

MONOGRAF



UMBI DAHLIA SEBAGAI SUMBER INULIN, INULINASE, DAN ANTI DIABETES

PENULIS:

SUNARTI, S.KEP., NS., M.BIOMED

**UMBI DAHLIA SEBAGAI SUMBER INULIN, INULINASE DAN ANTI
DIABETES**

Penulis

Sunarti, S.Kep., Ns., M.Biomed

Editor

Prof. Chrismis Novalinda Ginting, M.Kes

ISBN

978-623-7911-50-0

Desain Cover

Dr. dr. Sahna Ferdinand, Sp.PK

Penerbit

Unpri Press

ANGGOTA IKAPI

Redaksi

Jl. Belanga No. 1. Simp. Ayahanda, Medan

Cetakan Pertama

Hak Cipta di Lindungi Undang-undang

Dilarang memperbanyak karya tulis ini dalam bentuk dan dengan cara apapun

Tanpa ijin dari penerbit

KATA PENGANTAR

Tanaman dahlia merupakan jenis tanaman hias yang memiliki bunga yang indah. Tanaman dahlia banyak ditumbuh di daerah dataran tinggi Indonesia dan selama ini hanya di jadikan bunga potong. Tanaman dahlia memiliki umbi yang kaya akan inulin. Kandungan inulin dari umbi dahlia mencapai 65% lebih tinggi dari tanaman lainnya seperti umbi bawang merah, chirory, umbi jarussalem artichoke, dan daun dandelion. Inulin merupakan serat makan alami yang memiliki banyak manfaatnya seperti salah satunya sebagai anti diabetes, selain itu sebagai bahan dasar makanan dalam dunia industri.

Umbi dahlia masih dianggap oleh masyarakat sebagai limbah pertanian yang tidak dimanfaatkan. Oleh karena itu pemanfaatan umbi dahlia sebagai sumber inulin terus di galakkan, apalagi umbi dahlia dapat menghasilkan inulinase yang dapat merubah inulin menjadi fruktosa dan fruktooligosakarida yang sangat bermanfaat terhadap kesehatan. Fruktosa yang dihasilkan merupakan gula rendah kalori yang dapat dimanfaatkan oleh penderita diabetes sebagai pengganti gula alami yang aman.

Isolasi kapang endofit dari umbi dahlia sebagai penghasil inulinase merupakan target utama untuk mendapatkan enzim inulinase berskala besar dan sebagai varian baru sumber inulinase dari isolasi umbi dahlia tersebut yang dapat dikembangkan dan diperkenalkan oleh dunia industri untuk menghasilkan fruktosa dari inulin umbi dahlia secara enzimatik. Sehingga isolasi kapang endofit dari umbi dahlia ini perlu untuk diteliti sehingga di dapatkan varian baru enzim inulinase yang sangat bermanfaat untuk dunia industri, kesehatan dan farmasi.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penulisan monograf ini. Oleh karenanya kritik, saran dan masukan untuk penyempurnaan monograf ini sangat penulis harapkan. Penulis juga mengucapkan terima kasih yang setinggi-tingginya kepada semua yang memberi dukungan, motivasi, dorongan dan semangat untuk dapat Terbitnya monograf ini. Semoga Tuhan Yang Maha Esa memberikan kebaikan dikemudian hari. Akhir kata saya ucapkan terimakasih.

Medan, Desember 2021
Penulis

Sunarti, S.Kep., Ns., M.Biomed

DAFTAR ISI

| | |
|---|-----|
| DAFTAR ISI | i |
| DAFTAR TABEL | ii |
| DAFTAR GAMBAR | iii |
| BAB I Dahlia | 1 |
| BAB II Umbi Dahlia Sebagai Sumber Inulin | 6 |
| BAB III Enzim Inulinase | 14 |
| BAB IV Inulin Sebagai Anti Diabetes | 18 |
| BAB V Isolasi Dan Identifikasi Molekuler Kapang Endofit Umbi Dahlia Merah Sebagai Sumber Inulinase | 30 |
| 5.1. Pendahuluan | 30 |
| 5.1.1. Perumusan Masalah | 32 |
| 5.1.2. Tujuan Penelitian | 33 |
| 5.1.3. Manfaat Penelitian | 33 |
| 5.1.4. Hipotesis Penelitian | 34 |
| 5.2. Metode Penelitian..... | 34 |
| 5.2.1. Jenis Penelitian..... | 34 |
| 5.2.2. Tempat dan Waktu Penelitian | 34 |
| 5.2.3. Alat Dan Bahan Penelitian | 34 |
| 5.2.4. Prosedur penelitian..... | 35 |
| 5.2.5. Kerangka Operasional..... | 45 |
| 5.2.6. Analisa Data | 45 |
| 5.3. Hasil Penelitian | 45 |
| 5.3.1. Kadar Inulin Ubi Dahlia Merah | 45 |
| 5.3.2. Analisis Proksimat Bahan | 46 |
| 5.3.3. Hasil Identifikasi kapang | 46 |
| 5.3.4. Hasil Skrining Aktifitas Inulinase..... | 47 |
| 5.3.5. Hasil Pengukuran Enzim Inulinase | 48 |
| 5.3.6. Identifikasi Molekular Kapang Endofit Umbi Dahlia Merah | 48 |
| 5.3.7. Pembahasan..... | 50 |
| 5.4. Kesimpulan dan Saran..... | 54 |
| 5.4.1. Kesimpulan | 54 |
| 5.4.2. Saran..... | 54 |
| 5.5. Rencana Tahapan Berikutnya | 54 |
| DAFTAR PUSTAKA | 55 |

DAFTAR TABEL

| No | Judul Tabel | Halaman |
|-----|--|---------|
| 2.1 | Kandungan inulin dari berbagai tanaman..... | 11 |
| 3.1 | Tanaman penghasil inulinase | 16 |
| 4.1 | Diagnosa diabetes mellitus | 18 |
| 4.2 | Klasifikasi dan etiologi diabetes mellitus..... | 18 |
| 5.1 | Nilai rendemen tepung inulin | 45 |
| 5.2 | Analisis proksimat bahan | 46 |
| 5.3 | Hasil pengamatan morfologi kapang endofit secara makroskopis dan mikroskopis..... | 47 |
| 5.4 | Skrining aktifitas inulinase | 48 |
| 5.5 | Hasil pengukuran aktifitas inulinase..... | 48 |
| 5.6 | Primer yang di gunakan untuk amplifikasi rDNA pada kapang endofit | 49 |
| 5.7 | Nama jamur | 50 |
| 5.8 | Strain jamur | 50 |

DAFTAR GAMBAR

| No | Judul Gambar | Halaman |
|-----|---|---------|
| 1.1 | Bunga dahlia merah | 1 |
| 1.2 | Varietas bunga dahlia | 2 |
| 1.3 | Umbi dahlia | 4 |
| 2.1 | Struktur inulin..... | 7 |
| 2.2 | Pertumbuhan bakteri non pathogen <i>Bifidobacteria</i> di dalam usus besar diinduksi oleh prebiotik inulin dan FOS | 9 |
| 2.3 | Serbuk Inulin | 13 |
| 3.1 | Prokduksi inulinase | 14 |
| 3.2 | Isolasi kapang | 15 |
| 4.1 | Mekanisme resistensi insulin pada diabetes tipe 2 | 21 |
| 5.1 | Kerangka operasional penelitian | 45 |
| 5.2 | Morfologi kapang secara makroskopis dari isolasi kapang endofit umbi dahlia merah | 46 |
| 5.3 | Morfologi kapang secara mikroskopis dari isolasi kapang endofit umbi dahlia merah | 47 |
| 5.4 | Regresi linier | 48 |
| 5.5 | Hasil amplifikasi DNA kapang endofit umbi dahlia merah mengguna kan primer ITS1/ITS4..... | 49 |
| 5.6 | Penjajaran sekuens DNA UD5 diverifikasi dengan penjajaran berpasangan menggunakan program Bioedit..... | 49 |
| 5.7 | Neighbor-joinin tree (NJ) dengan ITS sequence | 50 |

BAB I DAHLIA

Dahlia merupakan kata yang tidak asing lagi jika didengar oleh orang Indonesia. Di Indonesia kata “Dahlia” pasti semua orang tahu bahwa itu adalah jenis bunga. Bunga dahlia ini selain di jadikan bunga potong juga dijadikan sebagai tanaman hias di halaman rumah. Namun tidak banyak orang mengenal dahlia ini dengan manfaat yang lebih baik selain sebagai bunga potong dan tanaman hias. Oleh karena itu buku ini akan memperkenalkan dahlia selain sebagai bunga potong dan tanaman hias juga akan dibahas manfaatnya yang lebih terhadap kesehatan karena kandungan inulin yang terdapat pada umbi dahlia yang dapat dijadikan sebagai sumber karbohidrat dan serat alami untuk kesehatan.

Tanaman dahlia merupakan jenis tanaman hias yang memiliki bunga yang indah, tanaman ini berasal dari Meksiko yang ditemukan oleh seorang dokter berkebangsaan Spanyol, dan nama Dahlia diambil dari nama Profesor Andreas Dahl yaitu seorang ahli Botani yang banyak melakukan penelitian tanaman ini pada akhir abad ke 18. Tanaman ini kemudian menyebar ke Eropa Barat pada tahun 1789. Dahlia dibawa ke Indonesia yaitu di Jawa Barat pada abad ke 19 masa penjajahan Belanda hingga saat ini banyak tersebar di wilayah Indonesia. Tanaman Dahlia dapat di klasifikasikan sebagai berikut:

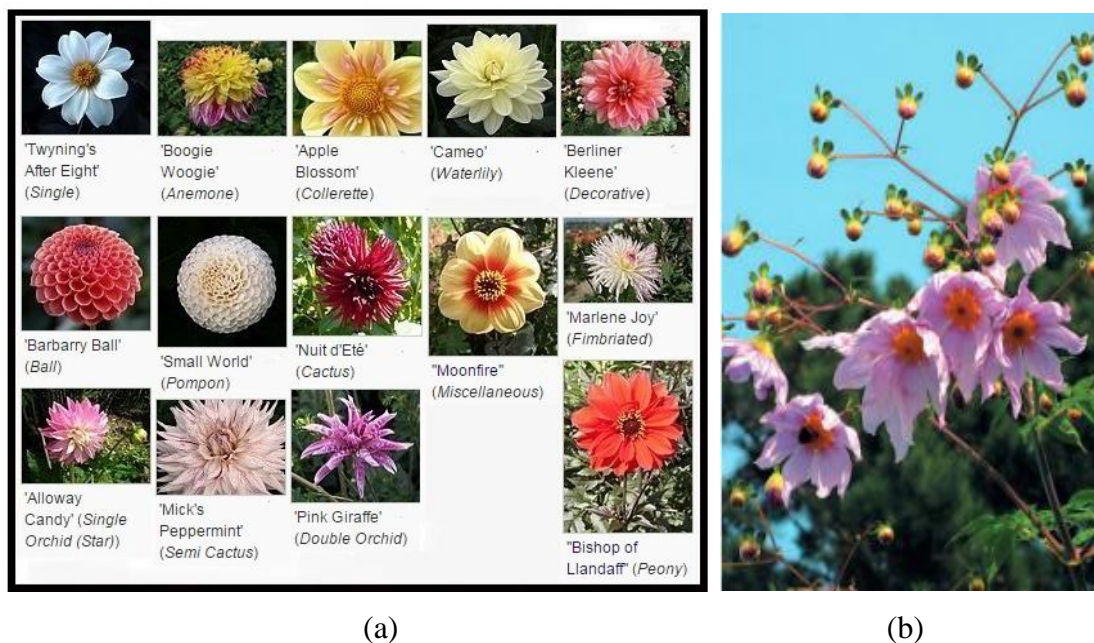
- Divisi : Spermatophyta
- Sub divisi : Angiospermae
- Kelas : Dicotyledonae
- Famili : Compositae
- Genus : Dahlia
- Spesies : *Dahlia sp.* L



Gambar 1.1. a). Gambar bunga Dahlia Merah, b) Gambar umbi Dahlia merah (Herminiati, 2012).

Bunga Dahlia adalah famili dari Asteraceae tanaman perdu dan berumbi yang sifatnya tahunan (perennial). Perbanyakan bunga dahlia dapat dilakukan dengan cara vegetatif dengan stek (Widyastuti, 2018).

Saat ini bunga dahlia memiliki lebih dari 50.000 varietas dengan berbagai warnah, bentuk dan ukuran. Dahlia dikenal sejak zaman Aztec yang digunakan sebagai bunga potong, industri kosmetik, industri makanan, bahan baku untuk pewarna, diet untuk diabetes, obesitas, pengobatan masalah pencernaan, dan pengobatan infeksi kulit lainnya. Varietas dahlia dapat dilihat dari (Gambar 1.2) di bawah ini:



Gambar 1.2. a) Varietas bunga dahlia, b) Dahlia imperialis (Cristina, Țurlea, Bădulescu, Badea, & Toma, 2021).

Dahlia merupakan tanaman setengah keras dan berbonggol, batang tegak dan bercabang, Tanaman tersusun dengan 1-3 daun menyirip dengan tepi bergerigi dan bertumpu berlawanan pada setiap buku pada batang. Tanaman ini menghasilkan bunga pada batang yang panjang dan kaku jauh di atas dedaunan. Dahlia juga di klasifikasikan. Sistem klasifikasi baru dahlia muncul pada tahun 1966, yang diklasifikasikan ke dalam 10 kelompok seperti berbunga tunggal, berbunga anemon, collerette, bunga peony, hias, bola, pompon, kaktus, semi kaktus dan jenis lain-lain. Dalam kelompok, bunga diklasifikasikan lebih lanjut berdasarkan diameter bunga menjadi bunga raksasa (lebih dari 25 cm), berbunga besar (20-25 cm), berbunga sedang (15-20 cm), berbunga kecil (10-15 cm) dan bunga mini (diameter kurang dari 10 cm) (Bhattacharjee, 2019).

Menurut Sorensen (2003) seperti yang dikutip Sikumbang et al. (2009), genus dahlia dibagi menjadi empat seksi yang masing-masing terdiri atas satu atau beberapa spesies. Spesies tersebut adalah:

- a. Pseudodendron (dahlia pohon, tree dahlia) memiliki batang berkayu dengan enam spesies yaitu *D. tenuicaulis*, *D. Excelsa*, *D. tenuicaulis*, *D. imperalis*, *D. Campanulata*, dan *D. culata* (Vine Dahlia)
- b. Epiphytum (dahlia merambat, climber dahlia) dengan satu spesies yaitu *D. Macdougallii*.
- c. Entemophyllon (semak, herbaceous, subshrubs) dengan tujuh spesies yaitu *D. Congestifolia*, *D. Linearis*, *D. Scapigeroides*, *D. Rupicola*, *D. Sublignosa*, *D. Dissecta*, dan *D. Foeniculifolia*.
- d. Dahlia (herbaceous) yang terdiri atas sedikitnya 20 spesies yaitu *D. merckii*, *D. apiculata*, *D. cardiophylla*, *D. sorensenii*, *D. Pteropoda*, *D. Brevis*, *D. Rudis*, *D. Atropurpurea*, *D. Moorei*, *D. Mollis*, *D. Australis*, *D. sherffii*, *D. hjertingii*, *D. Scapigera*, *D. Barkerae*, *D. tubulata*, *D. parvibracteata*, *D. spectabilis*, *D. cuspidata*, dan *D. neglecta*. Spesies dahlia di Indonesia umumnya adalah spesies dari seksi Entemophyllon dan dahlia berbatang herbaceous (Sikumbang & Hindersah, 2009).

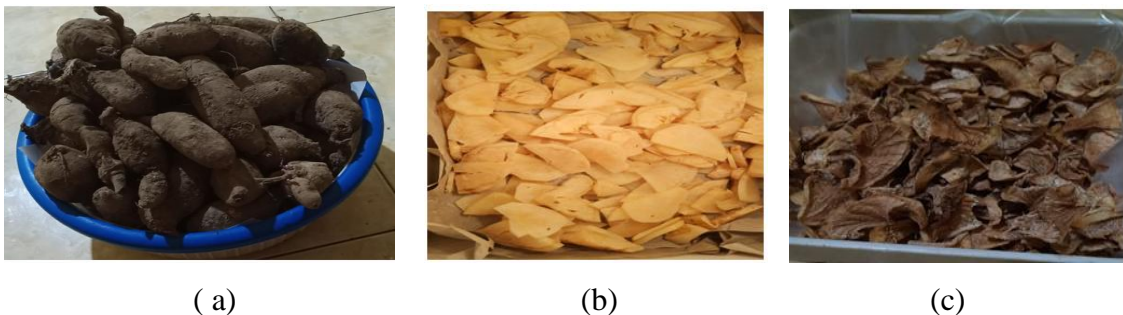
Tanaman dahlia yang dibudidayakan terdiri atas dahlia pohon yang tingginya bisa mencapai beberapa meter dan berupa tanaman perdu (tanaman berkayu namun tetap rendah). Bunga dahlia memiliki warna : putih, kuning, jingga, violet, merah, ungu atau campurannya. Bunga dahlia dapat dijadikan sebagai bunga potong. Bunga dahlia kaktus yang berwarna putih selalu diperdagangkan karena merupakan jenis bunga yang banyak dipakai untuk merangkai bunga dukacita. Jenis dahlia lain yang kaya warna (dahlia besar dan dahlia kecil) dijual di dalam polibag untuk digunakan sebagai tanaman di luar rumah. Spesies dahlia yang ada saat ini adalah *D. pinnata*, *D. variabilis*, *D. coccinea*, *D. juarezii* (Sell, 2001).

Warna bunga dahlia secara eksklusif berdasarkan pada akumulasi flavonoid dan senyawa biokimia lainnya seperti turunan antosianidin, chalcones, flavanones, flavones dan flavonols. Struktur flavonoid dimodifikasi oleh hidroksilasi, glukosilasi dan asilasi lebih lanjut, dan ini menghasilkan spektrum luas senyawa flavonoid ditemukan di dahlia. Berbeda dengan antosianidin dan chalcones, yang merupakan senyawa

berwarna, sedangkan flavanon, flavon dan flavonol tidak berwarna. Namun, flavon dan flavonol secara tidak langsung berkontribusi pada bunga pewarnaan karena berinteraksi dengan antosianin dan sensitif terhadap oksidasi dan serangan hidrolitik. Oleh karena itu, flavon dan flavonol disebut copigments yang tidak hanya mempengaruhi intensitas tetapi juga warna bunga (Agrawal, 2014).

Bunga dahlia dapat mekar sempurna antara 7-10 hari, dibarengi dengan munculnya serbuk sari kemudian bunga akan gugur dan layu. Mahkota bunga dahlia tersusun selang seling simetris, dengan jumlah petal bunga berkisar 41–53 helai. (Gambar 1.1). Hasil penelitian menyebutkan bahwa petal bunga dahlia dapat digunakan sebagai pewarna serat alami dan industri komestik, parfum, sabun mandi, dan pewangi alami (Ciobanu et al., 2016).

Morfologi umbi dahlia adalah sebagai berikut, tanaman dahlia berumbi yang bersifat tahunan, satu rumpun tanaman dahlia akan menghasilkan umbi dengan bentuk dan ukuran yang bervariasi (Gambar 1.3). Umbi dahlia merupakan umbi batang, warna, dan bentuk umbi menyerupai umbi kentang, umbi dahlia kaya akan kandungan karbohidrat, serat, protein, mineral esensial, dan vitamin (Fibrianty, 2020).



Gambar 1.3 a) Umbi dahlia b) Umbi dahlia basah. c) Umbi dahlia kering

Tanaman dahlia banyak ditumbuh di daerah dataran tinggi Indonesia dan selama ini hanya di jadikan bunga potong. Umbi Dahlia dapat di panen pada usia 7 bulan sampai 1,5 tahun. Satu batang pohon dahlia bisa menghasilkan 2 sampai 5 kg umbi. Umbi dahlia berbentuk bulat dan lonjong, kulit umbi berwarna putih kecoklatan dan dagingnya berwarna putih hingga putih kekuningan (Harahap, Ardiani, & Aritonang, 2016).

Budidaya tanaman dahlia saat ini di Indonesia hanya dijadikan bunga potong saja, sementara umbinya hanya diambil sebagai bibit dan sebagian hanya sebagai limbah pertanian. Pemanfaatan umbi dahlia di dunia industri telah di galakkan dengan

mengambil umbi dahlia sebagai sumber inulin. Umbi dahlia kering mengandung inulin sebanyak 65-75% dari total karbohidrat yang ada di dalamnya. Besarnya jumlah inulin di dalam umbi dahlia menjadi potensi yang besar untuk diolah menjadi gula fruktosa dan frukto oligosakarida. Fruktosa adalah bahan pemanis alami yang memiliki kadar kemanisan 2,5 kali lipat dari sukrosa (Widiastuti, 2020).

Kandungan gizi pada umbi dahlia terdiri dari karbohidrat yaitu 76,80-82,80% (bk) berupa serat pangan yang baik, gula reduksi 4,40-6,60% (bk), lemak 0,50-1,00% (bk), dan protein 3,90-5,70% (bk). Komponen utama yang tak kalah pentingnya dari umbi dahlia adalah serat pangan berupa inulin. Umbi dahlia mengandung inulin sebesar 65% lebih tinggi dibandingkan dengan umbi bawang merah, chirory, umbi jarusalem artichoke, dan daun dandelion (Herianto et al., 2018).

Hasil penelitian sebelumnya menemukan bahwa umbi dahlia menghasilkan nilai rendemen 48.20% dengan kadar inulin 80.09%. Pengukuran proksimat bahan menemukan bahwa kadar air 79,90%, kadar Abu 3, 83%, Lemak 1,39%, Serat Kasar 8,06%, Protein 5,92%, dan kadar Karbohidrat 80,80% (Mangunwidjaja, Rahayuningsih, & Suparwati, 2014).

Manfaat yang nyata dari dahlia adalah bunganya yaitu sebagai bunga potong, zat pewarnah, campuran kosmetik, pewangi dll, begitu juga daunnya dapat digunakan sebagai sumber bahan senyawa bioaktif dalam dunia farmasi. Dan tak kalah pentingnya adalah umbi dahlia sebagai sumber pemanis alami seperti fruktosa, juga fruktooligosakarida (Sikumbang & Hindersah, 2009). Pemilihan umbi dahlia sebagai sumber bahan pangan karena selain memiliki kadar inulin yang tinggi juga mengandung karbohidrat dan serat yang dapat digunakan sebagai bahan dasar atau campuran makanan fungsional (Trihaditia & Sundayati, 2020).

Hasil fitokimia menunjukkan bahwa umbi dahlia berbungan merah memiliki kandungan mengandung golongan flavonoid, fenolik, dan saponin. Bunga berwarna merah yang ditanam pada tanah inceptisols (Sukabumi) memiliki kadar inulin tertinggi dari pada bunga dahlia yang berwarna ungu, kuning dan putih (Widiastuti, 2020).

Besarnya manfaat dahlia ini dalam dunia industri, farmasi, dan kesehatan lainnya maka buku ini akan memperkenalkan lebih dekat tentang Dahlia dan manfaatnya, khususnya dalam dunia kesehatan untuk memperbaiki penyakit diabetes mellitus.

BAB II

UMBI DAHLIA SEBAGAI SUMBER INULIN

Indonesia merupakan negara beriklim tropis yang memiliki berbagai macam keanekaragaman hayati yang tertinggi di dunia yang sangat bermanfaat bagi kehidupan manusia. Masyarakat Indonesia juga dikenal dengan agricultural yang beraneka ragam dengan berbagai jenis umbi umbian yang telah dikonsumsi masyarakat Indonesia lebih dari 100 macam dari berbagai varietas.

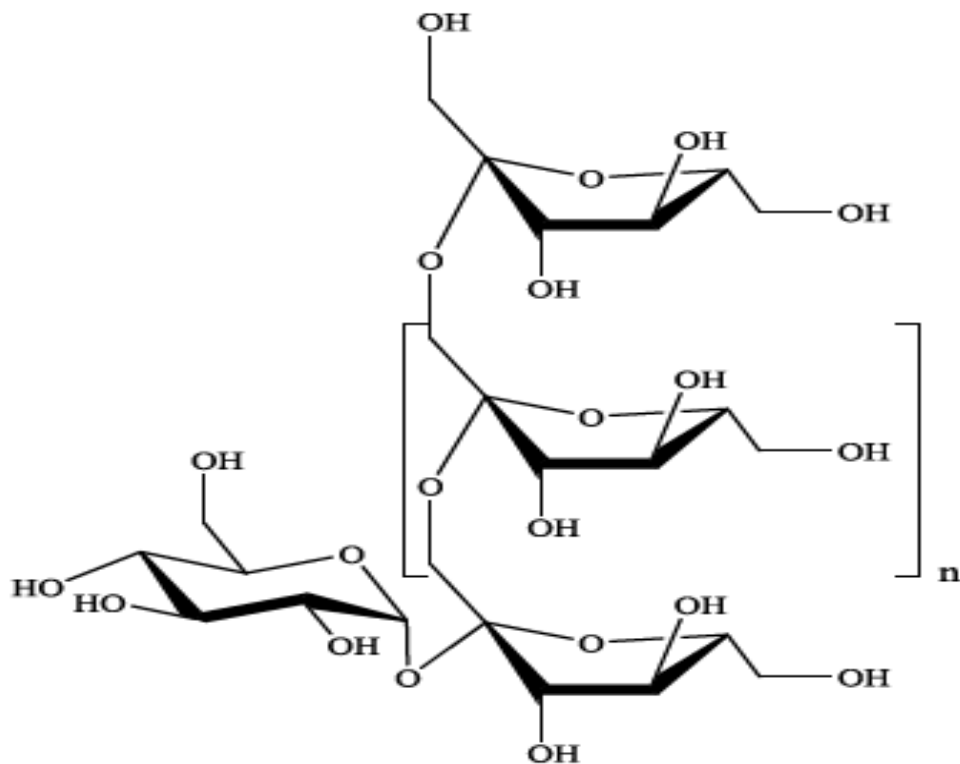
Peningkatan pangan global semakin meningkat secara signifikan oleh adanya peningkatan jumlah penduduk dunia menyongsong tahun 2050, oleh karena itu perlu mempersiapkan alternatif pangan lokal dengan mengembangkan potensi atau kearifan lokal yang berlimpah. Pengembangan makanan dengan kearifan lokal perlu dikembangkan mengingat penurunan ekonomi yang cukup signifikan akibat perubahan iklim dunia, bencana dan wabah penyakit yang merajalela. Maka diperlukan makanan yang cukup, aman, dan bergizi yang memenuhi kebutuhan diet mereka untuk hidup aktif dan sehat. Ketersediaan makanan fungsional sangat penting untuk memberikan manfaat kesehatan dan mengurangi risiko penyakit kronis dan penyakit virus yang mematikan seperti Covid 19. Umbi dahlia dapat menyumbangsih terhadap penyediaan pangan fungsional karena memiliki kandungan inulin yang cukup tinggi. Selain dahlia juga terkenal dengan gembili dan bengkuang. Namun dari ketiga jenis tersebut umbi dahlia memiliki kandungan inulin cukup tinggi sehingga dapat dijadikan alternatif pilihan yang terbaik sebagai makanan fungsional dan peningkatan kesehatan.

Dahlia merupakan tanaman bunga yang memiliki umbi. Selama ini umbi dahlia hanya dipergunakan sebagai bibit dan sisanya dibuang sebagai limbah pertanian, karena dahlia itu sendiri di produksi hanya sebagai bunga potong. Banyak ketidaktahuan masyarakat tentang umbi dahlia sehingga dibuang dan menjadi limba pertanian. Untuk itu perlu diketahui bahwa umbi dahlia memiliki kandungan inulin yang cukup tinggi yang bisa dimanfaatkan dalam dunia industri, farmasi dan kesehatan. Hasil utama dari inulin umbi dahlia adalah fruktosa dan fruktoologosakarida melalui pengelolaan secara enzimatis.

Inulin adalah senyawa karbohidrat alami yang merupakan polimer dari unit-unit fruktosa yang bersifat larut dalam air akan tetapi tidak dapat di cernah oleh enzim-enzim pencernaan sehingga mampu mencapai usus besar tanpa mengalami perubahan

struktur, selain itu dapat menstimulasi pertumbuhan dan aktivitas bakteri yang menguntungkan di saluran cerna, sehingga sangat bermanfaat bagi pencernaan dan kesehatan tubuh (Indriyanti, Desvianto, Sulistiyaningsih, & Musfiroh, 2015).

Inulin dari umbi dahlia mencapai 65-70%. Inulin merupakan karbohidrat dengan polimer yang mengandung 2 sampai 70 unit fruktosa. Inulin merupakan polisakarida alam atau polimer yang tersusun dari monomer fruktosa yang di hubungkan oleh ikatan β -2,1-fruktosil-fruktosa pada ujung terminal. Sedangkan ujung Polimer inulin dapat terikat glukosa dengan ikatan α -1,2. Fruktosa pada inulin dihubungkan satu sama lain oleh ikatan β -2,1 fruktosil-fruktosa. Hidrolisis inulin menghasilkan gula pereduksi yaitu fruktosa dan FOS. Pemotongan inulin menjadi fruktooligosakarida dapat dilakukan dengan memutus ikatan β -2-1 fruktofuransida melalui hidrolisis enzim inulinase (Ruswandi, 2018). Gambar struktur inulin dapat dilihat dari (Gambar 2.1) dibawah ini



Gambar 2.1. Struktur inulin (Wan et al., 2020)

Fruktosa merupakan gula yang banyak digunakan sebagai bahan aditif dalam industri produk dairy, makanan dan farmasi. Fruktosa merupakan sumber pemanis nutritif karena dapat langsung diserap oleh usus dan memiliki resiko kesehatan yang rendah . Fruktosa juga bersifat ekonomis karena mempunyai kadar kemanisan 120-

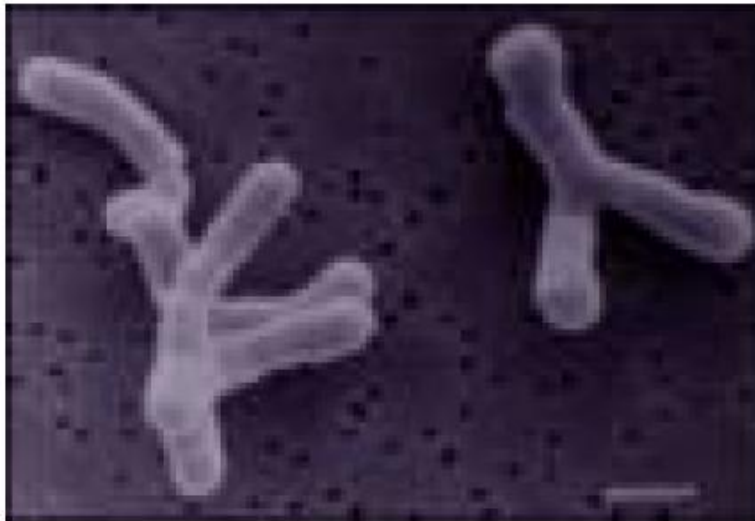
180% lebih tinggi dari sukrosa. Ketersediaan fruktosa untuk industri dalam negeri sebagian besar masih impor, oleh karena itu, untuk memenuhi kebutuhan fruktosa secara mandiri, perlu dieksplorasi inovasi teknologi produksi fruktosa. Fruktosa dapat diproduksi secara enzimatik maupun kimiawi. Produksi fruktosa secara kimiawi dengan hidrolisis inulin menggunakan senyawa asam memerlukan biaya tinggi dan menghasilkan senyawa difruktosa anhidrat yang rasanya pahit. Produksi fruktosa dari pati secara enzimatik dilakukan dengan beberapa tahap dan melibatkan α -amilase, amylglukosidase dan glukosa isomerase menghasilkan 45% fruktosa (Fitriana, Rukmi, & Wijanarka, 2018), sedangkan produksi fruktosa dari inulin dengan enzim inulinase hanya memerlukan satu tahap dan menghasilkan 95% fruktosa sehingga lebih efisien (Saryono, Riau, Awaluddin, & Riau, 2016).

Pembuatan fruktosa dari inulin secara enzimatik lebih efisien karena hanya memerlukan satu tahap dalam pembuatannya di banding dari pati yang memerlukan beberapa tahap dan hasilnya juga lebih tinggi. Sehingga pilihan pembuatan fruktosa dari inulin merupakan pilihan yang tepat karena lebih ekonomis (Azhar et al., 2017). Selain itu pemurnian inulin dari bahan baku tidak memerlukan teknik yang mahal dan tidak memakan waktu yang lama sehingga menjadi pilihan utama dari sudut ekonomi dan teknologi. Begitu juga dari pembudidayaan dahlia ini juga cukup mudah, karena tanaman dahlia mudah tumbuh di alam liar, tidak memerlukan perawatan yang rumit dan hasil panen memuaskan terutama dari bunga potong yang beraneka ragam yaitu hampir 35 ribu kultivar diseluruh dunia, juga hasil umbinya mencapai 2,5 kg per 1 m² (Kriukova et al., 2018).

Fruktooligosakarida (FOS) yaitu suatu campuran oligosakarida yang terdiri dari unit-unit fruktosa dengan ikatan rantai β -2,1 dan memiliki jumlah unit fruktosa penyusun antara dua sampai sembilan unit. FOS merupakan produk antara inulin dan fruktosa, sehingga membutuhkan enzim untuk menghidrolisis inulin menjadi FOS yaitu enzim inulinase (Saryono, 2008).

FOS merupakan prebiotik. Prebiotik adalah suplemen makanan yang berfungsi sebagai substrat mikroflora usus. Inulin merupakan suatu makanan yang lebih disukai oleh colonic mikroflora dan dapat meningkatkan keseimbangan bakteri baik dalam usus (Horiza, 2017).

Kesehatan usus besar manusia berpengaruh terhadap kesehatan tubuh manusia. Hal ini karena peran dari keseimbangan mikroflora usus didalam tubuh manusia. Dalam makanan yang kita makan mengandung senyawa tertentu yang dapat memodulasi komposisi mikroflora usus. Senyawa tersebut dikenal dengan prebiotik, dan salah satunya adalah inulin dan FOS. Sehingga kedua senyawa tersebut dimanfaatkan oleh mikroflora usus besar seperti *Bifidobacteria* dan bakteri asam laktat untuk pertumbuhannya. Oleh karena FOS dan inulin dapat menstimulir pertumbuhan flora normal seperti *Bifidobacteria* maka FOS dikenal memiliki “faktor bifidogenik”. *Bifidobacteria* (Gambar 2.2) adalah bakteri probiotik yang bersimbiosis dengan manusia, menghasilkan asam laktat dan asetat dari gula, bersifat non patogen dan member manfaat ke inangnya (manusia/hewan) untuk antara lain mencegah kanker usus, mengurangi penyerpaan lipid, dan mensistesis vitamin.



Gambar 2.2. Pertumbuhan bakteri non pathogen *Bifidobacteria* di dalam usus besar diinduksi oleh prebiotik inulin dan FOS (Sikumbang & Hindersah, 2009)

Inulin disebut sebagai polisakarida alami rendah kalori dan merupakan serat makanan yang dikenal sebagai fruktan. Fruktan adalah molekul yang tersusun oleh senyawa fruktosil. Fruktosil merupakan senyawa gugus fruktosa yang berada di terminal pada susunan molekul inulin. Inulin pertama kali diisolasi dari *Inula helenium* oleh seorang ilmuwan Jerman, Rose (1804) dan kemudian diberi nama inulin oleh Thomson (1817). Di alam inulin paling banyak kedua didapat dalam bentuk polisakarida seperti terdapat pada umbi dahlia inulin ini juga didapat dari sawi putih,

artichoke Yerusalem, asparagus, daun bawang, bawang putih, bawang merah, dan yacon (R. S. Singh, Singh, & Larroche, 2019).

Inulin merupakan derivat tanaman yang mengandung karbohidrat dan serat pangan yang larut air akan tetapi tidak dapat di cernah oleh enzim-enzim pencernaan sehingga mampu mencapai usus besar tanpa mengalami perubahan struktur, selain itu dapat menstimulasi pertumbuhan dan aktivitas bakteri yang menguntungkan di saluran cerna, sehingga sangat bermanfaat bagi pencernaan dan kesehatan tubuh. Selain itu inulin dapat meningkatkan penyerapan kalsium, dapat dimanfaatkan untuk penurunan kadar gula darah dan kolesterol, sehingga dapat diterapkan pada pasien diabetes dan penyakit kardiovaskuler (Melanie, Susilowati, Iskandar, Lotulung, & Andayani, 2015). Selain itu pemanfaatan inulin adalah sebagai prebiotik alami, serat makanan, stabilizer, pengganti lemak dan pengubah tekstur makanan (Leyva-Porras et al., 2017).

Inulin juga berfungsi dalam metabolisme lemak atau menurunkan profil lipid, mengurangi sembelit, memperbaiki mikroflora usus, mengurangi risiko penyakit gastrointestinal, meningkatkan penyerapan magnesium, kalium, dan zat besi, meningkatkan nafsu makan, meningkatkan sistem kekebalan tubuh, meningkatkan penyerapan usus, dan sebagai bahan dasar produk makanan lainnya (Shoaib et al., 2016).

Hasil penelitian menemukan bahwa umbi dahlia memiliki kandungan inulin yang cukup tinggi mencapai 42% dengan kadar fruktosa 90-95% (Petkova, Sherova, & Denev, 2018). Hasil penelitian yang lain di dapatkan inulin sebesar 30% dari umbi dahlia kering dan 6,0-9,5 % dari umbi dahlia basah (Kosasih, Pudjiraharti, Ratnaningrum, & Priatni, 2015). Hasil penelitian sebelumnya juga menemukan bahwa dahlia Cibodas memiliki kadar inuli 29,00%. Dan diketahui bahwa kadar inulin dahlia lebih tinggi dari kadar inulin gembili yang tertinggi yaitu hanya berkisar 10, 84%. (Hilman, Harmayani, & Cahyanto, 2021).

Penelitian yang dilakukan oleh Nisa dkk, 2015 yang meneliti kandungan inulin menggunakan metode KLT Densitometri memperoleh hasil bahwa kadar inulin dalam ekstrak umbi Dahlia variabilis adalah $73,93 \pm 1,209\%$ dan kadar inulin dalam ekstrak umbi Dahlia pinnata adalah $66,76 \pm 0,572\%$. Kadar inulin dalam ekstrak umbi Dahlia variabilis dan Dahlia pinnata adalah berbeda signifikan (Nisa, Retnaningtyas, & Kristiningrum, 2015).

Kadar inulin umbi dahlia memiliki perbedaan tergantung jenis tanaman dahlia tersebut, lamanya waktu panen dan jenis tanah sebagai media tanamnya. Beberapa pengamatan terutama umur umbi sangat berpengaruh terhadap kandungan inulin di dalamnya, semangkin tua umur umbi maka kadar inulinnya semangkin tinggi. Untuk usia panen umbi dahlia yang mengandung inulin cukup tinggi berkisar 10 bulan sejak masa tanam umbi dahlia tersebut (Iskandar et al, 2014).

Inulin yang dihasilkan dari tanaman dahlia, chirory, umbi jarussalem artichoke terutama tergantung pada strategi budidaya, suhu dan waktu panen tanaman. Kandungan dan tingkat polimerisasi yang tinggi jika tanaman dipanen setiap tahun. Dengan demikian efektivitas biaya, keterbaruan dan kelimpahan dalam sumber alami adalah faktor kunci yang membuat inulin substrat ampuh untuk memproduksi Fruktosa dan FOS (Ram Sarup Singh, Singh, & Kennedy, 2016).

Hasil penelitian lain juga menunjukkan bahwa perolehan pati dipengaruhi oleh rasio pelarut dan bahan serta waktu pengendapan. Perolehan pati tertinggi dengan rasio 1:3 yang mana penggunaan pelarut etanol lebih tinggi dibanding dengan menggunakan air, dan waktu pengendapan 6 jam yaitu 2,94 – 37,03 % (Sundari et al, 2014). Selain dari umbi dahlia, kandungan inulin dari beberapa tanaman juga dapat dilihat pada (Tabel 2.1) dibawah ini.

Tabel 2.1. Kandungan inulin dari berbagai tanaman (Shoaib et al., 2016).

| Inulin source | Plant part | Inulin content (g/100g) ^a |
|--|------------|--------------------------------------|
| Yacon (<i>Smallanthus sonchifolius</i>) | Roots | 35 |
| Sweet Leaf (<i>Stevia rebaudiana</i>) | | 18–23 |
| Garlic, Chinese garlic (<i>Allium sativum</i>) | Bulb | 14–23 |
| Barley (<i>Hordeum vulgare</i>) | Grains | 18–20 |
| Chicory (<i>Cichorium intybus</i>) | Root | 11–20 |
| Jerusalem artichoke (<i>Helianthus tuberosus</i>) | Tuber | 12–19 |
| Asparagus (<i>Asparagus sp.</i>) | Roots | 15 |
| Agave (<i>Agave sp.</i>) | Stem | 12–15 |
| Dandelion (<i>Taraxacum officinale</i>) | Roots | 12–15 |
| Dahlia (<i>Dahlia pinata cav.</i>) | Tuber | 10–12 |
| Suma (<i>Pfalial glomerate</i>) | Roots | 11.45 |
| Onions (Red & White), shallot (<i>Allium cepa</i> , <i>Allium sp.</i>) | Bulb | 5–9 |
| Burdock (<i>Arctium sp.</i>) | Roots | 8.3–9.9 |

Pengelolaan umbi dahlia sebagai sumber inulin tidak memerlukan teknologi yang tinggi sehingga tidak memerlukan biaya yang mahal dan cukup ekonomis. Pengelolaan umbi dahlia sebagai sumber inulin dapat dilakukan dengan cara membersihkan umbi dahlia dari tanah dan kotoran lainnya dengan air Pam yang mengalir sampai bersih juga dihilangkan akar-akar yang masih menempel pada umbi tersebut. Kemudian umbi di kupas dan di potong dengan ukuran kecil dan tipis lalu diblender dengan cara mencampurkan air perbandingan 1:2 (b:V) hingga kelihatan seperti jus. Kemudian dipanaskan selama ± 30 menit dengan suhu 80-90°C. Setelah itu dilakukan pendinginan dan terakhir di saring. Filtrat hasil saringan tersebut ditambahkan etanol 30% sebanyak 40% dari volume filtrat atau 1:3. Simpan larutan tersebut dengan suhu 0°C selama ± 18 jam. Kemudian pindahkan pada suhu ruang selama 2 jam. Filtrat tersebut selanjutnya disentrifugasi pada 9000 rpm selama 10 menit sehingga diperoleh endapan inulin basah I dan supernatan I. Kemudian supernatan I ditambahkan kembali etanol 30% sebanyak 40% dari volume filtrate seperti pengerjaan yang pertama tadi. Simpan larutan tersebut dengan suhu 0°C selama ± 18 jam. Kemudian pindahkan pada suhu ruang selama 2 jam. Filtrat tersebut selanjutnya disentrifugasi pada 9000 rpm selama 10 menit sehingga diperoleh endapan inulin basah II dan supernatan II. Berikutnya sampai didapat inulin basah III dan Supernatan III (Yuliana, Kusdiyantini, & Izzati, 2014).

Setelah diperoleh hasil endapan inulin basah 1, 2 dan 3 lalu ditambahkan aquades 40 mL dan karbon aktif 0,2 g. dan di panaskan pada suhu 80-90°C selama 30 menit. Kemudian larutan disaring kembali. Selanjutnya filtrat tersebut ditambahkan 28 mL etanol 30% dan disimpan di dalam freezer ($\pm -10^{\circ}\text{C}$) selama 18 jam. Filtrat tersebut didiamkan pada suhu ruang selama 2 jam, selanjutnya disentrifugasi pada 9000 rpm selama 10 menit sehingga diperoleh endapan putih dan supernatant bening. Selanjutnya endapan putih tersebut dikeringkan kedalam oven dengan suhu 50-60°C selama 10 jam sehingga diperoleh inulin kering (Horiza, Azhar, & Efendi, 2017).

Pemanasan yang telah dilakukan berguna untuk melarutkan inulin yang terkandung di dalam umbi dahlia karena sifat inulin adalah larut dalam air panas dan hanya sedikit yang dapat larut dalam air dingin atau alkohol. Etanol digunakan berfungsi untuk mengendapkan inulin dari larutan, selain itu Etanol yang digunakan sebagai pelarut dapat lebih selektif, netral dan dapat bercampur dengan air. Etanol juga

dapat menyebabkan protein dan zat-zat warna ikut terekstrak. Filtrat yang telah dicampurkan dengan etanol, disimpan pada suhu rendah. Hal ini untuk membentuk larutan berada di bawah dan mudah di pisahkan dengan larutan tersebut. Biasanya akan terlihat endapan tersebut berwarna putih atau yang disebut dengan endapan inulin. Pelaksanaan oven bertujuan untuk mengeringkan endapan inulin tersebut hingga menjadi inulin menjadi kering. Untuk penambahan arang aktif yang berfungsi sebagai bleaching agent atau pembersih guna mengurangi warna coklat yang terbentuk, sehingga hasilnya akan didapatkan tepung inulin yang berwarna putih (Murwindra, 2019). Hasil ekstraksi umbi dahlia menjadi inulin dapat dilihat pada (Gambar 2.3) di bawah ini.

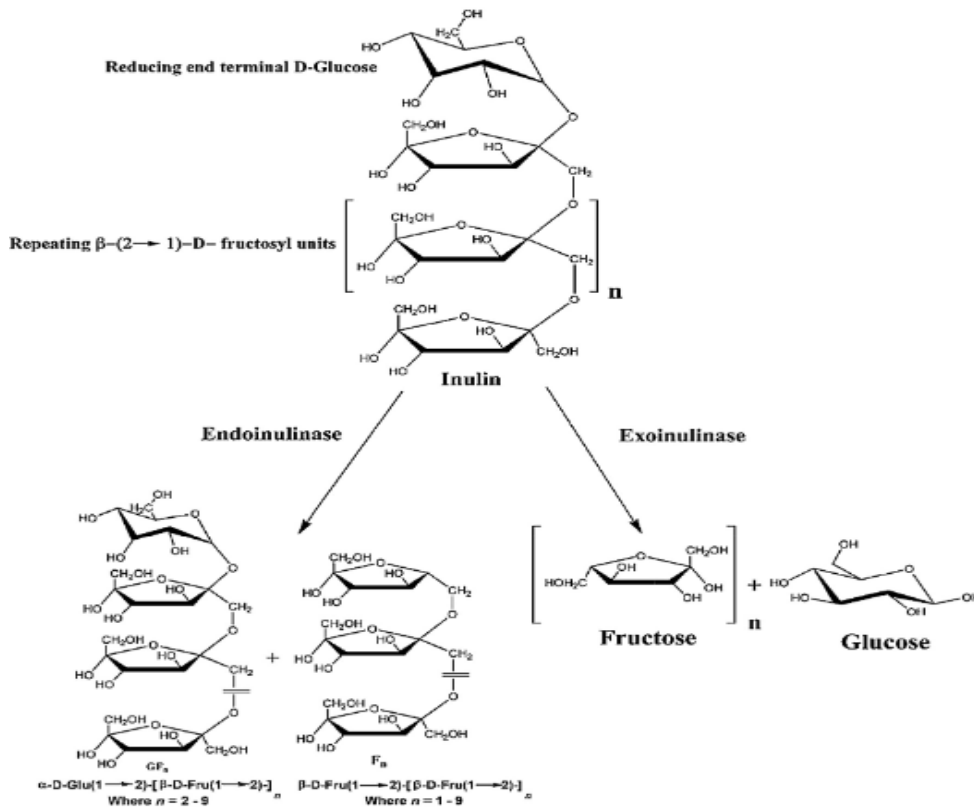


Gambar 2.3. Serbuk inulin (Iskandar et al, 2014).

Inulin merupakan serbuk berwarna putih dari derivat tanaman yang kaya inulin. Inulin secara komersial digunakan untuk berbagai pengolahan bahan pangan sebagai dietary fiber dan dapat dijadikan fruktosa sebagai gula alami rendah kalori untuk pasien diabetes dan dapat dijadikan prebiotik untuk campuran berbagai susu bayi.

BAB III ENZIM INULINASE

Enzim yang terlibat dalam suatu reaksi hidrolisis inulin disebut dengan Inulinase. Inulinase umumnya aktif pada substrat inulin (Azhar et al., 2017). Inulinase merupakan suatu enzim yang dapat menghidrolisis polimer inulin menjadi bentuk berupa oligosakarida melalui aktivitas endoinulinase dan monomer fruktosa melalui aktivitas eksoinulinase. Enzim inulinase dapat diperoleh dari kapang endofit pada umbi dahlia. Enzim ini dapat digunakan dalam pembuatan fruktosa dan FOS. Ada beberapa faktor yang dapat mempengaruhi aktivitas inulinase yaitu pH, suhu, dan konsentrasi substrat. Setiap enzim memiliki pH dan suhu optimum untuk bekerja paling aktif. Umumnya aktivitas inulinase yang dihasilkan berhubungan erat dengan jumlah gula pereduksi yang dihasilkan. Semakin banyak jumlah gula pereduksi yang dihasilkan, maka semakin tinggi aktivitas inulinase dan begitu juga sebaliknya. Penentuan aktivitas inulinase dapat dilakukan dengan pereaksi asam Dinitrosalisilat (DNS) (Awaluddini Ma'riffattullah, Minda Azhar, 2019), dapat dilihat pada (Gambar 3.1).

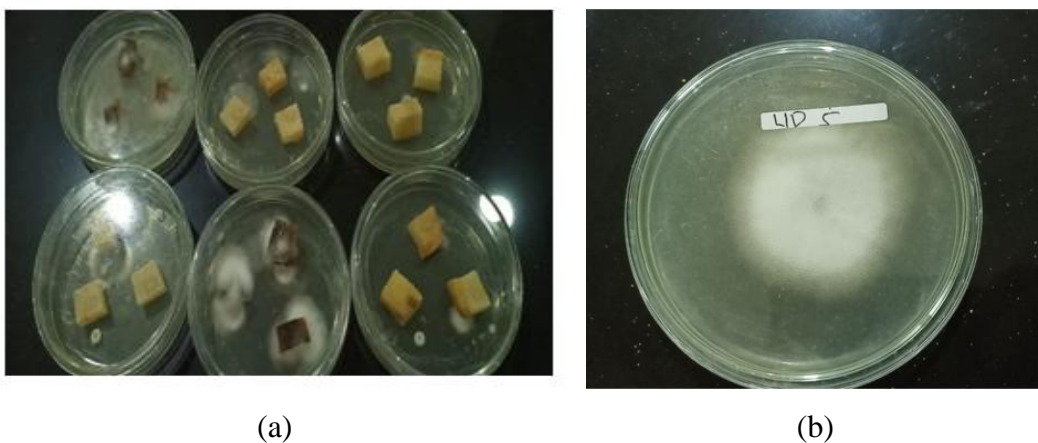


Gambar 3.1. Prokduksi inulinase (R. S. Singh & Singh, 2016).

Selain memproduksi fruktosa dan FOS inulinase juga digunakan untuk memproduksi bioetanol, minyak sel tunggal dan protein sel tunggal, asam sitrat, asam glukonat, butanol, sorbitol (R. S. Singh & Singh, 2016).

Inulinase adalah enzim hidrolase yang di golongankan dalam enzim ekstraseluler mampu menghidrolisis inulin menjadi fruktooligosakarida (FOS) dengan memotong satuan fruktosa dari inulin pada posisi terminal β -2,1. Beberapa golongan jamur yang mengandung enzim inulinase yaitu; jamur *Aspergillus sp*, *Penicillium sp*, *Chrysosporium sp*, *Khamir (yeast) Kluyveromyces sp*, *Candida sp*, *Debaromyces* dan *Saccharomyces sp* dari golongan bakteri *Arthrobacter sp*, *Flavobacterium sp* dan *Bacillus sp*. Pemanfaatan enzim inulinase digunakan untuk produksi *inulooligosakarida* (IOS), *fruktouligosakarida* (FOS), sorbitol, pullulan, etanol, aseton dan butanol (Wijanarka, Soetarto, Dewi, & Indrianto, 2015). Selain jamur inulinase dapat berasal dari ragi dan strain bakteri (R. S. Singh & Saini, 2013). Inulinase dapat berasal dari jamur, ragi dan bakteri, maka berdasarkan penelitian jenis yang memiliki pertumbuhan terbaik pada keadaan lingkungan dan osmotik yang tinggi sebagai penghasil inulinase adalah jamur (Ram Sarup Singh, Chauhan, Kaur, & Pandey, 2020).

Beberapa jenis Kapang endofit dapat ditemukan pada tanah, kotoran hewan, tumbuhan yang telah membusuk, pakan dan udara (Oktaviana, Rahmawati, & Linda, 2017). Enzim inulinase yang dapat digunakan untuk memproduksi fruktosa dan FOS berlangsung secara mikrobial enzimatis dengan bantuan salah satu kapang endofit yang memiliki aktifitas optimum, Kapang tersebut di didapatkan melalui isolasi dari umbi dahlia merah (Asih & Puspitasari, 2009), terlihat (Gambar 3.2) Isolasi kapang endofit umbi dahlia merah



Gambar 3.2. a) Isolasi kapang, b) Kapang Endofit penghasil inulinase

Tanaman, hewan dan sumber mikroba lainnya dapat menghasilkan inulinase melalui penginduksi inulin. Sebagai penghasil inulinase maka Inulin itu sendiri dapat dijadikan sebagai substrat dan sumber karbon yang efektif dalam menghasilkan inulinase. Diketahui bahwa bakteri, jamur dan khamir merupakan sumber inulinase yang poten. Namun pilihan terbaik adalah jamur karena hanya memerlukan biaya yang rendah dan ekonomis serta dapat tumbuh pada substratnya dengan baik. Sehingga reaksi enzimatik ini memiliki produktivitas yang tinggi, sangat menguntungkan (R S Singh, Singh, & Pandey, 2020).

Inulinase mikroba merupakan enzim yang digunakan pada berbagai industri penting, dan biasanya dapat diinduksi dan ekstraseluler. Area utama aplikasi inulinase adalah sirup fruktosa dari bahan kaya inulin. Sumber utama inulin dan oligofruktosa yang digunakan dalam industri makanan adalah sawi putih dan artichoke Yerusalem. Inulinase mikroba memainkan peran penting dalam hidrolisis inulin untuk produksi sirup fruktosa dan frukto-oligosakarida (Gavrailov & Ivanova, 2016). Dibawah ini beberapa tanaman penghasil inulinase (Tabel 3.1) sebagai berikut:

Tabel 3.1. Tanaman penghasil inulinase (Mohan, Flora, & Girdhar, 2018)

| Source of inulin | End product | Strain source of inulinase |
|----------------------------|----------------------------|---|
| Agave juice | Ethanol | <i>Kluyveromyces marxianus</i> |
| Chicory roots | Fructooligosaccharide | <i>A. niger</i> |
| <i>Yarrowia lipolytica</i> | Erythritol and citric acid | <i>Inulin and glycerol</i> |
| <i>Asparagus</i> | High-fructose syrup | <i>K. marxianus</i> |
| <i>Y. lipolytica</i> | Citric acid | <i>K. marxianus</i> |
| Raw dahlia tuber | Ethanol | <i>K. marxianus</i> |
| Jerusalem artichoke | Lactic acid | <i>A. niger</i> and <i>Lactobacillus</i> sp. |
| Jerusalem artichoke | Single-cell oil | <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> |
| Jerusalem | Sorbitol | <i>Kluyveromyces</i> ; <i>Saccharomyces cerevisiae</i> |
| | Single-cell protein | <i>Y. lipolytica</i> |

Industri modern saat ini sedang menggalakkan produktivitas inulinase karena dianggap persediaannya yang mudah, murah dan berlimpah serta memiliki ekonomis yang tinggi. Pengkulturan mikroorganisme tersebut dapat dilakukan pada media yang kaya akan inulin. Dimana inulin yang dihasilkan dari umbi dahlia dapat digunakan sebagai sumber karbon dan penginduksi yang kuat sebagai penghasil inulinase. Namun perlu diperhatikan dalam penatalaksanaannya terutama dalam pengaturan suhu dan PH, karena produktivitas enzim inulinasi sangat dipengaruhi oleh suhu dan PH, dan PH terbaik tercatat berkisar 4-6,5 (Paul & Kumar, 2020).

Berdasarkan dari hasil penelitian bahwa Inulin yang berasal dari tanaman seperti dahlia, bawang putih, jerusalem artichoke menghasilkan inulinase terbaik dibandingkan dengan inulinase yang dimurnikan. Keuntungan yang lain bahwa inulinase yang berasal dari tanaman memiliki biaya produksi yang rendah jika dibandingkan dengan substrat yang dimurnikan (Othman, Selim, Bayoumy, & Saber, 2020).

Aktifitas inulinase tertinggi diperoleh dari *Aspergillus niger* dengan akar chicory sebagai substratnya melalui pengukuran zona bening pada pelat agar setelah dilakukan hidrolisis inulin menggunakan larutan iodine adalah dengan nilai zona bening 40 mm dan nilai aktivitas inulinase adalah 102,3 U /ml (Abou-taleb, Amin, & Ahmed, 2019). Dengan demikian tahap yang terpenting untuk menghasilkan inulinase berskala besar adalah dengan melakukan isolasi mikroba.

BAB IV

INULIN SEBAGAI ANTI DIABETES

4.1 Diabetes Mellitus

4.1.1 Pengertian

Diabetes mellitus adalah gangguan metabolisme dari berbagai etiologi. ditandai dengan hiperglikemia kronis disertai gangguan metabolisme karbohidrat, lemak dan protein dari defek sekresi insulin, kerja insulin atau keduanya (Soelistijo, 2019).

Diabetes adalah sekelompok penyakit metabolik yang ditandai dengan hiperglikemia akibat defek sekresi insulin, kerja insulin, atau keduanya (*American Diabetes Association*, 2014).

Diabetes mellitus (DM) adalah penyakit metabolisme glukosa yang ditandai dengan hiperglikemik kronik yang diakibatkan oleh defek sekresi inulin, kerja insulin, atau keduanya (Y. Gao et al., 2017).

4.1.2 Diagnosis, Klasifikasi dan Etiologi Diabetes Melitus Secara Umum

Klasifikasi dan etiologi Diabetes mellitus menurut Soelistijo, dkk 2019 dapat dilihat pada tabel di bawah ini:

Tabel 4.1 Diagnosis diabetes mellitus

| | HbA1c (%) | Glukosa darah puasa (mg/dL) | Glukosa plasma 2 jam setelah TTGO (mg/dL) |
|---------------------|-----------|-----------------------------|---|
| Diabetes | ≥ 6,5 | ≥ 126 | ≥ 200 |
| Pre-Diabetes | 5,7 – 6,4 | 100 – 125 | 140 – 199 |
| Normal | < 5,7 | 70 – 99 | 70 – 139 |

Tabel 4.2 Klasifikasi dan etiologi diabetes mellitus

| Klasifikasi | Deskripsi |
|--|---|
| Tipe 1 | Destruksi sel beta, umumnya berhubungan dengan pada defisiensi insulin absolut <ul style="list-style-type: none"> - Autoimun - Idiopatik |
| Tipe 2 | Bervariasi, mulai yang dominan resistensi insulin disertai defisiensi insulin relatif sampai yang dominan defek sekresi insulin disertai resistensi insulin |
| Diabetes mellitus gestasional | Diabetes yang didiagnosis pada trimester kedua atau ketiga kehamilan dimana sebelum kehamilan tidak didapatkan diabetes |
| Tipe spesifik yang berkaitan dengan penyebab lain | <ul style="list-style-type: none"> - Sindroma diabetes monogenik (diabetes neonatal, <i>maturity – onset diabetes of the young</i> [MODY]) - Penyakit eksokrin pankreas (fibrosis kistik, pankreatitis) - Disebabkan oleh obat atau zat kimia (misalnya penggunaan glukokortikoid pada terapi HIV/AIDS atau setelah transplantasi organ) |

4.1.3 Gejala Klinis Diabetes Tipe 2

Gejala diabetes melitus dibedakan menjadi akut dan kronik. Gejala akut diabetes melitus yaitu : Poliphagia (banyak makan) polidipsia (banyak minum), Poliuria (banyak kencing/sering kencing di malam hari), nafsu makan bertambah namun berat badan turun dengan cepat (5-10 kg dalam waktu 2-4 minggu), mudah lelah.

Gejala kronik diabetes melitus yaitu : Kesemutan, kulit terasa panas atau seperti tertusuk tusuk jarum, rasa kebas di kulit, kram, kelelahan, mudah mengantuk, pandangan mulai kabur, gigi mudah goyah dan mudah lepas, kemampuan seksual menurun bahkan pada pria bisa terjadi impotensi, pada ibu hamil sering terjadi keguguran atau kematian janin dalam kandungan atau dengan bayi berat lahir lebih dari 4kg (Fatimah, 2015).

4.1.4 Patofisiologi Diabetes Mellitus Tipe 2

Patofisiologi diabetes mellitus tipe 2 menurut Decroli dkk, 2019 sebagai berikut:

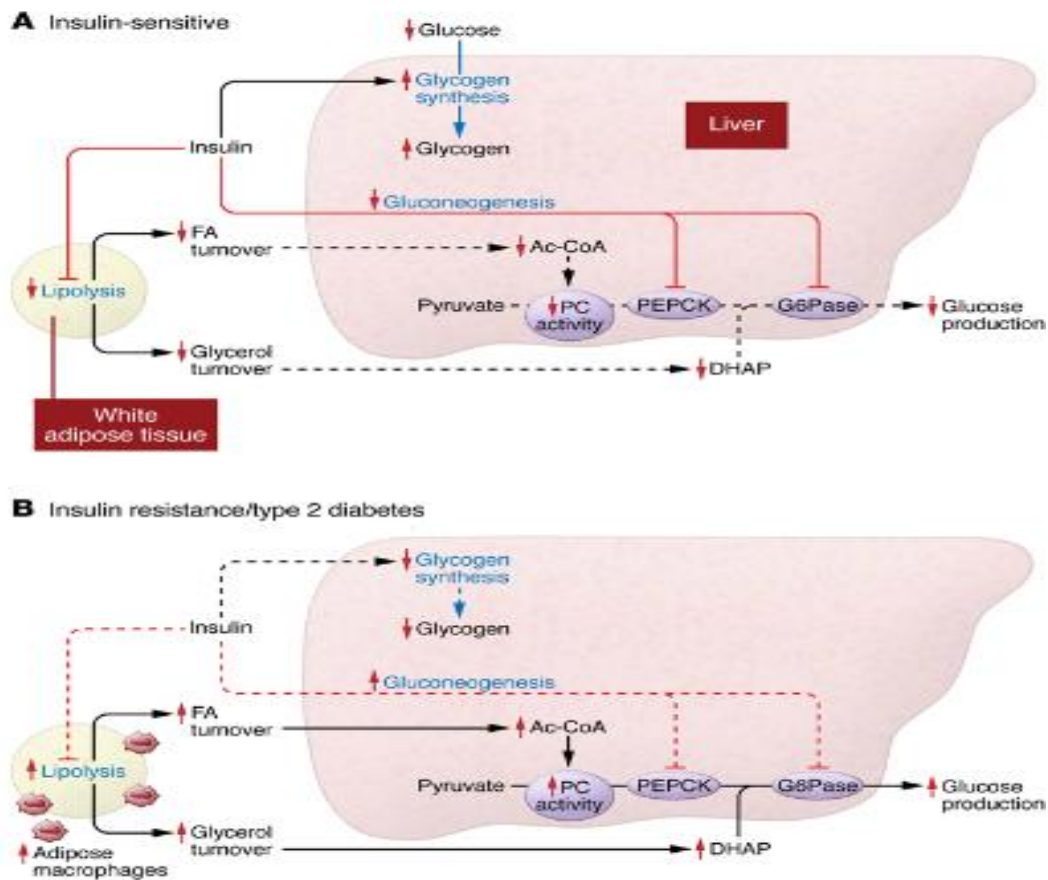
1. Resistensi Insulin

Dua patofisiologi utama yang mendasari terjadinya kasus DMT2 secara genetik adalah resistensi insulin dan defek fungsi sel beta pankreas. Resistensi insulin merupakan kondisi umum bagi orang-orang dengan berat badan overweight atau obesitas. Insulin tidak dapat bekerja secara optimal di sel otot, lemak, dan hati sehingga memaksa pankreas mengkompensasi untuk memproduksi insulin lebih banyak. Ketika produksi insulin oleh sel beta pankreas tidak adekuat guna mengkompensasi peningkatan resistensi insulin, maka kadar glukosa darah akan meningkat, pada saatnya akan terjadi hiperglikemia kronik. Hiperglikemia kronik pada DMT2 semakin merusak sel beta di satu sisi dan memperburuk resistensi insulin di sisi lain, sehingga penyakit DMT2 semakin progresif.

Secara klinis, makna resistensi insulin adalah adanya konsentrasi insulin yang lebih tinggi dari normal yang dibutuhkan untuk mempertahankan normoglikemia. Pada tingkat seluler, resistensi insulin menunjukkan kemampuan yang tidak adekuat dari insulin signaling mulai dari pre reseptor, reseptor, dan post reseptor. Secara molekuler beberapa faktor yang diduga terlibat dalam patogenesis resistensi insulin antara lain, perubahan pada protein kinase B,

mutasi protein Insulin Receptor Substrate (IRS), peningkatan fosforilasi serin dari protein IRS, Phosphatidylinositol 3 Kinase (PI3 Kinase), protein kinase C, dan mekanisme molekuler dari inhibisi transkripsi gen IR (Insulin Receptor).

Insulin mengatur metabolisme glukosa hati secara langsung melalui kerja insulin hati dan secara tidak langsung melalui kerja insulin adiposa. Insulin mengatur metabolisme glukosa hati melalui mekanisme langsung dan mekanisme tidak langsung. Mekanisme langsung dimediasi melalui aktivasi reseptor insulin hepatosit, yang menurunkan produksi glukosa hati secara akut dengan mengaktifkan sintesis glikogen hati dan secara kronis melalui regulasi turun transkripsi dari enzim glukoneogenik, terutama oleh fosforilasi FOXO1. Insulin juga menekan metabolisme glukosa hati dengan mekanisme tidak langsung yang dimediasi oleh kerja insulin pada WAT. Penghambatan insulin pada lipolisis menekan asam lemak dan pergantian gliserol. Hal ini menurunkan pengiriman asam lemak (FA) ke hati, yang menyebabkan penurunan kandungan asetil-KoA (Ac-CoA) hati, yang pada gilirannya menyebabkan penurunan alosterik dalam aktivitas dan fluks PC hati. Selain itu, penekanan insulin pada lipolisis menurunkan pengiriman gliserol ke hati dan menurunkan konversi gliserol menjadi glukosa. PEPCCK, phosphoenolpyruvate carboxykinase; G6Pase, glukosa 6-fosfatase terlihat pada gambar. **A.** Pada T2D, disregulasi kerja insulin hati dan adiposa keduanya berkontribusi pada hiperglikemia. Sinyal insulin hati yang terganggu, dimediasi oleh penghambatan DAG/PKC ϵ dari aktivitas reseptor kinase insulin, mengakibatkan penurunan aktivasi insulin dari sintesis glikogen hati dan hiperglikemia postprandial. Peradangan jaringan adiposa dan resistensi insulin adiposa menghasilkan peningkatan tingkat lipolisis dan peningkatan tingkat pengiriman FA dan gliserol ke hati. Peningkatan pengiriman FA ke hati meningkatkan kandungan Ac-CoA hati, yang mengarah ke aktivasi alosterik aktivitas PC dan fluks PC yang meningkatkan glukoneogenesis hati. Selain itu, peningkatan pengiriman gliserol ke hati selanjutnya meningkatkan glukoneogenesis hati melalui mekanisme dorongan substrat. Garis putus-putus menunjukkan penurunan aksi atau fluks. DHAP, dihidroksiaseton fosfat.



Gambar 4.1. Mekanisme Resistensi Insulin pada diabetes Tipe 2 (Samuel, Shulman, Samuel, & Shulman, 2016).

2. Disfungsi Sel β Pankreas

Pada perjalanan penyakit DMT2 terjadi penurunan fungsi sel beta pankreas dan peningkatan resistensi insulin yang berlanjut sehingga terjadi hiperglikemia kronik dengan segala dampaknya. Hiperglikemia kronik juga berdampak memperburuk disfungsi sel beta pankreas.

Sebelum diagnosis DMT2 ditegakkan, sel beta pankreas dapat memproduksi insulin secukupnya untuk mengkompensasi peningkatan resistensi insulin. Pada saat diagnosis DMT2 ditegakkan, sel beta pankreas tidak dapat memproduksi insulin yang adekuat untuk mengkompensasi peningkatan resistensi insulin oleh karena pada saat itu fungsi sel beta pankreas yang normal tinggal 50%. Pada tahap lanjut dari perjalanan DMT2, sel beta pankreas diganti dengan jaringan amiloid, akibatnya produksi insulin mengalami penurunan sedemikian rupa, sehingga secara klinis DMT2 sudah menyerupai DMT1 yaitu kekurangan insulin secara absolut.

Sel beta pankreas merupakan sel yang sangat penting diantara sel lainnya seperti sel alfa, sel delta, dan sel jaringan ikat pada pankreas. Disfungsi sel beta pankreas terjadi akibat kombinasi faktor genetik dan faktor lingkungan. Jumlah dan kualitas sel beta pankreas dipengaruhi oleh beberapa hal antara lain proses regenerasi dan kelangsungan hidup sel beta itu sendiri, mekanisme selular sebagai pengatur sel beta, kemampuan adaptasi sel beta ataupun kegagalan mengkompensasi beban metabolik dan proses apoptosis sel.

Pada orang dewasa, sel beta memiliki waktu hidup 60 hari. Pada kondisi normal, 0,5 % sel beta mengalami apoptosis tetapi diimbangi dengan replikasi dan neogenesis. Normalnya, ukuran sel beta relatif konstan sehingga jumlah sel beta dipertahankan pada kadar optimal selama masa dewasa. Seiring dengan bertambahnya usia, jumlah sel beta akan menurun karena proses apoptosis melebihi replikasi dan neogenesis. Hal ini menjelaskan mengapa orang tua lebih rentan terhadap terjadinya DM2.

Pada masa dewasa, jumlah sel beta bersifat adaptif terhadap perubahan homeostasis metabolik. Jumlah sel beta dapat beradaptasi terhadap peningkatan beban metabolik yang disebabkan oleh obesitas dan resistensi insulin. Peningkatan jumlah sel beta ini terjadi melalui peningkatan replikasi dan neogenesis, serta hipertrofi sel beta.

Ada beberapa teori yang menerangkan bagaimana terjadinya kerusakan sel beta, diantaranya adalah teori glukotoksisitas, lipotoksisitas, dan penumpukan amiloid. Efek hiperglikemia terhadap sel beta pankreas dapat muncul dalam beberapa bentuk. Pertama adalah desensitasi sel beta pankreas, yaitu gangguan sementara sel beta yang dirangsang oleh hiperglikemia yang berulang. Keadaan ini akan kembali normal bila glukosa darah dinormalkan. Kedua adalah ausnya sel beta pankreas yang merupakan kelainan yang masih reversibel dan terjadi lebih dini dibandingkan glukotoksisitas. Ketiga adalah kerusakan sel beta yang menetap.

Pada DM2, sel beta pankreas yang terpajan dengan hiperglikemia akan memproduksi reactive oxygen species (ROS). Peningkatan ROS yang berlebihan akan menyebabkan kerusakan sel beta pankreas. Hiperglikemia kronik

merupakan keadaan yang dapat menyebabkan berkurangnya sintesis dan sekresi insulin di satu sisi dan merusak sel beta secara gradual.

3. Faktor Lingkungan

Faktor lingkungan juga memegang peranan penting dalam terjadinya penyakit DMT2. Faktor lingkungan tersebut adalah adanya obesitas, banyak makan, dan kurangnya aktivitas fisik. Peningkatan berat badan adalah faktor risiko terjadinya DMT2. Walaupun demikian sebagian besar populasi yang mengalami obesitas tidak menderita DMT2. Penelitian terbaru telah menelaah adanya hubungan antara DMT2 dengan obesitas yang melibatkan sitokin proinflamasi yaitu tumor necrosis factor alfa (TNF α) dan interleukin-6 (IL-6), resistensi insulin, gangguan metabolisme asam lemak, proses selular seperti disfungsi mitokondria, dan stres retikulum endoplasma (Decroli et al, 2019).

4.1.5 Penatalaksanaan

Penatalaksanaan yang dapat dilakukan pada pasien diabetes mellitus menurut Ningsih & Kusuma, 2017 adalah sebagai berikut:

1. Diet Tujuan umum penatalaksanaan diet pada diabetes mellitus adalah :

- a. Mencapai dan mempertahankan kadar glukosa darah mendekati kadar normal
- b. Mencapai dan mempertahankan lipid mendekati kadar yang optimal
- c. Mencegah komplikasi akut dan kronik
- d. Meningkatkan kualitas hidup

2. Olah raga

Dianjurkan latihan jasmani teratur 3-4 kali tiap minggu selama kurang lebih ½ jam yang sifatnya sesuai CRIPE (*Continous Rythmiccal Intensity Prigressive Endurance*). Latihan dilakukan terus menerus tanpa berhenti, otot-otot berkontraksi dan relaksasi secara teratur. Latihan CRIPE minimal dilakukan selama 3 hari dalam seminggu, sedangkan 2 hari yang lain dapat digunakan untuk melakukan olahraga yang merupakan kesenangan atau hobi. Adanya kontraksi otot yang teratur akan merangsang peningkatan aliran darah dan penarikan glukosa ke dalam sel.

Olah raga dianjurkan pada pagi hari (sebelum jam 06.00) karena selain udara yang masih bersih juga suasana masih tenang sehingga membantu penderita lebih nyaman dan tidak mengalami stress yang tinggi. Olah raga yang teratur akan

memperbaiki sirkulasi insulin dengan cara meningkatkan dilatasi sel dan pembuluh darah sehingga membantu masuknya glukosa ke dalam sel.

3. Obat

a. Obat-obatan hipoglikemik oral (OHO) Untuk sediaan Obat Hipoglikemik Oral terbagi menjadi 3 golongan:

1. Obat-obat yang meningkatkan sekresi insulin atau merangsang sekresi insulin di kelenjar pankreas, meliputi obat hipoglikemik oral golongan sulfonilurea dan glinida (meglitinida dan turunan fenilalanin).
2. Sensitiser insulin (obat-obat yang dapat meningkatkan sensitifitas sel terhadap insulin), meliputi obat-obat hipoglikemik golongan biguanida dan tiazolidindion, yang dapat membantu tubuh untuk memanfaatkan insulin secara efektif.
3. Inhibitor katabolisme karbohidrat, antara lain Inhibitor α -glukosidase yang bekerja menghambat absorpsi glukosa dan umum digunakan untuk mengendalikan hiperglikemia post-prandial.

b. Insulin Ada berbagai jenis sediaan insulin eksogen yang tersedia, yang terutama berbeda dalam hal mula kerja (onset) dan masa kerjanya (duration). Sediaan insulin untuk terapi dapat digolongkan menjadi 4 kelompok, yaitu:

1. Insulin masa kerja singkat (Short-acting Insulin), disebut juga insulin reguler. Yang termasuk disini adalah insulin reguler (Crystal Zinc Insulin/CZI).
2. Insulin masa kerja sedang (Intermediateacting) Bentuknya terlihat keruh karena berbentuk hablur-hablur kecil, dibuat dengan menambahkan bahan yang dapat memperlama kerja obat dengan cara memperlambat penyerapan insulin kedalam darah. (3) Insulin masa kerja sedang dengan mula kerja cepat Yaitu insulin yang mengandung insulin kerja cepat dan insulin kerja sedang. Insulin ini mempunyai onset cepat dan durasi sedang (24 jam).
3. Insulin masa kerja panjang (Long-acting insulin) Merupakan campuran dari insulin dan protamine, diabsorsi dengan lambat dari tempat penyuntikan sehingga efek yang dirasakan cukup lama, yaitu sekitar 24 – 36 jam.

c. Terapi Kombinasi

Pada keadaan tertentu diperlukan terapi kombinasi dari beberapa OHO atau OHO dengan insulin. Kombinasi yang umum adalah antara golongan sulfonilurea dengan biguanida. Sulfonilurea akan mengawali dengan merangsang sekresi pankreas

yang memberikan kesempatan untuk senyawa biguanida bekerja efektif. Kedua golongan obat hipoglikemik oral ini memiliki efek terhadap sensitivitas reseptor insulin, sehingga kombinasi keduanya mempunyai efek saling menunjang. Pengalaman menunjukkan bahwa kombinasi kedua golongan ini dapat efektif pada banyak penderita diabetes yang sebelumnya tidak bermanfaat bila dipakai sendiri-sendiri (Ningsih & Kusuma, 2017).

4.2 Inulin Sebagai Anti Diabetes

Penderita diabetes mellitus meningkat dari tahun ke tahun yang dapat diakibatkan oleh resistensi insulin dan defek fungsi sel beta pancreas sehingga terjadi peningkatan kadar gula darah dan gejala kronis lainnya. Hasil penelitian menemukan bahwa *Vegetable leather* brokoli dengan penambahan inulin 100% memiliki kadar indeks glikemik rendah sehingga akan menurunkan penyerapan glukosa sehingga menurunkan kadar gula darah (Pratiwi & Noer, 2014).

Pemberian inulin dengan akar chicori dapat menurunkan kadar gula darah dapat dengan adanya penurunan hemoglobin A1c (HbA1c), dan merupakan standar emas dalam kontrol gula darah (Nishimura et al., 2015).

Inulin yang diperkaya dengan oligofruktan yang diberikan pada wanita dengan diabetes tipe 2 pada dosis 10 g/ hari selama 8 minggu dapat memperbaiki indeks glikemik atau HbA1c, profil lipid, status antioksidan dan malondialdehid (Aliasgharzadeh et al., 2015). Selain itu juga dapat menurunkan secara signifikan glukosa darah puasa (FBG), hemoglobin glikosilasi (HbA1c), insulin puasa (FINS) dan homeostasis model assessment-insulin resistance (HOMA-IR) (Wang et al., 2019).

Pemberian inulin dari sawi putih pada penderita diabetes juga juga diperoleh hasil terjadinya konsentrasi glukosa darah puasa (FSG), Hb A1C, AST dan ALP, dan peningkatan serkalsium serum (Farhangi, Javid, & Dehghan, 2016). Pemberian kombinasi antara inulin dengan susu dengan suplemen inulin selama 12 minggu pada pasien lansia dengan diabetes dapat memperbaiki control glisemik, insulin resisten dan menurunkan tekanan darah (Cai et al., 2018).

Hal tersebut menunjukkan bahwa penurunan kadar gula darah dapat terjadi oleh adanya aktivasi insulin-dependent phosphatidylinositol 3-kinase/Akt (PI3-K/Akt) dan insulin-independen Jalur protein kinase (AMPK) yang diaktifkan AMP yang merupakan

efek dari kerja inulin (Yun et al., 2009). Selain itu inulin dapat meningkatkan metabolisme glukolipid, dan mengaktifkan IRS tetapi menekan jalur MAPK secara in vivo dan in vitro (Ning et al., 2017).

Hasil penelitian lain menemukan bahwa pemberian suplemen inulin pada tikus dengan diabetes tipe 1 yang diinduksi dengan STZ dapat memperbaiki fungsi pankreas, meningkatkan sensitifitas insulin, memperbaiki mikrobiota usus dengan peran *short-chain fatty acids* (SCFA), dan memperbaiki IL 22 (Zou et al., 2021). Begitu juga pada pemberian KI (konjak+Inulin) setiap hari selama 28 hari pada tikus dengan diabetes tipe 1 dan 2 secara signifikan dapat menurunkan kadar glukosa darah dan trigliserida darah, serta meningkatkan produksi insulin di pulau kecil langerhans pankreas dan mengurangi perkembangan obesitas (T. Gao et al., 2019). Inulin juga dapat meningkatkan perbaikan kadar glukosa dan lipid darah, mengaktifkan transportasi glukosa melalui translokasi GLUT4 yang dimediasi oleh perbaikan jalur pensinyalan insulin karena penurunan ekspresi Resistin (RETN) dan peningkatan fosforilasi IRS dan Akt pada tikus dengan diabetes (Miao et al., 2021).

Hasil penelitian sebelumnya juga menemukan bahwa inulin yang dikombinasikan dengan polisakarida ganoderma lucidum pada tikus diabetes mellitus (T2DM) tipe 2. Tikus T2DM yang diinduksi oleh diet tinggi lemak (HFD) dan streptozotocin (STZ) selama 5 minggu ditemukan hasil bahwa kombinasi inulin dan ganoderma polisakarida lucidum secara signifikan dapat meningkatkan parameter terkait metabolisme glukosa dan lipid pada tikus DMT2, yang terkait dengan peningkatan sensitivitas insulin, peningkatan sintesis glikogen dan memfasilitasi transportasi glukosa dengan mengaktifkan jalur PI3K/Akt (Liu, Li, Zhang, Sun, & Zhang, 2019).

Selain itu Diabetes dapat terjadi oleh adanya peradangan seperti adanya peningkatan Protein C-reaktif (hs-CRP), faktor nekrosis tumor- α (TNF- α), dan interleukin-6 (IL-6), hal ini dapat memicu terjadinya resistensi insulin dan kerusakan sel β pankreas. Dari beberapa penelitian menyebutkan bahwa peradangan dan perubahan mikrobiota usus dapat memodulasi lipopolisakarida (LPS) yang berkontribusi terhadap implikasi metabolisme dan kerusakan sel β Pankreas. Peran inulin sebagai serat makanan yang larut dalam air dan tidak dapat dicerna didalam usus memberikan efek positif terhadap peradangan. Inulin merupakan karbohidrat yang mengandung monomer

fruktosa dengan ikatan beta (1-2) diperkaya oligofruktosa dan dapat difermentasi sehingga dianggap sebagai prebiotik dengan meningkatkan Bifidobacteria yang lebih tinggi dan Lactobacilli sehingga mengurangi peradangan serta memberi efek positif terhadap kesehatan (Dehghan, Pourghassem Gargari, & Asghari Jafar-abadi, 2014).

Hasil penelitian menyebutkan dengan pemberian Inulin tipe fruktan selama 6 minggu didapatkan hasil terjadi peningkatan mikrobiota usus pada DM tipe 2 (Birkeland et al., 2020). Selain itu juga Pemberian diet inulin juga dapat meningkatkan kekebalan usus dan pankreas, sebagai barrier, serta homeostasis mikrobiota (Chen et al., 2017).

Hasil penelitian terhadap pasien dengan diabetes menunjukkan bahwa pemberian inulin 10 g/ hari mampu memodulasi peradangan dan endotoksemia metabolik pada wanita dengan diabetes tipe 2, dengan menunjukkan adanya penurunan secara signifikan terhadap Gula darah puasa (FBS), HbA1c, insulin, protein C-reaktif sensitif tinggi (hs-CRP), tumor faktor nekrosis-alpha (TNF-a), interleukin-10 (IL-10), dan plasma lipopolisakarida (LPS) (Dehghan, Gargari, Jafar-Abadi, & Aliasgharzadeh, 2014).

Temuan yang lain juga menunjukkan adanya penurunan hemoglobin terglikasi (GHb), lipid darah, lipopolisakarida plasma (LPS), interleukin (IL)-6, tumor nekrosis faktor (TNF)- α dan IL-17A (Li et al., 2019).

Begitu juga pada pemberian butirat dan inulin dapat terjadi perubahan tingkat ekspresi miR-146a-5p dan miR-9-5p yang memiliki peran penting dalam mengurangi diabetes melalui penghambatan piroptosis dengan menargetkan TLR2 dan NF- κ B (Roshanravan et al., 2020). NF- κ B merupakan suatu golongan protein dalam faktor transkripsi yang diduga memiliki peran penting dalam pro-apoptosis sel pancreas sehingga akan terjadi peningkatan kerusakan sel pancreas (Ari Nugroho, Mayang Saputri Ginting, & Diana, 2015).

Penyebab terjadinya diabetes mellitus lainnya adalah faktor obesitas. Peningkatan radang dihati, otot dan jaringan adiposa serta terjadinya resistensi insulin terjadi akibat obesitas. Sehingga untuk mencegah dan mengurangi adalah dengan mengkonsumsi makanan yang tinggi serat, salah satunya adalah inulin. Inulin yang berasal dari umbi dahlia adalah bahan pangan tinggi serat hal ini akan menimbulkan terjadinya bulkness. Keadaan seperti ini memicu memperlambat terjadinya

pengosongan lambung sehingga akan memperlambat penyerapan glukosa oleh usus (Ahmed & Rashid, 2019).

Obesitas dapat menyebabkan diabetes karena akan terjadi peningkatan sel radang pada hati, otot dan jaringan adiposa. Namun kerja inulin dapat menurunkan perubahan berat badan pada tikus dengan obesitas dan juga inulin inulin dapat meningkatkan sirkulasi hormon usus anoreksia GLP-1 (Anastasovska et al., 2012), inulin juga dapat menurunkan berat badan dan mengurangi lipid intrahepatoseluler dan intramyoseluler yang merupakan resiko diabetes dan pre diabetes (Guess et al., 2015). Obesitas dapat meningkatkan sel peradangan dan peran inulin ternyata mampu menghambat sekresi produksi IL-6 dan glukoneogenesis hati, menghasilkan moderasi toleransi insulin (Zhang et al., 2018),

Terkait dengan obesitas pada penelitian dengan menggunakan tikus diabetes yang diinduksi diet tinggi lemak dan Streptozosin dengan pemberian *Lactobacillus plantarum* 1058 (ATCC 8014) dan suplemen inulin selama delapan minggu ditemukan dapat menurunkan hiperglikemia, insulin resistensi (IR) dan hiperlipidemia, mengurangi stres oksidatif dan meningkatkan insulin dan kadar leptin di hipotalamus tikus T2DM (Valenia, Morshedi, Saghafi-Asl, Shahabi, & Abbasi, 2018).

Pada tingkat gen sebagai kontrol glisemik juga menemukan bahwa temuan lain dengan pemberian suplemen inulin selama 6 minggu pada pasien dengan diabetes tipe 2 menunjukkan adanya penurunan kadar gula darah puasa dan memberikan keuntungan dalam mengontrol diabetes tipe 2 melalui beberapa ekspresi gen seperti menurunkan ekspresi gen KLF5 mRNA, dan meningkatkan ekspresi gen miR-375 (Ghavami et al., 2018). Selain itu inulin juga dapat menurunkan beberapa ekspresi gen di hati terkait hiperglikemik, penurunan profil lipid, serta peningkata mikrobiota usus, sehingga inulin berpotensi menjadi makanan fungsional yang berfungsi untuk mencegah dan mengobati diabetes (Shao et al., 2020).

Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa diabetes terjadi akibat tresistensi insulin dan kerusakan sel β pankres sehingga dapat menurunkan produksi insulin dan serta berbagai faktor seperti salah satunya adalah obesitas atau gaya hidup. Obesitas memicu terjadinya resistensi insulin dan kerusakan β pankreas akibat adanya peradangan pada sel adiposa. Namun ternyata sel peradangan dapat meningkat karena ketidak seimbangan mikrobiota usus. Nah disinilah kerja inulin tersebut yaitu

meningkatkan keseimbangan mikrobiota usus sehingga menurunkan sel peradangan yang menyebabkan terjadinya kerusakan sel β pankreas dan resistensi insulin. Namun Inulin juga bekerja terhadap profil lipid yang mencegah timbulnya obesitas, selain itu berperan terhadap penurunan beberapa ekspresi gen terkait hiperglikemik, dan bekerja langsung sebagai kontrol glikemia dengan aktivasi insulin-dependent phosphatidylinositol 3-kinase/Akt (PI3-K/Akt) dan insulin-independen Jalur protein kinase (AMPK) yang diaktifkan AMP, serta mengaktifkan transportasi glukosa melalui translokasi GLUT4.

BAB V

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI MOLEKULER KAPANG ENDOFIT UMBI DAHLIA MERAH SEBAGAI SUMBER INULINASE

5.1. Pendahuluan

Penyakit diabetes merupakan penyebab utama kematian secara global sekitar 8,7% orang dewasa yang diakibatkan oleh ketidak mampuan tubuh untuk memproduksi insulin (Diabetes Tipe-1) atau karena ketidak mampuan sel untuk merespon insulin (Diabetes Tipe -2) (Hassan, Rehman, Aziz, & Salman, 2018). Organisasi Kesehatan Dunia memperkirakan kematian akibat diabetes menempati peringkat ke-7 diseluruh dunia dan diperkirakan 366 juta orang dewasa menderita diabetes pada tahun 2030, dengan 90% orang akan menderita diabetes tipe 2 (DMT2) (Huang et al., 2016). Diabetes dapat mengakibatkan komplikasi akut dan kronik yang dapat menimbulkan kematian. Di Indonesia prevalensi Diabetes mencapai 8,5% atau sekitar 20,4 juta orang indonesia menderita penyakit Diabetes (RISKESDAS, 2018). Hasil penelitian sebelumnya menemukan bahwa diet dengan pola asupan gula yang tinggi dan rendahnya asupan buah, sayur, kacang-kacangan/ biji-bijian, sereal, dan teh teridentifikasi adanya variasi lipid darah yang secara signifikan terkait dengan peningkatan risiko diabetes tipe 2 (Duan, Dekker, Carrero, & Navis, 2021).

Peningkatan kasus diabetes dari tahun ke tahun ini perlu untuk mencari alternatif diet yang sesuai agar mengurangi resiko keparahan penyakit tersebut diantaranya adalah pemanfaatan gula rendah kalori seperti fruktosa dari bahan alam umbi dahlia. Inulin dari umbi dahlia dapat menghasilkan fruktosa melalui reaksi enzimatik dari kapang yang memiliki aktifitas inulinase. Reaksi enzimatik sangat menguntungkan karena dapat berlangsung dalam kondisi yang ringan (mild), sehingga penelitian tentang enzim mikrobial dan aplikasi biokatalisnya merupakan pengembangan bioteknologi mikroba yang penting dimasa depan. Penelitian ini penting terutama untuk menemukan inulinase dari kapang endofit yang memiliki aktivitas dan spesifisitas yang tinggi. Enzim inulinase tertinggi dari kapang endofit ini dapat digunakan oleh industri untuk memproduksi pemanis alternatif dari inulin umbi dahlia yang dapat digunakan bagi penderita diabetes (Saryono, Fitriani, & Soedjanaatmadja, 2016).

Pemanis alternatif dari inulin umbi dahlia salah satunya fruktosa. Produksi fruktosa secara langsung dari inulin oleh inulinase hanya memerlukan satu tahap reaksi

enzimatis dan menghasilkan 95% fruktosa sehingga lebih efisien, dibanding dengan produksi fruktosa dari pati yang memerlukan beberapa tahap dan menghasilkan fruktosa lebih rendah (Saraswati et al., 2017)

Umbi Dahlia dari tanaman bunga Dahlia merah berasal dari Berastagi Sumatera Utara. Pemanfaatan umbi dahlia saat ini belum optimal dimasyarakat dan dianggap sebagai limbah pertanian. Umbi dahlia merupakan tanaman yang mengandung karbohidrat dan mengandung inulin cukup tinggi. Inulin sangat baik sebagai serat makanan (Susilowati, Aspiyanto, Melanie, Iskandar, & Maryati, 2015), dan digunakan sebagai prebiotik. Selain itu inulin juga terdapat pada sawi putih, artichoke yerusalem, aguamie, asparagus, dan agave (R.S. Singh, Singh, & Kennedy, 2020).

Inulin banyak mendapat perhatian karena berasal dari bahan alam yang murah dan berlimpah dapat digunakan sebagai bahan sirup fruktosa, fermentasi etanol, protein sel tunggal, minyak sel tunggal, asam sitrat, nulooligosaccharide (IOS) dan bahan kimia lainnya (Chi et al., 2011). Selain itu dapat digunakan untuk meningkatkan cita rasa makanan, dan memiliki berbagai fungsi fisiologis seperti menurunkan gula darah dan lemak darah, antikanker, mengatur flora mikroba usus, meningkatkan penyerapan mineral dan vitamin (Wan et al., 2020).

Penelitian sebelumnya menemukan bahwa inulin yang berasal dari Asparagus dapat mengatur mikrobiota usus dengan merangsang pertumbuhan *Prevotella*, *Megamonas*, dan *Bifidobacterium* serta menipisnya *Haemophilus*, sehingga inulin berpotensi sebagai suplemen makanan atau obat untuk meningkatkan kesehatan (Sun et al., 2021).

Inulin merupakan polimer yang mengandung 2 sampai 70 unit fruktosa. Fruktosa pada inulin dihubungkan satu sama lain oleh ikatan β -2,1 fruktosil-fruktosa. Pada ujung polimer inulin dapat terikat glukosa. Hidrolisis inulin menghasilkan gula pereduksi yaitu fruktosa dan FOS. Pemotongan inulin menjadi fruktooligosakarida dapat dilakukan dengan memutus ikatan β -2-1 fruktofuransida melalui hidrolisis enzim inulinase (Ruswandi, 2018). FOS dapat digunakan sebagai prebiotik, serat larut (*soluble dietary fiber*), faktor stimulat Bifidus, pemanis rendah kalori, bersifat non-karsinogenik, dan berfungsi baik untuk manajemen kesehatan saluran cerna (*management gut health*) (Yuliana et al., 2014).

Tahapan penting yang harus dilakukan untuk memperoleh enzim inulinase berskala besar adalah melalui isolasi kapang (Susilowati, 2013), untuk mengisolasi inulinase dalam jumlah yang cukup dari tumbuhan, cukup sulit, oleh karena itu, kajian mengenai inulinase mikrobial sangat menarik dan menjadi perhatian banyak peneliti. Enzim inulinase yang dapat digunakan sebagai hidrolisis inulin salah satunya dari jenis kapang endofit yang didapat dari umbi dahlia. Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya bahwa kapang endofit jenis *Aspergillus clavatus* merupakan kapang yang memiliki keunggulan dengan menghasilkan enzim inulinase terbesar dan memiliki aktivitas inulinase lebih baik pada hidrolisis inulin hari ke tiga selama 30 jam, sebanyak 66,96% (Saryono, Fitriani, et al., 2016).

Dari latar belakang tersebut penulis akan meneliti jenis kapang endofit yang memiliki aktifitas inulinase tertinggi melalui isolasi dan indentifikasi molekuler kapang endofit umbi dahlia merah sebagai bahan dasar penghasil fruktosa secara enzimatik untuk penatalaksanaan diet rendah kalori pasien diabetes mellitus. secara enzimatik. Penelitian ini untuk mendapatkan isolat baru kapang endofit yang memiliki aktifitas inulin tertinggi sehingga menambah varian baru enzim inulinase yang nantinya dapat digunakan industri untuk menghasilkan fruktosa secara enzimatik dari tepung inulin umbi dahlia merah. Urgensi penelitian ini cukup tinggi mengingat pentingnya peningkatan produksi pangan yang bermanfaat bagi kesehatan dengan mengeksplorasi sumber daya alam lokal yang tersedia.

5.1.1 Perumusan Masalah

Umbi dahlia merah penghasil inulin cukup tinggi, umbi dahlia merah dapat diisolasi untuk mendapatkan kapang endofit penghasil inulinase. Kapang endofit yang memiliki inulinase tertinggi dapat digunakan untuk menghasilkan fruktosa secara enzimatik oleh dunia industri sebagai gula rendah kalori bagi penderita diabetes mellitus. Maka perumusan masalah pada penelitian ini adalah. Apakah isolasi dan indentifikasi molekuler kapang endofit umbi dahlia merah dapat menemukan kapang endofit penghasil inulinase?

5.1.2 Tujuan Penelitian

5.1.2.1 Tujuan Umum Penelitian

Berdasarkan perumusan masalah yang diuraikan diatas, maka tujuan umum penelitian adalah untuk melakukan isolasi dan identifikasi molekuler kapang endofit umbi dahlia merah penghasil inulinase

5.1.2.2 Tujuan Khusus Penelitian

Tujuan khusus penelitian adalah untuk:

1. Menganalisis kadar proksimat bahan umbi dahlia merah
2. Menentukan nilai rendemen inulin umbi dahlia merah
3. Mengidentifikasi secara makroskopis dan mikroskopis kapang endofit umbi dahlia merah penghasil inulinase untuk memproduksi fruktosa sebagai gula renda kalori pada pasien diabetes mellitus
4. Menentukan kadar inulinase tertinggi kapang endofit umbi dahlia merah penghasil inulinase untuk memproduksi fruktosa sebagai gula renda kalori pada pasien diabetes mellitus
5. Mengidentifikasi secara molekuler kapang endofit umbi dahlia merah penghasil inulinase untuk memproduksi fruktosa sebagai gula renda kalori pada pasien diabetes mellitus

5.1.3. Manfaat Penelitian

Berdasarkan tujuan penelitian di atas, maka manfaat penelitian adalah:

- a. Memberikan informasi ilmiah dan referensi dalam dunia kedokteran tentang bahan alam khususnya umbi dahlia yang mengandung inulin untuk menghasikan fruktosa melalui kerja enzim inulinase
- b. Sebagai pertimbangan masyarakat bahwa kapang yang memiliki aktifitas inulinase tertinggi dari isolasi endofit umbi dahlia dapat digunakan oleh industri untuk mengubah inulin menjadi fruktosa dari bahan alam umbi dahlia
- c. Sebagai dasar pengembangan bahan baku dari sumber alam khususnya umbi dahlia dan sebagai dasar penelitian lanjut pada manusia untuk mencegah diabetes mellitus tipe 2

5.1.4. Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian adalah sebagai berikut:

Ho: Tidak di temukan kapang endofit umbi dahlia merah penghasil inulinase untuk memproduksi fruktosa sebagai gula rendah kalori pada pasien diabetes mellitus.

Ha: Ditemukan kapang endofit umbi dahlia merah penghasil inulinase untuk memproduksi fruktosa sebagai gula rendah kalori pada pasien diabetes mellitus

5.2. Metode Penelitian

5.2.1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah *true experiment* (Dahlan, 2011), bertujuan untuk mengetahui secara makroskopis, mikroskopis dan molekuler kapang endofit umbi dahlia merah penghasil inulinase untuk memproduksi fruktosa sebagai gula renda kalori pada pasien diabetes mellitus.

5.2.2. Tempat dan Waktu Penelitian

5.2.2.1 Tempat Penelitian

Penilaian karakteristik Proksimat Bahan dan nilai rendemen dilaksanakan di laboratorium BARISTAND, Isolasi kapang dilakukan di Laboratorium Biomolekuler FK UNPRI, dan analisis molekuler dilakukan di Laboratorium Penelitian Macrogen Jakarta.

5.2.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Juni- Oktober 2021

5.2.3. Alat Dan Bahan Penelitian

Alat penelitian terdiri dari: Cawan petri, laminar, Autoclav, timbangan elektrik, mikroskop elektron, spuit, kotak gabus, pisau, beaker glas, pengukur suhu ruangan, pengukur PH, rotary shacker, Shaker, Pipet volum, lampu bunsent, spry alkohol, inoculating loop, spektrofotometer, labu ukur, ekstraksi Soxhlet, Oven, Esco Swift MaxPro Thermal cycler, dll.

Bahan penelitian terdiri dari: Umbi dahlia segar, alcohol, PDB, PDA, reagen Nelson, Aquadest, buffer asetat, NACL, $(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$ 0,5%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ 0,05% dan

FeSO₄ 0,015 %, asam sulfat pekat (H₂SO₄), NaOH, NaOCl, *Lactophenol cotton blue* (LCB), CH₃COONa, CH₃COOH, HCL, Larutan Arsenomolibdat, buffer TE, sodium asetat, ITS4, ITS5, larutan etidium bromida, loading dye, Marker, dll.

5.2.4. Prosedur Penelitian

5.2.4.1 Ekstraksi Umbi Dahlia Merah

Tepung inulin dapat dihasilkan dari umbi dahlia dengan cara umbi dahlia dibersihkan dari kotoran dengan air mengalir, kemudian di kupas dan di potong dengan ukuran kecil lalu diblender dengan mencampurkan air perbandingan 1:2 (b:V) hingga seperti jus. Kemudian dipanaskan selama \pm 30 menit dengan suhu 80-90°C. Kemudian dinginkan dan saring. Filtrat hasil saringan tersebut ditambahkan etanol 30% sebanyak 40% dari volume filtrat. Simpan larutan tersebut dengan suhu 0°C selama \pm 18 jam. Kemudian pindahkan pada suhu ruang selama 2 jam. Filtrat tersebut selanjutnya disentrifugasi pada 9000 rpm selama 10 menit sehingga diperoleh endapan inulin basah I dan supernatan I. Kemudian supernatan I ditambahkan kembali etanol 30% % sebanyak 40% dari volume filtrat. Simpan larutan tersebut dengan suhu 0°C selama \pm 18 jam. Kemudian pindahkan pada suhu ruang selama 2 jam. Filtrat tersebut selanjutnya disentrifugasi pada 9000 rpm selama 10 menit sehingga diperoleh endapan inulin basah II dan supernatan II. Berikutnya sampai didapat inulin basah III dan Supernatan III (Yuliana et al., 2014).

Hasil Endapan inulin basah 1, 2 dan 3 kemudian ditambahkan aquades 40 mL dan karbon aktif 0,2 g. Kemudian dipanaskan pada suhu 80-90°C selama 30 menit. Selanjutnya larutan disaring. Selanjutnya filtrat sebanyak 70 mL ditambahkan 28 mL etanol 30% dan disimpan di dalam freezer (\pm -10°C) selama 18 jam. Filtrat tersebut didiamkan pada suhu ruang selama 2 jam, selanjutnya disentrifugasi pada 9000 rpm selama 10 menit sehingga diperoleh endapan putih dan supernatant bening. Endapan putih tersebut dikeringkan dalam oven suhu 50-60°C selama 10 jam sehingga diperoleh inulin kering (Horiza et al., 2017).

5.2.4.2 Analisa Proksimat Bahan

Analisis proksimat bahan umbi dahlia merah dapat diuji dari kandungan Air, Abu, lemak, serat kasar, Protein dan karbohidrat menurut AOAC (*Association Of Official Analytical Chemist*) dalam Felia & Laenggeng, 2014 adalah sebagai berikut:

Analisis protein menggunakan metode makro Kjeldhal dengan cara sebagai berikut: Menyiapkan sampel yang sudah kering dan menghaluskannya, menimbang sampel sebanyak 0,5 gram. Setelah itu memasukkan sampel ke dalam labu Kjeldhal 250 ml dan menambahkan 1,2 gram tablet kjeldahl. Mendestruksi dengan menambahkan asam sulfat pekat (H_2SO_4) 10 ml, sekitar 1-1,5 jam terjadi perubahan warna. Kemudian mendinginkan hasil destruksi dan diencerkan dengan aquades 100 ml, lalu mendestilasi. Memasang tabung destilasi yang berisi 100 ml aquades, ditambahkan sampel dan NaOH masing-masing 5 ml. Selanjutnya memasang gelas destilasi yang berisi asam borit 10 ml dan indikator Penophtalin, menunggu sampai mengalami perubahan warna. Setelah itu, mentitrasi dengan HCl 0,01 N. Penetapan blangko, dimana perlakuannya sama seperti sampel yaitu mendestruksi, mendestilasi, dan mentitrasi, tetapi bedanya hanya menggunakan tablet kjeldhal sebanyak 1,2 gram. Menghitung kadar protein dengan menggunakan rumus analisis protein.

Analisis lemak menggunakan metode Soxhlet dengan langkah-langkah sebagai berikut : Menimbang 5 gram sampel dalam bentuk tepung langsung dalam saringan thimble, kemudian menutup dengan kapas bebas lemak dan selanjutnya sampel dibungkus dengan kertas saring. Meletakkan thimble (kertas saring) yang berisi sampel kedalam alat ekstraksi soxhlet. Memasang alat ekstraksi Soxhlet dengan mengalirkan air pendingin melalui kondensor. Menuangkan pelarut hexsan kedalam labu lemak secukupnya. Melakukan refluks selama 8 jam lalu mendistilasi pelarut yang ada didalam lemak. Selanjutnya mengeringkan labu lemak hasil ekstraksi dalam oven dengan suhu 105^0C . Menghitung kadar lemak dengan menggunakan rumus analisis lemak.

Adapun prosedur kerja untuk menganalisis abu dengan metode gravimetri yakni sebagai berikut: Menimbang 5 gram sampel yang telah dihaluskan, kemudian dimasukkan kedalam tanur selama 3 jam pada suhu 600^0C sampai diperoleh abu warna keputih-putihan. Memasukkan cawan yang berisi abu ke dalam eksikator setelah itu menimbang abu. Menghitung kadar abu/mineral dengan menggunakan rumus analisis abu/mineral.

Adapun prosedur kerja dalam menentukan kadar air dengan cara pemanasan langkah sebagai berikut: Mengeringkan cawan kosong kedalam oven selama 15 menit, lalu mendinginkan dengan eksikator, kemudian melakukan penimbangan dengan timbangan analitik. Menimbang sampel sebanyak 5 gram yang telah diletakkan kedalam cawan, kemudian memasukkan sampel kedalam oven selama 3 jam pada suhu 105°C, lalu didinginkan kedalam eksikator. Menghitung kadar air dengan menggunakan rumus analisis kadar air.

Adapun prosedur kerja dalam penentuan kadar serat kasar yakni dengan langkah-langkah sebagai berikut: Menimbang sampel sebanyak 0,4 gram pada solonsong dari hasil ekstraksi lemak soxhlet dengan timbangan analitik, lalu memasukkan sampel kedalam kertas saring. Memasukkan kertas saring kedalam gelas kimia berisi larutan NaOH 0,3 N sebagai proses pencucian, kemudian dicuci kembali dengan aquades panas. Kemudian mengulangi prosedur kerja untuk dimasukkan kedalam gelas kimia dengan larutan asam sulfat (H₂SO₄) 1,5 N. Setelah mendidih dilakukan pencucian kembali dengan menggunakan aquades. Setelah itu mencuci kertas saring dengan larutan acetone, kemudian kertas saring yang telah dididihkan dimasukkan kedalam oven selama 1 jam pada suhu 105°C, setelah itu menimbang kembali kertas saring dengan menggunakan timbangan analitik. Menghitung kadar serat kasar dengan menggunakan rumus analisis serat kasar.

Penentuan kadar karbohidrat dengan menggunakan metode Proximate, dimana metode ini adalah metode yang paling mudah dan biasa disebut juga dengan *Carbohydrate by difference*, yakni suatu penentuan karbohidrat bukan melalui analisis tetapi melalui perhitungan.

Untuk menghitung kadar protein dengan rumus sebagai berikut:

$$\% N = \frac{\text{ml HCl (sampel - blanko)}}{\text{berat sampel (g)} \times 1000} \times N \text{ HCl} \times 14,008 \times 100\%$$

% Protein kasar = % N x faktor konversi protein

Dimana:

Vb = Volume Blangko

Vs = Volume Sampel

N. HCl = Normalitas HCl

14,00 = Berat atom nitrogen

6,25 = Faktor konversi

Untuk menghitung kadar lemak dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ lemak} = \frac{\text{Berat labu lemak setelah oven} - \text{labu lemak kosong}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

Untuk menghitung kadar abu/mineral dengan menggunakan rumus yakni:

$$\% \text{ abu} = \frac{\text{Berat cawan setelah tanur} - \text{berat cawan kosong}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

Untuk menghitung kadar air dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ air} = \frac{(W_o + W_s) - W_i}{W_s} \times 100\%$$

Dimana:

W_o= Berat cawan

W_i= Berat kering

W_s= Berat sampel

Maka: % Kadar Serat Kasar = (C – B / A) x 100%

Keterangan :

- A : Bobot sampel
- B : Bobot Kertas saring konstan
- C : Bobot kertas saring + residu (Konstan)

Untuk menghitung kadar karbohidrat dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

% Karbohidrat = 100 - % (protein + lemak + abu + air + serat kasar) (Feliana, Laenggeng, & Dhafir, 2014).

5.2.4.3 Pembuatan Media PDA (*Potato Dextrose Agar*)

Pembuatan media agar adalah dengan ukuran 39 gr pada 1000ml aquadest, sehingga tahap awal isolasi memerlukan 3,9 gram dalam 100 ml aquadest untuk mendapatkan 6 cawan petri dengan setiap cawan petri berisi 15-20 ml. Setelah di timbang kemudian dimasukkan dalam beker glass dan tuangkan aquadest 100 ml secara perlahan sambil diaduk, kemudian letakkan di magnetic stirrer dan pemanasan menggunakan *hot plate* suhu 100°C sampai tercampur rata dan kelihatan lebih jernih. Setelah itu beker glass ditutup dengan alumenium foil dan di sterilkan dengan suhu 121⁰C selama 15 menit.

5.2.4.4 Isolasi Endofit Kapang Dari Umbi Dahlia

300 gr Umbi Dahlia yang telah di cuci bersih lalu didisterilkan kulit bagian luar dengan etanol 70% selama 30 detik, larutan NaOCl (pengenceran 2x yaitu 150 NaOCl + 150 Aquadest) selama 3 menit, etanol 70% 1 menit dan dibilas dengan aquadest, lalu dipotong dan diambil bagian tengahnya dan ditumbuhkan dalam media PDA yang sudah di sterilkan di autoclave dengan suhu 121⁰C selama 15 menit dan telah diberi 250 gr klorampenikol sebagai anti bakteri, dengan masa inkubasi selama 5 hari sebanyak 6 cawan petri.

5.2.4.5 Pemiakan Murni

Pemiakan murni dilakukan setelah cawan petri telah tumbuh koloni kapang. Kemudian setelah tumbuh dan diketahui secara morfologi beberapa isolat kapang yang berbeda maka dilakukan pemiakan murni dengan mengambil menggunakan jarum ose yang sudah disterilkan dengan bunsen, kemudian digoreskan pada media PDA dengan campuran inulin 1% dan Cloramfenikol 250 gr sebagai anti bakteri, dalam cawan petri dimana setiap satu isolate ke cawan yang berbeda dengan kode UD1, UD2, UD3, UD4, dan UD5 kemudian diinkubasi pada suhu ruang (30⁰C) selama 72 jam atau sampai terlihat pertumbuhan jamur dan disimpan sebagai kultur stok.

5.2.4.6 Identifikasi Kapang

Karakterisasi isolat jamur dilakukan dengan Identifikasi kapang melalui makroskopis dengan melihat bentuk koloni, warnah permukaan atas dan balik serta misellium. Pengamatan secara makroskopis dapat dilihat seperti: Koloni beraturan, tidak beraturan, menggunung, koloni tampak mempunyai benang dengan serabut tipis seperti kapas dan rata. Koloni memiliki warnah putih, kuning, coklat gelap, hijau dan hitam. Misellium yang merupakan kumpulan beberapa filamen yang disebut hifa dapat berwarnah, putih, kuning, putih susu. Konidiospora tebal berwarna coklat gelap sampai hitam, membentuk serabut tipis seperti kapas.

Pengamatan secara mikroskopis melalui pewarnaan preparat menggunakan *Lactophenol cotton blue* (LCB) selanjutnya diperiksa dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000x, dilakukan dengan mengidentifikasi warna spora dan hifa (Susilowati, 2013).

Langkah kerja dalam teknik pewarnaan kapang yaitu dibersihkan objek glass dan cover glass menggunakan alkohol 70% dan diusap dengan tisu untuk menghilangkan noda dan lemak yang menempel. Disiapkan larutan LCB dan ditetaskan sedikit larutan di tengah objek glass. Disiapkan kultur kapang atau jamur murni. Disterilkan jarum ose di atas Bunsen. Kemudian, diambil sedikit hifa kapang yang ada di bagian tepi menggunakan jarum ose. Ditaruh di permukaan objek glass yang telah ditetesi LCB. Setelah itu, diuraikan hifa secara berhati-hati menggunakan dua jarum pentul yang telah disterilkan menggunakan bunsen. Ditutup sediaan kapang menggunakan cover glass secara hati-hati dan diusahakan tidak ada gelembung udara dalam preparat. Preparat pewarnaan jamur siap diamati menggunakan mikroskop.

Secara mikroskopis dapat dilihat hifa berseptata atau tidak, Miselenium bercabang atau tidak, batang tubuh transparan atau tidak, Ada atau tidaknya Konidium berbentuk bulat atau disebut globusa.

5.2.4.7 Skrining Aktifitas Inulinase

Aktivitas inulinase pada isolat diskroning dengan media PDA dan 1% inulin powder, setelahnya dalam suhu 28-30°C selama 5-7 hari isolat diinkubasi. Untuk melihat aktivitas hidolisa inulinase oleh isolat, lugol iodine dituangkan pada petri selama 3 – 5 menit lalu dibuang, selanjutnya tuangkan akuabidest untuk menghapus lugol iodine yang tersisa. Zona bening menandakan hidrolisis inulin oleh kapang (Nabila et al., 2021). Hasil positif ditunjukkan dengan adanya zona bening di sekitar kapang endofit, sedangkan hasil negatif ditunjukkan dengan tidak adanya zona bening (Kusmiyati, Sunarti, Wahyuningsih, & Widodo, 2020).

Aktivitas inulinase, dikelompokkan menjadi 3 kategori yaitu aktivitas rendah dengan perbandingan luas zona bening terhadap luas koloni <1, diberi simbol (+), aktivitas sedang <1-2 (++), aktivitas tinggi dengan rasio >2 (+++). Isolat dengan aktivitas inulinase tertinggi diidentifikasi lebih lanjut secara molekuler (Silvera, Luthfin, Aulia, Wahyu, & Saryono, 2018).

5.2.4.8 Pembuatan Larutan Pereaksi Untuk Uji Aktivitas Inulinase

a) Pembuatan Larutan Buffer Asetat 0,2 M

Ditimbang sebanyak 16,4 g CH₃COONa kemudian diencerkan dalam labu takar

1L sehingga konsentrasi larutan CH_3COONa 0,2 M. Disiapkan 11,55 mL CH_3COOH kemudian diencerkan dalam labu takar 1L sehingga konsentrasi larutan CH_3COOH 0,2 M. Kemudian untuk membuat larutan buffer asetat dengan pH 5,0 maka diambil sebanyak x mL larutan CH_3COOH 0,2 M dicampurkan dengan larutan CH_3COONa 0,2 M sebanyak y mL.

Larutan Bufer Asetat PH 0,5 terdiri dari:

Larutan stok:

A: Larutan asam asetat CH_3COOH (11,55 mL dilarutkan 1000 mL Aquades)

B: Larutan natrium asetat CH_3COONa (16,4 g dilarutkan 1000 mL Aquades)

X ml larutan A + Y ml larutan B, diencerkan sampai 100 ml

| X (ml) | Y (ml) | PH |
|--------|--------|-----|
| 14,8 | 35,2 | 5,0 |

Maka untuk membuat larutan bufer asetat PH 5,0 sebanyak 100 ml adalah:

Larutan asam asetat 0,2 M sebanyak 14,8 ml + 35,2 ml larutan natrium asetat 0,2 M kemudian diukur dengan menggunakan PH Meter. PH larutan tepat 5,0. Larutan ditambahkan HCl 1 N bila terlewat basa, dan tambahkan NaOH 1 N bila terlewat asam. Larutan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml, Tambahkan akuades hingga garis batas, kocok sampai larutan homogen. Konsentrasi bufer asetat ini dalam 100 ml adalah:

$$\text{Asam asetat} : \frac{14,8 \text{ mL}}{100 \text{ mL}} + 0,2 \text{ M} = 0,0296 \text{ M}$$

$$\text{Natrium asetat: } \frac{35,2 \text{ mL}}{100 \text{ mL}} + 0,2 \text{ M} = 0,0704 \text{ M}$$

Kosentrasi bufer asetat PH 5,0 dalam 100 ml adalah:

$$0,0296 \text{ M} + 0,0704 \text{ M} = 0,1 \text{ M}$$

Jadi untuk membuat bufer asetat PH 5,0 sebanyak 100 ml adalah:

$$\frac{14,8 \text{ mL}}{2 \text{ mL}} = 7,4 \text{ mL larutan asam asetat } 0,2 \text{ M} + \frac{35,2 \text{ mL}}{2 \text{ mL}} = 17,6 \text{ mL larutan natrium asetat } 0,2 \text{ M. Atur PH hingga } 5,0 \text{ lalu encerkan hingga } 100 \text{ ml.}$$

b) Pembuatan Reagen Nelson

Nelson A :

Dilarutkan 12,5 g natrium karbonat anhidrat; 12,5 g garam Rochelle (K-Na-Tartrat), 10 g natrium bikarbonat dan 100 g natrium sulfat anhidrat dalam 350 mL

akuades dan diencerkan sampai 500 mL.

Nelson B :

Dilarutkan 7,5 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dalam 50 mL akuades dan ditambahkan 1 tetes H_2SO_4 pekat.

Nb: Pereaksi Nelson dibuat dengan cara mencampurkan Larutan nelson A dan Nelson B dengan perbandingan 25 : 1. Pencampuran dilakukan setiap kali digunakan.

c) Pembuatan Larutan Arsenomolibdat

Dilarutkan 25 g ammonium molibdat dalam 450 mL akuades dan ditambahkan 25 mL asam sulfat pekat. Dilarutkan pada tempat yang lain 3 g $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dalam 25 mL akuades kemudian dituangkan larutan ini kedalam larutan yang pertama. Disimpan dalam botol berwarna coklat dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Larutan pereaksi ini dapat digunakan setelah masa inkubasi dan berwarna kuning.

5.2.4.9 Isolasi Enzim Inulinase (*Crude Enzim*)

Disiapkan kultur fermentasi dengan mengambil sejumlah isolat jamur dilarutkan dalam 25 mL medium *Potato Dextrose Broth* (PDB) pada pH 5,5. Selanjutnya diinkubasi dalam inkubator goyang dengan kecepatan 160 rpm selama 72 jam pada suhu 30°C . Untuk mengekstraksi enzim kasar inulinase sebanyak 2,5 mL kultur fermentasi dimasukkan kedalam labu Erlenmeyer yang berisi 25 mL media isolasi enzim inulinase yang terdiri dari inulin 1 %, $(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$ 0,5%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ 0,05% dan FeSO_4 0,015 % pH 5.5. Selanjutnya diinkubasi selama 120 jam didalam inkubator goyang dengan kecepatan 160 rpm pada suhu 30°C . Dari inkubasi ini akan dihasilkan suspensi enzim inulinase yang selanjutnya disentrifugasi pada kecepatan 3500 rpm selama 15 menit. Filtrat merupakan enzim inulinase kasar (Ali & Wajiha Khalid, 2020).

5.2.4.10 Pembuatan Kurva Kalibrasi Fruktosa

Disiapkan larutan fruktosa standar dalam beberapa tabung reaksi dengan konsentrasi bertingkat dari 20–90 mg/L dari larutan induk fruktosa 1000 mg/L. Ditambahkan reagen Nelson sebanyak 1 mL. Tabung reaksi dipanaskan pada penangas air selama 30 menit. Tabung reaksi didinginkan pada air mengalir sampai suhu 25°C dan ditambahkan 1 mL larutan Arsenomolibdat, diaduk sampai semua endapan larut.

Ditambahkan 7 mL akuades, diaduk kembali sampai homogen. Absorbansi diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 499 nm (Ruswandi, 2018).

5.2.4.11 Pengujian Aktivitas Enzim Inulinase

Pengujian Aktifitas inulinase dilakukan dengan menyiapkan tabung reaksi yang berisi 0,1% larutan inulin, 0,5 ml crude enzim, 1 ml buffer asetat 0,1 M pada pH 5,0 kemudian diinkubasi pada suhu 35°C selama 15 menit. Setelah itu ditambahkan reagen Nelson sebanyak 1 ml dan dipanaskan kembali selama 30 menit, setelah didinginkan ditambahkan 1 ml larutan Arsenomolibdat dan 7 ml aquadest lalu diaduk sampai homogen. Pengukuran Absorbansi dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 499 nm (Romadhoni, Purbaningtyas, Muhaimin, & Fauzi'ah, 2017).

5.2.4.12 Pemeriksaan Molekuler Kapang Endofit Umbi Dahlia

a) Isolasi DNA

Isolasi dilakukan pada setiap isolat kapang yang didapatkan dari hasil pemurnian, isolasi DNA dilakukan dengan metode Cenis (1992) dalam Abd-Elsalam (2013) yaitu miselium yang di inokulasikan dalam 10 ml medium PDB di dalam tabung vial, kemudian ditumbuhkan di rotary shaker selama 72 jam, Kemudian panen miselia dengan cara di sentrifugasi dengan kecepatan 13000 rpm selama 5 menit, Supernatan dibuang kemudian diambil peletnya saja, kemudian pellet dicuci dengan 500 µl TE buffer (dengan pH 8) dan 300 µl buffer ekstraksi, kemudian ditambahkan 150 µl sodium asetat pH 5,2 kemudian setelah diinkubasi pada suhu 20°C selama 10 menit, setelah itu di setrifugasi dengan kecepatan 13000 rpm selama 5 menit kemudian diambil supernatannya sebanyak 600 µl dan dipindahkan kedalam microtube baru. Isopropanol ditambahkan ke dalam microtube yang berisi supernatan dengan volume yang sama, kemudian sentrifugasi dengan kecepatan 13000 rpm selama 10 menit, setelah itu cuci DNA dengan 500 µl ETOH (alkohol 70%) setelah itu keringkan DNA dan larutkan dengan buffer TE sebanyak 20 µl, kemudian disimpan dalam freezer dengan suhu -20°C (Hasyati dkk,2017).

a) Amplifikasi

DNA hasil ekstraksi selanjutnya di amplifikasi menggunakan Esco Swift MaxPro

Thermal cycler. Gen ITS diamplifikasi menggunakan Primer ITS 5 dan ITS 4 Total volume PCR dibuat sebanyak 50 μ l yang terdiri atas 2 μ L primer forward; 2 μ L primer reverse; DNA template 4 μ L; GoTaq(R) Green (Promega) sebanyak 25 μ L; dan 17 μ L Aquabides sebagai pelarut. PCR dijalankan pada kondisi 1 siklus denaturasi awal pada 95°C selama 5 menit, 35 siklus yang terdiri dari denaturasi 95°C selama 1 menit, annealing 57,1°C selama 1 menit, ekstensi 72°C selama 1 menit, ekstensi akhir 72°C selama 7 menit, dan suhu penyimpanan pada tahap akhir 4°C. Primer yang digunakan adalah primer universal ITS1/ITS4, ITS 1 sebagai primer reverse dan ITS 4 sebagai primer forward. primer ITS adalah ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') dan primer ITS4 adalah (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (Hasyati, Suprihadi, Raharjo, & Dwiatmi, 2017).

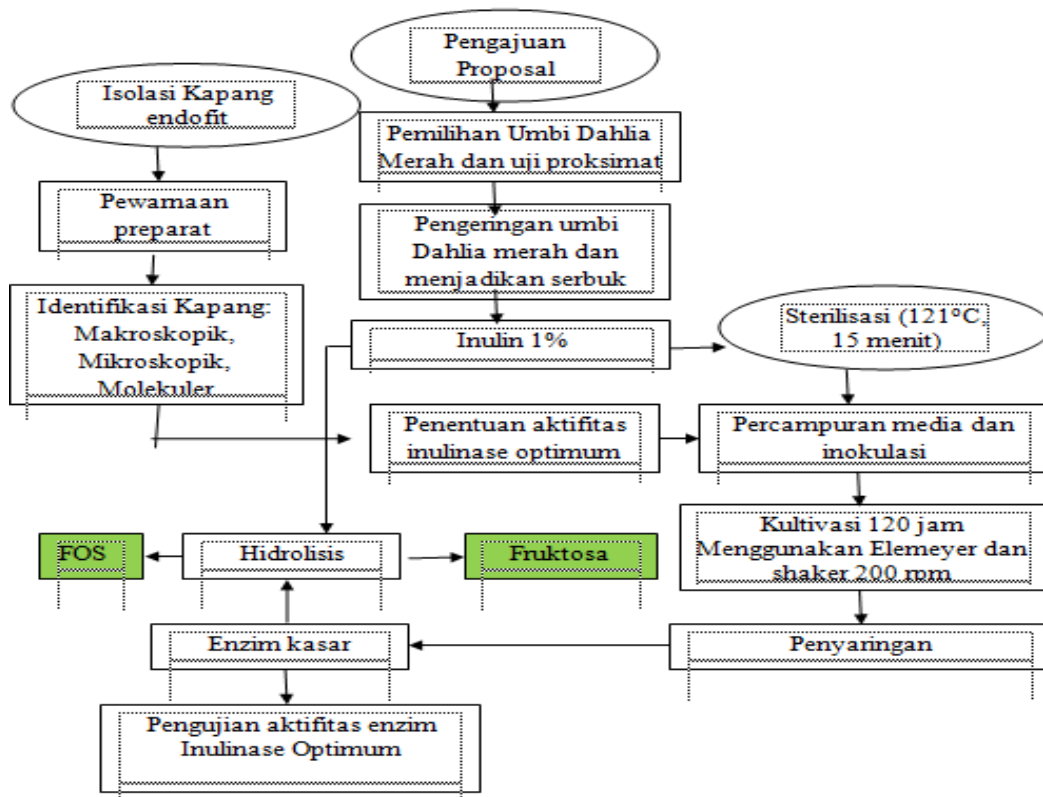
Analisis DNA hasil amplifikasi dilakukan dengan elektroforesis menggunakan gel agarosa 0,8% untuk DNA ekstraksi, sedangkan untuk amplifikasi PCR menggunakan 1,2% gel Agarose. Elektroporesis dilakukan dengan mengambil sebanyak 3 μ l dari Marker 100 bp, dan loading dye 1 μ l kemudian diresuspensi dan dimasukkan ke dalam sumuran pada 1,2% gel agarose, Produk PCR dari setiap sampel diambil sebanyak 3 μ l, kemudian dimasukkan kedalam sumuran pada 1,2% gel agarose tersebut lalu di elektroforesis selama 30 menit dengan voltase 110 volt. Gel agarose yang telah selesai kemudian direndam dengan etidium bromida selama 15 menit, lalu dibilas dengan aquades steril dan dianalisis dengan sinar UV transiluminator (Saryono et al., 2017).

b) DNA Sekuensing

Sekuensing dilakukan untuk melihat susunan basa yang membentuk sekuens DNA. DNA hasil amplifikasi digunakan untuk tahapan perunutan DNA berdasarkan pada metode *dideoxy nucleotide chain termination* (Macrogen Inc., Korea Selatan). Hasil pe-runutan DNA selanjutnya disusun dengan program Bioedit dan dianalisis menggunakan program BLASTN dengan memanfaatkan informasi dari *Genbank* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)

5.2.5. Kerangka Operasional

Gambar 5.1. Kerangka operasional penelitian adalah sebagai berikut:



5.2.6. Analisa Data

Data pada penelitian ini dianalisa secara deskriptif berdasarkan tujuan penelitian dengan menganalisa kadar proksimat bahan, nilai rendemen inulin, pemeriksaan mikroskopis dan makroskopis kapang endofit umbi dahlia merah, pengujian kadar inulinase tertinggi dan identifikasi secara molekuler.

5.3. Hasil Penelitian

5.3.1. Kadar Inulin Ubi Dahlia Merah

Hasil pengukuran rendemen ekstrasi tepung inulin umbi dahlia merah di dapat dilihat pada (Tabel 5.1) dibawah ini:

Tabel 5.1: Nilai rendemen tepung inulin

| No | Parameter | Berat |
|----|-------------------------|-----------|
| 1. | Berat basah umbi dahlia | 2.500 gr |
| 2. | Berat kering | 123,14 gr |
| 3. | Berat Tepung Inulin | 59,42 gr |
| 4. | Nilai rendemen | 48,25% |

Maka nilai rendemen adalah:

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat tepung Inulin}}{\text{Berat awal kering bahan baku}} \times 100\% \\ \text{Rendemen} &= \frac{59,42}{123,14} \times 100\% \\ &= 48,25\% \end{aligned}$$

5.3.2. Analisis Proksimat Bahan

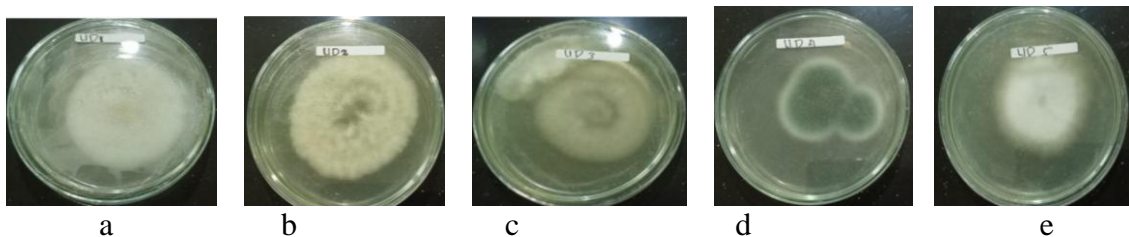
Hasil analisis proksimat bahan dari umbi dahlia merah yang terdiri dari kadar air, kadar abu, lemak total, serat kasar, protein dan karbohidrat. Hasil analisis proksimat bahan umbi Dahlia dapat dilihat pada (Tabel 5.2), dibawah ini:

Tabel 5.2: Analisis proksimat bahan

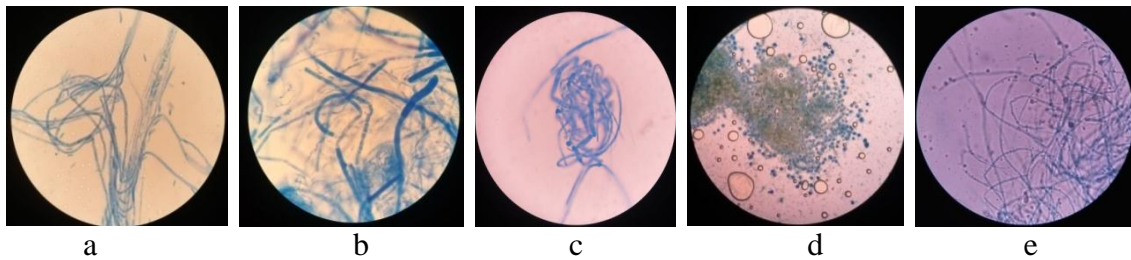
| No | Parameter | Hasil % |
|----|-------------|---------|
| 1. | Kadar Air | 80,8 |
| 2. | Kadar Abu | 0,36 |
| 3. | Lemak Total | 0,33 |
| 4. | Serat Kasar | 1,29 |
| 5. | Protein | 1,15 |
| 6. | Karbohidrat | 14,6 |

5.3.3. Hasil Identifikasi Kapang

Hasil isolasi kapang umbi dahlia merah di dapatkan 5 jenis kapang yang di beri label UD1, UD2, UD3, UD4, dan UD 5, dapat dilihat pada (Gambar 5.2), Kemudian setelah didapatkan hasil, masing-masing jenis kapang dilakukan pembiakan murni sebagai kultur stok. Dari hasil isolasi kapang tersebut dilakukan pengamatan secara Makroskopis dan mikroskopis. Hasil pengamatan secara makroskopis dapat dilihat dari (Gambar 5.2). Pengamatan secara mikroskopis dilakukan pewarnaan terlebih dahulu dengan *Lactophenol Cotton Blue* (LCB) (Gambar 5.3) dan (Tabel.5.3), dibawah ini:



Gambar 5.2. Morfologi kapang secara makroskopis dari isolasi kapang endofit umbi dahlia merah: a).UD1, b). UD 2, c). UD 3, d). UD 4, e) UD 5



Gambar 5.3. Morfologi kapang secara mikroskopis dari isolasi kapang endofit umbi dahlia merah: a).UD1, b). UD 2, c). UD 3, d). UD 4, e) UD 5

Tabel 5.3. Hasil pengamatan morfologi kapang endofit secara makroskopis dan mikroskopis

| No | Jenis Kapang | Pengamatan Makroskopis | Pengamatan Mikroskopis |
|----|--------------|--|---|
| 1. | UDI | Bagian atas: Warnah hifa putih susu, meselenium putih, spora kekuningan, dan koloni tebal Balik: Warnah hifa kekuningan, spora kecoklatan, koloni tebal dan beraturan | Hifa berseptata, miselineum tidak bercabang, batang hifa transparan, dan terdapat spora |
| 2. | UD 2 | Bagian atas: Warnah hifa putih, spora kehijauan, koloni padat dan beraturan Balik: Warnah hifa kekuningan, Spora kecoklatan, koloni tebal dan beraturan | Hifa berseptata, miselenium bercabang, batang transparan, bentuk konidium globusa |
| 3. | UD 3 | Bagian atas: Warnah hifa putih, Spora hitam, koloni padat, berserabut dan beraturan Balik: Warnah hifa kekuningan, spora hitam,, koloni padat beraturan | Hifa berseptata, miselenium bercabang, batang transparan, spora (-) |
| 4 | UD 4 | Bagian atas: Warnah hifa putih, spora hijau, koloni tebal beraturan Balik: Warnah hifa putih, Spora kekuningan, koloni tebal beraturan | Hifa tidak berseptata, miselenium bercabang, konidium globusa, dan terdapat spora |
| 5 | UD 5 | Bagian atas: Warnah hifa putih seperti kapas, spora kekuningan, koloni tebal, beraturan Balik: Warnah hifa kekuningan, spora kuning, koloni tebal dan beraturan | Hifa tidak berseptata, miselenium tidak bercabang, batang transparan, Spora (+) |

5.3.4. Hasil Skrining Aktifitas Inulinase

Hasil skrining aktifitas inulinase dilakukan dengan tiga kali pengulangan dengan cara media murni ditetesi lugol iodin kemudian di bersihkan sisa lugol dengan aquadest, maka didapatkan pengukuran aktifitas inulinase dengan mengukur zona bening pada bagian kapang tersebut dapat dilihat pada (Tabel 5.4).

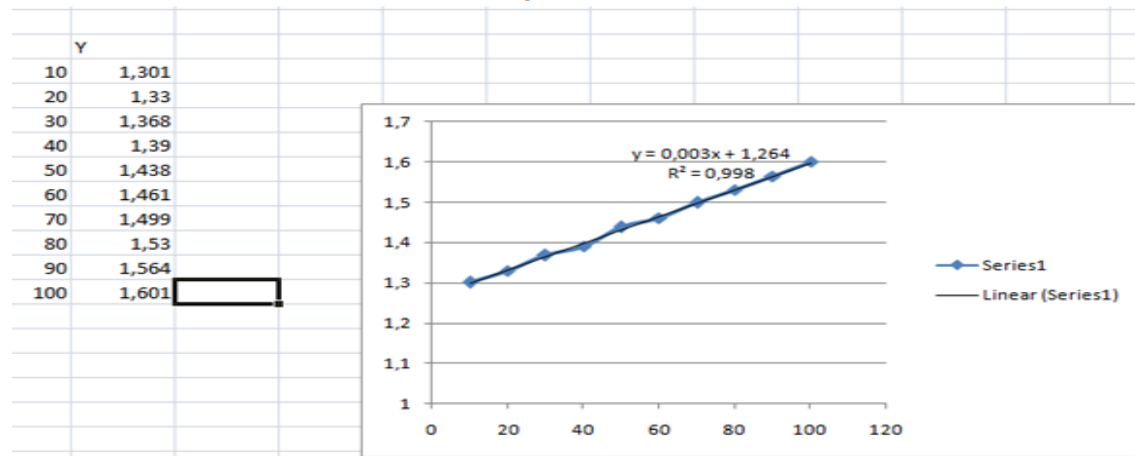
Tabel 5.4. Skrining aktifitas inulinase

| No | Jenis Kapang | Luas Zona Bening | Keterangan |
|----|--------------|------------------|-------------------------|
| 1. | UD 1 | < 1-1 | (+):Aktifitas rendah |
| 2. | UD 2 | < 1-1 | (+): Aktifitas rendah |
| 3. | UD 3 | < 1-2 | (++): Aktifitas sedang |
| 4 | UD 4 | < 1-2 | (++): Aktifitas sedang |
| 5. | UD 5 | > 2 | (+++): Aktifitas tinggi |

5.3.5. Hasil Pengukuran Enzim Inulinase

Pengukuran aktifitas enzim inulinase pada isolate kapang yang memiliki aktifitas inulinase yang tinggi yaitu UD 3, UD4, dan UD 5 dilakukan dengan menentukan kurva kalibrasi fruktosa terlebih dahulu seperti terlihat pada (Gambar 5.4), dan hasil pengukuran aktifitas inulinase dapat dilihat pada (Tabel 5.5). berikut:

Sehingga didapatkan regresi linier: $y = 0,003x + 1,264$
 $R^2 = 0,998$



Gambar 5.4. Gambar regresi linier

Tabel 5.5. Hasil pengukuran aktifitas inulinase

| Kode Isolat | Absorbansi Sampel | Konsentrasi Fruktosa | Aktivitas Enzim Inulinase |
|-------------|-------------------|----------------------|---------------------------|
| UD3 | 1,736 | 157,33333333 | 0,582716049 |
| UD4 | 1,532 | 89,33333333 | 0,330864198 |
| UD5 | 1,819 | 185 | 0,685185185 |

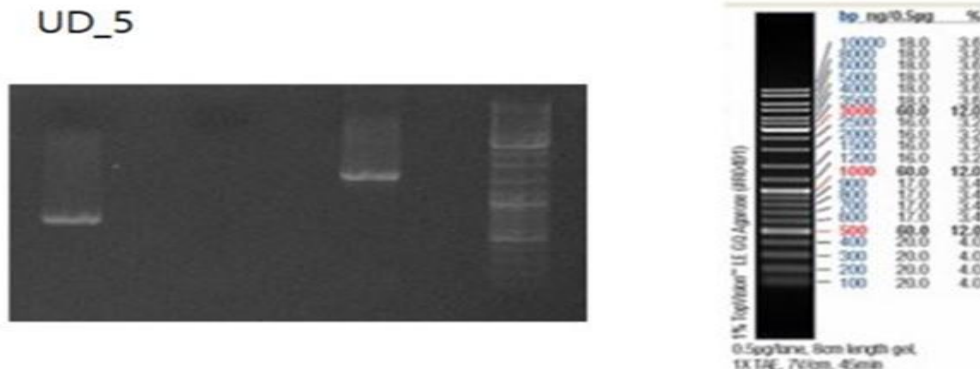
5.3.6. Identifikasi Molekular Kapang Endofit Umbi Dahlia Merah

Setelah dilakukan pengukuran uji aktifitas inulinase maka dilanjutkan dengan identifikasi molekuler dengan primer ITS, Primer yang digunakan untuk amplifikasi

rDNA dan hasil skuensing DNA dengan ITS1 dan ITS 4 dapat dilihat pada (Tabel 5.6), dan (Gambar 5.5) dibawah ini:

Tabel 5.6. Primer yang di gunakan untuk amplifikasi rDNA pada kapang endofit

| Squencig Primer Name Primes Sequences | PCR Primer Name Primer Sequences |
|---|---|
| ITS1 5' (TCC GTA GGT GAA CCT GCG G) 3' | ITS1 5' (TCC GTA GGT GAA CCT GCG G) 3' |
| ITS4 5' (TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC) 3' | ITS4 5' (TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC) 3' |

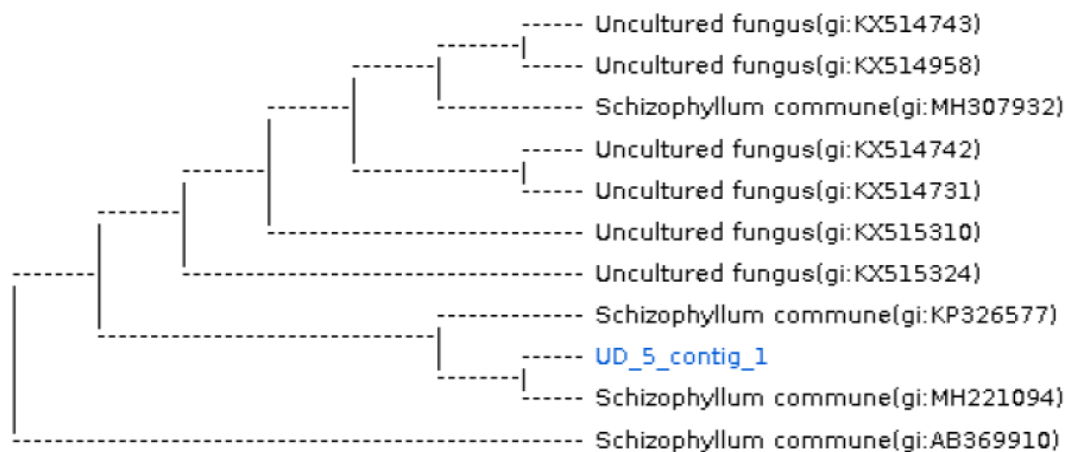


Gambar 5.5. Hasil amplifikasi DNA kapang endofit umbi dahlia merah menggunakan pasangan primer ITS1/ITS 4. M, 100 pb DNA ladder

DNA Squence of UD 5 ITS 1
 CTACAGGGACTGCGGAGATCATTAACGAATCAACAAGTTCATCTTGTTCTGATCCTGTGCACCTTA
 TGTAGTCCCAAAGCCTTCACGGGCGGGCGGTTGACTACGTCTACCTCACACCTTAAAGTATGTTAAC
 GAATGTAATCATGGTCTTGACAGACCCTAAAAAGTTAATACAACCTTCGACAACGGATCTCTTGG
 CTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAAT
 CATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCCCTTTGGTATTCCGAGGGGCATGCCTGTTGAGTGTTCAT
 TAAATACCATCAACCTCTTTTACTTCGGTCTCGAGAGTGGCTTGAAGTGGAGGTCTGCTGGA
 GCCTAACGGAGCCAGCTCCTTAAATGTATTAGCGGATTTCCCTTGCGGGATCGCGTCTCCGATG
 TGATAATTTCTACGTCGTTGACCATCTCGGGGCTGACCTAGTCAGTTTCAATAGGAGTCTGCTTCC
 AACCGTCTCTTGACCGAGACTAGCGACTTGTGCGCTAACTTTTACTTGACCTCAAATCAGGTAGG
 ACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGGCGGATCGCAAGGAAACGTAAGGGGGAGGGGGC
 GGGGGGGGGGGGAGGGGGGGGGCGGGGGACGCCCGCGCGCCACCCAACGAAACCAAGAAG
 TGAAGCGAAGCAGAGGGCCACCCGCGGAGAAACAACCCACACGCCGGCGACAAAAGAAACCC
 AGCCCCAAGCTATTGATCAATATCACGGTGGGGGAGCGACTTACTCTTCACTAATCCATCTTTTTC
 GGAGAAGTGTGAAGGATGCAATATCTTATTCCACTGGATGCGACAGTTAACCTTTAAATACGTC
 CTAGAATAGGCAATAGGGATATCCCGCCGTCTAAATCTTTTGTGCTTCGCCGCGGACGGCATCGT
 AATAAGTTATTATTTCCCGTAATCAGATTAGAAATCTGTGCGCTACATTATATGCTATCACGGGATA
 GGTACACAGCTACACCGAAGATATTTTAAATCCGAGTTTGATATATACGTACCGGTAAGTGAATG
 CATA

DNA Squence of UD 5 ITS 4
 GGACCGGGATGTCTACCTGATTTGAGGTCAGTCAAAAGTTAGCGCACAAGTCGCTAGTCTCGGTC
 AAGAGACGGTTGGAAGCAGACTCCTATTGAAACTGACTAGGTCAGCCCCGAGATGGTCAACGAC
 GTAGAAATTATCACATCGGAGACGCGATCCCGCAAGGGAAATCCGCTAATACATTTAAGAGGAG
 CTGGCTCCGTTAGGCTCCAGCAGACCTCCAAGCCACTCTCGAGACCGAAGTCAAAAGAG
 GGTTGATGGTATTTAATGACACTCAAACAGGCATGCCCTCGGAATACCAAAGGGCGCAAGGTGC
 GTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACATTACTTATCGCATTTTCGCTGCGTCTT
 CATCGATGCGAGAGCCAAGAGATCCGTTGTCGAAAGTTGTATTAACCTTTTAGGGTCTGTCAAGA
 CCATGATTACCTCGTTAACATACTTTAAGGTGTGAGGTAGACGTAGTCAACCCGCCCGCCGTGAA
 GGCTTTGGGACTACATAAGGTGCACAGGATCAGAAACAAGATGAACTTGTTTGATTTCGTTAATGAT
 CCTTCCGAGGTTACCTACGGAAACCTTGTACGATTTTAACTTCCCAC

Gambar 5.6. Penjajaran sekuens DNA UD 5 diverifikasi dengan penjajaran berpasangan menggunakan program Bioedit



Gambar 5.7. Neighbor-joinin tree (NJ) dengan ITS sequence

Hasil yang didapatkan dari identifikasi molekuler dapat dilihat pada (Tabel 5.7), dan (Tabel 5.8), dibawah ini:

Tabel 5.7. Nama jamur

| Acession | Subject | | | | | Score | | Identities | |
|------------|-----------------------|--------|-------|-----|----------|-------|---------|--------------|----------|
| | Description | Length | Start | End | Coverage | Bit | E-Value | Macth/ Total | Pct. (%) |
| AB369910.1 | Schizophyllum commune | 660 | 1 | 652 | 98 | 1194 | 0,0 | 651/653 | 99 |

Tabel 5.8 Strain jamur

| Kingdom | Family | Genus | Species |
|-----------|------------------|---------------|-----------------------|
| Eukaryota | Schizophyllaceae | Schizophyllum | Schizophyllum commune |

Dari hasil pengukuran aktifitas inulinase tertinggi yaitu pada UD 5 sebesar 0,685185185 maka dilakukan identifikasi molekuler dengan primer ITS1 dan ITS 4, sehingga didapatkan bahwa UD5 yang memiliki aktifitas inulinase tertinggi merupakan kapang dengan spicies Schizophyllum commune dari family Schizophyllaceae.

5.3.7. Pembahasan

Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa umbi dahlia mengandung cukup tinggi kadar inulin yang menunjukkan nilai rendemen 48, 25%. Inulin dapat diperoleh dengan mudah dari umbi Dahlia dengan hasil sekitar 65%, yaitu dari umbi yang sudah dikeringkan. Sumber inulin lainnya didapatkan dari akar chicory dan umbi kentang yaco'n. Inulin yang murni dibuat dari umbi Dahlia melalui ekstraksi air panas buffer

dan pretreatment dengan dietilaminoetil selulosa, arang aktif, dan aseton (Fontana, Grzybowski, Tiboni, & Passos, 2011).

Inulin sangat berperan dalam memiliki efek hipoglikemik dengan menurunkan kadar gula darah, HbA1c, insulin resistensi (IR), hiperlipidemia, mengurangi stres oksidatif dan meningkatkan insulin dan kadar leptin pada tikus T2DM (Nishimura et al., 2015).

Pada pemeriksaan Proksimat Bahan umbi Dahlia merah tersebut sesuai dengan penelitian Mangunwidjaja, 2014 yang menemukan bahwa analisis proksimat bahan umbi dahlia merah terdiri dari kadar air, kadar abu, lemak total, serat kasar, protein dan karbohidrat, namun nilai pada masing-masing parameter berbeda dengan penelitian sebelumnya (Mangunwidjaja et al., 2014).

Hasil penelitian juga menunjukkan kadar karbohidrat yang tinggi yaitu 14,6%. Hal ini menunjukkan bahwa Umbi dahlia sebagai sumber karbohidrat. Karbohidrat sangat dibutuhkan oleh tubuh sebagai sumber energi. Karbohidrat dari umbi dahlia ini merupakan serat alami dietary fiber yang dapat dimanfaatkan bagi penderita diabetes melitus. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa mengkonsumsi umbi dahlia sebagai serat alami menunjukkan peningkatan sensitivitas insulin, peningkatan sintesis glikogen dan memfasilitasi transportasi glukosa dengan mengaktifkan jalur PI3K/Akt (Liu et al., 2019). Umbi dahlia juga memiliki kandungan serat kasar 1,29%. Dimana umbi dahlia sebagai serat makanan alami yang larut dengan air berperan meningkatkan kesehatan dan memperbaiki sindrom metabolik (R. S. Singh et al., 2019).

Kadar air pada umbi dahlia memiliki kandungan tertinggi 80,8%. Kandungan atau unsur yang penting pada bahan pangan adalah air. Air mampu menjaga kelangsungan proses biokimiawi suatu bahan pangan. Begitu juga kualitas bahan pangan tergantung pada kandungan air didalamnya, karena kandungan air yang tinggi dapat mempengaruhi peningkatan pembusukan suatu bahan pangan. Maka bahan pangan perlu dikelola dengan baik melalui proses pengeringan (Nadia, 2010).

Penelitian ini melakukan eksplorasi terhadap jenis kapang endofit penghasil inulinase yang akan digunakan oleh dunia industri untuk menghasilkan fruktosa dan fruktooligosakarida melalui proses enzimatik sehingga inulinase merupakan isolat yang penting dalam dunia industri dan farmasi sebagai bahan dasar berbagai makanan dan obat-obatan.

Hasil penelitian ini menghasilkan enzim inulinase tertinggi pada UD 5, dari 5 isolate yang dihasilkan melalui isolasi kapang umbi dahlia merah yang diberi label UD1, UD2, UD3, UD4, dan UD5, dan hasil skrining aktifitas, dan hasil identifikasi molekuler ditemukan jenis kapang *Schizophillum commune* (Tabel 5.8), ini merupakan isolate baru yang akan menambah varian baru enzim inulinase yang nantinya dapat digunakan industri untuk menghasilkan fruktosa secara enzimatik dari tepung inulin umbi dahlia merah, mengingat pentingnya peningkatan produksi pangan yang bermanfaat bagi kesehatan dengan mengeksplorasi sumber daya alam lokal yang tersedia.

Hasil penelitian dari Fragment produk amplifikasi DNA di sequensi pada region ITS1 dan ITS 4. Urutan nukleotida pada jamur dapat mengalami perubahan dikarenakan region ITS memiliki tingkat evolusi yang tinggi. Keadaan ini dapat di gunakan untuk menentukan spesies yang berbeda. Fungsi dengan memiliki urutan yang sama pada basa nukleotida dapat di simpulkan sebagai species yang sama. Selanjutnya program Bioedit Skuencing DNA akan memberikan jawaban atas jenis species tersebut secara lengkap dengan menghasilkan sekuens DNA lengkap dari jamur endofit tersebut Terlihat pada (Gambar 5.7), sehingga hasil penelitian ditemukan *Schizophillum commune* yang mana memiliki kemiripan 99% berdasarkan informasi *Genbank* secara molekuler.

Penelitian ini sejalan dengan pendapat Susilowati, 2013 yang menyebutkan bahwa tahap terpenting untuk menghasilkan enzim inulinase berskala besar yaitu dengan melakukan isolasi kapang endofit (Susilowati, 2013). Penelitian sebelumnya menemukan bahwa kapang endofit dari umbi dahlia yang memiliki aktifitas tertinggi adalah *Aspergillus clavatus* merupakan kapang yang memiliki keunggulan dengan menghasilkan enzim inulinase terbesar dan memiliki aktivitas inulinase lebih baik pada hidrolisis inulin hari ke tiga selama 30 jam, sebanyak 66,96% (Saryono, Fitriani, et al., 2016). Namun pada penelitian ini ditemukan varian baru yaitu jenis *Schizophillum commune* yang memiliki aktifitas inulinase tertinggi sebesar 0,685185185. Selain itu penelitian sebelumnya juga menemukan bahwa *Schizophillum commune* memiliki potensi antioksidan yang baik dan dapat menjadi sumber nutraceutica yang baik meskipun hanya mengandung 2,0 mg/g fenol (Debnath & Saha, 2017).

Umumnya aktivitas inulinase yang dihasilkan berhubungan erat dengan jumlah gula pereduksi yang dihasilkan. Semakin banyak jumlah gula pereduksi yang dihasilkan, maka semakin tinggi aktivitas inulinase dan begitu juga sebaliknya (Awaluddini Ma'riffattullah, Minda Azhar, 2019). Inulinase akan menghidrolisis inulin menjadi fruktosa dan glukosa, inulinase bisa didapatkan dari jamur yang dapat diisolasi dari tanah sekitar tanaman atau dari kapang endofit dari tanaman seperti sawi putih, dahlia dan Yerusalem artichoke (Mansouri et al., 2013).

Fruktosa dapat digolongkan sebagai pemanis alami rendah kalori, memiliki tingkat kemanisan 70% lebih tinggi dari sukrosa, sehingga aman dikonsumsi bagi penderita diabetes. Fruktosa juga dapat digunakan sebagai pemanis alternatif pengganti pemanis buatan. Aplikasi penting lainnya dari enzim inulinase antara lain untuk produksi prebiotik seperti inulooligosakarida (IOS) dan fruktooligosakarida (FOS), serta mampu digunakan untuk produksi etanol, pullulan, dan sorbitol (Risky, Wijanarka, & Pujiyanto, 2019).

Hasil penelitian sebelumnya menemukan bahwa Enzim inulinase ini ada pada *Pichia manshurica* dan Fusan F4 dengan umbi dahlia sebagai substrat. Dan Fusan F4 mampu meningkatkan aktivitas inulinase dan mempunyai kemampuan lebih baik dibanding dengan *Pichia manshurica* (Wijanarka et al., 2015).

Dari hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian sebelumnya yang menemukan sumber inulinase dari jamur seperti ditemukannya *Aspergillus fumigatus* (Rawat, Ganaie, & Kango, 2015), dan *Penicillium* sp, serta sumber inulinase lain dari bakteri seperti *Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp., *Arthrobacter* sp, sumber inulinase dari Khamir seperti *Saccharomyces* sp, *Kluyveromyces* sp, *Candida* sp (Paul & Kumar, 2020).

Sedangkan dari hasil penelitian ini telah ditemukan isolat baru penghasil inulinase tetinggi yaitu *Schizophillum commune*, sehingga nantinya diharapkan pada dunia industri untuk memanfaatkan enzim inulinase dari kapang tersebut dalam produksi Fruktosa dan FOS dari inulin umbi dahlia merah berskala besar.

5.4. Kesimpulan dan Saran

5.4.1. Kesimpulan

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa umbi dahlia mengandung karbohidrat tinggi dan kandungan rendah lemak, memiliki serat kasar dan protein yang dapat digunakan sebagai bahan makanan rendah kalori. Untuk nilai rendemen inulin pada ekstraksi umbi dahlia kering didapatkan nilai 48,25%. Dari hasil pengukuran aktifitas inulinase tertinggi yaitu pada UD 5 sebesar 0,685185185. Hasil identifikasi molekuler dengan primer ITS1 dan ITS4 didapatkan jenis kapang yang memiliki aktifitas inulinase tertinggi merupakan kapang dengan spesies *Schizophillum commune* dari family Schizophillaceae.

5.4.2. Saran

Disarankan pada penelitian dibidang kedokteran atau kesehatan lainnya dapat dilakukan pada tahap uji invitro dan Invivo sampai pada tahap uji ke manusia untuk mendapatkan hasil yang optimal.

5.5. Rencana Tahapan Berikutnya

Setelah dicapai penelitian pertama didapatkan 5 jenis kapang endofit dari isolasi kapang endofit umbi Dahlia merah dan tiga diataranya memiliki aktifitas inulinase, serta satu jenis kapang yaitu *Schizophillum commune* memiliki aktifitas inulin tertinggi maka rencana penelitian tahap berikutnya adalah melakukan penentuan kapang endofit yang memiliki inulinase tertinggi diukur produktifitas enzimnya berdasarkan PH dan suhu, penentuan produk Fruktosa dan FOS dengan metode DNS.

DAFTAR PUSTAKA

- Abou-taleb, K. A., Amin, S. A., & Ahmed, A. I. (2019). *Production of exo-inulinase from Aspergillus niger and Candida oleophila for degradation of chicory root inulin and ethanol production*. 855–867.
- Agrawal, P. K. (2014). Natural Product Communications: Editorial. *Natural Product Communications*, 9(8), 4–7.
- Ahmed, W., & Rashid, S. (2019). Functional and therapeutic potential of inulin: A comprehensive review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(1), 1–13. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1355775>
- Ali, S., & Wajiha Khalid, S. (2020). Kinetic and parametric optimization for the enhanced production of a novel fungal exo-inulinase under liquid culture. *Pakistan Journal of Zoology*, 52(5), 1657–1664. <https://doi.org/10.17582/JOURNAL.PJZ/20180225180228>
- Aliasgharzadeh, A., Khalili, M., Mirtaheri, E., Gargari, B. P., Tavakoli, F., Farhangi, M. A., Dehghan, P. (2015). A combination of prebiotic inulin and oligofructose improve some of cardiovascular disease risk factors in women with type 2 diabetes: A randomized controlled clinical trial. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 5(4), 507–514. <https://doi.org/10.15171/apb.2015.069>
- American Diabetes Association. (2014). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 37(SUPPL.1), 81–90. <https://doi.org/10.2337/dc14-S081>
- Anastasovska, J., Arora, T., Sanchez Canon, G. J., Parkinson, J. R. C., Touhy, K., R. Gibson, G., ... Frost, G. (2012). Fermentable carbohydrate alters hypothalamic neuronal activity and protects against the obesogenic environment. *Obesity*, 20(5), 1016–1023. <https://doi.org/10.1038/oby.2012.6>
- Ari Nugroho, F., Mayang Saputri Ginting, R., & Diana, N. (2015). Kadar NF- K β Pankreas Tikus Model Type 2 Diabetes Mellitus dengan Pemberian Tepung Susu Sapi. *Indonesian Journal of Human Nutrition*, 2(2), 91–100. <https://doi.org/10.21776/ub.ijhn.2015.002.02.4>
- Asih, S., & Puspitasari, I. (2009). *Program kreativitas mahasiswa pemanfaatan Aspergillus clavatus pada produksi fruktooligosakarida (fos) dari umbi dahlia*.
- Awaluddini Ma'riffattullah, Minda Azhar, I. (2019). Penentuan aktivitas inulinase pada substrat inulin a1-kg dari bakteri mesofilik rizosfer umbi dahlia (. *Menara Ilmu*, XIII(2), 153–161. Retrieved from <http://jurnal.umsb.ac.id/index.php/menarailmu/article/viewFile/1204/1056>
- Azhar, M., Ahda, Y., Ihsanawati, I., Puspasari, F., Mawarni, S., Risa, B., & Natalia, D. (2017). Skrining Bakteri Pendegradasi Inulin Dari Rizosfer Umbi Dahlia Menggunakan Inulin Umbi Dahlia. *EKSAKTA: Berkala Ilmiah Bidang MIPA*,

18(02), 13–20. <https://doi.org/10.24036/eksakta/vol18-iss02/44>

- Bhattacharjee, S. K., Vinayananda, S., L. C. De. (2019). *Pain Physician*, 6(22;6). <https://doi.org/10.36076/ppj/2019>
- Birkeland, E., Gharagozlian, S., Birkeland, K. I., Valeur, J., Måge, I., Rud, I., & Aas, A. M. (2020). Prebiotic effect of inulin-type fructans on faecal microbiota and short-chain fatty acids in type 2 diabetes: a randomised controlled trial. *European Journal of Nutrition*, 59(7), 3325–3338. <https://doi.org/10.1007/s00394-020-02282-5>
- Cai, X., Yu, H., Liu, L., Lu, T., Li, J., Ji, Y., ... Yang, Y. (2018). Milk Powder Co-Supplemented with Inulin and Resistant Dextrin Improves Glycemic Control and Insulin Resistance in Elderly Type 2 Diabetes Mellitus: A 12-Week Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Molecular Nutrition and Food Research*, 62(24), 1–32. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201800865>
- Chen, K., Chen, H., Faas, M. M., de Haan, B. J., Li, J., Xiao, P., Sun, J. (2017). Specific inulin-type fructan fibers protect against autoimmune diabetes by modulating gut immunity, barrier function, and microbiota homeostasis. *Molecular Nutrition and Food Research*, 61(8). <https://doi.org/10.1002/mnfr.201601006>
- Chi, Z. M., Zhang, T., Cao, T. S., Liu, X. Y., Cui, W., & Zhao, C. H. (2011). Biotechnological potential of inulin for bioprocesses. *Bioresource Technology*, 102(6), 4295–4303. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.12.086>
- Ciobanu, I., Cantor, M., Stefan, R., Buta, E., Magyari, K., & Baia, M. (2016). The influence of storage conditions on the biochemical composition and morphology of dahlia tubers. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 44(2), 459–465. <https://doi.org/10.15835/nbha44210436>
- Cristina, E., Țurlea, C., Bădulescu, L., Badea, M. L., & Toma, F. (2021). *Studies and research on the species and varieties of dahlia in cultivation*. L xv(1), 683–689.
- Dahlan, M. S. (2011). Statistik Untuk Kedokteran Dan Kesehatan Edisi 5. *Salemba Medika: Jakarta*
- Debnath, S., & Saha, A. K. (2017). *Biological Activities and Standardization of Cultivation Techniques of Schizophyllum Commune Fr .,; A Wild Edible Mushroom of Tripura ., (February 2018)*.
- Decroli, E. (2019). *Diabetes Melitus Tipe 2*, Fakultas Kedokteran Universitas Andalas
- Dehghan, P., Gargari, B. P., Jafar-Abadi, M. A., & Aliasgharzadeh, A. (2014). Inulin controls inflammation and metabolic endotoxemia in women with type 2 diabetes mellitus: A randomized-controlled clinical trial. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 65(1), 117–123. <https://doi.org/10.3109/09637486.2013.836738>

- Dehghan, P., Pourghassem Gargari, B., & Asghari Jafar-abadi, M. (2014). Oligofructose-enriched inulin improves some inflammatory markers and metabolic endotoxemia in women with type 2 diabetes mellitus: A randomized controlled clinical trial. *Nutrition*, *30*(4), 418–423. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2013.09.005>
- Duan, M. J., Dekker, L. H., Carrero, J. J., & Navis, G. (2021). Blood lipids-related dietary patterns derived from reduced rank regression are associated with incident type 2 diabetes. *Clinical Nutrition*, *40*(7), 4712–4719. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2021.04.046>
- Farhangi, M. A., Javid, A. Z., & Dehghan, P. (2016). The effect of enriched chicory inulin on liver enzymes, calcium homeostasis and hematological parameters in patients with type 2 diabetes mellitus: A randomized placebo-controlled trial. *Primary Care Diabetes*, *10*(4), 265–271. <https://doi.org/10.1016/j.pcd.2015.10.009>
- Fatimah, R. N. (2015). *Diabetes melitus tipe 2*. *4*, 93–101.
- Feliana, F., Laenggeng, A. H., & Dhafir, F. (2014). Kandungan Gizi Dua Jenis Varietas Singkong (*Manihot esculenta*) Berdasarkan Umur Panen Di Desa Siney Kecamatan Tinombo Selatan Kabupaten Parigi Moutong. *Jurnal E-Jipbiol*, *2*(3), 1–14.
- Fibrianty, E. (2020). Keragaman Genetik Dahlia Pinnata. *Iptek Hortikultura*, (16), 1–6.
- Fitrania, F., Rukmi, M. I., & Wijanarka. (2018). produksi inulinase dari umbi dahlia (*Dahlia variabilis*) oleh dan konsentrasi glukosa sebagai sumber karbon tambahan Fathika Fitrania , MG Isworo Rukmi dan Wijanarka. *Jurnal Biologi*, *7*(1), 64–75.
- Fontana, J. D., Grzybowski, A., Tiboni, M., & Passos, M. (2011). Fructo-oligosaccharide production from inulin through partial citric or phosphoric acid hydrolyses. *Journal of Medicinal Food*, *14*(11), 1425–1430. <https://doi.org/10.1089/jmf.2010.0273>
- Gao, T., Jiao, Y., Liu, Y., Li, T., Wang, Z., & Wang, D. (2019). Protective Effects of Konjac and Inulin Extracts on Type 1 and Type 2 Diabetes. *Journal of Diabetes Research*, *2019*. <https://doi.org/10.1155/2019/3872182>
- Gao, Y., Wang, Y., Zhai, X., He, Y., Chen, R., Zhou, J., ... Wang, Q. (2017). Publication trends of research on diabetes mellitus and T cells (1997–2016): A 20-year bibliometric study. *PLoS ONE*, *12*(9), 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184869>
- Gavrailov, S., & Ivanova, V. (2016). Effects of nitrogen and carbon sources on the production of inulinase from strain *Bacillus* sp. SG113. *Acta Scientifica Naturalis*, *3*(1), 69–74. <https://doi.org/10.1515/asn-2016-0010>
- Ghavami, A., Roshanravan, N., Alipour, S., Barati, M., Mansoori, B., Ghalichi, F., ... Ostadrahimi, A. (2018). Assessing the effect of high performance inulin supplementation via KLF5 mRNA expression in adults with type 2 diabetes: A

- randomized placebo controlled clinical trail. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 8(1), 39–47. <https://doi.org/10.15171/apb.2018.005>
- Guess, N. D., Dornhorst, A., Oliver, N., Bell, J. D., Thomas, E. L., & Frost, G. S. (2015). A randomized controlled trial: The effect of inulin on weight management and ectopic fat in subjects with prediabetes. *Nutrition and Metabolism*, 12(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12986-015-0033-2>
- Harahap, Y., Ardiani, F., & Aritonang, E. (2016). Uji Daya Terima Dan Nilai Gizi Biskuit Yang Dimodifikasi Dengan Tepung Umbi Dahlia (Dahlia Sp). *Gizi, Kesehatan Reproduksi Dan Epidemiologi*, 1(2), 1–6.
- Hassan, T., Rehman, T., Aziz, Q. A., & Salman, A. (2018). *Blood Glucose Level Measurement from Breath Analysis*. 12(9), 379–382.
- Hasyiyati, N. S., Supriyadi, A., Raharjo, B., & Dwiatmi, K. (2017). Isolasi dan Karakterisasi Kapang Endofit dari Pegagan (*Centella asiatica* (L.) URBAN). *Jurnal Biologi*, 6(2), 66–74.
- Herianto, E., Efendi, R., Zalfiatri, Y., Studi, P., Hasil, T., Pertanian, J. T., ... Riau, U. (2018). Pengaruh Lama Penyimpanan Terhadap the Effect of Time Storage on Characteristic of Dahlia Tuber ' S. *JOM Faperta*, 5(1), 1–11. Retrieved from <https://jom.unri.ac.id/index.php/JOMFAPERTA/article/view/18854>
- Herminiati, A. (2012). Umbi Dahlia : Potensi, Peranan, dan Prospek Pengembangannya. *Journal of Pharmaceutical and Medical Sciences*, 397–405.
- Hilman, A., Harmayani, E., & Cahyanto, M. N. (2021). The potential of Gembili (*Dioscorea esculenta* L.) and Dahlia (*Dahlia spp* L.) from Indonesia as prebiotic compound. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 782(3). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/782/3/032109>
- Horiza, H. (2017). *Inulin dari umbi dahlia (Dahlia sp.L)*. 18(1). Retrieved from <http://eksakta.ppj.unp.ac.id>
- Horiza, H., Azhar, M., & Efendi, J. (2017). Ekstraksi dan karakterisasi inulin dari umbi dahlia (*Dahlia sp.L*) segar dan disimpan. *EKSAKTA: Berkala Ilmiah Bidang MIPA*, 18(01), 31–39. <https://doi.org/10.24036/eksakta/vol18-iss01/14>
- Huang, X. L., Pan, J. H., Chen, D., Chen, J., Chen, F., & Hu, T. T. (2016). Efficacy of lifestyle interventions in patients with type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *European Journal of Internal Medicine*, 27, 37–47. <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2015.11.016>
- Indriyanti, W., Desvianto, R., Sulistiyarningsih, S., & Musfiroh, I. (2015). Inulin from Jombang Root (*Taraxacum officinale* Webb.) as Prebiotic in Synbiotic Yoghurt. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 2(3), 83–89. <https://doi.org/10.15416/ijpst.v2i3.7904>

- Iskandar Y.M., Pudjiraharti, S., Ratnaningrum, D (2014). *Kandungan inulin dari umbi dahlia yang ditanam pada jenis tanah vertisol, inceptisol, dan andisol. JKTI*, 16 (1), 25-31
- Kosasih, W., Pudjiraharti, S., Ratnaningrum, D., & Priatni, S. (2015). Preparation of Inulin from Dahlia Tubers. *Procedia Chemistry*, 16, 190–194. <https://doi.org/10.1016/j.proche.2015.12.035>
- Kriukova, Y., Jakubiak-Augustyn, A., Ilyinska, N., Krotkiewski, H., Gontova, T., Evtifeyeva, O., ... Matkowski, A. (2018). Chain length distribution of inulin from dahlia tubers as influenced by the extraction method. *International Journal of Food Properties*, 20(3), S3112–S3122. <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1357043>
- Kusmiyati, N., Sunarti, S., Wahyuningsih, T. D., & Widodo, W. (2020). Inulinase activity of extracellular protein of lactobacillus casei AP in different growth conditions. *Key Engineering Materials*, 840 KEM, 101–106. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/kem.840.101>
- Leyva-Porras, C., Saavedra-Leos, M. Z., López-Pablos, A. L., Soto-Guerrero, J. J., Toxqui-Terán, A., & Fozado-Quiroz, R. E. (2017). Chemical, Thermal and Physical Characterization of Inulin for its Technological Application Based on the Degree of Polymerization. *Journal of Food Process Engineering*, 40(1), 1–13. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12333>
- Li, K., Zhang, L., Xue, J., Yang, X., Dong, X., Sha, L., ... He, L. (2019). Dietary inulin alleviates diverse stages of type 2 diabetes mellitus: Via anti-inflammation and modulating gut microbiota in db/db mice. *Food and Function*, 10(4), 1915–1927. <https://doi.org/10.1039/c8fo02265h>
- Liu, Y., Li, Y., Zhang, W., Sun, M., & Zhang, Z. (2019). Hypoglycemic effect of inulin combined with ganoderma lucidum polysaccharides in T2DM rats. *Journal of Functional Foods*, 55(October 2018), 381–390. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.02.036>
- Mangunwidjaja, D., Rahayuningsih, M., & Suparwati, R. (2014). Pengaruh konsentrasi enzim dan waktu hidrolisis enzimatis terhadap mutu frukto-oligosakarida dari inulin umbi dahlia (Dahlia pinata). *Agroindustri Indonesia*, 3(1), 190–199.
- Mansouri, S., Houbraken, J., Samson, R. A., Frisvad, J. C., Christensen, M., Tuthill, D. E., ... Lankinen, P. (2013). *Penicillium subrubescens*, a new species efficiently producing inulinase. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 103(6), 1343–1357. <https://doi.org/10.1007/s10482-013-9915-3>
- Melanie, H., Susilowati, A., Iskandar, Y. M., Lotulung, P. D., & Andayani, D. G. S. (2015). Characterization of Inulin from Local Red Dahlia (Dahlia sp. L) Tubers by Infrared Spectroscopy. *Procedia Chemistry*, 16, 78–84. <https://doi.org/10.1016/j.proche.2015.12.027>

- Miao, M., Dai, Y., Rui, C., Fan, Y., Wang, X., Fan, C., ... Zeng, X. (2021). Dietary supplementation of inulin alleviates metabolism disorders in gestational diabetes mellitus mice via RENT/AKT/IRS/GLUT4 pathway. *Diabetology & Metabolic Syndrome*, 13(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/s13098-021-00768-8>
- Mohan, A., Flora, B., & Girdhar, M. (2018). Inulinase: An important microbial enzyme in food industry. *Microbial Bioprospecting for Sustainable Development*, 237–248. https://doi.org/10.1007/978-981-13-0053-0_12
- Murwindra, R. (2019). Optimalisasi Ekstraksi Inulin DDari Tanaman Umbi Dahlia (Dahlia SP. L) Menggunakan Pelarut etanol. *FMIPAKes UMRI*, 1, 32–40.
- Nabila, P., Ainy, A. F., Tarigan, N. A., Fachrial, E., & Lister, I. N. E. (2021). Aktivitas inulinase bakteri termofilik utmsda 6 yang diisolasi dari sumber air panas Sidebuk Debuk, Sumatera Utara, *JIMKemas*. 6(1), 165–170.
- Nadia, L. (2010). Analisis Kadar Air Bahan Pangan. *Bahan Ajar*, 218. Retrieved from www.ut.ac.id
- Ning, C., Wang, X., Gao, S., Mu, J., Wang, Y., Liu, S., ... Meng, X. (2017). Chicory inulin ameliorates type 2 diabetes mellitus and suppresses JNK and MAPK pathways in vivo and in vitro. *Molecular Nutrition and Food Research*, 61(8), 1–30. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201600673>
- Ningsih, D. P., & Kusuma, Y. L. (2017). Diabetes Mellitus, Stres dan Manajemen Stres. In *STIKes Majapahit Mojokerto* (Vol. 1).
- Nisa, K., Retnaningtyas, Y., & Kristiningrum, N. (2015). Penetapan Kadar Inulin dalam Ekstrak Umbi Dahlia variabilis dan Dahlia pinnata dengan Metode KLT Densitometri. *E-Jurnal Pustaka Kesehatan*, 3(2), 284–288. Retrieved from <https://jurnal.unej.ac.id/index.php/JPK/article/download/2587/2074/>
- Nishimura, M., Ohkawara, T., Kanayama, T., Kitagawa, K., Nishimura, H., & Nishihira, J. (2015). Effects of the extract from roasted chicory (*Cichorium intybus* L.) root containing inulin-type fructans on blood glucose, lipid metabolism, and fecal properties. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 5(3), 161–167. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2014.11.016>
- Oktaviana, B., Rahmawati, & Linda, R. (2017). Aktivitas antifungi ekstrak metanol bunga kamboja putih (*Plumeria acuminata*) terhadap *Aspergillus clavatus*. *Jurnal Labora Medika*, 1(2), 22–29.
- Othman, Z. O. M., Selim, A. E. I., Bayoumy, S. M. M., & Saber, W. I. A. (2020). *Journal of Agricultural Chemistry and Biotechnology Inulinase Production from Plant Materials by some Local Yeast Strains*. 11(3), 71–77. <https://doi.org/10.21608/jacb.2020.87000>
- Paul, I., & Kumar, C. G. (2020). Fungal biofactories as potential inulinase sources for

production of fructooligosaccharides. In *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821007-9.00015-2>

Petkova, N. T., Sherova, G., & Denev, P. P. (2018). Characterization of inulin from dahlia tubers isolated by microwave and ultrasound-assisted extractions. *International Food Research Journal*, 25(5), 1876–1884.

Pratiwi, L. E., & Noer, E. R. (2014). of Nutrition College , Volume of Nutrition College , Volume Online di : <http://ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/jnc>. *Journal of Nutrition College*, 3(4), 951–957.

Rawat, H. K., Ganaie, M. A., & Kango, N. (2015). Production of inulinase, fructosyltransferase and sucrase from fungi on low-value inulin-rich substrates and their use in generation of fructose and fructo-oligosaccharides. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 107(3), 799–811. <https://doi.org/10.1007/s10482-014-0373-3>

RISKESDAS 2018.pdf. (2018). *Riset Kesehatan Dasar*.

Risky, F. U., Wijanarka, & Pujiyanto, S. (2019). Isolasi khamir penghasil enzim inulinase dari buah kersen (*Muntingia calabura*) serta pengaruh mikronutrien mangan (Mn) pada produksi enzimnya. *NICHE Journal of Tropical Biology*, 2(2), 27–37. Retrieved from <https://doi.org/10.14710/niche.2.2.27-37>

Romadhoni, R. P., Purbaningtyas, T. E., Muhaimin, & Fauzi'ah, L. (2017). Determination of Reducing Sugar Form Banana (*Musa acuminata* a *balbisiana* colla) with Different Cooking Process by UV-Visible Spectrophotometer. *The 2nd International Seminar on Chemical Education*, 12–13.

Roshanravan, N., Alamdari, N. M., Jafarabadi, M. A., Mohammadi, A., Shabestari, B. R., Nasirzadeh, N., ... Ostadrahimi, A. (2020). Effects of oral butyrate and inulin supplementation on inflammation-induced pyroptosis pathway in type 2 diabetes: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Cytokine*, 131(January). <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2020.155101>

Ruswandi, R. (2018). Penentuan Kadar Fruktosa Hasil Hidrolisis Inulin dengan DNS sebagai Pengoksidasi. *EKSAKTA: Berkala Ilmiah Bidang MIPA*, 19(1), 14–23. <https://doi.org/10.24036/eksakta/vol19-iss1/102>

Samuel, V. T., Shulman, G. I., Samuel, V. T., & Shulman, G. I. (2016). *pathways and substrate flux The pathogenesis of insulin resistance: integrating signaling pathways and substrate flux*. 126(1), 12–22. <https://doi.org/10.1172/JCI77812.thesis>

Saraswati D., Wijayanakra, Rukmini I. (2017). Pengaruh CaCl₂.2H₂O dan waktu inkubasi terhadap produksi inulinase oleh *Pichia manshurica* DUCC Y-015 dalam substrat tepung umbi dahlia. *Jurnal Biologi*, 6(3), 31-37

Saryono, Rakhmana, S., Rahayu, F., Ardhi, A., Rusli, Pratiwi, N. W., & Nugroho, T. T.

- (2017). Molecular identification of endophytic fungi isolated from the tuber of *Dahlia Variabilis* and exploration of their ability in producing β -galactosidase. *Biodiversitas*, 18(1), 145–152. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d180121>
- Saryono, S., Fitriani, F., & Soedjanaatmadja, U. M. S. (2016). Beberapa mikroorganisme yang menghasilkan enzim inulinase, isolasi dan karakterisasi enzim dari *Aspergillus flavus* Gmn11.2 galur lokal. *Chimica et Natura Acta*, 4(3), 165. <https://doi.org/10.24198/cna.v4.n3.11030>
- Saryono, S., Riau, U., Awaluddin, A., & Riau, U. (2016). *Immobilization of inulinase from aspergillus clavatus Gmn 11 . 3.* (August 2006).
- Saryono (2008). *Isolasi dan Karakterisasi Inulinase* . dari *Aspergillus niger* Gmn11.1 Galur Lokal, *Jurnal Natur Indonesia* , 11(1), 19–23.
- Sell, Y. (2001). *Dahlia. Nouvelles Dermatologiques*, 20(9 I), 559–560. <https://doi.org/10.1201/9781351072540-60>
- Shao, T., Yu, Q., Zhu, T., Liu, A., Gao, X., Long, X., & Liu, Z. (2020). Inulin from Jerusalem artichoke tubers alleviates hyperglycaemia in high-fat-diet-induced diabetes mice through the intestinal microflora improvement. *British Journal of Nutrition*, 123(3), 308–318. <https://doi.org/10.1017/S0007114519002332>
- Shoaib, M., Shehzad, A., Omar, M., Rakha, A., Raza, H., Sharif, H. R., ... Niazi, S. (2016). Inulin: Properties, health benefits and food applications. *Carbohydrate Polymers*, 147, 444–454. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.04.020>
- Sikumbang, S., & Hindersah, R. (2009). *Tanaman dahlia*. 1–92.
- Silvera, D., Luthfin, I., Aulia, A., Wahyu, P. N., & Saryono. (2018). Optimization of process parameters for inulinase production from endophytic fungi *Fusarium solani* LBKURCC67, *Humicola fuscoatra* LBKURCC68 and *Fusarium oxysporum* LBKURCC69. *Research Journal of Chemistry and Environment*, 22(Special issue II), 71–78.
- Singh, R. S., & Saini, G. K. (2013). Production of inulinase from raw *Dahlia inulin* by *Kluyveromyces marxianus* YS-1. *Journal of Scientific and Industrial Research*, 72(9–10), 603–610.
- Singh, R. S., & Singh, R. P. (2016). Inulinases. *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering: Production, Isolation and Purification of Industrial Products*, 423–446. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63662-1.00018-X>
- Singh, R. S., Singh, T., & Larroche, C. (2019). Biotechnological applications of inulin-rich feedstocks. *Bioresource Technology*, 273(November), 641–653. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.11.031>
- Singh, R.S., Singh, T., & Kennedy, J. F. (2020). Enzymatic synthesis of fructooligosaccharides from inulin in a batch system. *Carbohydrate Polymer*

Technologies and Applications, 1, 100009.
<https://doi.org/10.1016/j.carpta.2020.100009>

Singh, R S, Singh, T., & Pandey, A. (2020). Bioresource Technology Reports Fungal endoinulinase production from raw Asparagus inulin for the production of fructooligosaccharides. *Bioresource Technology Reports*, 10(March), 100417. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2020.100417>

Singh, Ram Sarup, Chauhan, K., Kaur, K., & Pandey, A. (2020). Statistical optimization of solid-state fermentation for the production of fungal inulinase from apple pomace. *Bioresource Technology Reports*, 9, 100364. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2019.100364>

Singh, Ram Sarup, Singh, R. P., & Kennedy, J. F. (2016). Recent insights in enzymatic synthesis of fructooligosaccharides from inulin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 85, 565–572. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.01.026>

Soelistijo, S. A. (2019). *Pedoman pengelolaan Dan Pencegahandabetes Melitus Tipe 2 Dewasa Di Indonesia*, PB Perkeni.

Sundari, E., Desfitri, E.R., Martynis, M. (2014). Identifikasi dan kondisi ekstraksi inulin dari umbi dahlia di Sumatera Barat, Prosiding SNSTL, 174-179

Sun, Q., Zhu, L., Li, Y., Cui, Y., Jiang, S., Tao, N., ... Dong, C. (2021). Corrigendum to “A novel inulin-type fructan from *Asparagus cochinchinensis* and its beneficial impact on human intestinal microbiota” [*Carbohydr. Polym.* 247 (2020) 116761] (*Carbohydrate Polymers* (2020) 247, (S0144861720309346), (10.1016/j.carbpol.2020.1167. *Carbohydrate Polymers*, 259(February), 117748. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.117748>

Susilowati, A. (1843). Alternatif Enzim Inulinase dari Kapang Endofit Hasil Isolasi Kulit Umbi Dahlia Merah (Dahlia pp) Lokal dan Aplikasinya sebagai Sumber Enzim Inulinase untuk Perolehan Serat Inulin. *Pusat Penelitian Kimia LIPI Serpong*, 34–42.

Susilowati, A., Aspiyanto, Melanie, H., Iskandar, Y. M., & Maryati, Y. (2015). Recovery of Inulin Fiber from Local Red Dahlia (*Dahlia sp. L*) Tuber through Enzymatic Hydrolysis using *Aspergillus sp.-CBS5* and *Bacillus sp.-CBS6* for Functional Food. *Procedia Chemistry*, 16, 39–46. <https://doi.org/10.1016/j.proche.2015.12.015>

Trihaditia, R., & Sundayati, T. T. (2020). Penentuan Formulasi Tepung Dan Ekstrak Inulin Umbi Dahlia Terhadap Makanan Fungsional Bubur Instan Beras Pandanwangi. *Pro-STek*, 2(1), 10. <https://doi.org/10.35194/prs.v2i1.975>

Valenlia, K. B., Morshedi, M., Saghafi-Asl, M., Shahabi, P., & Abbasi, M. M. (2018). Beneficial impacts of *Lactobacillus plantarum* and inulin on hypothalamic levels of insulin, leptin, and oxidative markers in diabetic rats. *Journal of Functional Foods*,

46(April), 529–537. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.04.069>

- Wan, X., Guo, H., Liang, Y., Zhou, C., Liu, Z., Li, K., ... Wang, L. (2020). The physiological functions and pharmaceutical applications of inulin: A review. *Carbohydrate Polymers*, 246, 116589. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116589>
- Wang, L., Yang, H., Huang, H., Zhang, C., Zuo, H. X., Xu, P., ... Wu, S. S. (2019). Inulin-type fructans supplementation improves glycemic control for the prediabetes and type 2 diabetes populations: Results from a GRADE-assessed systematic review and dose-response meta-analysis of 33 randomized controlled trials. *Journal of Translational Medicine*, 17(1). <https://doi.org/10.1186/s12967-019-02159-0>
- Widiastuti, L. (2020). respon tanaman dahlia (*Dahlia pinnata*) pada berbagai macam media tanam dan pupuk organik cair. *agrisaintifika: Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian*, 3(2), 141. <https://doi.org/10.32585/ags.v3i2.549>
- Widyastuti, T. (2018). *Buku tanaman hias-upload.pdf* (pp. 1–228). pp. 1–228.
- Wijanarka, W., Soetarto, E. S., Dewi, K., & Indrianto, A. (2015). Aktivitas inulinase oleh *Pichia manshurica* dan fusan F4 pada fermentasi batch dengan umbi dahlia (*Dahlia* sp) sebagai substrat. *Reaktor*, 14(3), 187. <https://doi.org/10.14710/reaktor.14.3.187-192>
- Yuliana, R., Kusdiyantini, E., & Izzati, M. (2014). Potensi Tepung Umbi Dahlia Dan Ekstrak Inulin Dahlia Sebagai Sumber Karbon Dalam Produksi Fruktooligosakarida (FOS) Oleh Khamir *Kluyveromyces marxianus* DUCC-Y-003. *Bioma: Berkala Ilmiah Biologi*, 16(1), 39. <https://doi.org/10.14710/bioma.16.1.39-49>
- Yun, H., Lee, J. H., Park, C. E., Kim, M. J., Min, B. Il, Bae, H., ... Ha, J. (2009). Inulin increases glucose transport in c2c12 myotubes and hepg2 cells via activation of amp-activated protein kinase and phosphatidylinositol 3-kinase pathways. *Journal of Medicinal Food*, 12(5), 1023–1028. <https://doi.org/10.1089/jmf.2009.0128>
- Zhang, Q., Yu, H., Xiao, X., Hu, L., Xin, F., & Yu, X. (2018). Inulin-type fructan improves diabetic phenotype and gut microbiota profiles in rats. *PeerJ*, 2018(3), 1–24. <https://doi.org/10.7717/peerj.4446>
- Zou, J., Reddivari, L., Shi, Z., Li, S., Wang, Y., Bretin, A., Gewirtz, A. T. (2021). Inulin Fermentable Fiber Ameliorates Type I Diabetes via IL22 and Short-Chain Fatty Acids in Experimental Models. *Cmgh*, 12(3), 983–1000. <https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2021.04.014>

BIBLIOGRAFI



Sunarti, S.Kep., Ns., M.Biomed lahir di Pasar Gunung Kec. Secanggang Kab. Langkat Sumatera Utara. Setelah menyelesaikan pendidikan Profesi Ners di Universitas Sumatera Utara, kemudian melanjutkan studi S2 Ilmu Biomedik dengan meraih Beasiswa DIKTI di Fakultas Kedokteran USU pada Tahun 2014, dan kemudian melanjutkan Studi S3 Kedokteran pada Tahun 2019.

Pada saat ini bekerja sebagai Dosen di Fakultas Keperawatan Dan Kebidanan Universitas Prima Indonesia, dan sekaligus sebagai Ketua Program Studi di Profesi Ners. Selain berprestasi dalam penelitian yang dibiayai oleh Dikti juga sudah mendapatkan sertifikasi dosen pada tahun 2019. Beberapa karya penelitian telah dilakukan baik dalam bidang Keperawatan maupun bidang ilmu Biomedik yang diterbitkan dalam jurnal nasional terakreditasi maupun jurnal internasional bereputasi. Untuk konsentrasi dibidang pendidikan terutama dalam Keperawatan Medikal Bedah dan Ilmu Biomedik Dasar.

Buku yang diterbitkan ini merupakan hasil karya penelitian Hiba Disertasi Doktor yang sebagian variabelnya dituangkan dalam buku ini. Peminatan Bidang Ilmu Biomedik sangat diminatinya terutama menyangkut penelitian yang berbahan dasar tanaman dari sumber alam untuk meningkatkan kesehatan dan pencegahan penyakit. Semoga buku ini dapat menjadi sumber ilmu pengetahuan bagi para pembaca. Dan saya akhiri dengan ucapan terimakasih. Wassalam

ISBN 978-623-7911-50-0

