

Kajian Peningkatan Pati Resisten yang Terkandung dalam Bahan Pangan Sebagai Sumber Prebiotik

(Study of Development Resistant Starch Contained in Food Ingredients as Prebiotic Source)

Raden Haryo Bimo Setiarto^{1*}, Betty Sri Laksmi Jenie², Didah Nur Faridah², Iwan Saskiawan¹

(Diterima Mei 2015/Disetujui Oktober 2015)

ABSTRAK

Prebiotik adalah bahan pangan yang secara selektif mampu menstimulasi pertumbuhan bakteri probiotik di kolon. Pati resisten merupakan pati yang tidak dapat dicerna oleh enzim pencernaan dan tahan terhadap asam lambung sehingga dapat mencapai usus besar untuk difermentasi oleh bakteri probiotik. Review ini bertujuan mengkaji upaya peningkatan kandungan pati resisten (RS) pada bahan pangan sebagai sumber prebiotik. Beberapa upaya peningkatan kadar RS dalam bahan pangan antara lain siklus pemanasan bertekanan-pendinginan, kombinasi lintnerisasi dengan pemanasan bertekanan-pendinginan, teknik hidrotermal, dan kombinasi *debranching* pullulanase dengan pemanasan bertekanan-pendinginan. Hasil kajian secara tekno-ekonomis menunjukkan bahwa kombinasi fermentasi bakteri asam laktat dengan pemanasan bertekanan-pendinginan dapat dijadikan sebagai teknik alternatif untuk meningkatkan kandungan pati resisten dalam bahan pangan secara lebih efektif dan efisien.

Kata kunci: bahan pangan, lintnerisasi, pati resisten, pemanasan bertekanan-pendinginan, prebiotik, pullulanase

ABSTRACT

Prebiotics are food ingredients that selectively stimulate the growth of probiotic bacteria in the colon. Resistant starch (RS) is the starch that can not be digested by digestive enzymes and resistant to gastric acid so it can reach the colon to be fermented by probiotic bacteria. There are treatments to increase the content of RS such as: autoclaving-cooling cycling, combination of lintnerized with autoclaving-cooling, and combination of *debranching* pullulanase with autoclaving-cooling. The results of techno-economical study showed that the combination of fermentation followed by autoclaving-cooling can be used as an alternative technique to increase the content of resistant starch in food more effectively and efficiently.

Keywords: autoclaving-cooling, food ingredients, lintnerized, prebiotic, pullulanase, resistant starch

PENDAHULUAN

Perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi telah menyebabkan perubahan tren konsumsi pangan. Saat ini konsumen tidak hanya menilai pangan dari segi nutrisi, sensorik, dan keamanan tetapi juga mempertimbangkan efek pangan bagi kesehatan. Pangan fungsional adalah pangan yang bersifat aman, memiliki nilai gizi, dan efek positif bagi kesehatan. Salah satu komponen bahan pangan fungsional yang dikembangkan adalah prebiotik. Prebiotik adalah komponen bahan pangan yang bermanfaat bagi manusia karena dapat menstimulasi pertumbuhan dan aktivitas sejumlah bakteri probiotik dalam kolon sehingga dapat memperbaiki kesehatan saluran pencernaan manusia (Toma & Pokrotnieks 2006; Wells *et al.* 2008).

Kajian untuk mengungkap pemanfaatan bahan pangan sebagai sumber prebiotik telah dilakukan melalui evaluasi sifat prebiotik baik secara *in-vitro* maupun *in-vivo*. Beberapa penelitian yang bersifat *in-vitro* diantaranya adalah analisis efek prebiotik dan indeks prebiotik (Roberfroid 2007), aktivitas prebiotik terhadap bakteri patogen (Huebner *et al.* 2007), uji viabilitas bakteri asam laktat (BAL) (Kim *et al.* 2009), ketahanan terhadap asam lambung (Wicheinchot *et al.* 2010), serta analisis asam lemak rantai pendek sebagai hasil fermentasi bakteri probiotik (Lesmes *et al.* 2009). Penelitian *in-vivo* dilakukan dengan memberikan pakan prebiotik pada tikus percobaan yang dilanjutkan dengan analisis jumlah koloni bakteri probiotik pada feses tikus (Nuraida *et al.* 2008; Arief *et al.* 2010). Vrese dan Marteau (2007) melaporkan bahwa bahan pangan dinyatakan sebagai sumber prebiotik yang baik apabila memiliki nilai efek prebiotik dan indeks prebiotik di atas 2,0 serta aktivitas prebiotik terhadap bakteri patogen di atas 0,25.

Granato *et al.* (2013) melaporkan bahwa produk prebiotik yang digunakan sebagai bahan baku, suplemen, dan makanan di pasar global mencapai angka penjualan sebesar 14,9 milyar USD pada tahun

¹ Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Jl. Raya Jakarta-Bogor Km 46, Kawasan CSC Cibinong 16911.

² Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680.

* Penulis Korespondensi: E-mail: haryobimo42@yahoo.com

2011 dan 16 milyar USD tahun 2012, serta diestimasi akan mencapai 19,6 milyar USD pada tahun 2013. Tren penjualan produk prebiotik terus meningkat di tahun 2014 sebesar 22,4 milyar USD dan sudah mencapai 23,5 milyar USD di awal tahun 2015 (FAO 2007). Tingkat permintaan konsumen terhadap variasi jenis produk prebiotik meningkat secara signifikan sejak lima tahun terakhir (Granato *et al.* 2013). Hal ini mendorong industri pangan untuk melakukan inovasi dan mengembangkan jenis produk prebiotik baru.

Selama ini produk prebiotik yang paling banyak dikomersialisasikan adalah golongan *oligosakarida* seperti FOS (*frukto oligosakarida*), GOS (*galakto oligosakarida*), rafinosa, dan inulin, yaitu mewakili 71,9% penjualan prebiotik di tahun 2013 (Granato *et al.* 2013). Prebiotik pada produk pangan tersebut sebagian besar diaplikasikan pada produk susu formula untuk menstimulasi pertumbuhan bakteri probiotik. Sumber prebiotik selain *oligosakarida* yang sangat potensial untuk dikembangkan adalah pati resisten (*resistant starch* (RS)). Pati resisten (RS) merupakan pati yang tidak dapat dicerna oleh enzim pencernaan dan tahan terhadap asam lambung sehingga dapat mencapai usus besar untuk difermentasi oleh bakteri probiotik (Sajilata *et al.* 2006; Zaragoza *et al.* 2010). RS memiliki kelebihan sebagai prebiotik jika dibandingkan dengan FOS dan inulin, yaitu mampu mengikat dan mempertahankan kadar air dalam feses, sehingga tidak menyebabkan sembelit dan flatulensi jika dikonsumsi dalam jumlah besar (Ozturk *et al.* 2011; Vatanasuchart *et al.* 2012). Selain itu, RS digolongkan sebagai sumber serat tidak larut dan mampu menurunkan kolesterol dan indeks glikemik (Okoniewska & Witwer 2007), mencegah terjadinya kanker kolon melalui pembentukan asam lemak rantai pendek (Hovhannisyan *et al.* 2009), mereduksi pembentukan batu empedu, dan membantu penyerapan mineral (Lesmes *et al.* 2009). FAO (2007) telah merekomendasikan konsumsi RS sebanyak 15–20 g setiap hari untuk memperoleh manfaat bagi kesehatan.

Kandungan RS dipengaruhi oleh rasio amilosa dan amilopektin, konsentrasi enzim pululanase, konsentrasi pati, suhu pemanasan, siklus pemanasan dan pendinginan, kondisi penyimpanan, dan adanya lipid atau substansi bermolekul rendah seperti gula (Sajilata *et al.* 2006). Analisis daya cerna pati merupakan salah satu parameter yang digunakan untuk mengetahui pengaruh perlakuan modifikasi pati terhadap kadar RS yang dihasilkan. Daya cerna pati yang lebih rendah mengindikasikan kadar RS yang meningkat.

Berbagai upaya untuk meningkatkan kadar pati resisten pada bahan pangan telah dilakukan. Pemberian pemanasan bertekanan-pendinginan 5 siklus pada pati garut meningkatkan kadar RS hingga 5 kali lipat dari 2,12 menjadi 10,91% (Sugiyono *et al.* 2009). Kombinasi hidrolisis asam dan 3 siklus pemanasan bertekanan-pendinginan juga dapat meningkatkan kadar RS pada pati garut sebesar 5,6 kali lipat (Faridah *et al.* 2013). Sajilata *et al.* (2006) dan

Zaragoza *et al.* (2010) melaporkan bahwa semakin banyak jumlah siklus pemanasan bertekanan-pendinginan yang diterapkan maka akan semakin tinggi kadar RS yang diperoleh. Akan tetapi hal ini tentu sangat berpengaruh terhadap besarnya biaya produksi, energi serta waktu produksi yang lebih lama. Dalam upaya untuk mengurangi jumlah siklus pemanasan bertekanan-pendinginan (*autoclaving-cooling* (OC)), Jenie *et al.* (2012) telah menerapkan fermentasi bakteri asam laktat (BAL) terhadap irisan pisang tanduk sebagai praperlakuan dengan 1 siklus OC sehingga terjadi peningkatan kadar RS tepung pisang tanduk sebesar 2 kali lipat (dari 5,87–6,45% menjadi 12,99–13,71%) yang setara dengan 2 siklus OC tanpa fermentasi. Tujuan review ini adalah mengkaji berbagai upaya untuk meningkatkan kadar pati resisten (RS) pada bahan pangan sebagai sumber prebiotik secara efektif dan efisien.

METODE PENELITIAN

Pati Resisten

Pati dapat dibedakan berdasarkan daya cernanya oleh enzim amilase. Klasifikasi pati berdasarkan daya cernanya terdiri atas tiga, yaitu pati yang dicerna dengan cepat (*rapidly digestible starch*), pati yang dicerna dengan lambat (*slowly digestible starch*), dan pati resisten (*resistant starch*). (Sajilata *et al.* 2006). Sejumlah besar pati yang tidak dapat dicerna (RS) masuk ke dalam usus besar dan merupakan substrat yang penting bagi mikroflora kolon. RS dapat terukur bersama-sama dengan serat dalam bahan pangan sebagai komponen serat pangan tidak larut. Pada Tabel 1 ditampilkan beberapa informasi tentang kandungan RS, pati non-RS, total pati, dan indeks prebiotik pada berbagai bahan pangan.

Pati resisten (RS) diklasifikasikan dalam lima kelompok berdasarkan pada asal dan cara proses pembuatannya, yaitu tipe RS1, 2, 3, 4, dan 5 (Sajilata *et al.* 2006; Zaragoza *et al.* 2010; Birt *et al.* 2013). Pati resisten tipe I (RS1) merupakan pati yang terdapat secara alamiah dan secara fisik terperangkap dalam sel-sel tanaman dan matriks dalam bahan pangan kaya pati, terutama dari biji-bijian dan sereal. Jumlah RS1 dipengaruhi oleh proses pengolahan dan dapat dikurangi atau dihilangkan dengan penggilingan. Pati resisten tipe II (RS2) merupakan pati yang secara alami sangat resisten terhadap pencernaan oleh enzim α -amilase dan umumnya granulanya berbentuk kristalin. Sumber RS2 antara lain pisang dan kentang yang masih mentah, serta jenis pati jagung dengan kadar amilosa yang tinggi. Pati resisten tipe III (RS3) adalah pati teretrogradasi yang diproses dengan pemanasan otoklaf (121 °C), *annealing*, HMT (*heat moisture treatment*), dan dilanjutkan dengan pendinginan pada suhu rendah (4 °C) maupun pada suhu ruang sehingga mengalami retrogradasi. Retrogradasi pati terjadi melalui reasosiasi (penyusunan kembali) ikatan hidrogen antara amilosa rantai pendek yang terbentuk setelah proses pemanasan otoklaf dan

Tabel 1 Kandungan RS, pati non-RS, total pati, dan indeks prebiotik pada berbagai bahan pangan

Bahan pangan	RS	Pati non-RS	Total pati	Indeks prebiotik
Tepung beras	2,15%	71,63%	73,78%	1,5
Pati beras	4,72%	82,04%	86,76%	2,1
Tepung jagung	1,16%	35,07%	36,23%	1,1
Pati jagung	4,85%	64,66%	69,51%	1,6
Tepung kentang	3,19%	49,35%	52,54%	2,2
Pati kentang	6,30%	63,72%	70,02%	2,6
Tepung singkong	4,12%	59,61%	63,74%	2,1
Pati singkong	9,69%	65,99%	75,68%	2,8
Tepung gandum	3,69%	30,27%	33,96%	1,8
Pati gandum	5,30%	53,72%	59,02%	2,2
Tepung pisang	6,14%	51,99%	58,13%	4,6
Pati pisang	15,87%	55,03%	70,90%	5,8
Tepung kedelai	7,84%	41,73%	49,58%	2,8
Pati kedelai	8,18%	48,19%	56,37%	3,4
Tepung kacang merah	9,54%	24,54%	34,10%	1,4
Pati kacang merah	10,63%	29,52%	40,15%	1,9
Tepung kacang hijau	2,33%	23,40%	25,73%	1,8
Pati kacang hijau	4,59%	44,28%	48,87%	2,3

Sumber: Toma dan Pokrotnieks (2006); Wells *et al.* (2008); Vatanasuchart *et al.* (2010); Vatanasuchart *et al.* (2012); Moongngarm (2013).

dipercepat melalui proses pendinginan. Pati resisten tipe IV (RS4) adalah pati termodifikasi secara kimia seperti pati ester maupun pati ikatan silang (Sajilata *et al.* 2006 dan Zaragoza *et al.* 2010).

Pati resisten tipe V (RS5) terbentuk ketika pati berinteraksi dengan lipid, sehingga amilosa membentuk kompleks heliks tunggal dengan asam lemak dan lemak alkohol. Rantai linear pati dalam struktur heliks akan membentuk kompleks dengan asam lemak dalam rongga heliks, sehingga pati akan saling mengikat dan sulit dihidrolisis oleh enzim amilase. Karena pembentukan kompleks amilosa-lipid adalah reaksi instan dan kompleks dapat terbentuk setelah proses pemasakan, maka RS5 dianggap stabil terhadap pemanasan (Birt *et al.* 2013). Dari semua jenis RS, RS3 adalah yang paling menarik perhatian karena RS tipe ini dapat mempertahankan karakteristik organoleptik ketika ditambahkan pada makanan (Lehmann *et al.* 2002). RS tipe ini relatif tahan panas dibandingkan RS tipe lainnya sehingga RS3 stabil selama proses pengolahan pangan (Zaragoza *et al.* 2010). RS3 merupakan jenis RS yang paling banyak digunakan sebagai bahan baku fungsional berbasis RS. Kandungan RS3 dalam bahan pangan alami umumnya rendah, oleh karena itu perlu ditingkatkan kadarnya melalui teknik modifikasi.

Manfaat dan Aplikasi Pati Resistan Sebagai Sumber Prebiotik

Toma dan Pokrotnieks (2006), serta Roberfroid (2007) melaporkan bahwa pati resisten yang terkandung dalam bahan pangan dapat diklaim memiliki sifat prebiotik karena telah memenuhi beberapa persyaratan sebagai berikut:

- Tahan terhadap asam lambung dan tidak dihidrolisis oleh enzim pencernaan
- Tidak diabsorpsi di bagian atas saluran gastrointestinal

- Dapat menjadi substrat yang selektif untuk pertumbuhan bakteri probiotik di usus besar contohnya: *Bifidobacterium bifidum* maupun *Lactobacillus plantarum*
- Tidak bisa dimanfaatkan untuk pertumbuhan bakteri enteropatogenik
- Dapat meningkatkan jumlah maupun aktivitas mikroflora yang mendukung kesehatan saluran pencernaan

Sebagai sumber prebiotik RS3 dapat memodulasi pertumbuhan bakteri probiotik seperti *Bifidobacteria* sp. dan *Lactobacillus* sp., menstimulasi sistem imun, menghambat patogen di intestinal, dan mereduksi konstipasi (Vanhoutte *et al.* 2006). Wronkowska *et al.* (2006) melaporkan bahwa RS3 dapat difermentasi oleh bakteri probiotik sehingga dihasilkan asam lemak rantai pendek (*short chain fatty acid* atau SCFA). Hovhannisyan *et al.* (2009) melaporkan bahwa fermentasi RS3 oleh bakteri probiotik banyak mengandung SCFA seperti asam asetat, propionat, dan butirrat. SCFA tersebut menyebabkan usus menjadi asam dan akhirnya menekan pertumbuhan bakteri patogen penyebab radang usus seperti *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC) dan *Clostridium perfringens* (Toma & Pokrotnieks 2006). SCFA juga mampu menurunkan pH usus, meningkatkan absorpsi kalsium, mengurangi penyerapan amonia, dan amina sehingga dapat mencegah tekanan darah tinggi (Toole & Cooney 2008).

Keberadaan RS3 dalam usus halus dapat menurunkan respons glikemik dan insulemik pada penderita diabetes dan penderita hiperinsulemik (Okoniewska & Witwer 2007). RS3 juga berpotensi memperbaiki sensitivitas hormon insulin (Robertson *et al.* 2005). RS3 dapat mencapai kolon tanpa mengalami perubahan dan berkontribusi sebagai serat pangan. Fermentasi RS3 dalam usus besar oleh mikroorganisme mampu meningkatkan masa feses.

Peningkatan masa feses memengaruhi berbagai agen genotoksik dalam usus besar, sehingga mereduksi kerusakan DNA dalam sel kolon (Toma & Pokrotnieks 2006).

So *et al.* (2007) melaporkan pemberian RS3 pada tikus secara signifikan memberi dampak terhadap metabolisme lipid, memengaruhi regulasi nafsu makan yang disebabkan oleh perubahan aktivitas neuronal dalam pusat pengatur nafsu makan hipotalamik yang memberikan sugesti kenyang. Menurut Okoniewska dan Witwer (2007) RS3 dapat meningkatkan rasa kenyang karena mampu meningkatkan ekspresi genetik penstimulasi rasa kenyang yang dihubungkan pada hormon GLP-1 dan PYY dalam usus besar. Higgins *et al.* (2006) juga melaporkan bahwa RS3 secara signifikan mencegah peningkatan berat badan dalam jangka waktu yang lama.

Konsumsi RS3 juga dapat mencegah pertumbuhan sel tumor, menurunkan proliferasi sel, meningkatkan apoptosis, menginduksi protein kinase C- δ (PKC- δ), menginduksi ekspresi protein heat shock (HSP 25), tetapi menghambat *glutathion peroksidase gastrointestinal* (GI-GPx), dan mencegah karsinogenesis kolon (Baur-Marinovic *et al.* 2006). Ramakrishna *et al.* (2008) melaporkan bahwa RS3 mampu mereduksi kehilangan cairan fekal dan memperpendek durasi diare pada remaja dan orang dewasa penderita kolera dan mereduksi pertumbuhan *Vibrio cholera* penyebab kolera.

Aplikasi RS sebagai prebiotik telah dilakukan dengan penambahan tepung pisang uli modifikasi kaya RS pada pembuatan yoghurt sinbiotik sebagaimana yang dilaporkan oleh Widaningrum *et al.* (2013) dan Jenie *et al.* (2013). Yoghurt sinbiotik dibuat dengan mensubstitusi 70% susu skim dengan tepung pisang termodifikasi dan diberi penambahan probiotik *Bifidobacterium bifidum* maupun *Lactobacillus plantarum*. Yoghurt sinbiotik tersebut masih mengandung total probiotik 10^9 CFU/ml setelah penyimpanan dalam refrigerator selama 4 minggu. Selain itu juga masih dapat diterima secara sensori oleh panelis dari segi aroma, rasa, warna, tekstur, dan konsistensi. Aplikasi lain RS sebagai sumber prebiotik dilakukan dengan pembuatan *brownies* kukus yang disubstitusi dengan 70% tepung pisang modifikasi (TPM) kaya RS sebagai pengganti tepung terigu (Jenie *et al.* 2010). *Brownies* kukus 70% TPM ini memiliki kadar RS dan serat yang tinggi, yaitu 1,51 dan 10,08% bk. Kandungan RS dan serat yang tinggi menyebabkan *brownies* memiliki daya cerna pati yang rendah, yaitu 45,96% bk.

Jenie *et al.* (2010) juga melaporkan bahwa tepung pisang modifikasi (TPM) yang dihasilkan dari fermentasi spontan 24 jam dengan 1 siklus *autoclaving-cooling* dapat diaplikasikan sebagai tepung komposit pada pembuatan produk pangan seperti roti, *brownies*, dan *cookies*. Aplikasi tepung tersebut dapat mencapai 20% pada roti, 40% pada *brownies*, dan 60% pada *cookies* dengan tingkat kesukaan panelis yang cukup tinggi. Pengolahan TPM menjadi *brownies* kukus dan roti menghasilkan retensi RS

yang lebih rendah karena selama pembuatan *brownies*, adonan dikukus, dan terjadi proses hidrotermal yang memungkinkan uap air ditransfer ke dalam produk, sedangkan adanya proses fermentasi pada adonan roti juga menghasilkan air sebagai hasil metabolisme khamir sehingga dapat meningkatkan kadar air bahan dan menurunkan retensi RS.

Di samping memiliki efek fisiologis terhadap kesehatan, RS juga mempunyai sifat fungsional yang dapat diaplikasikan dalam proses pengolahan pangan. RS dapat digunakan sebagai bahan pengisi (*bulking agent*) dalam produk pangan rendah gula dan lemak. RS mempunyai daya ikat air yang lebih rendah dibandingkan serat pangan, sehingga tidak berkompetisi dengan pangan yang lain untuk memperoleh air, lebih mudah diolah, dan tidak menyebabkan produk menjadi lengket. Dengan demikian, RS dapat berguna dalam formulasi pangan dengan kadar air rendah seperti *cookies* dan *cracker* (Liu 2005).

Teknik Modifikasi untuk Peningkatan Kadar Pati Resisten dalam Bahan Pangan

Kandungan RS dalam bahan pangan dapat ditingkatkan dengan beberapa cara baik secara fisik, kimia, maupun enzimatik diantaranya melalui pemanasan bertekanan-pendinginan (*autoclaving-cooling*) beberapa siklus, hidrolisis asam di bawah suhu gelatinisasi (proses lintnerisasi), dan pemutusan rantai cabang amilopektin (*debranching*) dengan enzim pululanase yang dikombinasikan dengan *autoclaving-cooling* (Zaragoza *et al.* 2010). Berbagai teknik modifikasi untuk peningkatan kadar RS pada bahan pangan dapat dilihat di Tabel 2.

Teknik Pemanasan Bertekanan dan Pendinginan (*Autoclaving-Cooling*)

Teknik modifikasi peningkatan pati resisten dengan siklus *autoclaving-cooling* telah dilaporkan oleh banyak peneliti, seperti Aparicio-Saguilan *et al.* (2005), Gonzalez-Soto *et al.* (2007), Zabar *et al.* (2008), Sugiyono *et al.* (2009), Vatanasuchart *et al.* (2012), Asbar (2014). Prinsip dari teknik tersebut adalah pati disuspensikan dahulu dalam air dengan nisbah penambahan air tertentu (1:2–1:5). Suspensi pati tersebut kemudian dipanaskan dengan menggunakan otoklaf yang mengakibatkan pati tergelatinisasi secara sempurna dan keluarnya fraksi amilosa dari granula pati. Selanjutnya pasta pati didinginkan yang dapat menyebabkan fraksi amilosa mengalami retrogradasi. Kadar RS3 dapat ditingkatkan dengan perlakuan *autoclaving-cooling* secara berulang.

Proses pemanasan pada suhu tinggi di dalam otoklaf (*autoclaving*) menyebabkan suspensi pati mengalami gelatinisasi. Pada saat gelatinisasi pati, sifat *birefringence* granula pati hilang akibat penambahan air secara berlebih dan pemanasan pada waktu dan suhu tertentu, sehingga granula pati membengkak dan tidak dapat kembali pada kondisi semula (*irreversible*) (Zabar *et al.* 2008). Pemanasan suspensi pati di atas suhu gelatinisasi dapat menyebabkan terjadinya pemutusan (disosiasi) ikatan hidrogen

dari struktur *double helix* amilopektin, pelelehan (*melting*) bagian kristalit, dan pelepasan amilosa dari granulanya (*amylose leaching*) (Sajilata *et al.* 2006; Zabar *et al.* 2008; Zaragoza *et al.* 2010).

Proses *autoclaving-cooling* secara berulang dapat menyebabkan semakin banyaknya pembentukan fraksi amilosa teretrogradasi atau terkristalisasi (Aparicio-Saguilan *et al.* 2005). Fraksi amilosa yang berikatan dengan fraksi amilosa lainnya melalui ikatan hidrogen membentuk struktur *double helix*. Struktur *double helix* berikatan dengan struktur *double helix* lainnya membentuk kristalit sehingga terjadi rekristalisasi fraksi amilosa yang dikenal dengan proses pembentukan RS3 (Mutungi *et al.* 2009). Rekristalisasi amilosa ini terjadi selama proses pendinginan (*cooling*). Amilosa teretrogradasi (RS3) bersifat lebih stabil terhadap panas, sangat kompleks, dan tahan terhadap enzim amilase.

Proses *autoclaving-cooling* yang berulang menyebabkan terjadinya peningkatan penyusunan amilosa-amilosa dan amilosa-amilopektin dan peningkatan pembentukan kristalin yang lebih sempurna yang berakibat pada peningkatan kadar RS3 (Leong *et al.* 2007). Faktor lain yang berpengaruh terhadap pembentukan RS3 melalui proses *autoclaving-cooling* adalah konsentrasi pati dan suhu otoklaf. Pembentukan RS3 berlangsung paling optimum apabila konsentrasi suspensi pati dalam air sebesar 20% (b/b) dengan suhu otoklaf sebesar 121 °C sebagaimana dilaporkan oleh Leeman *et al.* (2006) dan Zaragoza *et al.* (2010). Konsentrasi suspensi pati yang lebih kecil atau lebih besar dari 20% (b/b) menghasilkan kadar RS3 yang cenderung menurun.

Proses gelatinisasi granula pati juga sangat dipengaruhi oleh nisbah pati dan air. Jumlah air yang ditambahkan dalam suspensi pati akan memengaruhi konsentrasi pati sehingga berpengaruh dalam proses *autoclaving-cooling* (Leeman *et al.* 2006). Hal ini disebabkan nisbah pati dan air sangat memengaruhi proses ekspansi matriks pati dan gelatinisasi granula. Penambahan air yang terlalu sedikit ke dalam suspensi pati menyebabkan jumlah amilosa yang keluar dari granula tidak optimum (Sajilata *et al.* 2006). Hal ini dapat mengurangi kadar pati resisten yang terbentuk yang disebabkan oleh menurunnya peluang terjadinya reasosiasi amilosa-amilosa dan amilosa-amilopektin (Zaragoza *et al.* 2010).

Teknik Hidrolisis Asam Secara Lambat (Lintnerisasi)

Perlakuan lintnerisasi bertujuan untuk meningkatkan jumlah fraksi amilosa rantai pendek dengan bobot molekul rendah yang merupakan hasil degradasi fraksi amilosa rantai panjang pada titik percabangan α -1,6 dari rantai amilopektin (Ozturk *et al.* 2011). Apabila jumlah fraksi amilosa rantai pendek meningkat, maka semakin banyak fraksi amilosa yang teretrogradasi, sehingga proses pembentukan RS3 semakin tinggi dan berdampak pada penurunan daya cerna pati (Ozturk *et al.* 2009). Fraksi amilosa sebagai struktur linear akan memfasilitasi pembentukan ikatan

silang dengan adanya ikatan hidrogen sehingga terbentuk struktur amilosa yang sangat kompak (Zhao & Lin 2009).

Hidrolisis pati secara lambat dengan asam dilakukan dengan menggunakan asam kuat seperti HCl maupun H₂SO₄. Asam kuat akan menghidrolisis ikatan glikosidik, sehingga memperpendek panjang rantai dan berat molekul amilosa menjadi lebih rendah (Aparicio-Saguilan *et al.* 2005). Proses modifikasi dengan hidrolisis asam dibuat dengan mensuspensikan pati dalam larutan asam (konsentrasi 36–40,0%) dan memanaskannya pada suhu di bawah suhu gelatinisasi pati (40–60 °C), kemudian dilakukan pengadukan selama inkubasi. Apabila telah tercapai tingkat kekentalan atau derajat konversi yang dikehendaki, suspensi dinetralkan dan residu pati disaring atau disentrifugasi, kemudian dicuci, dan dikeringkan (Ozturk *et al.* 2011). Modifikasi pati dengan metode hidrolisis asam tidak mengubah bentuk granula pati yang dihasilkan, tetapi menyebabkan penurunan kemampuan mengembang (*swelling*), viskositas, dan kestabilan pasta pati selama proses gelatinisasi (Ferrini *et al.* 2008). Proses hidrolisis asam terjadi dalam dua tahap penyerangan pada granula pati, yaitu tahap penyerangan secara cepat pada daerah amorf, dan tahap penyerangan yang lebih lambat terhadap fraksi amilopektin di daerah kristalin (Ferrini *et al.* 2008). Beberapa penelitian terkait modifikasi peningkatan RS dengan teknik lintnerisasi dapat dilihat pada Tabel 2.

Teknik Hidrotermal

Perlakuan hidrotermal terdiri dari *annealing* dan *heat moisture treatment* (HMT). Prinsip perlakuan hidrotermal adalah penggunaan air dan panas untuk memodifikasi pati. Pada *annealing*, modifikasi dilakukan dengan menggunakan jumlah air yang banyak (lebih dari 40%) dan dipanaskan pada suhu di bawah suhu gelatinisasi pati. Proses HMT dilakukan dengan menggunakan jumlah kandungan air terbatas (18, 21, 24, dan 27%) dan dipanaskan pada suhu melebihi suhu gelatinisasi. Perlakuan hidrotermal dapat mengubah karakteristik gelatinisasi pati, yaitu meningkatkan suhu gelatinisasi, meningkatkan viskositas pasta pati, dan meningkatkan kecenderungan pati untuk mengalami retrogradasi (Gonzales-Soto *et al.* 2007).

Teknik Debranching Pati Melalui Enzim Pululanase

Enzim pululanase (EC 3.2.1.4.1 atau pullulan 6-glucanohydrolase) merupakan enzim mikrobial yang dihasilkan oleh *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, *Bacillus halodurans*, dan *Klebsiella pneumoniae* melalui proses fermentasi (Salminen *et al.* 2004, Asha *et al.* 2013). Enzim ini memutus ikatan glikosidik α -1,6 yang merupakan ikatan percabangan pada molekul amilopektin (*debranching*) sehingga akan dihasilkan amilosa rantai pendek (DP 19-29) sebagai bahan baku RS (Reddy *et al.* 2008).

Pengaruh perlakuan *debranching* dengan pululanase dalam meningkatkan kadar RS3 telah dilaporkan

Tabel 2 Berbagai teknik modifikasi peningkatan RS pada berbagai bahan pangan

Bahan pangan	Teknik modifikasi	Peningkatan kadar RS	Referensi
Pati gandum	1 siklus autoclaving-cooling	6,20%	Sajilata <i>et al.</i> (2006)
Pati jagung	3 siklus autoclaving-cooling	7,80%	Zhao dan Lin (2009)
	1 siklus autoclaving-cooling	4,10%	
	3 siklus autoclaving-cooling	8,50%	
	6 siklus autoclaving-cooling	11,20%	Ozturk <i>et al.</i> (2009)
	Hidrolisis HCl 0,1N (6 jam) dan 3 siklus autoclaving-cooling	13,80–14,90%	
Tepung mocaf (<i>modified cassava flour</i>)	Hidrolisis asam sirat 0,1M (12 jam) dan 3 siklus autoclaving-cooling	11,10–11,50%	Mun dan Shin (2006)
	1 siklus autoclaving-cooling	4,20%	Asbar (2014)
	2 siklus autoclaving-cooling	6,30%	
Pati pisang	3 siklus autoclaving-cooling	8,70%	Aparicio-Saguilan <i>et al.</i> (2005)
	3 siklus autoclaving-cooling	16,02%	
Pati garut	Hidrolisis HCl 1 N (6 jam) dan 3 siklus autoclaving-cooling	16,02%	
	5 siklus autoclaving-cooling	13,56%	Sugiyono <i>et al.</i> (2009)
	Hidrolisis HCl 2,2 N (2 jam) dan 3 siklus autoclaving-cooling	7,49%	Faridah <i>et al.</i> (2013)
Tepung pisang tanduk	Fermentasi <i>L. salivarius</i> FSnh1 (12 jam) dengan 2 siklus autoclaving-cooling	28,88%	Nurhayati <i>et al.</i> (2014)
	Fermentasi kultur campuran <i>L. plantarum</i> kik dan <i>L. fermentum</i> 2B4 (72 jam) dengan 1 siklus autoclaving-cooling	12,99–13,71%	Jenie <i>et al.</i> (2012)

oleh beberapa peneliti (Gonzales-Soto *et al.* 2007; Leong *et al.* 2007; Pongjanta *et al.* 2009; Miao *et al.* 2009; Mutungi *et al.* 2009; Ozturk *et al.* 2009; Zhao & Lin 2009; Vatanasuchart *et al.* 2010). Secara umum, kadar RS3 dipengaruhi oleh konsentrasi enzim pululanase dan waktu inkubasi selama proses *debranching*, serta suhu dan waktu pemanasan (*autoclaving*), dan pendinginan (*cooling*) setelah proses *debranching* (Ozturk *et al.* 2009; Zhao & Lin 2009; Vatanasuchart *et al.* 2010). Beberapa penelitian terkait modifikasi peningkatan RS dengan teknik *debranching* pati melalui enzim pululanase dapat dilihat pada Tabel 3.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kajian Teknis dan Ekonomis Peningkatan Kandungan Pati Resisten dalam Bahan Pangan

Pemanfaatan teknik pemanasan bertekanan-pendinginan beberapa siklus sebagaimana penelitian Asbar *et al.* (2014) pada tepung mocaf, Sugiyono *et al.* 2009 pada pati garut, Sajilata *et al.* (2006) pada pati gandum, dan Zhao dan Lin (2009) pada pati jagung terbukti efektif dalam meningkatkan kadar pati resisten (Tabel 2). Teknik pemanasan bertekanan-pendinginan tersebut memang lebih mudah untuk diaplikasikan akan tetapi pemanfaatan teknik tersebut kurang efisien karena memerlukan waktu produksi yang lebih lama, energi dalam bentuk kalor (panas) yang lebih besar, serta biaya produksi yang tinggi. Hal ini menyebabkan teknik ini kurang tepat apabila diaplikasikan untuk industri skala kecil dan menengah. Suatu strategi alternatif diperlukan untuk dapat meningkatkan kadar pati resisten dalam bahan pangan

namun mampu mengurangi besarnya energi dan biaya produksi serta lamanya waktu produksi.

Pemanfaatan teknik peningkatan pati resisten secara kimiawi dengan mengombinasikan teknik lintnerisasi (hidrolisis asam kuat) dengan pemanasan bertekanan-pendinginan telah dilakukan oleh Mun dan Shin (2006), Ozturk *et al.* (2009) pada pati jagung serta Faridah *et al.* (2013) pada pati garut (Tabel 2). Teknik tersebut terbukti mampu meningkatkan kadar pati resisten dengan mengurangi jumlah siklus pemanasan bertekanan-pendinginan. Akan tetapi ada masalah lain yang ditimbulkan, yaitu limbah asam kuat seperti HCl yang dapat merusak lingkungan. Kerusakan lingkungan inilah yang harus diperhatikan karena bisa menyebabkan dampak negatif kedepannya bagi keseimbangan ekosistem. Di samping itu, asam kuat seperti HCl juga sangat korosif jika terkena kulit sehingga para pekerja harus dilengkapi dengan keterampilan yang sangat memadai dan mengaplikasikan prinsip-prinsip keselamatan dan kesehatan kerja (K3) jika akan mengaplikasikan teknik ini.

Teknik yang paling aman, mudah diaplikasikan, serta tidak berisiko bagi keselamatan kerja serta ramah lingkungan untuk meningkatkan kadar pati resisten dalam bahan pangan adalah teknik enzimatik. Beberapa penelitian yang telah dilaporkan oleh Pongjanta *et al.* (2009) pada pati beras, Gonzales-Soto *et al.* (2007) pada pati pisang, Mutungi *et al.* (2009) pada pati singkong, Ozturk *et al.* (2009) dan Miao *et al.* (2009) pada pati jagung, Leong *et al.* (2007) pada pati sagu, dan Faridah *et al.* (2013) pada pati garut telah membuktikan bahwa *debranching* pati oleh enzim pululanase yang dilanjutkan dengan pemanasan bertekanan-pendinginan mampu meningkat-

Tabel 3 Beberapa penelitian untuk peningkatan RS dengan *debranching* pati oleh pululanase

Bahan pangan	Teknik modifikasi	Kadar RS tertinggi	Referensi
Pati beras tinggi amilosa	Memanaskan suspensi pati beras (15%) pada 121 °C selama 30 menit, dihidrolisis oleh pululanase (8 U/g pati) pada suhu 55 °C selama 24 jam	18,33%	Pongjanta <i>et al.</i> (2009)
Pati pisang	Penggunaan enzim pululanase pada konsentrasi 10,6 U/g pati pisang pada suhu inkubasi 50 °C dengan waktu inkubasi 5 jam	13,45%	Gonzales-Soto <i>et al.</i> (2007)
Pati singkong	<i>Debranching</i> pati singkong dengan pululanase (25 U/g pati), suhu 50 °C selama 24 jam dilanjutkan pemanasan otoklaf pada 121 °C selama 15 menit	21,40%	Mutungi <i>et al.</i> (2009)
Pati jagung tinggi amilosa	<i>Debranching</i> pati jagung tinggi amilosa dengan pululanase (1,5 U/g pati), suhu inkubasi 60 °C selama 48 jam, dilanjutkan <i>autoclaving</i> pada suhu 123 °C dan penyimpanan suhu rendah (4 °C), lalu dikeringkan dengan oven	25,63%	Ozturk <i>et al.</i> (2009)
Pati jagung tinggi amilopektin (<i>waxy maize</i>)	<i>Debranching waxy maize</i> dengan konsentrasi pululanase 10, 20, 40 U/g pati dan waktu inkubasi 6 jam, dilanjutkan pemanasan otoklaf pada 121 °C selama 30 menit dan disimpan pada 4 °C selama 2 hari	21,65%	Miao <i>et al.</i> (2009)
Pati sagu	<i>Debranching</i> pati sagu dengan pululanase konsentrasi 40 U/g pati waktu inkubasi 8 jam, dilanjutkan penyimpanan pasta pati sagu pada suhu 80 °C selama 7 hari	11,6%	Leong <i>et al.</i> (2007)
Pati garut	Hidrolisis HCl 2,2N (2 jam, 35 °C), <i>debranching</i> pululanase 10,4 U/g pati (50 °C, 24 jam) dilanjutkan 3 siklus pemanasan bertekanan-pendinginan	39,3%	Faridah <i>et al.</i> (2013)

kan kadar pati resisten. Teknik *debranching* amilopektin pada pati dengan enzim pululanase terbukti mampu mengurangi jumlah siklus pemanasan bertekanan-pendinginan karena dapat menghasilkan amilosa rantai pendek dengan DP (19-29) sebagai bahan baku pembentukan pati resisten melalui proses retrogradasi. Akan tetapi ketersediaan enzim pululanase murni saat ini masih rendah dan harganya masih sangat mahal, sehingga perlu diimpor dari negara lain. Rendahnya produksi enzim pululanase dalam negeri disebabkan sampai saat ini industri bioteknologi Indonesia masih belum mengembangkan teknik purifikasi dan imobilisasi enzim pululanase sehingga aktivitas enzim pululanase tersebut tidak bisa dipertahankan stabilitasnya. Tentunya dengan harga enzim pululanase yang mahal dan tidak terjangkau maka teknik ini cukup sulit untuk diaplikasikan dalam skala industri besar.

Teknik alternatif terbaik untuk meningkatkan kandungan pati resisten dalam bahan pangan adalah dengan mengombinasikan fermentasi bakteri asam laktat (BAL) penghasil amilase dan pululanase yang dilanjutkan pemanasan bertekanan-pendinginan. Beberapa jenis BAL seperti *Lactobacillus plantarum*, *L. fermentum*, *L. manihotivorans*, *L. amylophilus*, *L. amylovorus*, *L. amilolyticus*, *Leuconostoc cellobiosus*, *L. acidophilus*, *Leuconostoc sp.*, *Streptococcus bovis*, dan *Streptococcus macedonicus* telah dilaporkan mampu menghasilkan enzim amilase dan pululanase

untuk mendegradasi pati oleh Reddy *et al.* (2008). Fermentasi BAL penghasil amilase dan pululanase berperan dalam menurunkan nilai DP (derajat polimerisasi) pati sehingga diperoleh amilosa rantai pendek (DP 19-29) yang akan dikonversi menjadi RS melalui perlakuan pemanasan bertekanan-pendinginan. Hidrolisis parsial amilosa rantai panjang oleh enzim amilase dapat menurunkan nilai DP amilosa sehingga dihasilkan polisakarida rantai pendek (Vishnu *et al.* 2006). Sementara itu, pelepasan cabang (*debranching*) amilopektin oleh pululanase menghasilkan polimer glukosa rantai lurus yang merupakan polisakarida dengan DP lebih kecil (Vatanasuchart *et al.* 2010). Semakin banyak polisakarida rantai pendek (DP 19-29) yang terbentuk akan meningkatkan kadar pati resisten yang dapat dihasilkan melalui proses retrogradasi (Gonzalez-Soto *et al.* 2007; Zaragoza *et al.* 2010).

Dalam upaya untuk mengurangi jumlah siklus pemanasan bertekanan-pendinginan, Jenie *et al.* (2012) telah menerapkan fermentasi BAL terhadap irisan pisang tanduk sebagai praperlakuan dengan 1 siklus pemanasan bertekanan-pendinginan sehingga terjadi peningkatan kadar pati resisten tepung pisang tanduk sebesar 2 kali lipat (dari 5,87–6,45% menjadi 12,99–13,71%) yang setara dengan 2 siklus pemanasan bertekanan-pendinginan tanpa fermentasi. Nurhayati *et al.* (2014) melaporkan bahwa lama fermentasi irisan pisang tanduk untuk meningkatkan

kadar RS dapat diefisienkan menjadi 24 jam dengan memanfaatkan kultur *Lactobacillus salivarius* FSnh1. Sementara itu Widaningrum *et al.* (2013) melaporkan bahwa kultur *Lactobacillus plantarum* BSL dapat dimanfaatkan untuk mengefisienkan lama fermentasi pada irisan pisang uli menjadi 24 jam pada produksi tepung pisang uli modifikasi kaya RS. Beberapa penelitian yang telah dilakukan membuktikan bahwa teknik ini sangat memungkinkan untuk diaplikasikan dalam skala industri kecil, menengah, maupun besar karena relatif lebih mudah dilakukan, aman, dan ramah lingkungan jika dibandingkan dengan teknik lainnya. Di samping itu, teknik ini mampu menurunkan biaya produksi, hemat energi, serta mempersingkat waktu produksi.

KESIMPULAN

Upaya peningkatan sifat prebiotik pada bahan pangan dapat dilakukan dengan meningkatkan kadar pati resistennya. Proses modifikasi yang dapat dilakukan untuk meningkatkan kadar pati resisten diantaranya: pemanasan bertekanan-pendinginan beberapa siklus, kombinasi hidrolisis asam (lintnerisasi) dan pemanasan bertekanan-pendinginan, teknik hidrotermal, serta kombinasi *debranching* pululanase dan pemanasan bertekanan-pendinginan. Hasil kajian secara tekno-ekonomis menunjukkan bahwa kombinasi fermentasi bakteri asam laktat dengan pemanasan bertekanan-pendinginan dapat dijadikan sebagai teknik alternatif untuk meningkatkan kandungan pati resisten dalam bahan pangan secara lebih efektif dan efisien.

DAFTAR PUSTAKA

- Aparicio-Saguilan A, Flores-Huicochea E, Tovar J, Garcia-Suarez F, Guterrez-Meraz F, Bello-Perez LA. 2005. Resistant starch rich-powders prepared by autoclaving of native and lintnerized banana starch: partial characterization. *Starch/Stärke*. 57(9): 405–412. <http://doi.org/c7rb5p>
- Arief II, Jenie BSL, Astawan M, Witarto AB. 2010. Efektivitas probiotik *Lactobacillus plantarum* 2C12 dan *Lactobacillus acidophilus* 2B4 sebagai pencegah diare pada tikus percobaan. *Media Peternakan*. 33(3): 137–143. <http://doi.org/d975w8>
- Asbar R. 2014. Peningkatan Pati Resisten Tipe III pada Tepung Singkong Modifikasi (Mocaf) dengan Perlakuan Pemanasan-Pendinginan Berulang dan Aplikasinya pada Pembuatan Mi Kering. [Thesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Asha R, Niyonzima FN, Sunil SM. 2013. Purification and Properties of Pullulanase from *Bacillus halodurans*. *International Research Journal of Biological Sciences*. 2(3): 35–43.
- Baur-Marinovic M, Florian S, Muller-Schmeihl K, Glatt H, Jacobasch G. 2006. Dietary resistant starch type 3 prevents tumor induction by 1,2-dimethylhydrazine and alters proliferation, apoptosis, and dedifferentiation in rat colon. *Carcinogenesis*. 27(9): 1849–1859. <http://doi.org/b9bjhq>
- Birt DF, Boylston T, Hendrich S, Lane J, Hollis J, Li L, McClelland J, Moore S, Phillips GJ, Rowling M, Schalinske K, Scott MP, Whitley MP. 2013. Resistant Starch: Promise for Improving Human Health. *Advances in Nutrition [Electronic Resource]*. 4(6): 587–601. <http://doi.org/7hd>
- Faridah DN, Rahayu WP, Apriyadi MS. 2013. Modifikasi Pati Garut (*Marantha arundinacea*) dengan Perlakuan Hidrolisis Asam dan Siklus Pemanasan-Pendinginan Untuk Menghasilkan Pati Resisten Tipe 3. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*. 23(1): 61–69.
- [FAO] Food and Agricultural Organization. 2007. *Technical meeting on prebiotics*. http://www.fao.org/ag/agn/agns/files/Prebiotics_Tech_Meeting_Report.pdf. Accessed on 22 November 2008.
- Ferrini LMK, Rochaa TS, Demiate IM, Franco CLM. 2008. Effect of acid-methanol treatment on the physicochemical and structural characteristics of cassava and maize starches. *Starch/Stärke*. 60(8): 417–425. <http://doi.org/c7rtv2>
- Gonzalez-Soto RA, Mora-Escobedo R, Hernandez-Sanchez H, Sanchez-Rivera M, Bello-Perez LA. 2007. The influence of time and storage temperature on resistant starch formation from autoclaved debranched banana starch. *Food Research International*. 40(2): 304–310. <http://doi.org/fp2xz5>
- Granato D, Branco GF, Nazzaro F, Cruz AG, Faria J. 2013. Functional Food and Prebiotic Food Development: Trends, Concepts, and Products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 9(3): 292–302. <http://doi.org/bn67s2>
- Higgins JA, Brown MA, Storlien LH. 2006. Consumption of resistant starch decreases postprandial lipogenesis in white adipose tissue of the rat. *Nutrition Journal*. 5(1): 25–33. <http://doi.org/cp3zgg>
- Hovhannisyan G, Aroutiounian R, Gleit M. 2009. Butyrate reduces the frequency of micronuclei in human colon carcinoma cells in vitro. *Toxicology in Vitro*. 23(6): 1028–1033. <http://doi.org/d6c78n>
- Huebner J, Wehling RL, Hutkins RW. 2007. Functional activity of commercial prebiotics. *International Dairy Journal*. 17(7): 770–775. <http://doi.org/fbf9g5>

- Jenie BSL, Widowati S, Kusumaningrum HD. 2010. *Pengembangan Produk Tepung Pisang Dengan IG Rendah dan Sifat Prebiotik Sebagai Bahan Pangan Fungsional*. Laporan Akhir Hibah Kompetitif Penelitian Sesuai Prioritas Nasional Batch II. Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, Institut Pertanian Bogor.
- Jenie BSL, Reski PP, Kusnandar F. 2012. Fermentasi Kultur Campuran Bakteri Asam Laktat dan Pemanasan Otoklaf Dalam Meningkatkan Kadar Pati Resisten dan Sifat Fungsional Tepung Pisang Tanduk (*Musa parasidiaca formatypica*). *Jurnal Pascapanen*. 9(1): 18–26.
- Jenie BSL, Saputra MY, Widaningrum. 2013. Sensory Evaluation and Survival of Probiotics in Modified Banana Flour Yoghurt During Storage. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 24(1): 40–47. <http://doi.org/673>
- Kim JH, Sunako M, Ono H, Murooka Y, Fukusaki E, Yamashita M. 2009. Characterization of the C-terminal truncated form of amylopullulanase from *Lactobacillus plantarum* L137. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 107(2): 124–129. <http://doi.org/ftdg6t>
- Leeman MA, Karlsson ME, Eliasson AC, Bjorck IME. 2006. Resistant starch formation in temperature treated potato starches varying in amylose/amylopectin ratio. *Carbohydrate Polymers*. 65(3): 306–313. <http://doi.org/dk477v>
- Lehmann U, Jacobasch G, Schmiedl D. 2002. Characterization of resistant starch type III from banana (*Musa acuminata*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50(18): 5236–5240. <http://doi.org/cw89dg>
- Leong YH, Karim AA, Norziah MH. 2007. Effect of pullulanase debranching of sago (*Metroxylon sagu*) starch at subgelatinization temperature on the yield of resistant starch. *Starch/Starke*. 59(1): 21–32. <http://doi.org/ctzsvc>
- Lesmes U, Beards EJ, Gibson GR, Tuohy KM, Shimoni E. 2009. Effects of Resistant Starch Type III Polymorphs on Human Colon Microbiota and Short Chain Fatty Acids in Human Gut Models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 11(2): 112–120. <http://doi.org/d8p5d3>
- Liu Q. 2005. Understanding Starches and their Role in Foods. In: *Food Carbohydrates: Chemistry, Physical Properties and Applications*. Cui SW (editor). Boca Raton Florida (US): RC Taylor & Francis. <http://doi.org/d4nkpg>
- Miao M, Jiang B, Zhang T. 2009. Effect of pullulanase debranching and recrystallization on structure and digestibility of waxy maize starch. *Carbohydrate Polymers*. 76(2): 214–221. <http://doi.org/czq84h>
- Moongnarm A. 2013. Chemical Compositions and Resistant Starch Content in Starchy Foods. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*. 8(2): 107–113. <http://doi.org/676>
- Mun SH, Shin M. 2006. Mild hydrolysis of resistant starch from maize. *Food Chemistry*. 96(1): 115–121. <http://doi.org/chtmcd>
- Mutungi C, Rost F, Onyango C, Jaros D, Rohm H. 2009. Crystallinity, thermal and morphological characteristics of resistant starch type III Produced by hydrothermal treatment of debranched cassava starch. *Starch/Starke*. 61(11): 634–645. <http://doi.org/cfhwk2>
- Nuraida L, Hana, Dwiari SR, Faridah DN. 2008. Pengujian Sifat Prebiotik dan Sinbiotik Produk Olahan Ubi Jalar Secara In-Vivo. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 19(2): 89–96.
- Nurhayati, Jenie BSL, Widowati S, Kusumaningrum HD. 2014. Komposisi Kimia dan Kristalinitas Tepung Pisang Termodifikasi Secara Fermentasi Spontan dan Siklus Pemanasan Bertekanan-Pendinginan. *Agritech*. 34(2): 146–150.
- Okoniewska M, Witwer RS. 2007. *Natural resistant starch: an overview of health properties a useful replacement for flour, resistant starch may also boost insulin sensitivity and satiety*. New York (US): Nutritional Outlook.
- Ozturk S, Koksel H, Kahraman K. 2009. Effect of debranching and heat treatments on formation and functional properties of resistant starch from highamylose corn starch. *European Food Research and Technology*. 229(1): 115–125. <http://doi.org/c9nb2p>
- Ozturk S, Koksel H, Perry KWN. 2011. Production of resistant starch from acid-modified amylotype starches with enhanced functional properties. *Journal of Food Engineering*. 103(2): 156–164. <http://doi.org/cjkbwm>
- Pongjanta J, Utaipattanaceep O, Naivikul, Piyachomkwan K. 2009. Effect of preheated treatments on physicochemical properties of resistant starch type III from pullulanase hydrolysis of high amylose rice starch. *American Journal of Food Technology*. 4(2): 79–89. <http://doi.org/fgsj3w>
- Ramakrishna BS, Subramanian V, Mohan V, Sebastian BK, Young GP, Farthing MJ, Binder HJ. 2008. A Randomized Controlled Trial of Glucose versus Amylase Resistant Starch Hypo-Osmolar Oral Rehydration Solution for Adult Acute Dehydrating Diarrhea. *PLoS ONE*. 3(2): e1587. <http://doi.org/dvsmq5>
- Reddy G, Altaf MD, Naveena BJ, Venkateshwar M, Kumar EV. 2008. Amyolytic bacterial lactic acid

- fermentation-A review. *Biotechnology Advances*. 26(1): 22–34. <http://doi.org/c6m9ms>
- Roberfroid M. 2007. Prebiotics: The Concept Revisited. *The Journal of Nutrition Effect of Probiotics and Prebiotics*. 137(3): 830–837.
- Robertson MD, Bickerton AS, Dennis AL, Vidal H, Frayn KN. 2005. Insulin sensitizing effects of dietary resistant starch and effects on skeletal muscle and adipose tissue metabolism. *American Society for Clinical Nutrition*. 82(3): 559–567.
- Sajilata MG, Singhal RS, Kulkarni PR. 2006. Resistant starch a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 5(1): 1–17. <http://doi.org/fnkkfw>
- Salminen S, Wright AV. 2004. Lactic Acid Bacteria: Microbiology and functional aspect. 2nd Edition. Revised and Expanded. New York (US): Marcell Dekker, Inc.
- So PW, Yu WS, Kuo YT, Wasserfall C, Goldstone AP, Bell JD, Frost G. 2007. Impact of Resistant Starch on Body Fat Patterning and Central Appetite Regulation. *PLoS ONE*. 2(12): e1309. <http://doi.org/c6fsv7>
- Sugiyono, Pratiwi R, Faridah DN. 2009. Modifikasi Pati Garut dengan Perlakuan Siklus Pemanasan Suhu Tinggi-Pendinginan Untuk Menghasilkan Pati Resisten Tipe III. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 20(1): 17–24.
- Toma MM, Pokrotnieks J. 2006. Prebiotics as Functional Food: Microbiological and Medical Aspects. *Acta Universitatis Latviensis*. 710: 117–129.
- Toole PWO, Cooney JC. 2008. *Probiotics Bacteria Influence The Composition and Function of The Intestinal Microbiota*. Review Article. Ireland (IE).
- Vanhoutte T, Preter VD, Brandt ED, Verbeke K, Swings J, Huys G. 2006. Molecular monitoring of the fecal microbiota of healthy human subjects during administration of lactulose and *Saccharomyces boulardii*. *Applied And Environmental Microbiology*. 72(9): 5990–5997. <http://doi.org/cgq8qh>
- Vatanasuchart N, Tungtrakul P, Wongkrajang K, Naivikul O. 2010. Properties of Pullulanase Debranched Cassava Starch and Type III Resistant Starch. *Kasetsart Journal (Natural Science)*. 44(1): 131–141.
- Vatanasuchart N, Niyomwit B, Wongkrajang K. 2012. Resistant starch content, in vitro starch digestibility and physico-chemical properties of flour and starch from Thai bananas. *Maejo International Journal of Science and Technology*. 6(02): 259–271.
- Vishnu C, Naveena BJ, Altaf MD, Venkateshwar M, Reddy G. 2006. Amylopullulanase-A novel enzyme of *L. amylophilus* GV6 in direct fermentation of starch to L(+) lactic acid. *Enzyme and Microbial Technology*. 38(3–4): 545–550. <http://doi.org/fnzfzqz>
- Vrese MD, Marteau PR. 2007. Probiotics and Prebiotics: Effects on Diarrhea. *The Journal of Nutrition*. 137(3): 803–811.
- Wells AL, Saulnier DMA, Gibson GR. 2008. *Gastrointestinal microflora and interactions with gut mucosa*. In: Gibson GR, Roberfroid MB, editor. Handbook of Prebiotics. New York (US): CRC Press. <http://doi.org/fmgrnz>
- Wichienchot S, Jatupornpipat M, Rastall RA. 2010. Oligosaccharides of pitaya (dragon fruit) flesh and their prebiotic properties. *Food Chemistry*. 120(3): 850–857. <http://doi.org/fkpr4j>
- Widaningrum, Jenie BSL, Richana N, Suliantari. 2013. Penambahan Tepung Pisang Uli Modifikasi Kaya Pati Resisten Pada Pembuatan Yoghurt Sinbiotik. *Jurnal Pascapanen*. 10(1): 38–47.
- Wronkowska M, Smietana MS, Krupa U, Biedrzycka E. 2006. In vitro fermentation of new modified starch preparations-changes of microstructure and bacterial end-products. *Enzyme and Microbial Technology*. 40(1): 93–99. <http://doi.org/dggx6b>
- Zaragoza EF, Riquelme-Navarrete MJ, Sanchez-Zapata E, Perez-Alvarez JA. 2010. Resistant starch as functional ingredient: A review. *Food Research International*. 43(4): 931–942. <http://doi.org/fgpc2w>
- Zabar S, Shimoni E, Peled HB. 2008. Development of nanostructure in resistant starch type III during thermal treatments and cycling. *Journal of Macromolecule Bioscience*. 8(2): 163–170. <http://doi.org/bz9x6p>
- Zhao XH, Lin Y. 2009. The impact of coupled acid or pullulanase debranching on the formation of resistant starch from banana starch with autoclaving-cooling cycles. *European Food Research Technology*. 230(1): 179–184. <http://doi.org/b6spd>