

**PENGARUH PEMBERIAN SIRUP UMBI YAKON TERHADAP KADAR KALSIMUM  
TULANG FEMUR TIKUS PUTIH (*Rattus Norvegicus*)**

**THE EFFECT OF YACON TUBERS SYRUP ON CALCIUM CONTENT OF  
FEMORAL BONE IN WHITE RATS (*Rattus Norvegicus*)**

***Kelvin Rio K and Leny Yuanita\****

Departement of Chemistry , Faculty of Mathematics and Natural Sciences  
Universitas Negeri Surabaya  
Jalan Ketintang Surabaya (60231) Telp: 031-8298761

\* Corresponding author, tel/fax : 0817 0396 6693, email: lenyyuanita@unesa.ac.id

**Abstrak.** Tujuan penelitian untuk mengetahui: 1) pengaruh suplementasi sirup umbi yakon terhadap kadar kalsium tulang tikus 2) korelasi jumlah total asam lemak rantai pendek (ALRP) terhadap kadar kalsium tulang tikus. Hewan coba yang digunakan adalah 36 ekor *Rattus norvegicus*, terbagi 3 kelompok perlakuan suplemen: 1) perlakuan air, 2) sirup umbi yakon, 3) FOS komersial. Perlakuan selama 48 hari, tulang femur digunakan sebagai sampel yang dianalisis kadar kalsium dengan metode destruksi. Instrumen yang digunakan adalah HPLC untuk uji kadar ALRP, GC uji kadar FOS, dan AAS uji kadar kalsium.. Analisis data melalui uji Anova satu jalur ( $\alpha=0,05$ ), Post Hoc LSD, dan korelasi product moment ( $\alpha=0,05$ ). Hasil analisis menunjukkan 1) Kenaikan hasil rata-rata kadar kalsium dari kelompok K(-) terhadap P1 sebesar 1,211 mg/mL dan uji statistik post hoc antara kelompok K(-) dan P1 ( $p>0,05$ ) menunjukkan tidak adanya perbedaan secara signifikan suplementasi sirup umbi yakon terhadap kadar kalsium tulang tikus. 2) Analisis korelasi menunjukkan hasil koefisien korelasi sebesar  $r = 0,394$  sehingga terdapat hubungan yang rendah antara jumlah total ALRP dengan kadar kalsium pada tulang femur hewan coba.

**Kata kunci:** umbi yakon, FOS, kalsium, absorpsi

**Abstract.** The research objectives were to determine: 1) the effect of yacon tuber syrup supplementation on rat bone calcium levels 2) the correlation of the total amount of short chain fatty acids (ALRP) to the calcium levels of the femur. The experimental animal used was 36 *Rattus norvegicus*. Were divided into 3 groups of supplement treatment: 1) aquadest, 2) yacon tubers syrup, 3) commercial FOS. After 48 days of treatment, the femur bone was analyzed for calcium levels by the digestion method. The instruments used were HPLC to test ALRP levels, GC to test FOS levels, and AAS to test calcium levels. Data analysis was done through the One Way Anova test ( $\alpha = 0.05$ ), the Post Hoc LSD, and the product moment correlation. The results of the analysis showed 1) The increase in average calcium levels from the K(-) group to P1 was 1.211 mg/mL and the post hoc statistical test between the K(-) and P1 ( $p>0.05$ ) groups showed no significant difference between yacon tuber syrup supplementation on calcium levels. mouse bones. 2) Correlation analysis shows the correlation coefficient of  $r = 0.394$  so that there is a low relationship between the total amount of ALRP and calcium levels in the femur bones of experimental animals.

**Keyword :** yacon, FOS, calsium, absorption

## 1. PENDAHULUAN

Umbi merupakan komoditas andalan Indonesia yang harganya terjangkau dan memiliki banyak khasiat. Umbi yakon dapat menurunkan kadar gula dan meningkatkan kadar insulin. Umbi yakon sudah banyak dibudidayakan di Indonesia seperti di Wonosobo, dan Lumajang [1]. Umbi yakon memiliki kandungan fruktooligosakarida (FOS) yang tinggi hingga mencapai 70% dari berat basah [2]. Umbi yakon dapat diolah menjadi sirup umbi yakon.

FOS merupakan jenis polisakarida rantai pendek yang tersusun oleh monomer glukosa-fruktosa (GFn) atau fruktosa (Fm) dengan banyaknya n dan m berkisar antara 2-9[3]. Ketersediaan FOS di dalam umbi yakon dapat berubah disebabkan proses degradasi atau perubahan FOS menjadi glukosa dan fruktosa. Proses pemanasan dan kondisi pH akan menyebabkan FOS terhidrolisis. FOS terhidrolisis menjadi glukosa dan fruktosa jika suhu pemanasan lebih dari 70 °C dan pH < 4 [4][5].

Fermentasi FOS di dalam usus besar berlangsung dalam kondisi anaerob, dengan bantuan mikroba *Bifidobacterium*, dan *Lactobacillus* [6][7]. FOS akan didegradasi oleh enzim  $\beta$  fruktofuranosidase menghasilkan senyawa glukosa dan fruktosa. Monosakarida yang terbentuk kemudian dikonversikan menjadi phosphoenol piruvat (PEP) melalui proses glikolisis dan jalur pentosa-fosfat. Selanjutnya PEP akan diubah menjadi asam-asam organik seperti asam laktat, butirat, propionat, dan asetat [7][8]. Sintesis asam lemak rantai pendek dalam tubuh manusia dapat dapat mempengaruhi anatomi usus yaitu vili usus menjadi lebih tinggi dan densitasnya lebih padat, Semakin tinggi vili usus halus, maka permukaan absorpsi akan semakin luas, sehingga menyebabkan peningkatan penyerapan mineral [9].

Penelitian Rizolli [10] mengungkapkan bahwa prebiotik yang difermentasi menghasilkan asam lemak rantai pendek (ALRP) dapat meningkatkan proses pembentukan tulang. Weaver [11] menyatakan bahwa kalsium merupakan mineral yang paling berlimpah dalam tubuh, dengan 99% nya ada pada kerangka tubuh yakni tulang dan gigi. Hormon yang berperan penting dalam metabolisme kalsium dalam tubuh, yaitu hormon kalsitonin dan hormon paratiroid. [12][13].

Lobo [14] membahas tentang efek yakon dalam bentuk tepung terhadap proses pembentukan tulang. Menurut [15], senyawa bioaktif umbi yakon seperti FOS dan asam klorogenat dapat dikonsumsi secara efektif dan masa simpan lebih panjang dalam bentuk ekstraknya yaitu sirup yakon. Berdasarkan latar belakang diatas maka penulis merasa perlu untuk melakukan penelitian tentang pengaruh pemberian sirup umbi yakon terhadap kadar kalsium (Ca) pada tulang femur hewan coba. Hal tersebut dapat memberi informasi bagi para produsen dalam proses pengolahan umbi yakon terutama untuk menjaga efek positif FOS dalam umbi yakon sebagai bahan pangan yang dapat meningkatkan kesehatan tulang.

## 2. METODE PENELITIAN

### 2.1 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah pakan tikus, sekam, air, sirup umbi yakon, Umbi yakon diperoleh dari perkebunan umbi yakon Wonosobo Jawa Tengah. FOS komersial, eter, HNO<sub>3</sub>, HCl, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, HClO<sub>4</sub>, aquademineral. Hewan percobaan yang digunakan adalah 48 ekor tikus jantan umur 2 bulan dengan rentang berat badan antara 100-150 gram.

### 2.2 Alat

Alat yang digunakan adalah blender, evaporator (Buchi R-300), *freeze dryer* (Martin Christ), kandang tikus plastik, anyaman kawat penutup

kandang, spet (1 mL, 3 mL, 5 mL) selang sonde lambung 50 cm, pinset, gunting bedah, lemari pendingin, vial plastik, gelas kimia, labu ukur, penangas, termometer, oven, mortar, alu, spatula kaca, pipet, cawan petri, neraca analitik (Denver), *absorption atomic spectrophotometric* (AAS) (Perkin Elmer).

### 2.3 Prosedur Penelitian

#### a. Pembuatan Sirup Umbi Yakon

Umbi yakon dicuci bersih, dipotong-dipotong kecil, lalu diambil ekstraknya dengan diblender menggunakan *involve blender* sampai halus lalu disaring. Langkah selanjutnya dievaporasi hingga diperoleh sirup yakon. Sirup kemudian disaring sebelum masuk ke proses *freeze dryer* selama 6 jam [5].

#### b. Persiapan Hewan Coba

Digunakan hewan coba *Rattus norvegicus* galur *Spargue dawley* diambil dari lab hewan FK Universitas Airlangga. Hewan coba berjenis kelamin jantan, berusia 8 minggu, berat badan 100-150 gram. 36 ekor hewan coba ditempatkan dalam kandang plastik yang mampu memuat 4-5 ekor pada suhu ruang. Hewan coba kemudian dibagi ke 3 kelompok berdasarkan berat badan tikus. diberi perlakuan selama 48 hari. Kelompok pertama (K-) diberi pelakuan suplemen air 4mL/hari, kelompok kedua (P1) sirup umbi yakon 3mL/hari, dan kelompok ketiga (K+) FOS komersial 4mL/hari. Kadar FOS komersial per hari setara dengan kadar FOS pada sirup umbi yakon. Pemberian suplemen menggunakan sonde lambung [16].

#### c. Penentuan Kadar Air pada Tulang Femur

Cawan kosong dikeringkan selama 15 menit dengan oven, didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Sampel dimasukkan ke dalam cawan, lalu dikeringkan dalam oven pada suhu 135 °C selama 6 jam. Cawan dimasukkan ke dalam desikator dan ditimbang

hingga berat konstan. Kadar air dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar Air} = \frac{W2 - W3}{W1} \times 100\% \quad (1)$$

Keterangan:

W1: menyatakan berat sampel (g)

W2: berat cawan + sampel sebelum dipanaskan (g)

W3: berat cawan + sampel setelah dipanaskan (g) [17].

#### d. Penentuan Kadar Kalsium Sampel

Analisis kadar kalsium pada tulang femur hewan coba dengan menggunakan metode destruksi kering. Pengukurannya menggunakan instrumen AAS. Prosedur mengacu pada Tangalayuk [16]. Larutan standar yang digunakan adalah larutan kalsium karbonat (CaCO<sub>3</sub>) dengan konsentrasi 2;4;10;15; dan 20 mg/L. 15 ml HNO<sub>3</sub> dan 3 ml HClO<sub>4</sub> ditambahkan ke dalam sampel tulang sambil dipanaskan hingga tulang larut dan menjadi jernih, lalu tambahkan 25 ml air suling ke dalamnya. Larutan sampel disaring dan diencerkan dengan air suling hingga tanda pada labu 100 ml. Sampel dibaca absorbansinya menggunakan AAS pada panjang gelombang (λ) 422,7 nm. Hasil yang diperoleh berupa kadar kalsium dalam satuan mg/l atau ppm.

#### e. Analisis Data

Hasil analisis terhadap kadar kalsium pada tulang femur hewan coba kemudian diuji menggunakan analisis ANOVA satu jalur (α=0,05) dilanjutkan dengan *post hoc* LSD, dan korelasi *Pearson product moment*. Data yang didapatkan berupa signifikansi dan koefisien korelasi yang digunakan untuk menentukan hubungan dari variabel.

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 3.1 Uji Kadar FOS Sirup Umbi Yakon

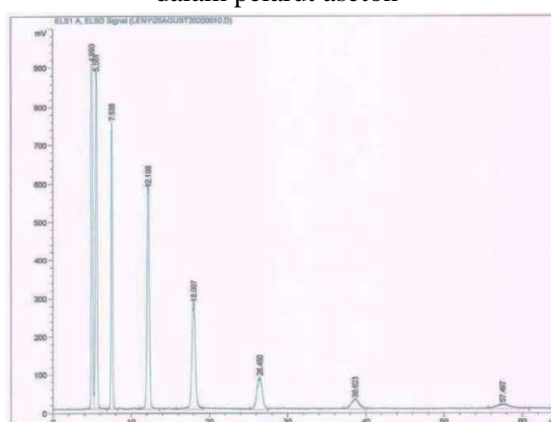
Hasil uji kadar FOS sirup umbi yakon menggunakan HPLC Agilent Series 1100, zorbax 300 SB-C18 kolom (5µm) dan ELSD

detector, campuran asetonitril dan air (75/25 v/v) sebagai eluen. Data kromatogram FOS standar pada Gambar 1 menunjukkan puncak pada waktu retensi 12,379 (kestose/GF2),

18,364 (nystose/GF3), 27,252 (1-kestopentose/GF4). Data waktu retensi FOS standar berguna dalam penentuan kadar FOS dalam sampel sirup umbi yakon.



**Gambar 1.** Kromatogram HPLC FOS standar (kestose 1200, nystose 775, 1-kestopentose 1000) ppm dalam pelarut aseton



**Gambar 2.** Kromatogram HPLC sampel FOS dalam sirup umbi yakon

Hasil pada Gambar 2. Menunjukkan bahwa dalam sirup umbi yakon terdapat senyawa FOS (GF2, GF3, dan GF4) serta sakarida (glukosa, fruktosa, dan sukrosa). Total FOS adalah hasil penjumlahan dari data GF2, GF3, dan GF4 yang dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Jumlah kadar FOS dalam sirup umbi yakon [15]

Sirup yakon	$\Sigma$ FOS (g/L)
Sampel 1	217,23
Sampel 2	233,64
Sampel 3	213,05
Rerata	221,30

Pada Tabel 1 menunjukkan bahwa rerata kadar FOS dalam sirup umbi yakon sebesar 221,3 g/L. Proses pembuatan sirup umbi yakon merupakan faktor yang menentukan kadar FOS sirup. Proses pembuatan sirup umbi yakon dengan suhu tinggi dan rentang waktu yang lama pada

medium air dapat mempengaruhi ketersediaan FOS. Sakarida dengan rantai panjang seperti polisakarida dan oligosakarida dapat terhidrolisis menjadi gula-gula sederhana akibat pemanasan dan juga kondisi  $\text{pH} < 4$ .

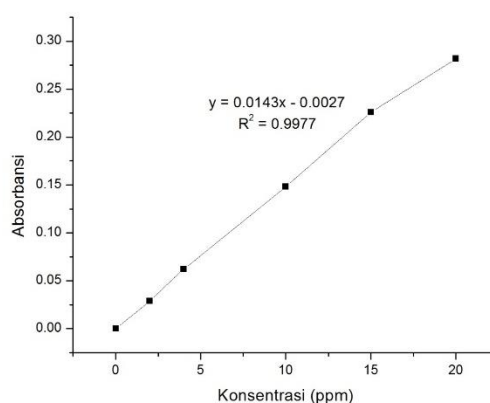
### 3.2 Uji Kadar Kalsium Tulang Femur

#### Hewan Coba

Hasil metabolisme FOS dalam usus besar berupa asam-asam lemak rantai pendek. ALRP dalam duodenum dapat mempengaruhi anatomi usus yaitu vili usus menjadi lebih tinggi dan densitasnya lebih padat [18]. Semakin tinggi vili usus halus, maka permukaan absorpsi akan semakin luas, sehingga pencernaan terhadap nutrient akan lebih baik [19]. Absorpsi kalsium di usus halus dapat melalui 2 mekanisme, yaitu transport aktif dan transport pasif. Transpor aktif kalsium terjadi terutama di duodenum, sementara transpor pasif terjadi

pada seluruh usus halus. apabila kadar kalsium dari pakan dalam usus tersebut rendah, maka diperlukan penyerapan kalsium secara aktif dengan bantuan 1,25-dihidroksikolekalsiferol yang terbentuk di dalam ginjal di bawah pengaruh hormon paratiroid. Mekanisme ini akan memicu pergerakan kalsium melewati membran *transient receptor potential vanilloid family calcium channel* menuju sitoplasma dan dengan bantuan  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase akan mengeluarkan kalsium dari sitoplasma ke dalam plasma.

Uji kadar kalsium menggunakan instrumen AAS Perkin Elmer series AA700, teknik AAS *flame*. Kadar kalsium akan didapatkan dari kurva standar pada Gambar 3 dengan cara memplotkan hasil absorbansi sampel ke dalam persamaan regresi standar kalsium  $Y = 0,0143x + 0,0027$  sehingga didapatkan kadar kalsium setiap perlakuan pada Tabel 2.



**Gambar 3.** Kurva standar larutan kalsium

Tabel 2. Rerata kadar kalsium sampel tulang femur hewan coba

Perlakuan	Rerata Kadar Kalsium Tulang Femur <i>Rattus Norvegicus</i> (mg/mL)					Rerata
Air (K-)	3,24	4,84	6,57	3,51	6,79	4,991 <sup>(a)</sup>
Sirup Umbi Yakon (P1)	4,38	6,44	6,32	5,46	8,41	6,202 <sup>(a)</sup>
FOS Komersial (K+)	13,60	5,54	14,68	9,93	13,95	11,540 <sup>(b)</sup>
Signifikansi	P= 0,004					

Keterangan: Perbedaan huruf menunjukkan perbedaan signifikan.

Berdasarkan analisis statistik pada kadar kalsium, diketahui bahwa data terdistribusi normal dan homogen. Hasil *post hoc* menunjukkan adanya perbedaan signifikan kelompok K(-), dan P1 terhadap K(+), sedangkan perbedaan yang tidak signifikan terdapat pada K(-) terhadap P1. Tabel 2 dapat diartikan rerata kadar kalsium K(-) sebesar 4,991 mg/mL sedangkan pada P1 mengalami peningkatan secara tidak signifikan menjadi 6,202 mg/mL dan secara signifikan pada K(+)

sebesar 11,540 mg/mL. Hal ini menunjukkan adanya peningkatan kadar kalsium yang disebabkan adanya suplementasi senyawa FOS. Hasil tersebut sejalan dengan penelitian [4] yang menyatakan bahwa FOS dalam tepung umbi yakon dapat meningkatkan kadar kalsium tulang hewan coba.

Kelompok K(+) memiliki hasil kadar kalsium paling tinggi karena adanya kandungan serat pangan dalam suplemen FOS komersial. Menurut Maxim [20], serat pangan

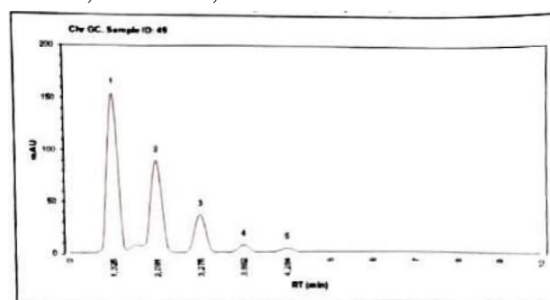
seperti pektin akan berikatan dengan kalsium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) membentuk senyawa kompleks yang terekskresikan melalui feses sehingga menurunkan absorpsi kalsium, sedangkan sebagian serat pangan larut menurut Prasad, *et al* [21] akan terurai menjadi ALRP (asam asetat, propionat, dan butirat) dengan bantuan enzim dan bakteri usus sehingga meningkatkan absorpsi kalsium. Hal tersebut didukung oleh penelitian Celeste [22] yang menyatakan bahwa adanya serat pangan seperti guar gum dan inulin dalam makanan dapat meningkatkan absorpsi kalsium dalam tubuh.

Penyerapan kalsium sebagian besar terjadi di duodenum dan jejunum bagian proksimal karena keadaannya lebih bersifat asam daripada bagian usus yang lainnya. Absorpsi kalsium dari lumen usus melibatkan 3 proses, yaitu transfer melalui membran mikrovili dari sel-sel mukosa, transfer melalui sel dan keluar dari sel melewati membran basolateral ke dalam cairan ekstraseluler. Ketika kalsium yang diserap tinggi, maka hormon kalsitonin dapat menurunkan kalsium dan fosfat dalam darah dengan menghambat resorpsi tulang (pemecahan matrix ekstraseluler tulang) oleh osteoklas dan meningkatkan *uptake* kalsium ke dalam matrix ekstraseluler tulang [23]. Hal inilah

yang akhirnya membuat kadar kalsium dalam tulang mengalami peningkatan saat diberi perlakuan FOS dari sirup umbi yakon maupun FOS komersial.

### 3.3 Uji Kadar ALRP Hewan Coba

Uji kadar ALRP pada sekum dan kolon hewan coba dilakukan menggunakan gas kromatografi Shimadzu GC-2014, Helium sebagai gas pembawa, injektor *Loop and Syringe*, kolom FID. Hasil kromatogram menunjukkan puncak pada waktu retensi masing-masing larutan standar ALRP 1,325 (asam asetat), 2,091 (asam propionat), 3,275 (asam butirat), 3,862 (isobutirat), dan 4,284 (asam valerat). Gambar 4 menunjukkan bahwa pada sampel sekum dan kolon hewan coba mengandung ALRP hasil dari fermentasi FOS. Total ALRP adalah hasil dari penjumlahan data asam asetat, propionat, butirat, isobutirat, dan valerat.



Gambar 4. Kromatogram sirup umbi yakon

Tabel 3. Rerata kadar ALRP Larutan Sekum Kolon (mmol/L) [18]

Perlakuan	Hasil Jumlah ALRP Larutan sampel Sekum Kolon(mmol/L)						Rerata
	1	2	3	4	5	6	
Air (K-)	52,53	65,67	47,48	57,37	47,52	75,97	57,757 <sup>(a)</sup>
Sirup Umbi Yakon (P1)	279,99	305,31	404,92	187,85	298,53	315,47	298,678 <sup>(b)</sup>
FOS Komersial (K+)	153,74	173,23	179,41	377,58	293,62	185,19	227,129 <sup>(b)</sup>
Signifikansi	P= 0,00						

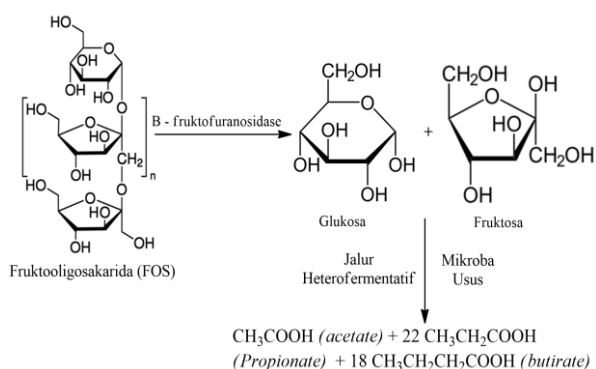
Ket: perbedaan kode menunjukkan perbedaan signifikan

Hasil pada Tabel 3 menunjukkan bahwa jumlah rerata ALRP pada hewan coba kelompok P1 memiliki nilai tertinggi, sedangkan pada kelompok K- memiliki rerata jumlah ALRP paling rendah. Jumlah rerata ALRP pada

kelompok P1 lebih besar daripada K+ dikarenakan dalam sirup umbi yakon juga mengandung senyawa inulin yang dapat didegradasi oleh bakteri membentuk ALRP.

Perbedaan yang signifikan ini menunjukkan suplementasi sirup umbi yacon meningkatkan kadar ALRP sekum/kolon hewan coba. Hal ini erat kaitannya dengan kandungan FOS pada sirup umbi yacon yang difermentasi menjadi ALRP dengan bantuan *bifidobacterium sp.*, dan *lactobacillus* [7].

Reaksi pembentukan ALRP dapat dilihat pada Gambar 5.



**Gambar 5.** Reaksi pembentukan asam lemak rantai pendek [24]

### 3.4 Korelasi Jumlah Total ALRP Dengan Kadar Kalsium Tulang Femur Hewan Coba.

Hasil analisis total ALRP dan Kadar kalsium pada tulang femur hewan coba diuji korelasi *product moment*, hasil uji korelasi dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Korelasi Jumlah ALRP dengan kadar kalsium

Perlakuan	Rerata Jumlah ALRP (mmo/L)	Rerata Kadar Kalsium (mg/mL)
Air (K-)	57,757	4,991
Sirup Umbi Yacon (P1)	298,678	6,202
FOS Komersial (K+)	227,129	11,540
Koefisien Korelasi	$r = 0,394$	

Tabel 4 menunjukkan koefisien korelasi yang didapatkan sebesar  $r = 0,394$ . Menurut Priyanto [25] dalam menginterpretasi koefisien korelasi, nilai koefisien dengan rentang 0,20 – 0,399 menunjukkan bahwa hubungan antar 2

variabel rendah. Berdasarkan pengambilan keputusan dalam analisis korelasi di atas dapat diartikan bahwa korelasi antara jumlah ALRP dengan kadar kalsium sangat rendah.

Djarwanto [26] mengungkapkan bahwa hubungan positif yang kuat dalam uji korelasi akan diperoleh apabila setiap kenaikan variabel x diikuti pula dengan kenaikan variabel y, dan sebaliknya. Hubungan yang rendah dalam penelitian ini dikarenakan penurunan data ALRP kelompok K(+) tidak diikuti dengan penurunan data kadar kalsium K(+). Faktor penyebabnya adalah adanya kandungan serat pangan dalam FOS komersial, hal tersebut sejalan dengan penelitian Maxim [20] bahwa adanya kandungan serat pangan dalam suplemen akan menyebabkan peningkatan absorpsi mineral. Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai faktor serat pangan dalam FOS komersial dan inulin dalam umbi yacon yang lebih berperan dalam meningkatkan absorpsi kalsium.

## 4. KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah:

1. Kenaikan hasil rata-rata kadar kalsium dari kelompok K(-) terhadap P1 sebesar 1,211 mg/mL dan uji statistik *post hoc* antara kelompok K(-) dan P1 ( $p > 0,05$ ) menunjukkan tidak adanya perbedaan secara signifikan suplementasi sirup umbi yacon terhadap kadar kalsium tulang tikus.
2. Analisis korelasi menunjukkan hasil koefisien korelasi sebesar  $r = 0,394$  sehingga terdapat hubungan yang rendah antara jumlah total ALRP dengan kadar kalsium pada tulang femur hewan coba.

## 5. DAFTAR PUSTAKA

1. Aziz, I. A. (2017). *Isolasi dan Karakterisasi Inulin Dari Umbi Yacon (Smallanthus sonchifolius)*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
2. Campos, D., Betalleluz-Pallardel, I., Chirinos, R., Aguilar-Galvez, A., Noratto, G., & Pedreschi, R., (2012). Prebiotic effects of yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. &

- Endl*), a source of fructooligosaccharides and phenolic compounds with antioxidant activity,. *Food Chemistry*, volume 135, no. 3, pp. 1592-1599.
3. Silva, M. D., Spreidiao, P. G., Oyama, L. M., & Morais, M. B., (2018). Effect of fructooligosaccharide supplementation in soya beverage on the intestinal absorption of calcium and iron in newly weaned rats. *British Journal of nutrition*, volume 120, no. 12, pp. 1338-1348.
  4. Rodrigues, O. R., Asquieri, E. R., & Orsi, D. C., (2014). Prevention of enzymatic browning of yacon flour by the combined use of anti-browning agents and the study of its chemical composition. *Food science and technology*, volume 34, no. 2, pp. 275-280.
  5. Glibowski, P & Bukowska, A., (2011). The effect of pH, temperature and heating time on inulin chemical stability. *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria*, volume 10, no. 2, pp. 189-196.
  6. Rifan. (2011). *Sintesis Frukto-Oligosakarida (FOS) Dari Sukrosa Dengan Menggunakan Penicillium notatum*. Jakarta: Universitas Indonesia.
  7. Sabila, F. (2012). *Karakterisasi Frukto-Oligosakarida (FOS) Dari Fermentasi Sukrosa Oleh Penicillium notatum*. Jakarta: Universitas Indonesia.
  8. Roberfroid, M. (2018). Prebiotics : The Concept Revisited 1 , 2. *The Journal of Nutrition Effects of Probiotics and Prebiotics*, volume 137, pp. 830-837.
  9. Scholz-Ahrens, K. E., Ade, P., Marten, B., Weber, P., Timm, W., Asil, W., Gluer, C., & Schrezenmeir, J., (2007). Prebiotics, probiotics, and synbiotics affect mineral absorption, bone mineral content, and bone structure. *Journal of Nutrition*, volume 137, no. 3, pp. 838-846.
  10. Rizzoli, R., & Biver, E., (2020). Are Probiotics the New Calcium and Vitamin D for Bone Health? *Current Osteoporosis Reports*, volume 18, no. 3, pp. 273-284.
  11. Weaver, C. M., Alekel, L., Ward, W. E., & Ronis, M. J., (2012). Flavonoid Intake and Bone Health. *Journal of Nutrition in Gerontology and Geriatrics*, volume 31, no. 3, pp. 239-253.
  12. Byrd-bredbenner, C., Beshgetoor, D., Moe, G., & Berning, J., (2008). *Wardlaw's Perspective In Nutrition*. New York: McGraw & Hill.
  13. Galea, S., & Blundell, R., (2011). Parathyroid Hormone and Calcitonin Regulating Calcium Levels. *Research Journal of Biological Sciences*, volume 6, no. 4, pp. 183-186.
  14. Lobo, A. R., Colli, C., Alvares, E. P., & Fillisetti, T. M. C., (2007). Effects of fructans-containing yacon (*Smallanthus sonchifolius Poepp & Endl.*) flour on caecum mucosal morphometry, calcium and magnesium balance, and bone calcium retention in growing rats. *British Journal of Nutrition*, volume 97, no. 4, pp. 776-785.
  15. Yuanita, L., Wikandari, P. R., Prastiwi, D., Avandi, R. I., & Sabtiawan, W. B., (2020). *Laporan Penelitian "Meningkatkan Imunitas Seluler Dan Humoral Melalui Penggunaan Inhibitor Alami Pada Sirup Prebiotik Yacon (Smallanthus Sonchifolia): Upaya Menghadapi Covid-19"*. Surabaya: tidak dipublikasikan.
  16. Tangalayuk, R. R., Suarsana, I. N., & Utama, I. H., (2015). Kadar Kalsium dan Fosfor Pada Tulang Tikus Betina yang Diberi Tepung Tempe Rendah Lemak. *Buletin Veteriner Udayana*, volume 7, no. 1, pp. 59-65.
  17. Sudarmadji, S., & Haryono, B. (1989). *Analisis Bahan Makanan Dan Pertanian*. Yogyakarta: Universitas dan Gizi UGM.
  18. Hartono, E. F., Iriyanti, N., & Suhermiyati, S., (2016). Efek Penggunaan Sinbiotik Terhadap Kondisi Mikroflora dan Histologi Usus Ayam Sentul Jantan. *Jurnal Agripet*, volume 16, no. 2, pp. 97-105.
  19. Handayani, R. (1992). *Buku Teks Histologi Veteriner*. Jakarta: UI-Press .
  20. Khotimchenko, M., & Serguschenko, I., (2006). Lead absorption and excretion in rats



- given insoluble salts of pectin and alginate. *International Journal of Toxicology*, volume 25, no. 3, pp. 195-203.
21. Prasad, K. N., & Bondy, S. C., (2019). Dietary fibers and their fermented short-chain fatty acids in prevention of human diseases. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, volume 17, no. 1, pp. 1-20.
22. Alexander, C., Swanson, K. S., Fahey, G. C., & Garleb, K. A. (2019). Perspective: Physiologic Importance of Short-Chain Fatty Acids from Nondigestible Carbohydrate Fermentation. *Advances in Nutrition*, volume 10, no. 4, pp. 576-589.
23. Shita, A. D., & Sulistyani (2010). Pengaruh Kalsium Terhadap Terhadap Tumbuh Kembang Gigi Geligi Anak. *Stomatognatic (J. K. G Unej)*, volume 7, no. 3, pp. 40-44.
24. Binns. (2013). *Probiotics, Prebiotics and The Gut Microbiota*. Brussels: International Life Sciences Institute Europe.
25. Priyanto, D. (2010). *Paham Analisa Statistik Data dengan SPSS*. Yogyakarta: MediaKom.
26. Djarwanto. (2001). *Mengenal Beberapa Uji Statistik dalam Penelitian*. Yogyakarta: Liberty.