar ungu 30 gram, margarin 30 gram, gula 10 gram, telur 10 gram, susu skim 5 gram, dan garam 0,25 gram
2	pisang agung 70 gram, tepung ubi jalar putih 50 gram, tepung kacang tunggak 30 gram, telur 20 gram, gula 10 gram, margarin 40 gram, susu skim 5 gram, dan garam 0,25 gram
3	pisang raja 90 gram, tepung kacang hijau 10 gram, tepung terigu 20 gram, gula 10 gram, garam 0,25 gram, margarin 10 gram, susu skim 5 gram, dan telur 10 gram

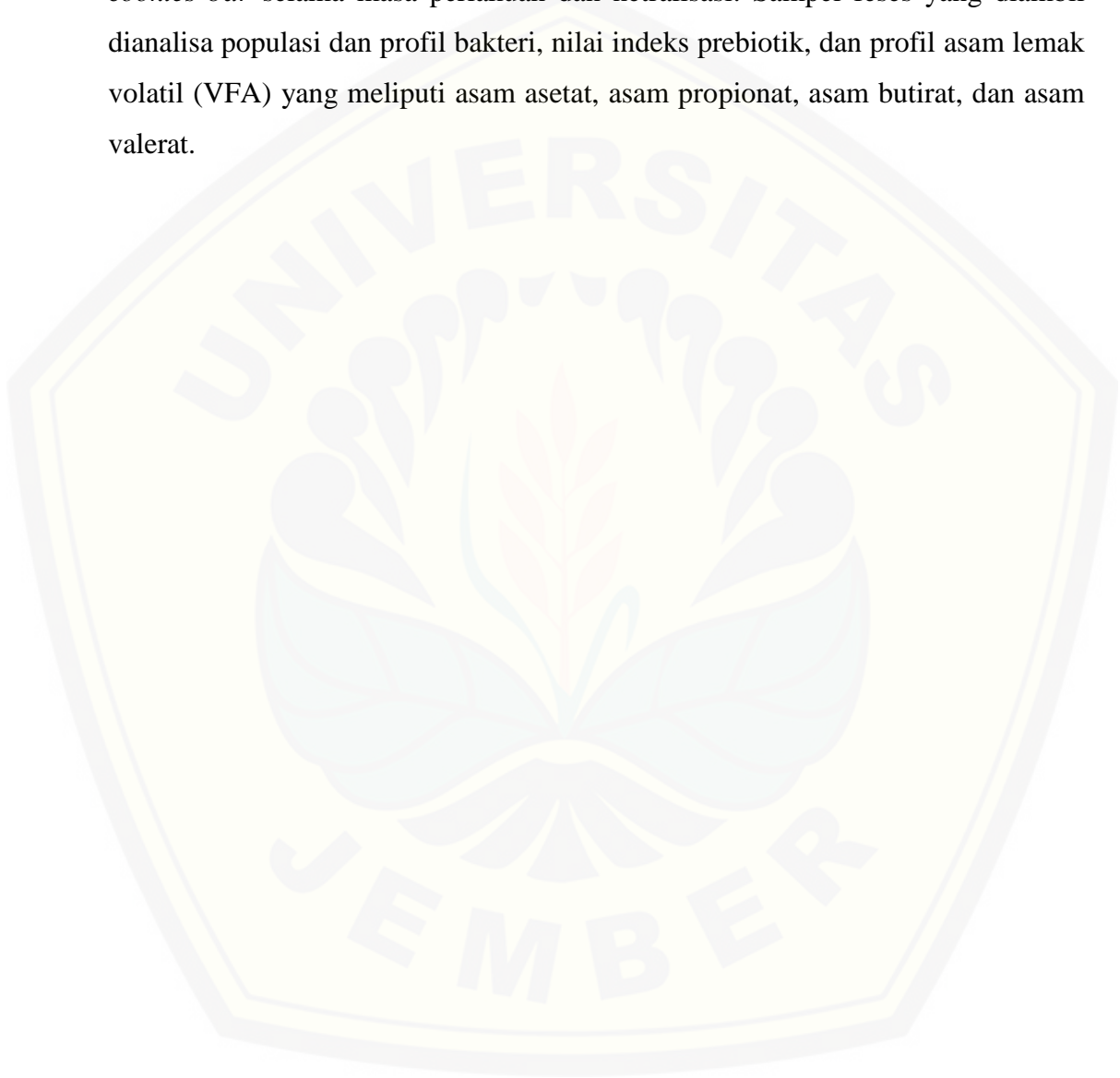
b. Uji *In Vivo* Sifat Prebiotik *Cookies Bar*

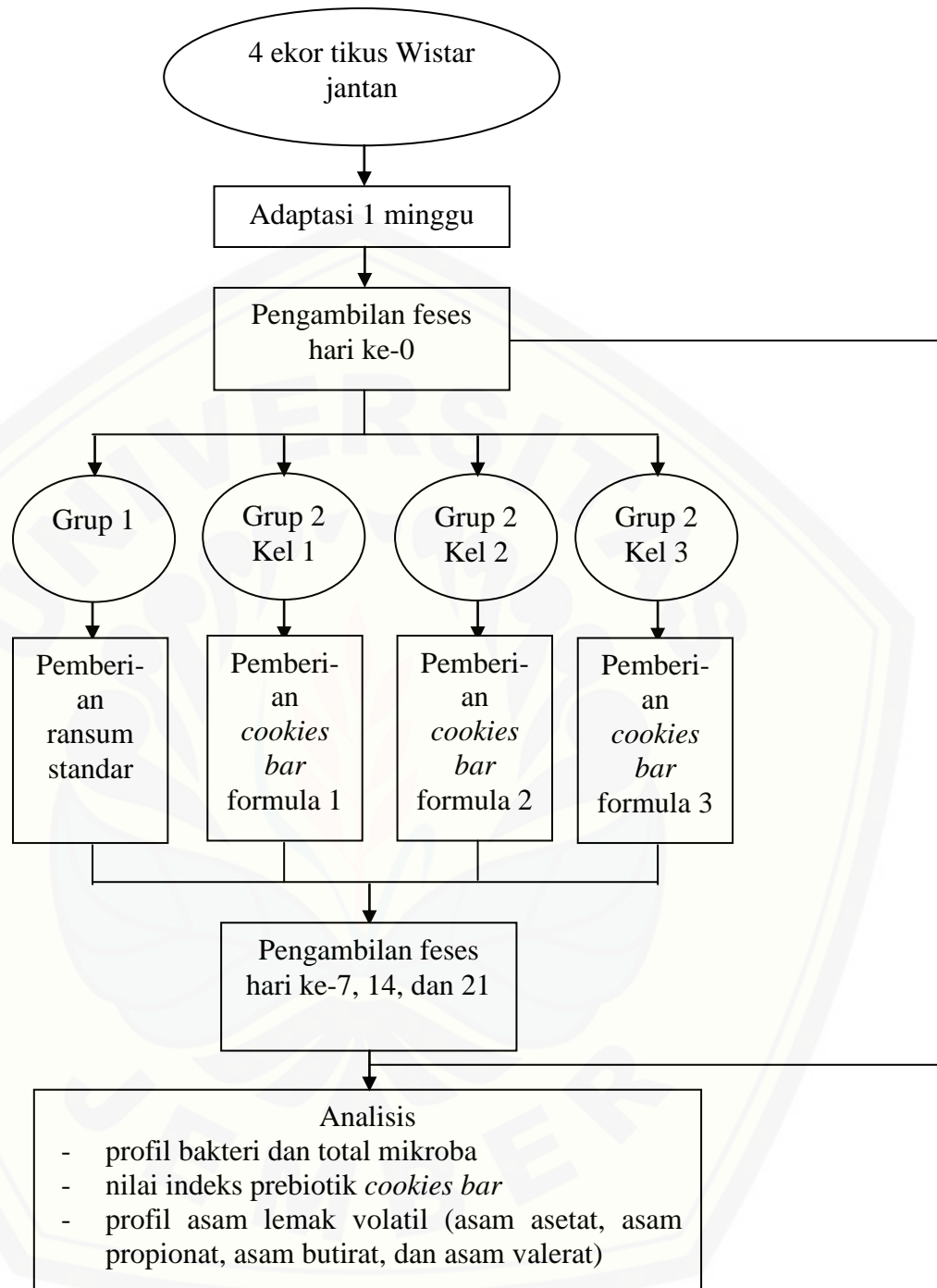
Uji *in vivo* telah mendapatkan persetujuan etik dari Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Jember dengan nomor 942/H25.1.11/KE/2016. Kriteria inklusi hewan coba, mengacu pada Orviyanti (2012), yaitu jenis hewan coba yang digunakan adalah tikus Wistar jantan dengan umur 8 minggu. Tikus memiliki berat badan antara 120-180 gram dengan kondisi sehat (aktif dan tidak cacat). Kriteria eksklusinya adalah hewan coba tidak memiliki gangguan pencernaan dan tidak mengonsumsi antibiotik selama satu bulan sebelum *treatment*.

Empat tikus Wistar jantan ditempatkan pada empat kandang metabolit yang berbeda selama masa percobaan dan dibagi menjadi dua grup. Grup 1 adalah tikus yang diberi ransum standar sebagai kontrol. Grup 2 terdiri dari tiga kelompok tikus yang diberi tiga macam formula *cookies bar*. Kelompok 1 mendapatkan formula *cookies bar* 1. Kelompok 2 mendapatkan formula *cookies bar* 2. Kelompok 3 mendapatkan formula *cookies bar* 3. Takaran konsumsi masing-masing pangan uji adalah 20 gram dalam satu hari.

Masa adaptasi (M0) berlangsung selama satu minggu dengan cara pemberian ransum standar pada tikus. Pengujian *in vivo* dalam masa perlakuan dilakukan dengan memberikan *cookies bar* berprebiotik dan ransum standar selama 14 hari atau dua minggu (M1 dan M2). Pemberian makan dan pergantian minum dilakukan setiap hari. Masa netralisasi (M3) dilakukan selama satu minggu setelah

masa perlakuan dengan pemberian pakan ransum standar kembali. Pada hari ke-0 setelah adaptasi, dilakukan pengambilan sampel feses untuk mengetahui kondisi awal sebelum dilakukannya pemberian *cookies bar*. Pengambilan sampel feses juga dilakukan secara periodik setiap tujuh hari untuk mengetahui sifat prebiotik *cookies bar* selama masa perlakuan dan netralisasi. Sampel feses yang diambil dianalisa populasi dan profil bakteri, nilai indeks prebiotik, dan profil asam lemak volatil (VFA) yang meliputi asam asetat, asam propionat, asam butirrat, dan asam valerat.





Gambar 3.1 Uji *in vivo* *cookies bar* pada tikus Wistar jantan

### 3.4 Parameter Penelitian

Terdapat tiga parameter dalam penelitian ini. Parameter pertama adalah profil bakteri dan total mikroba feses tikus yang ditentukan dengan metode

*Bacteriological Analytical Manual* (BAM) (Jackson, *et al.*, 2001; Nurhayati, *et al.*, 2015). Parameter kedua adalah nilai indeks prebiotik *cookies bar* (Manderson, *et al.*, 2005; Roberfroid, 2007; Nurhayati, *et al.*, 2015). Jumlah asam lemak volatil atau *Volatile Fatty Acid* (VFA) merupakan parameter ketiga yang didasarkan pada Abdurachman dan Askar (2000) yang telah dimodifikasi oleh Nurhayati, *et al.* (2015).

### 3.5 Prosedur Analisis

#### 3.5.1 Profil bakteri dan total mikroba feses tikus (Jackson, *et al.*, 2001; Nurhayati, *et al.*, 2015)

Pengujian profil mikroflora feses tikus dilakukan untuk mengetahui jumlah mikroflora menguntungkan dan merugikan serta total mikroba yang ada pada feses tikus. Dengan begitu dapat diketahui pengaruh *cookies bar* berprebiotik terhadap profil mikroflora feses tikus, dimana diharapkan feses tikus yang diberi *cookies bar* berprebiotik memiliki mikroflora menguntungkan (probiotik) yang lebih banyak. Pengujian tersebut meliputi beberapa jenis bakteri dan total mikroba seperti berikut.

- a. Probiotik (mikroflora menguntungkan) termasuk BAL (Bakteri Asam Laktat) dengan metode agar tuang pada media MRSA.
- b. Bakteri patogen dengan cara penumbuhan pada media SCA dan HEA.
- c. Total mikroba dengan cara penumbuhan pada media NA.

Feses tikus sebanyak 1 gram ditera dengan menggunakan larutan garam fisiologis sebanyak 10 mL dan dihomogenisasi dengan cara divortex selama 10 detik. Setelah menjadi homogen, dilakukan pengenceran secara bertingkat. Pengenceran  $10^{-4}$  digunakan untuk pemupukan pada media SCA dan HEA. Pengenceran  $10^{-5}$  digunakan untuk pemupukan pada media MRSA dan pengenceran  $10^{-6}$  digunakan untuk pemupukan pada media NA. Langkah selanjutnya adalah penginkubasian suhu 37 °C selama 24-48 jam dan akan dilanjutkan dengan penghitungan koloni dengan menggunakan metode *Bacteriological Analytical Manual* – FDA. Perhitungan total bakteri dilakukan dengan ketentuan sebagai berikut:

- a. Cawan yang normal berisi 25-250 koloni. Semua koloni dihitung termasuk titik yang berukuran kecil. Pengenceran dan jumlah koloni semua dicatat untuk setiap cawan.
- b. Cawan yang berisi lebih dari 250 koloni dicatat sebagai TBUD (terlalu banyak untuk dihitung). Jika tidak ada koloni yang tumbuh maka ditulis kurang dari 1 kali pengenceran terendah.
- c. Rumus perhitungan yang digunakan adalah:

$$N = \frac{\sum C}{[(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2)] \times d}$$

Keterangan:

- N = Jumlah koloni  
 $\sum C$  = Jumlah seluruh koloni yang dihitung  
 $n_1$  = Jumlah cawan pada pengenceran 1  
 $n_2$  = Jumlah cawan pada pengenceran 2  
d = Tingkat pengenceran

### 3.5.2 Nilai Indeks Prebiotik (IP) (Manderson, *et al.*, 2005; Roberfroid, 2007; Nurhayati, *et al.*, 2015)

Indeks prebiotik dihitung berdasarkan jumlah logaritmik pertumbuhan probiotik dan bakteri patogen terhadap jumlah mikroba total. Persamaan yang digunakan adalah sebagai berikut:

$$IP = \frac{(\log_{10} \text{probiotik})_{t_x - t_0} - (\log_{10} \text{bakteri patogen})_{t_x - t_0}}{(\log_{10} \text{total mikroba})_{t_x - t_0}}$$

Keterangan:

- $t_x$  = waktu ke-7 dan 14 hari masa perlakuan  
 $t_0$  = waktu ke-0 hari masa perlakuan

### 3.5.3 VFA (*Volatile Fatty Acid*) (Abdurachman dan Askar, 2000; Nurhayati, *et al.*, 2015)

VFA merupakan salah satu hasil fermentasi di dalam pencernaan. Jumlah atau nilai VFA menunjukkan tingkat kemudahan pencernaan pangan oleh mikroflora usus. Disinyalir VFA termasuk salah satu bagian yang berperan dalam mencegah



kanker usus. Pengujian VFA menggunakan alat ukur Gas Chromatography 8A (Abadi, 2007).

Cairan feses tikus konsentrasi 10% sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung eppendorf dan ditambahkan 0,003 gram asam sulfo 5-salsilat dihidrat. Selanjutnya dilakukan sentrifus 12.000 rpm suhu 7 °C selama 10 menit untuk memisahkan supernatan dari cairan feses. Supernatan yang didapat diinjeksikan ke kromatografi gas dan dihitung kadar VFAny yang meliputi asam asetat, asam propionat, asam butirat, dan asam valerat berdasarkan luas *peak* sampel terhadap luas *peak* standar.

### 3.6 Analisis Data

Data diolah dan ditampilkan secara deskriptif dalam bentuk tabel atau grafik. Jumlah populasi mikroba akan ditransformasikan ke dalam bentuk logaritma ( $\log_{10}$  CFU/mL) untuk mempermudah pembacaan data.

## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat diambil tiga kesimpulan yaitu:

1. *cookies bar* berbahan dasar pisang agung dan ubi jalar ungu dapat meningkatkan probiotik sebesar 1,79% dan menurunkan bakteri patogen sebesar 13,47%. Peningkatan probiotik dengan asupan *cookies bar* berbasis pisang agung, ubi jalar putih, dan kacang tunggak sebesar 5,41% dengan persentase penghambatan bakteri patogen 7,96%. *Cookies bar* dengan bahan baku pisang raja dan kacang hijau memiliki persentase peningkatan probiotik sebesar 2,31% dan penghambatan bakteri patogen sebesar 12,01%;
2. nilai IP (Indeks Prebiotik) *cookies bar* yaitu 4,65 pada *cookies bar* berbahan dasar pisang agung dan ubi jalar ungu, 1,03 pada *cookies bar* berbahan dasar pisang agung, ubi jalar putih, dan kacang tunggak, serta 1,80 pada *cookies bar* berbahan dasar pisang raja dan kacang hijau; dan
3. konsumsi *cookies bar* oleh tikus Wistar jantan dapat meningkatkan konsentrasi VFA feses khususnya asam asetat yaitu sebesar 11,67 mM pada tikus dengan asupan *cookies bar* berbahan dasar pisang agung dan ubi jalar ungu, 6,03 mM pada tikus dengan pakan *cookies bar* berbahan baku pisang agung, ubi jalar putih, dan kacang tunggak, serta 0,76 mM pada tikus yang diberi *cookies bar* dari pisang raja dan kacang hijau.

### 5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian uji plasebo sifat-sifat prebiotik *cookies bar* pada relawan manusia untuk mengetahui pengaruh pemberian *cookies bar* terhadap mikroflora pada sistem pencernaan manusia. Disamping itu perlu dilakukan evaluasi nilai gizi secara *in vivo* pada tikus dan manusia. Jenis *cookies bar* yang direkomendasikan untuk produksi skala besar adalah *cookies bar* berbahan pisang agung dan ubi jalar ungu berdasarkan tingginya nilai IP.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Abadi, I. 2007. "Produksi VFA (Volatile Fatty Acid) dan Konsentrasi NH<sub>3</sub> Jerami Padi secara In Vitro dengan Pemberian Isolat Mikroba Lignolitik pada Waktu Fermentasi yang Berbeda". *Skripsi*. (<http://www.eprints.umm.ac.id>) [23 Maret 2016].
- Abdurachman dan S. Askar. 2000. Studi Banding Analisis VFA Total dengan Metode Destilasi dan Kromatografi Gas. Tema Teknis Fungsional non Penelitian. *Laporan Balai Penelitian Ternak*. Bogor: Balai Penelitian dan Pengembangan Pertanian Departemen Pertanian Republik Indonesia.
- Adiwarna, P.D.W., M. Bahar, dan A. Ridwan. 2015. *Lasagna Pisang Agung, Inovasi Kesegaran Pisang Agung Lumajang*. Surabaya: Institut Teknologi Sepuluh Nopember.
- Agbenorhevi, J.K., I. Oduro, W.O.A. Ellis, V.D. Abodapki, dan S.E. Eleblu. 2007. Effect of Soaking, Autoclaving, and Repeated Boiling on Oligosaccharides in Cowpea. *Nigerian Food Journal* Vol. 25, No. 2. Ghana: University of Science and Technology.
- Almatsier, S. 2009. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Arora, S.P. 1995. *Pencernaan Mikroba pada Ruminansia*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Askar, S. dan Abdurachman. 2002. Pengaruh Penambahan Zink Methionia ke dalam Simulasi Rumen secara In Vitro terhadap Produksi Asam Lemak Atsiri. *Buletin Teknik Pertanian* Vol 7 Nomor 2, 2002. Bogor: Balai Penelitian Ternak.
- Brownawell dan M. Amy. 2012. Prebiotics and the Health Benefits of Fiber: Current Regulatory Status, Future Research, and Goals. *Journal of Nutrition*. 142:962-974
- Buckle, K.A. 1987. *Ilmu Pangan*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Candra. 2013. "Nilai pH, N-amoniak, dan VFA Sistem Rumen In Vitro Campuran Jerami Padi dan Daun Murbei (*Morus alba*) yang Ditambahkan Urea Mineral Molases Liquid (UMML)". *Skripsi*. Makassar: Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin.

- Deraz, S.F., dan A.A. Khalil. 2008. Strategies to Improve Protein Quality and Reduce Antinutritional Factors in Mung Bean. *Food Global Science Books*. Egypt: Mubarak City for Science and Technology.
- Eamonn, M.Q. dan Q. Rodigro. 2006. Small Intestinal Bacterial Overgrowth: Roles of Antibiotics, Prebiotics, Probiotics. *Gastroenterology journal*: 130, 78-90.
- Fernandes, F., M. Hinton, dan B.V. Gils. 2002. Dietary Mannanligosaccharides and Their Effect on Chicken Caecal Microflora in Relation to *Salmonella enteriditis* Colonization. *Alvian Pathol*. 31: 49-58.
- Gil. 2012. *Kolak Kacang Hijau*. (<http://www.vemale.com/kuliner/resep-makanan/16127-kolak-kacang-hijau.html>). [17 Juni 2016].
- Gandaningarum, L. 2016. "Karakterisasi Cookies Bar Berbasis Pisang Raja (*Musa paradisiaca* L) Masak dan Tepung Kacang Hijau (*Phaseolus radiatus* L)". *Skripsi*. Jember: Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
- Indriani, N., T.R. Sutardi, dan Suparwi. 2013. Fermentasi Limbah Soun dengan Menggunakan *Aspergillus niger* Ditinjau dari Kadar Volatile Fatty Acid (VFA) Total dan Amonia (NH<sub>3</sub>) secara In Vitro. *Jurnal Ilmiah Peternakan* 1(3): 804-812. Purwokerto: Fakultas Peternakan Universitas Jenderal Soedirman.
- Infosahabat. 2016. *Jenis-Jenis Pisang yang Cocok untuk Diet*. <http://infosahabat.com/jenis-jenis-pisang-yang-cocok-untuk-diet/>. [17 Juni 2016].
- Jackson, J.G., R.I. Merker, dan R. Blander. 2001. *Bacteriological Analytical Manual (BAM)*. U.S.: Food and Drug Administration Center for Food Safety and Applied Nutrition.
- Jumiarni, D. 2012. "Isolasi dan Identifikasi Bakteri Sedimen Waduk". *Skripsi*. Bengkulu: FKIP Universitas Bengkulu.
- Karlina, R. 2014. Potensi Yogurt Tanpa Lemak dengan Penambahan Tepung Pisang dan Tepung Gembili sebagai Alternatif Menurunkan Kolesterol. *Artikel Penelitian*. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Kaur, N dan A.K. Gupta. 2002. Applications of Inulin and Oligofructose in Health and Nutrition. *Journal of Biosciences*. 27;703-714
- Kurniasari, P.G. 2016. "Formulasi Pembuatan Cookies Bar Berbasis Tepung Ubi Jalar Ungu dan Pisang Agung". *Skripsi*. Jember: Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

- Kurniasih, T. 2011. Mikroba Saluran Pencernaan Ikan dan Manfaat Aplikasinya untuk Akuakultur. *Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur*. Bogor: Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar.
- Kusharto, CM. 2006. Serat Makanan dan Peranannya bagi Kesehatan. *Jurnal Gizi dan Pangan*. 1: 45-54.
- Kusuma, A.A.F. 2010. Escherichia coli. *Makalah*. Bandung: Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran.
- Kuzuryu, M. 2013. *Serba Pisang dari Kota Pisang Lumajang*. (<http://citizen6.liputan6.com/read/718312/serba-pisang-dari-kota-pisang-lumajang>). [17 Juni 2016].
- Lestari, L.A., Soesatyo, M.H.N.E., Irvati, S., dan Harmayani, E. 2013. Characterization of Bestak Sweet Potato (*Ipomoea batatas*) Variety from Indonesian Origin as Prebiotic. *International Food Research Journal* 20(5):2241-2245. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Manning T.S., dan G.R. Gibson. 2004. Prebiotics. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 18 (2) : 287-298.
- Marlis, A. 2008. “Isolasi Oligosakarida Ubi Jalar dan Pengaruh Pengolahan terhadap Potensi Prebiotiknya”. *Thesis*. Bogor: Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Marsono, Y. 2004. Serat Pangan dalam Perspektif Ilmu Gizi. *Pidato Pengukuhan Jabatan Guru Besar*. Yogyakarta: Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada.
- Ma’aruf, Y. 2011. “Penentuan Kadar RBB pada Dye-Inulin secara HPLC melalui Pembentukan Senyawa Dye-Inulin”. *Skripsi*. Padang: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Univesitas Negeri Padang.
- Ma’rifatunisa, S., U.H. Tanuwuria, dan I. Hernaman. 2015. Pengaruh Penggantian Rumput Lapang oleh Limbah Penyulingan Daun Kayu Putih (*Melaleuca cajuputi* PowellP pada Ransum Sapi Potong Terhadap Konsentrasi NH3 dan VFA In Vitro. *Jurnal skripsi*. Bandung: Universitas Padjadjaran.
- Mulyawan, P.H. 2014. “Pengaruh Berbagai Minuman Probiotik terhadap Hambatan Pertumbuhan *Streptococcus mutan* In Vitro”. *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Muwarni, R. 2009. *Aditif Pakan (Aditif Alami Pengganti Antibiotika)*. Semarang: Unnes Press.
- Normasari, R.Y. 2010. “Kajian Penggunaan Tepung MOCAF sebagai Substitusi Terigu yang Difortifikasi dengan Tepung Kacang Hijau dan Prediksi Umur

- Simpan Cookies”. *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret.
- Nurcholis, M. dan E. Zubaidah. 2011. Evaluasi In Vivo Efek Sinbiotik Bekatul Terfermentasi Bakteri Asam Laktat Probiotik (*Lactobacillus plantarum* B2 dan *Lactobacillus casei*). *Jurnal Teknologi Pertanian* Vol. 12 No. 1 Hal. 58-67. Malang: Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya.
- Nurhayati, N., Tamtarini, Jayus, E. Ruriani, dan L.N. Hidayati. 2014. Prebiotic Properties of Ripe Banana Chip (RBC) *Musa sinensis* Prepared by Freezing and Vacuum Frying. *Prosiding Seminar Nasional Nutrition and Halal Food*. Solo: Universitas Negeri Surakarta.
- Nurhayati, N., Maryanto, E. Suswati, dan D.P. Hutagalung. 2014. Prebiotic Properties of Pectic Polysaccharides Extracted from Plantain Peels. *Prosiding Seminar Nasional Nutrition and Halal Food*. Solo: Universitas Negeri Surakarta.
- Nurhayati, N., G. Kusuma, dan Maryanto. 2015. Sifat Kimia Selai Buah Naga, Komposisi Mikroflora dan Profil SCFA Feses Relawan. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* Vol. 26(2): 213-221 Th. 2015 ISSN: 1979-7788. Jember: Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
- Orviyanti, G. 2012. “Perbedaan Pengaruh Yoghurt Susu, Jus Kacang Merah dan Yoghurt Kacang Merah terhadap Kadar Kolesterol LDL dan Kolesterol HDL Serum pada Tikus Dislipidemia”. *Skripsi*. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Paramita, S.N. 2016. “Formulasi Cookies Bar Berbahan Baku Tepung Ubi Jalar (*Ipomea batatas*), Kacang Tunggak (*Vigna unguiculata*) dan Pisang Agung”. *Skripsi*. Jember: Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
- Pertanianku. 2015. *Pentingnya Menguasai Cara Bertanam Kacang Tunggak yang Benar*. (<http://www.pertanianku.com/pentingnya-menguasai-cara-bertanam-kacang-tunggak-yang-benar/>). [17 Juni 2016].
- Poeloengan, M., I. Komala, dan S.M. Noor. 2006. Bahaya Salmonella terhadap Kesehatan. *Lokakarya Nasional Penyakit Zoonosis*. Bogor: Balai Penelitian Veteriner.
- Pradipta, I. 2011. “Karakteristik Fisikokimia dan Sensoris Snack Bars Tempe dengan Penambahan Salak Pondoh Kering”. *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret.
- Ratnasari, D. dan Yunianta. 2015. Pengaruh Tepung Kacang Hijau, Tepung Labu Kuning, Margarin terhadap Fisikokimia dan Organoleptik Biskuit. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* Vol. 3 No 4 p.1652-1661.

- Riana, M.H. 2000. *Pengobatan Tradisional dan Khasiat Tanaman untuk Anak-Anak*. Yogyakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Roberfroid, M.B. 2007. Prebiotics: The Concept Revisited. *The Journal of Nutrition*, Vol. 137, No. 3, 2007, 830S-837S.
- Sa'adah, F. 2009. "Pembuatan Cookies Campuran Tepung kacang Tunggak (*Vigna unguiculata* L. Walp.) dan Tepung Beras sebagai Pangan Tambahan Bagi Ibu Hamil". *Skripsi*. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor.
- Septiani, V.E., I. Jus'at, dan H. Wijaya. 2016. Pembuatan Snack Bar Bebas Gluten dari Bahan Baku Tepung Mocaf dan Tepung Beras Pecah Kulit. *Jurnal*. Jakarta: Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Esa Unggul.
- Soeharsono. 2000. *Probiotik*. Bandung: Widya padjajaran.
- Sudarmo, S.M. 2003. *Peranan Probiotik dan Prebiotik dalam Upaya Pencegahan dan Pengobatan Diare pada Anak dalam Kongres Nasional II BKGAI*. Bandung: BKGAI.
- Sugiono dan A. Mahendra. 2004. *Teknologi Pangan Hasil Fermentasi*. Malang: Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya.
- Suyanti dan A. Supriadi. 2008. *Pisang Budi Daya Pengolahan dan Prospek Pasar*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Tjitrosoepomo, G. 2000. *Morfologi Tumbuhan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Toma, M. dan J. Pakrotnieks. 2006. Probiotics and Functional Food: Microbiological and Medical Aspects. *Acta Universitatis Latviensis Vol 710, Biology* 117-129.
- UNDP. 2015. Kajian Ubi Jalar dengan Pendekatan Rantai Nilai dan Iklim Usaha di Kabupaten Jayawijaya. *Laporan Studi*. Jayawijaya: ILO – PCdP2 UNDP.
- Waters, C.M. dan B.L. Bassler. 2005. Quorum Sensing: Cell to Cell Communication in Bacteria. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 2005. 21:319–46.
- Widodo, T. 2013. Respon Konsumen terhadap Produk Makanan Instant. *Among Makarti* Vol 6 No. 12, Desember 2013. Salatiga: STIE AMA.
- Winarti, S. 2010. *Makanan Fungsional*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Zdunczyk, Z. 2004. Physiological Effect of Low Digestible Oligosaccharides in Diets for Animals and Humans. *Polish Journal of Food and Nutrition*

*Sciences* Vol. 13/54, SI 1, pp. 115-130. Poland: Institute of Animal Reproduction and Food Research of the Polish Academy of Sciences.

Zheng, Y., Q. Wang, B. Li, L. Lin, R. Tundis, M.R. Loizzo, B. Zheng, dan J. Xiao. 2016. Characterization and Prebiotic Effect of the Resistant Starch from Purple Sweet Potato. *Molecules* 21, 932. China: Fujian Agriculture and Forestry University.





**LAMPIRAN**

**Lampiran 1. Jumlah Pakan yang Dikonsumsi Tikus Wistar Jantan**

Perlakuan	Rata-rata konsumsi pakan (gram/hari)			
	M0	M1	M2	M3
TK	12,86	12,01	13,84	13,54
TCB1	12,36	11,50	13,50	11,71
TCB2	11,49	13,76	13,87	10,57
TCB3	12,47	17,81	15,47	13,99

Keterangan:

M0 : masa adaptasi

M1 : masa perlakuan minggu ke-1

M2 : masa perlakuan minggu ke-2

M3 : masa netralisasi

**Lampiran 2. Hasil Evaluasi Profil dan Populasi Feses Tikus Wistar Jantan**

Perlakuan	Jenis Mikroba	Populasi Mikroba (log 10 CFU/mL)			
		M0	M1	M2	M3
TK	Total mikroba	7,60	6,60	6,31	6,70
	Probiotik	7,12	7,34	7,15	6,69
	Patogen	5,05	3,48	4,14	4,78
TCB1	Total mikroba	6,56	6,45	5,93	7,59
	Probiotik	7,08	5,56	5,66	6,75
	Patogen	4,92	4,30	4,26	5,78
TCB2	Total mikroba	7,36	7,01	7,00	6,50
	Probiotik	7,20	6,21	6,55	6,48
	Patogen	5,89	5,45	5,42	5,68
TCB3	Total mikroba	7,89	7,39	6,88	8,02
	Probiotik	8,40	6,48	6,63	7,09
	Patogen	6,91	6,33	6,08	6,01

Keterangan:

M0 : masa adaptasi

M1 : masa perlakuan minggu ke-1

M2 : masa perlakuan minggu ke-2

M3 : masa netralisasi

Lampiran 3. Perhitungan Nilai Indeks Prebiotik

Perlakuan	Jenis Mikroba	Populasi (log CFU/mL)				log tx-t0		IP		Rata-rata	SD
		M0	M1	M2	M3	1	2	1	2		
K	Total mikroba	7,60	6,60	6,31	6,70	-1,00	-1,29				
	Probiotik	7,12	7,34	7,15	6,69	0,22	0,03	-1,78	-0,72	-1,25	0,75
	Patogen	5,05	3,48	4,14	4,78	-1,57	-0,91				
CB1	Total mikroba	6,56	6,45	5,93	7,59	-0,11	-0,63				
	Probiotik	7,08	5,56	5,66	6,75	-1,52	-1,42	8,11	1,20	4,65	4,88
	Patogen	4,92	4,30	4,26	5,78	-0,62	-0,66				
CB2	Total mikroba	7,36	7,01	7,00	6,50	-0,35	-0,36				
	Probiotik	7,20	6,21	6,55	6,48	-0,98	-0,65	1,56	0,50	1,03	0,75
	Patogen	5,89	5,45	5,42	5,68	-0,44	-0,47				
CB3	Total mikroba	7,89	7,39	6,88	8,02	-0,50	-1,01				
	Probiotik	8,40	6,48	6,63	7,09	-1,92	-1,77	2,67	0,93	1,80	1,23
	Patogen	6,91	6,33	6,08	6,01	-0,58	-0,83				

Lampiran 4. *Etical Clearance*

**KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
KOMISI ETIK PENELITIAN**

Jl. Kalimantan 37 Kampus Bumi Tegal Boto Telp/Fax (0331) 337877 Jember  
68121 – Email : [fk\\_unej@telkom.net](mailto:fk_unej@telkom.net)

---

**KETERANGAN PERSETUJUAN ETIK**  
*ETHICAL APPROVAL*  
Nomor : 942 /H25.1.11/KE/2016

Komisi Etik, Fakultas Kedokteran Universitas Jember dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul :

*The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Jember University, With regards of the protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the proposal entitled :*

**EVALUASI SIFAT-SIFAT PREBIOTIK PRODUK SEGAR DAN OLAHAN GENERASI II (BERBASIS UMBI, KACANG-KACANGAN DAN PISANG UNTUK PANGAN DARURAT)**

Nama Peneliti Utama : Dr. Nurhayati, S.TP, M.Si.  
*Name of the principal investigator*

NIDN : 0010047903

Nama Institusi : Universitas Jember  
*Name of institution*

Dan telah menyetujui protokol tersebut diatas.  
*And approved the above mentioned proposal.*

Jember, 23 September 2016

  
Nurhayati, Sp.PK

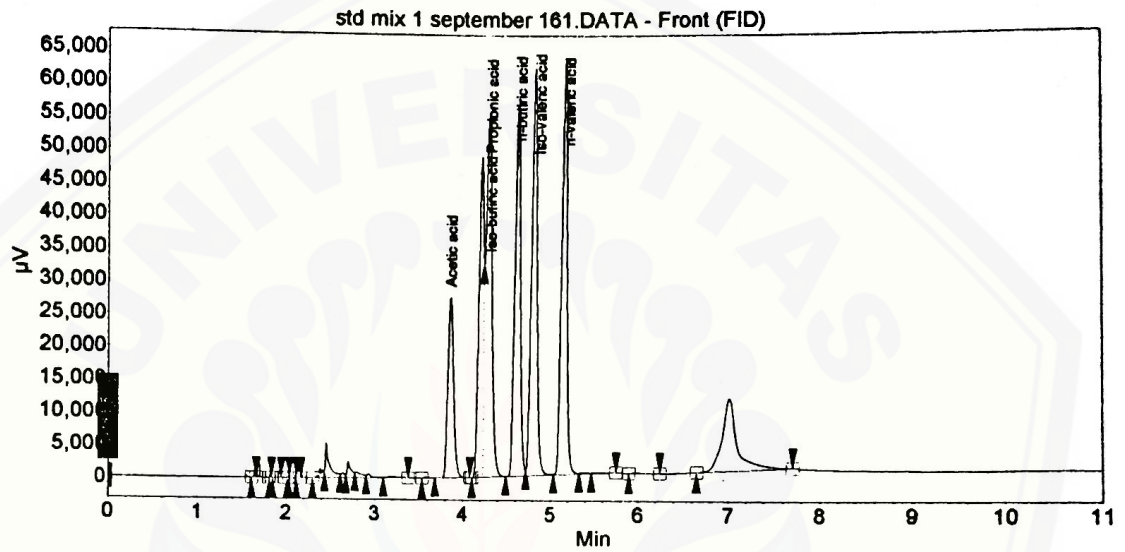
Lampiran 5. Hasil Uji VFA

-Standar

Chromatogram : std mix 1 september  
161\_channel1

System : System\_1  
Method : liquid Methode AC  
User : User1

Acquired : 9/1/2016 11:18:08 AM  
Processed : 9/1/2016 1:17:30 PM  
Printed : 9/1/2016 1:31:50 PM



Peak results :

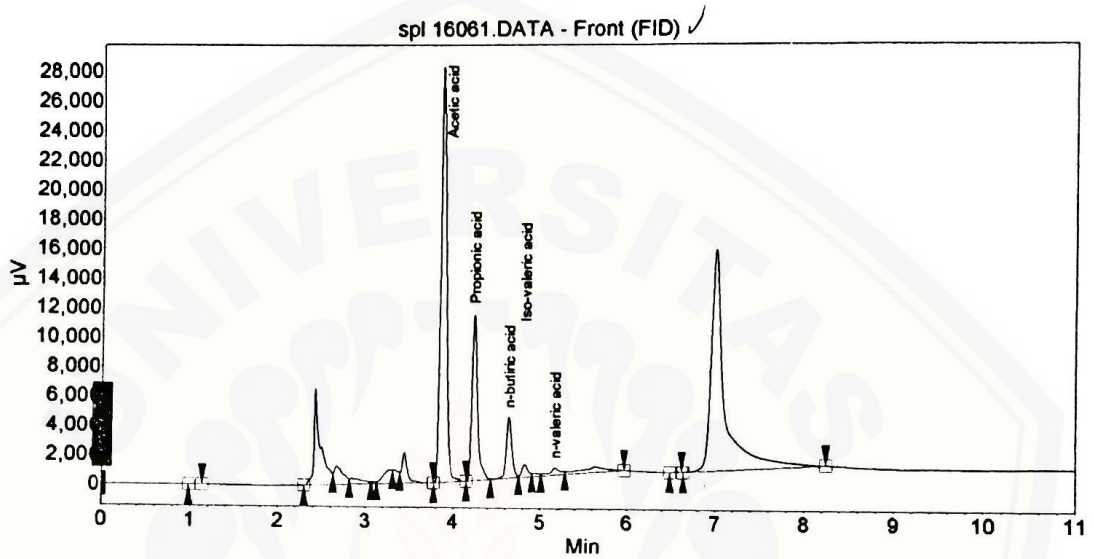
Index	Name	Time [Min]	Quantity [mMol]	Height [µV]	Area [µV.Min]	Area %
15	Acetic acid	3.85	16.67	27820.9	2082.3	8.029
16	Propionic acid	4.19	13.51	49117.5	3000.2	11.567
17	Iso-butyric acid	4.28	11.36	55439.5	4854.0	17.944
18	n-butyric acid	4.61	11.36	56824.2	4155.3	16.021
19	Iso-valeric acid	4.79	9.80	62110.9	4568.5	17.614
20	n-valeric acid	5.14	9.80	63652.9	4542.9	17.516
Total			72.50	340736.9	25936.2	100.000

-TK M0

Chromatogram : spl 16061\_channel1

System : System\_1  
 Method : liquid Methode AC  
 User : User1

Acquired : 9/1/2016 3:34:38 PM  
 Processed : 9/1/2016 4:07:00 PM  
 Printed : 9/1/2016 4:07:24 PM



Peak results :

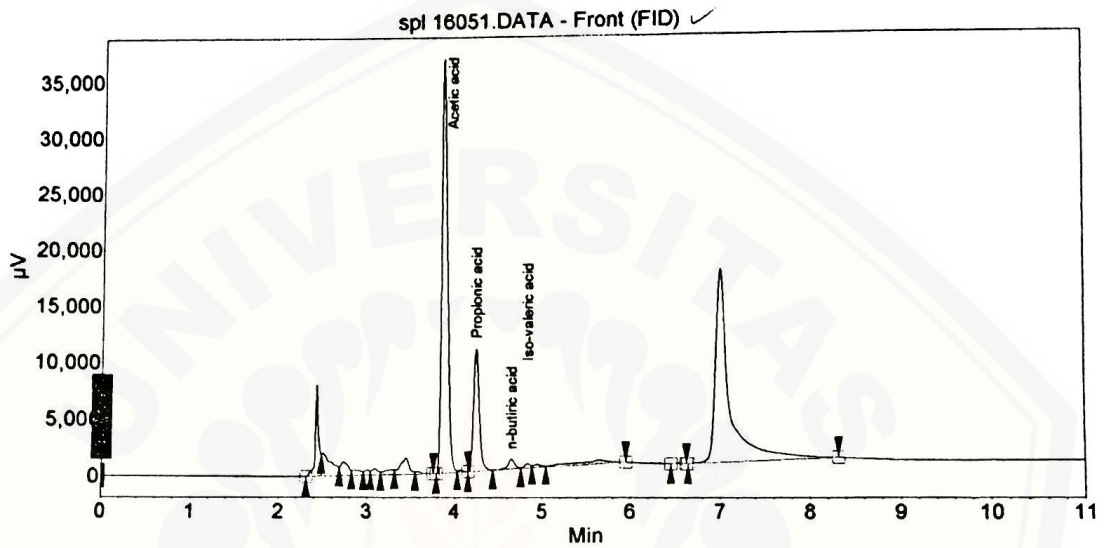
Index	Name	Time [Min]	Quantity [mMol]	Height [µV]	Area [µV.Min]	Area % [%]
9	Acetic acid	3.87	16.91	28062.5	2112.6	28.347
10	Propionic acid	4.24	3.75	11295.3	833.1	11.178
11	n-butiric acid	4.64	0.83	4166.7	304.7	4.088
12	Iso-valeric acid	4.83	0.15	870.5	69.3	0.930
14	n-valeric acid	5.17	0.14	510.4	67.0	0.899
Total			21.79	72940.4	7452.9	100.000

-TK M2

Chromatogram : spl 16051\_channel1

System : System\_1  
 Method : liquid Methode AC  
 User : User1

Acquired : 9/1/2016 3:19:59 PM  
 Processed : 9/1/2016 4:06:09 PM  
 Printed : 9/1/2016 4:06:21 PM



Peak results :

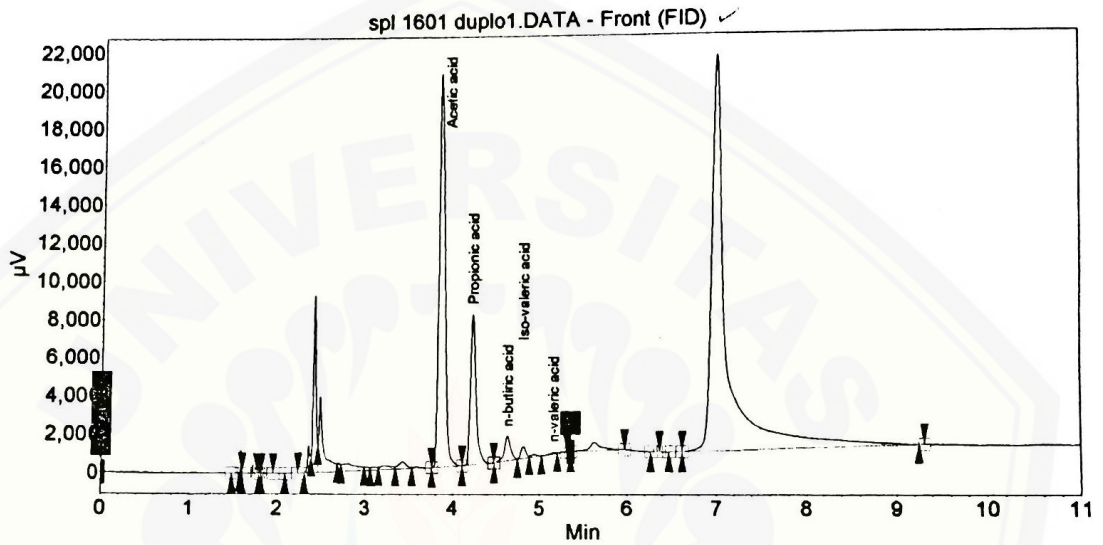
Index	Name	Time [Min]	Quantity [mMol]	Height [µV]	Area [µV.Min]	Area-% [%]	
10	Acetic acid	3.87	21.69	36710.3	2709.8	33.035	
12	Propionic acid	4.24	3.68	10929.0	818.2	9.975	
13	n-butiric acid	4.65	0.25	891.6	89.7	1.094	
14	Iso-valeric acid	4.83	0.07	416.8	32.8	0.400	
Total				25.69	82016.2	8202.8	100.000

-TCB1 M0

Chromatogram : spl 1601 duplo1\_channel1

System : System\_1  
 Method : liquid Methode AC  
 User : User1

Acquired : 9/1/2016 2:50:46 PM  
 Processed : 9/1/2016 3:06:48 PM  
 Printed : 9/1/2016 3:07:00 PM



Peak results :

Index	Name	Time [Min]	Quantity [mMol]	Height [µV]	Area [µV.Min]	Area % [%]
17	Acetic acid	3.86	12.87	20562.2	1607.5	21.585
18	Propionic acid	4.23	2.63	7900.8	584.4	7.847
19	n-butiric acid	4.63	0.30	1306.8	110.9	1.489
20	iso-valeric acid	4.82	0.09	626.9	43.0	0.577
22	n-valeric acid	5.16	0.02	84.9	8.1	0.109
Total			15.91	70321.8	7447.1	100.000

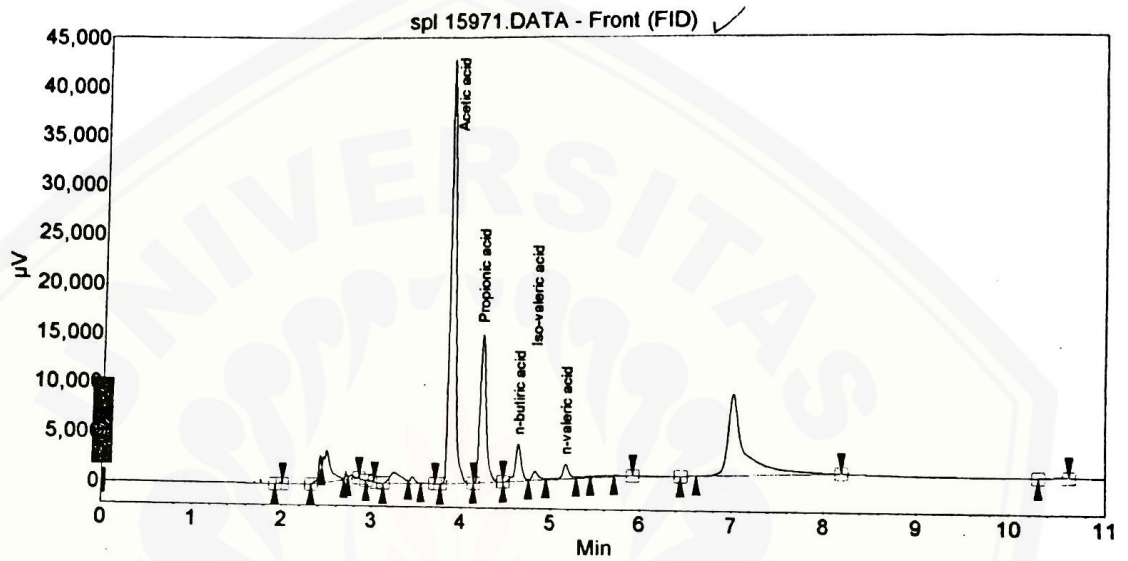


-TCB1 M2

Chromatogram : spl 15971\_channel1

System : System\_1  
Method : liquid Methode AC  
User : User1

Acquired : 9/1/2016 11:50:05 AM  
Processed : 9/1/2016 1:17:58 PM  
Printed : 9/1/2016 1:18:15 PM



Peak results :

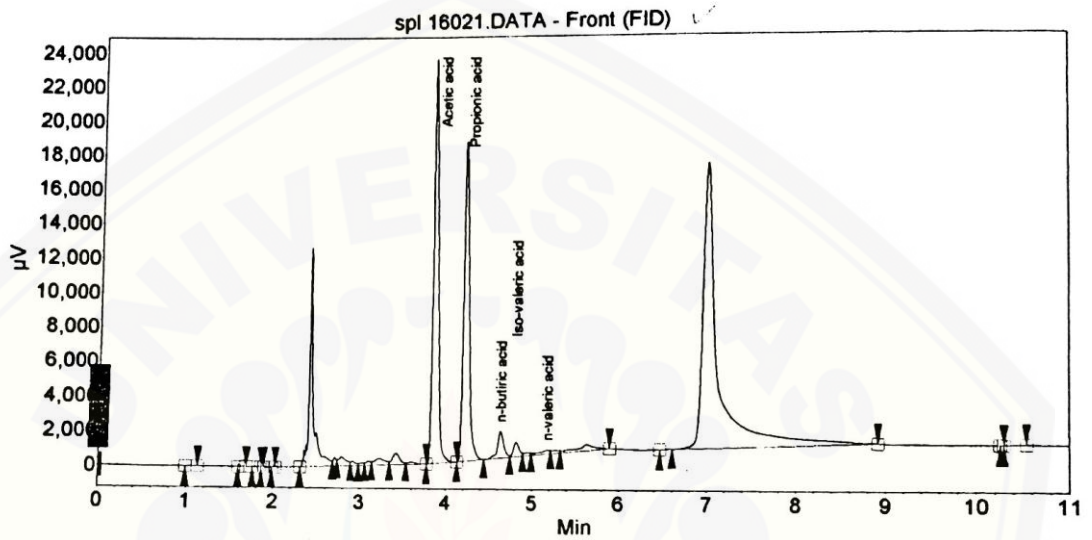
Index	Name	Time [Min]	Quantity [mMol]	Height [µV]	Area [µV.Min]	Area % [%]
10	Acetic acid	3.87	24.54	42759.8	3065.9	41.873
11	Propionic acid	4.23	5.24	15003.8	1163.2	15.886
12	n-butiric acid	4.64	0.79	3749.4	289.9	3.959
13	Iso-valeric acid	4.83	0.17	909.2	77.6	1.060
14	n-valeric acid	5.17	0.30	1529.2	137.8	1.883
Total			31.04	82383.8	7321.8	100.000

-TCB2 M0

Chromatogram : spl 16021\_channel1

System : System\_1  
 Method : liquid Methode AC  
 User : User1

Acquired : 9/1/2016 1:26:57 PM  
 Processed : 9/1/2016 2:07:28 PM  
 Printed : 9/1/2016 2:07:35 PM



Peak results :

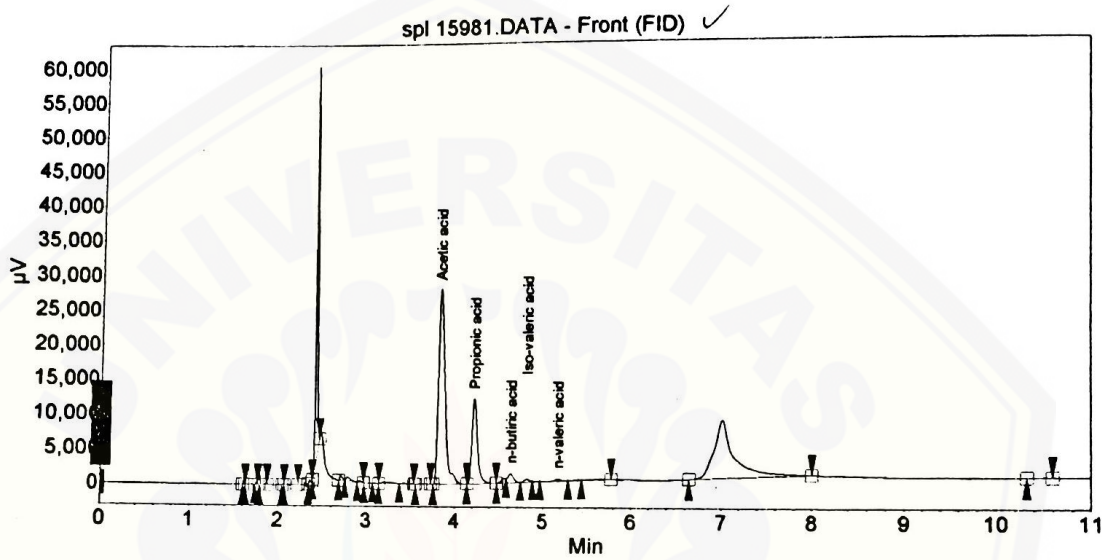
Index	Name	Time [Min]	Quantity [mMol]	Height [µV]	Area [µV Min]	Area %
15	Acetic acid	3.85	13.01	23469.7	1624.6	21.472
16	Propionic acid	4.22	6.13	18537.1	1362.3	18.005
17	n-butiric acid	4.63	0.36	1547.5	130.2	1.720
18	Iso-valeric acid	4.82	0.13	821.0	62.2	0.823
20	n-valeric acid	5.17	0.08	234.7	36.2	0.479
Total				78310.1	7566.0	100.000

-TCB2 M2

Chromatogram : spl 15981\_channel1

System : System\_1  
Method : liquid Methode AC  
User : User1

Acquired : 9/1/2016 12:07:41 PM  
Processed : 9/1/2016 1:18:51 PM  
Printed : 9/1/2016 1:19:04 PM



Peak results :

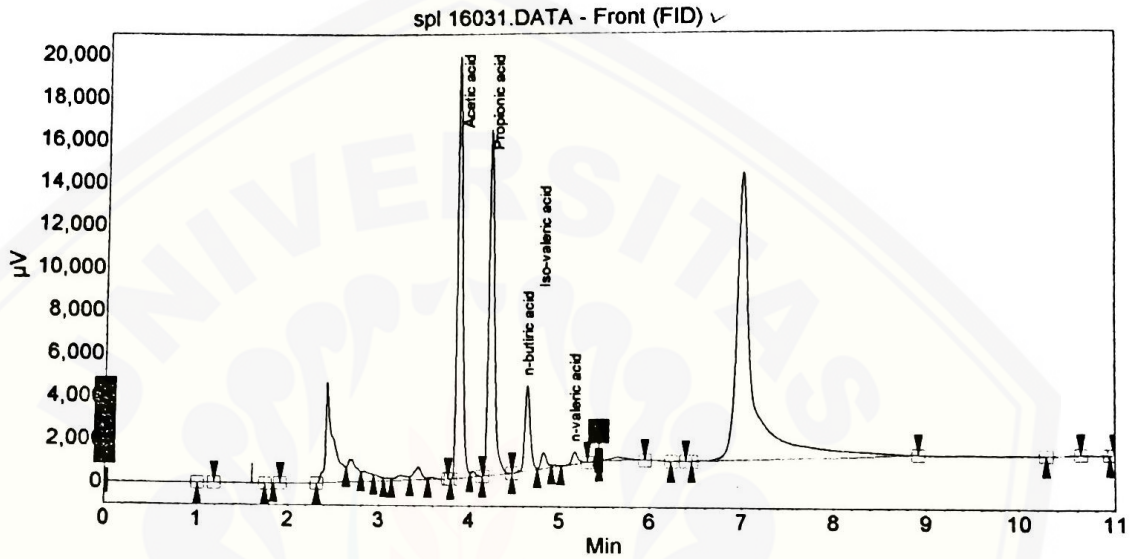
Index	Name	Time [Min]	Quantity [mMol]	Height [µV]	Area [µV.Min]	Area %
17	Acetic acid	3.83	19.04	28276.2	2378.9	33.218
18	Propionic acid	4.22	4.06	12249.4	902.0	12.595
20	n-butyric acid	4.64	0.28	1294.5	100.7	1.406
21	Iso-valeric acid	4.82	0.07	450.1	33.9	0.473
23	n-valeric acid	5.17	0.09	323.8	43.6	0.609
Total			23.55	115640.7	7161.3	100.000

-TCB3 M0

Chromatogram : spl 16031\_channel1

System : System\_1  
 Method : liquid Methode AC  
 User : User1

Acquired : 9/1/2016 2:20:21 PM  
 Processed : 9/1/2016 2:37:46 PM  
 Printed : 9/1/2016 2:38:01 PM



Peak results :

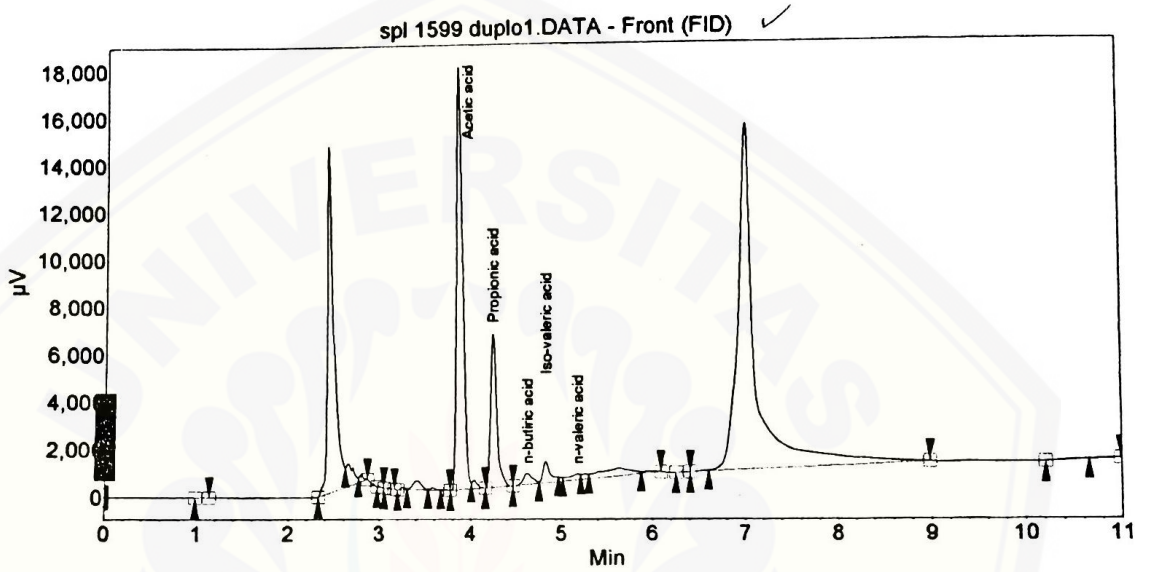
Index	Name	Time (Min)	Quantity (mMol)	Height (µV)	Area (µV.Min)	Area %
12	Acetic acid	3.88	10.24	19720.0	1279.0	19.679
14	Propionic acid	4.23	5.21	16187.4	1156.7	17.797
15	n-butiric acid	4.64	0.77	4030.4	261.9	4.338
16	Iso-valeric acid	4.83	0.12	773.6	56.8	0.874
18	n-valeric acid	5.17	0.10	590.1	45.9	0.707
Total			16.44	63047.3	6499.4	100.000

-TCB3 M2

Chromatogram : spl 1599 duplo1\_channel1

System : System\_1  
 Method : liquid Methode AC  
 User : User1




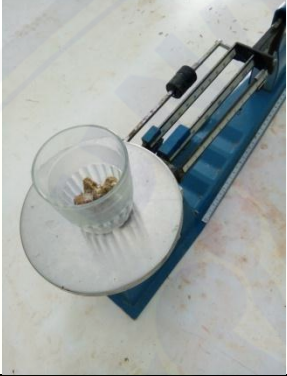





Acquired : 9/1/2016 1:44:46 PM  
 Processed : 9/1/2016 2:08:54 PM  
 Printed : 9/1/2016 2:09:07 PM

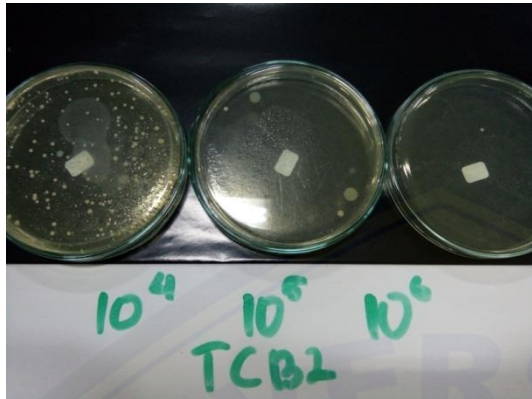


Peak results :

Index	Name	Time [Min]	Quantity [mMol]	Height [µV]	Area [µV.Min]	Area % [%]
11	Acetic acid	3.87	11.00	17774.0	1374.6	19.814
13	Propionic acid	4.25	2.29	6489.0	508.9	7.335
14	n-butiric acid	4.63	0.16	477.1	57.9	0.834
15	Iso-valeric acid	4.83	0.19	912.7	86.5	1.247
17	n-valeric acid	5.18	0.08	258.5	38.0	0.547
Total			13.72	58454.6	6937.7	100.000

Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian

		
Pembuatan <i>cookies bar</i>	Kandang metabolit	Pemberian air minum
		
Penimbangan pakan	Pembersihan tempat urin dan feses tikus	Sampel feses tikus
		
Pembuatan media	Sterilisasi media	Pengenceran sampel



Pengamatan populasi dan profil mikroba



Perhitungan mikroba