

**PENGARUH PEMBERIAN SIRUP PREBIOTIK UMBI YAKON TERHADAP
AKTIVITAS ENZIM PENCERNAAN PADA DUODENUM *Rattus norvegicus***

**THE EFFECT OF YAKON TUBER PREBIOTIC SYRUP ON DIGESTIVE ENZYME
ACTIVITY IN DUODENUM *Rattus norvegicus***

Eka Yulia Maulidah dan Leny Yuanita*

Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences

Universitas Negeri Surabaya

Jl. Ketintang, Surabaya (60231), Telp. 031-8298761

** Corresponding author, email: lenyyuanita@unesa.ac.id*

Abstrak.. *Prebiotik adalah senyawa yang tidak dapat dicerna oleh enzim pencernaan dan dapat menstimulus pertumbuhan probiotik. Fruktooligosakarida merupakan prebiotik yang paling umum digunakan. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh pemberian sirup prebiotik umbi yakon terhadap aktivitas enzim amilase, protease, lipase pada duodenum *Rattus norvegicus*. Sampel penelitian adalah umbi yakon dari daerah Wonosobo dan hewan coba *Rattus norvegicus*. Hewan coba dibagi 4 kelompok. Kelompok yang diberi pakan suplemen air (P_0 = kontrol negatif), sirup prebiotik umbi yakon S_0 (P_1), sirup prebiotik umbi yakon S_1 (P_2), dan FOS komersial (P_3). Penentuan aktivitas enzim amilase, lipase, dan protease menggunakan instrumen spektrofotometer UV-Vis. Analisis statistik yang digunakan yaitu ANOVA dan PostHoc = LSD. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian sirup prebiotik umbi yakon S_1 dapat meningkatkan aktivitas enzim amilase, lipase dan protease secara signifikan ($P < 0.05$). Pada pemberian sirup prebiotik umbi yakon S_0 dapat meningkatkan aktivitas enzim amilase dan protease, sedangkan pada enzim lipase tidak ada pengaruh secara signifikan.*

Kata kunci: *sirup prebiotik umbi yakon, amilase, protease, lipase*

Abstract. *Prebiotics are compounds that cannot be digested by digestive enzymes and can stimulate the growth of probiotics. Fructooligosaccharides are the most commonly used prebiotics. The purpose of this study was to determine the effect of giving prebiotic syrup of yacon tuber to the activity of amylase, protease, and lipase enzymes in the duodenum of *Rattus norvegicus*. The samples of this research were yacon tubers from the Wonosobo area and the experimental animal *Rattus norvegicus*. Experimental animals were divided into 4 groups. The group that was fed with water supplements (P_0 = negative control), prebiotic syrup of yacon tuber S_0 (P_1), prebiotic syrup of yacon tuber S_1 (P_2), and commercial FOS (P_3). Determination of enzyme activity of amylase, lipase, and protease using UV-Vis spectrophotometer instrument. Statistical analysis used was ANOVA and Post Hoc = LSD. The results showed that the administration of prebiotic syrup of yacon tubers S_1 could significantly increase the activity of amylase, lipase and protease enzymes ($P < 0.05$). In the provision of prebiotic syrup of yacon tubers S_0 can increase the activity of amylase and protease enzymes, while the lipase enzyme has no significant effect.*

Key words: *yacon tuber prebiotic syrup, amylase, protease, lipase*

PENDAHULUAN

Makanan terdiri dari makromolekul seperti karbohidrat, protein dan lemak yang dibutuhkan tubuh. Senyawa makromolekul tersebut dipecah dalam tubuh dengan bantuan enzim hidrolitik seperti amilase, protease dan

lipase [1]. Jumlah enzim yang terlalu rendah menyebabkan gangguan metabolisme seperti meningkatnya viskositas pencernaan yang dapat mengurangi daya cerna dan penyerapan nutrisi pakan [2].

Prebiotik adalah senyawa yang tidak dapat dicerna oleh enzim pencernaan, dapat merangsang pertumbuhan probiotik, bakteri saluran pencernaan dan dapat menghambat pertumbuhan patogen sehingga dapat meningkatkan kesehatan inang [3], [4]. Fruktooligosakarida (FOS), galaktooligosakarida (GOS) dan inulin adalah beberapa prebiotik yang paling umum digunakan [5] [6].

FOS merupakan senyawa polisakarida rantai pendek yang terdiri dari unit 1F-fructofuranosyl nystosa (GF4), 1-nystosa (GF3), 1-kestosa (GF2), dan fructosyl (F) yang terikat pada sukrosa oleh ikatan β -2.1 [7]. Ikatan β -2.1 menyebabkan FOS tahan terhadap hidrolisis oleh asam atau enzim pada saluran pencernaan manusia [8]. FOS telah terbukti meningkatkan pertumbuhan *Bifidobacteria* dan *Lactobacillus*, menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *Salmonella typhi*, serta meningkatkan aktivitas enzim pencernaan [9] [10].

Kandungan senyawa FOS banyak ditemukan pada umbi-umbian, salah satunya umbi yakon. Umbi yakon dapat digunakan sebagai prebiotik karena mengandung FOS berkisar 70 – 80% berat kering dan inulin [11]. Umbi yakon juga mengandung bioaktif senyawa fenolik dan enzim polifenol oksidase (PPO). Melalui bantuan oksigen, enzim PPO mengubah gugus monofenol menjadi O-hidroksifenol, yang kemudian diubah menjadi O-kuinon. Proses ini disebut dengan proses pencoklatan (*browning*). Pemanasan dan penurunan pH bisa mencegah efek pencoklatan. Enzim PPO bereaksi optimal pada suhu 30-40°C, mulai terdenaturasi pada suhu 45°C dan terdegradasi pada suhu 60°C. Efek *browning* terjadi pada pH 9-10,5. Penurunan pH dapat dilakukan dengan penambahan asam misalnya asam sitrat atau asam askorbat [12] [13]. Proses pemanasan dan pH juga dapat menyebabkan FOS berkurang. FOS akan terhidrolisis pada pH asam. Semakin rendah pH (pH < 4) dan semakin tinggi suhu (> 70°C), maka semakin besar jumlah FOS yang terhidrolisis [14] [15].

Proses pengolahan umbi yakon melalui pengkondisian pemanasan dan penurunan pH bisa mencegah efek *browning* bertujuan untuk mempertahankan bioaktif yakon terutama FOS. Senyawa FOS yang terdapat pada umbi yakon

diharapkan dapat meningkatkan aktivitas enzim pencernaan yang ada pada tubuh manusia untuk membantu meningkatkan pencernaan karbohidrat, protein, dan lemak sehingga meningkatkan kinerja pertumbuhan.

Berdasarkan hal tersebut, umbi yakon yang berpotensi sebagai sumber prebiotik dapat dikonsumsi dalam bentuk sirup dengan mengkondisikan variabel pembuatan sirup yaitu pH dan suhu [16]. Penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian sirup prebiotik umbi yakon terhadap aktivitas enzim pencernaan yaitu amilase, protease dan lipase pada duodenum hewan coba *Rattus norvegicus*, karena hewan coba tersebut memiliki anatomi yang menyerupai sistem pencernaan pada manusia dan tahan terhadap perlakuan. Perhitungan aktivitas enzim dilakukan pada duodenum karena merupakan tempat enzim untuk mengkatalis zat makanan dalam proses penyerapan zat gizi.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan adalah evaporator, blender, *freeze dryer*, kandang tikus, alat bedah, refrigerator, alat gelas, inkubator (*Memmert*), sentrifuge (Hettich), neraca analitik (*Adventurer ohaus*), HPLC, dan spektrofotometri UV-Vis (Shimadzu UV-1800).

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah umbi yakon yang diperoleh dari daerah Wonosobo, FOS komersial (*Source Naturals*), Tris HCl (*Merck*), NaOH, Ka-Na tartrat (*Merck*), DNS (*Sigma Aldrich*), maltosa, pati, asam oleat, minyak zaitun, tirosin (*Sigma Aldrich*), folin ciocalteau (*Merck*), kasein (*Sigma Aldrich*), TCA (EMSURE), dan *Rattus norvegicus*.

Prosedur Penelitian

Pembuatan Sirup Prebiotik Umbi Yakon dan Kadar FOS

Umbi yakon dibagi menjadi dua kelompok proses pembuatan yaitu: sirup umbi yakon berwarna hitam kehijauan, dari sirup umbi yakon tanpa pengkondisian variabel pH dan suhu evaporasi (disebut So) dan sirup umbi yakon berwarna

coklat kekuningan, dari sirup umbi yakon dengan pengkondisian variable pH dan suhu evaporasi (disebut S₁). [16].

Pelaksanaan Percobaan

Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) umur 1-2 bulan dengan berat badan 100-200 gr sebanyak 48 ekor. Pemberian perlakuan dilakukan selama 48 hari dengan sonde. Kemudian diambil duodenum. Hewan coba tersebut dibagi menjadi 4 kelompok sebagai berikut:

P₀ = kelompok kontrol negatif, diberi suplemen air sebanyak 4 ml/hari

P₁ = kelompok perlakuan, diberi suplemen sirup prebiotik umbi yakon So sebanyak 3 ml/hari

P₂ = kelompok perlakuan, diberi suplemen sirup prebiotik umbi yakon S₁ sebanyak 3 ml/hari

P₃ = kelompok kontrol positif, diberi suplemen FOS komersial sebanyak 4 ml/hari

Pembuatan Ekstrak Kasar

Ekstrak kasar enzim dibuat dengan menghaluskan sampel usus (duodenum) dengan mortar dan alu dingin. Kemudian ditambah 50 Mm buffer Tris-HCl pH 7 dingin dengan perbandingan 1:8 (w/v). *Homogenate* yang diperoleh dimasukkan dalam tabung *ependorf*, dan disentrifugasi pada suhu 4 °C selama 15 menit dengan kecepatan 12.000 rpm. *Supernatant* yang diperoleh diambil dan disimpan pada *refrigerator* [17]. *Supernatant* yang diperoleh merupakan ekstrak kasar yang digunakan untuk menguji enzim amilase, protease, dan lipase.

Uji Enzim Pencernaan

Enzim amilase

Penentuan aktivitas enzim amilase dilakukan dengan cara sebanyak 0,5 ml ekstrak kasar enzim dicampur dengan 0,5 ml substrat (larutan pati 1% dalam buffer fosfat 0,2 M pH 7) lalu diinkubasi selama 30 menit pada suhu 40 °C. Setelah diinkubasi ditambahkan 2 ml reagen DNS, lalu divorteks, kemudian dipanaskan dalam air mendidih selama 5 menit. Larutan di dinginkan lalu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 540 nm. Kadar gula pereduksi yang terdapat pada sampel ditentukan melalui kurva standart maltosa. Satu unit aktivitas amilase

didefinisikan sebagai jumlah enzim yang diperlukan untuk melepas 1 μmol maltosa/ menit[19]. Aktivitas enzim amilase dapat dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Aktivitas enzim } \left(\frac{U}{mL}\right) = \frac{[Maltosa]}{BM} \times fp \times \frac{V}{t}$$

Enzim protease

Penentuan aktivitas enzim protease dilakukan dengan cara sebanyak 0,5 ml ekstrak kasar enzim ditambahkan dengan 0,5 ml larutan 0,05 M buffer fosfat pH 7 dan dipreinkubasi pada suhu 53 °C selama 5 menit. Selanjutnya ditambahkan 0,5 ml substrat (2% kasein dalam 0,05 M buffer fosfat pH 7), kemudian campuran diinkubasi pada suhu 53 °C selama 10 menit. Selanjutnya ditambah 1 ml TCA 0,4 M dan diinkubasi selama 30 menit . setelah itu disentrifugasi pada suhu 4 °C selama 10 menit pada kecepatan 5000 rpm. Sebanyak 0,5 ml supernatant yang diperoleh ditambahkan 2,5 ml natrium karbonat 0,5 M. Selanjutnya ditambahkan 0,5 reagen Folin Ciocalteu (1:2) dan diinkubasi pada suhu 53 °C selama 30 menit, lalu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 756 nm. Kadar protein yang terdapat pada sampel ditentukan melalui kurva standart tirosin. Satu unit aktivitas protease didefinisikan sebagai jumlah enzim yang diperlukan untuk melepas 1 μmol tirosin/ menit [18]. Aktivitas enzim amilase dapat dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Aktivitas enzim } \left(\frac{U}{mL}\right) = \frac{[Tr]}{BM} \times \frac{V \times fp}{(p \times q)}$$

Enzim lipase

Penentuan aktivitas lipase dilakukan dengan cara 1 ml minyak zaitun , ditambahkan 1 ml buffer fosfat pH 7,2 dan 1 ml ekstrak kasar enzim. Kemudian di vortex selama 1 menit. Setelah itu diinkubasi selama 20 menit pada suhu 40 °C. Kemudian ditambahkan 1 ml HCl 6N dan 5 ml heksana. Selanjutnya dihomogenkan dan diambil lapisan atas sebanyak 4 ml, lalu ditambahkan 1 ml reagen tembaga (II) asetat dan dikocok. Kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 712 nm. Kadar asam lemak yang terdapat pada sampel ditentukan melalui kurva standart asam oleat. Satu unit aktivitas hidrolitik lipase didefinisikan sebagai aktivitas enzim dalam menghasilkan 1 asam lemak yang dibebaskan/ menit[20]. Aktivitas enzim amilase dapat dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Aktivitas enzim } \left(\frac{U}{mL}\right) = \frac{[\text{asam oleat}]}{BM} \times f \times p \times \frac{V}{t}$$

Analisis Statistik

Analisis data menggunakan ANOVA one way dan uji lanjut Post Hoc = LSD. Nilai rata-rata dianggap berbeda jika $p < 0,05$. Data aktivitas enzim sebelumnya diuji normalitas dan homogenitas.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar FOS sirup prebiotik umbi yakon

Pembuatan sirup prebiotik umbi yakon S_0 menghasilkan sirup berwarna hitam kehijauan, sementara S_1 menghasilkan sirup berwarna coklat kekuningan. Hal ini disebabkan oleh efek *browning* karena aktivitas enzim Polifenol oksidase terhadap senyawa-senyawa bioaktif, serta karena senyawa ortodihidroksi atau trihidroksi fenolik. Pemanasan dan penurunan pH bisa mencegah efek *browning* sehingga akan menghambat efek *browning* yang bertujuan untuk mempertahankan bioaktif yakon terutama FOS dan senyawa fenolik. Hasil pengujian kadar FOS menggunakan instrument HPLC dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kadar FOS sirup prebiotik umbi yakon [16]

Sirup yakon	Kadar FOS (g/L)
	217.23
So	233.64
	213.05
Rata-rata	221.30
	220.08
S ₁	210.42
	287.70
Rata-rata	239.40
Sign. (p)	0.374

Data pada Tabel 1. menunjukkan bahwa kadar FOS pada S_1 lebih tinggi daripada S_0 . Suhu dan pH mempengaruhi kadar FOS karena terdegradasi menjadi komponen glukosa dan fruktosa yang bereaksi dengan gugus asam amino protein membentuk produk mailard. Hal ini menunjukkan proses pembuatan sirup sangat

menentukan kadar FOS sirup sehingga dilakukan pengkondisian variabel suhu dan pH [16].

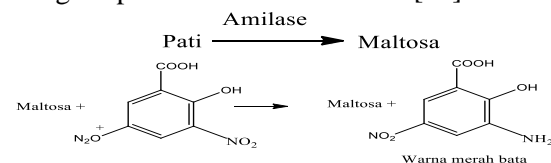
Hasil dari uji-t adalah $p > 0.05$ artinya tidak terdapat perbedaan secara signifikan terhadap kadar FOS dengan pengkondisian variable pH dan suhu evaporasi atau tanpa pengkondisian variable pH dan suhu evaporasi.

Uji Enzim Pencernaan

Sirup umbi yakon mengandung senyawa FOS yang berperan sebagai prebiotik yang dapat merangsang pertumbuhan bakteri probiotik sehingga memberikan efek positif pada saluran cerna dengan memperbaiki vili usus. FOS juga dapat meningkatkan pertumbuhan *Bifidobacteria* dan bakteri asam laktat, tetapi juga menghambat *E. coli* pada usus besar [9].

Enzim amilase

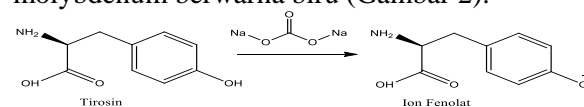
Penentuan aktivitas enzim amilase menggunakan metode DNS. Prinsip dasar metode DNS adalah reagen DNS bereaksi dengan maltosa dalam suasana basa (Gambar 1). Reagen DNS mengurangi produksi NO_2 dan menghasilkan warna merah bata yang diukur dengan spektrofotometer UV-Vis [21].

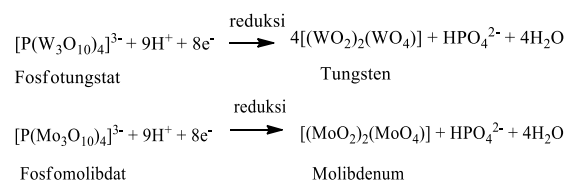


Gambar 1. Persamaan reaksi reduksi oksidasi maltosa dan DNS

Enzim protease

Penentuan aktivitas protease menggunakan Folin-Ciocalteu terjadi reaksi reduksi oksidasi dimana residu tirosin yang mempunyai gugus fenolik akan mereduksi fosfotungstat dan fosfomolibdat yang terdapat pada reagen tersebut. Reaksi ini berlangsung dalam suasana basa. Pada kondisi basa senyawa fenolik akan mengalami disosiasi membentuk anion fenolat yang dapat mereduksi reagen Folin-Ciocalteu [22] menjadi tungsten dan molybdenum berwarna biru (Gambar 2).

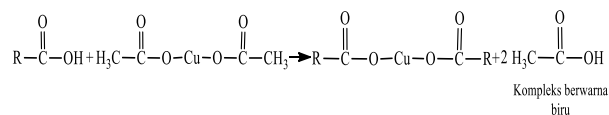
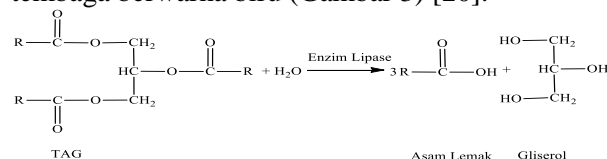




Gambar 2. Persamaan reaksi reduksi ion fenolat dengan reagen Folin-Ciocalteu (fosfotungstat dan fosfomolibdat)

Enzim lipase

Penentuan pengaruh sirup prebiotik yakon terhadap aktivitas lipase diperoleh berdasarkan jumlah asam oleat yang terbentuk permenit. Asam oleat yang dihasilkan berasal dari hasil degradasi minyak zaitun yang dapat diketahui dari hasil reaksi reagen tembaga (II) asetat. Reaksi asam lemak dengan reagen tembaga (II) asetat akan membentuk kompleks tembaga berwarna biru (Gambar 3) [20].



Gambar 3. Persamaan reaksi penentuan aktivitas enzim lipase menggunakan metode Kwon dan Rhee

Hasil perhitungan enzim pencernaan (amilase, protease dan lipase) menunjukkan bahwa kelompok perlakuan yang diberi suplemen sirup prebiotik umbi yakon S₁ memiliki aktivitas enzim amilase, lipase dan protease lebih tinggi dari kelompok yang diberi suplemen air. Pada pemberian sirup prebiotik umbi yakon S₀ memiliki aktivitas enzim amilase dan protease lebih tinggi dari kelompok yang diberi suplemen air, sedangkan pada enzim lipase tidak ada perbedaan (Tabel 2).

Tabel 2. Pengaruh pemberian suplemen pada aktivitas enzim pencernaan di duodenum *Rattus norvegicus*

	Kelompok Perlakuan	Aktivitas enzim (U/mL)					Rata-rata	
Amilase	P ₀	0,0472	0,0466	0,0344	0,0413	0,0518	0,0443 ^a	p = 0,000
	P ₁	0,0634	0,0617	0,0599	0,0585	0,0591	0,0605 ^b	
	P ₂	0,0675	0,0699	0,0739	0,0785	0,0690	0,0718 ^c	
	P ₃	0,0879	0,0734	0,0661	0,0637	0,0844	0,0750 ^c	
Protease	P ₀	0,1643	0,1639	0,1504	0,1704	0,1600	0,1618 ^a	p = 0,000
	P ₁	0,2408	0,2224	0,2256	0,2198	0,2838	0,2385 ^b	
	P ₂	0,3506	0,3316	0,2728	0,2973	0,3285	0,3161 ^c	
	P ₃	0,3162	0,3843	0,3231	0,3499	0,4296	0,3606 ^d	
Lipase	P ₀	0,0595	0,0517	0,0523	0,0539	0,0609	0,0557 ^a	p = 0,000
	P ₁	0,0526	0,0634	0,0615	0,0642	0,0561	0,0596 ^a	
	P ₂	0,0682	0,0727	0,0799	0,0652	0,0738	0,0720 ^b	
	P ₃	0,0909	0,0843	0,0853	0,0788	0,0835	0,0846 ^c	

Keterangan: huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan secara signifikan

Hasil analisis statistik diketahui bahwa data aktivitas enzim amilase, protease dan lipase berdistribusi normal dan homogen, sehingga dilanjutkan uji ANOVA *one way*. Hasil dari uji ANOVA *one way* menunjukkan nilai signifikan p < 0.05. Hasil uji aktivitas enzim amilase dan protease menunjukkan bahwa adanya pengaruh yang signifikan terhadap setiap kelompok

percobaan. Pemberian sirup prebiotik umbi yakon S₀ berbeda signifikan terhadap kontrol negatif pada aktivitas enzim amilase dan protease, sedangkan pada aktivitas enzim lipase tidak ada perbedaan secara signifikan. Pada aktivitas enzim amilase, protease, dan lipase pemberian sirup prebiotik umbi yakon S₀ berbeda signifikan dengan kelompok yang diberi

sirup prebiotik umbi yakon S₁. Perbedaan yang signifikan ini dipengaruhi oleh adanya senyawa inulin dalam umbi yakon [23]. Umbi yakon mengandung senyawa inulin yang dapat digunakan sebagai prebiotik. Pada aktivitas enzim amilase pemberian sirup prebiotik umbi yakon S₁ tidak berbeda signifikan terhadap kelompok yang diberi FOS komersial. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian sirup prebiotik umbi yakon mampu meningkatkan aktivitas enzim pencernaan.

Menurut Merrifield [24] keberadaan bakteri probiotik dapat menghasilkan beberapa enzim pencernaan, seperti amilase, protease, dan lipase. Penelitian Xu *et al.* [25] mengatakan bahwa penambahan 2-4 g/kg FOS secara signifikan meningkatkan aktivitas pertumbuhan *Bifidobacteria* dan bakteri asam laktat.

Berdasarkan data, dapat diketahui bahwa sirup prebiotik umbi yakon dengan pengkondisian pH dan suhu dapat meningkatkan aktivitas enzim pencernaan (amilase, lipase dan protease). Pemberian prebiotik dapat meningkatkan tinggi vili usus yang di akibatkan meningkatnya SCFA yang di induksi oleh probiotik. SCFA yang dihasilkan oleh proses fermentasi stain bakteri probiotik yang berperan dalam merangsang pertumbuhan sel epitel usus. Semakin tinggi vili usus halus, maka permukaan absorpsi akan semakin luas dan aktivitas enzim semakin meningkat sehingga pencernaan terhadap nutrien akan lebih baik [26].

Tingginya aktivitas enzim pada kelompok perlakuan yang diberi suplemen sirup prebiotik umbi yakon membantu meningkatkan pencernaan karbohidrat, protein, dan lemak dalam tubuh. Makanan dari kelompok karbohidrat akan dicerna oleh enzim amilase pankreas menjadi disakarida. Disakarida kemudian diuraikan oleh disakaridase menjadi monosakarida, yaitu glukosa. Glukosa hasil pencernaan kemudian diserap usus halus, kemudian mengalami metabolisme sehingga menghasilkan energi [27]. Makanan dari kelompok protein akan akan dicerna oleh enzim protease. Dalam sistem pencernaan, protein tidaklangsung diserap tetapi didegradasi terlebih dahulu oleh enzim protease menjadi asam amino atau peptida kemudian diserap tubuh [28]. Makanan dari kelompok lemak, pertama-tama akan dilarutkan oleh cairan

empedu yang dihasilkan hati menjadi butiran-butiran lemak (droplet lemak). Droplek lemak kemudian diuraikan oleh enzim lipase menjadi asam lemak dan gliserol. Asam lemak dan gliserol kemudian diserap usus dan diedarkan menuju jantung dan pembuluh limfe [29].

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, diketahui bahwa pemberian sirup prebiotik umbi yakon dengan pengkondisian variabel suhu dan pH dapat meningkatkan aktivitas enzim amilase, lipase dan protease secara signifikan. Pada pemberian sirup prebiotik umbi yakon tanpa pengkondisian variabel suhu dan pH dapat meningkatkan aktivitas enzim amilase dan protease, sedangkan pada enzim lipase tidak ada pengaruh secara signifikan.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Affandi R, Mokoginta I, dan Suprayudi A., 1994. Perkembangan enzim pencernaan benih ikan gurame, *Osphronemus goramy*, Lacapede. *Jurnal Ilmu-ilmu Perairan dan Perikanan Indonesia*, Volume II(2), pp. 63-71.
- [2] Kazerani, H.R. and Shahsavani, 2011. The Effect of Supplementation of Feed with Exogenous Enzymes on the Growth of Common Carp (*Cyprinus carpio*).. *Iranian Journal of Veterinary Research*, Volume 12 (2), pp. 127-137.
- [3] Gibson GR, and Roberfroid M., 1995. Dietary modulation of human colonic microbiota - introducing the concept of prebiotics. *J Nutr*, Volume 125, pp. 1401-1412.
- [4] Franck, A., 2002. Technological Functionality of Inulin and Oligofructose. *British Journal of Nutrition*, Volume 87.
- [5] Bouhnik Y., *et al.*, 1999. Short chain fructooligosaccharide administration dose dependently increases faecal bifidobacteria in healthy humans. *J Nutr*, Volume 129, pp. 113-116.

- [6] Carlos Vera, Andre´s Illanes, and Cecilia Guerrero, 2021. Enzymatic production of prebiotic oligosaccharides. *Current Opinion in Food Science*, Volume 37, pp. 160–170.
- [7] Falony G., *et al.*, 2009. In vitro kinetic analysis of fermentation of prebiotic inulin-type fructans by Bifidobacterium species reveals four different phenotypes. *Applied and Environmental Microbiology*, Volume 75, p. 454–461.
- [8] Roberfroid MB., 2000. Chicory fructooligosaccharides and the gastrointestinal tract. *Journal Nutrition*, Volume 16, p. 677-679.
- [9] Xu, Z. R., C. H. Hu, and M. Q. Wang., 2002. Effects of fructooligosaccharide on conversion of L-tryptophan to skatole and indole by mixed populations of pig fecal bacteria. *J. Gen. Appl. Microbiol*, Volume 48, p. 83–89.
- [10] Soleimani, N., *et al.*, 2012. Dietary supplementation of fructooligosaccharide (FOS) improves the innate immune response, stress resistance, digestive enzyme activities and growth performance of Caspian roach (*Rutilus rutilus*) fry. *Fish & Shellfish Immunology*, Volume 32, pp. 316-321.
- [11] Lachman, J., *et al.*, 2007. Total phenolic content of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) rhizomes, leaves, and roots affected by genotype. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, Volume 35(1), pp. 117-123.
- [12] Eriksson, C. 1981., *Maillard Reaction in Food: Chemical, Physiological and Technological Aspects*. Oxford : Pergamon Press.
- [13] Zulfahnur, 2009. *Mempelajari Pengaruh Reaksi Pencoklatan Enzimatis Pada Buah Dan Sayur*. Bogor : Institut Pertanian Bogor.
- [14] Klewicki, R., 2007. The stability of gal-polyols and oligosaccharides during pasteurization at a low pH. *LWT-Fd Sci. Technol*, Volume 40, p. 1259–1265.
- [15] Matusek, A., P. Merész, T.K.D. Le and F. Örsi, 2011. Fructo-oligosaccharide degradation in apple pulp matrix. *Acta Alimentaria*, Volume 40 (2), p. 182–193.
- [16] Yuanita, L., *et al.*, 2020. *Laporan Penelitian: Meningkatkan Imunitas Seluler dan Humoral Melalui Penggunaan Inhibitor Alami pada Sirup Prebiotik Yacon*. Surabaya: LPPM (tidak dipublikasikan).
- [17] H Taufik, M., Hana, Untung Susilo, 2017. Aktivitas protease dan amilase pada ikan sidat, *Anguilla bicolor* McClelland. *Journal Scripta Biologica*, Volume 4, p. 183-188.
- [18] Miller, G. L., 1959. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Journal Analytical Chemistry*, Volume 31, pp. 426-428.
- [19] Cupp, C., dan Enyard, 2008. Sigma’s non-specific protease activity assay – casein as a substrate. *Journal of Visualized Experiments*, Volume 19, pp. 899.
- [20] Kwon Y.D., Rhee J.S., 1986. A simple and rapid colorimetric method for determination of free fatty acids for lipase assay. *JAOCS*, Volume 63, p. 89-92.
- [21] Anggi Khairina dan Leny Yuanita, 2015. Pengaruh Variasi Lama Penyimpanan Umbi Bengkuang (*Pachirhyzus Erozus*) Terhadap Kadar Glukosa Darah Rattus norvegicus. *UNESA Journal of Chemistry*, Volume 4(1).
- [22] Jadhav, A.P., *et al.*, 2012. Spectrophotometric estimation of ferulic acid from *Ferula asafoetida* by Folin Ciocalteu’s reagent. *Journal Der Pharmacia Sinica*, Volume 6(3), p. 680-684.
- [23] Lachman, J., E.C. Fernández, M. Orsák, 2003. Yacon [*Smallanthus sonchifolia* (Poepp. et Endl.) H. Robinson] chemical composition and use – a review. *J. PLANT SOIL ENVIRON*, Volume 49 (6), p. 283–290.
- [24] Merrifield, D.L., Dimitroglou, A., Foey, A., Davies, S.J., Baker, R.T.M., Bogwald, J., Castex, M., & Ringo, E., 2010. The current status and future focus of probiotic and

- prebiotic applications for salmonids. *Aquaculture*, volume 302, pp. 1-18.
- [25] Xu, Z.R., C.H. Hu, M.S. Xia, X.A. Zhan and M.Q. Wang, 2003. Effects of dietary fructooligosaccharides on digestive enzyme activities, intestinal microflora and morphology of male broiler. *Poult. Sci.*, volume 82, p. 1030 – 1036.
- [26] Willard, M.D.,R.B. Simpson, N.D. Cohen and J.S. Clancy, 2000. Effects of dietary fructooligosaccharide on selected bacterial populations in feces of dogs. *Am. J. Vet. Res.*, volume 61, p. 820 – 825.
- [27] Marzuqi, m., I Wayan Kasa, dan Nyoman Adiasmara Giri, 2019. Respons pertumbuhan dan aktivitas enzim amilase benih ikan bandeng yang diberi pakan dengankandungan karbohidrat. *Jurnal Media Akuakultur*, volume 14(1), pp. 31-39.
- [28] Yamin, M., Nelje N. Palinggi, dan Rachmansyah, 2008. Aktivitas enzim protease dalam lambung dan usus ikan kerapu macan setelah pemberian pakan. *Jurnal Media Akuakultur*, volume 3, pp. 40-44.
- [29] Darmadi, dan Yustina, 2017. *Fisiologi Hewan*. Riau: FKIP Universitas Riau.