

Produksi Tepung Gadung (*Dioscorea hispida* Dennst) Kaya Pati Resisten Melalui Fermentasi Bakteri Asam Laktat dan Pemanasan Bertekanan-Pendinginan

*Production of Yam (*Dioscorea hispida* Dennst) Flour which Rich Resistant Starch by Using Lactic Acid Bacteria Fermentation and Autoclaving-Cooling*

R. Haryo Bimo Setiarto^a dan Firda Yunirma^b

^aLaboratorium Mikrobiologi Pangan, Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi LIPI Jalan Raya Jakarta-Bogor Km 46, Kawasan CSC Cibinong 16911, Jawa Barat

^bJurusan Keteknikan Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya Malang

Email: haryobimo88@gmail.com

Diterima : 16 Januari 2017

Revisi : 4 Februari 2017

Disetujui : 9 Agustus 2017

ABSTRAK

Pati resisten atau *Resistant Starch* (RS) adalah pati yang tidak dapat dihidrolisis oleh enzim pencernaan dan tidak dapat diserap di dalam usus halus, namun dapat mengalami proses fermentasi secara lambat oleh bakteri di usus besar sehingga bisa memperbaiki kesehatan saluran pencernaan. Penelitian ini bertujuan meningkatkan kadar RS tepung gadung melalui fermentasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dan pemanasan bertekanan-pendinginan. Irisan gadung difermentasi dengan kultur campuran Bakteri Asam Laktat selama 18 jam pada suhu 37°C. Irisan gadung hasil fermentasi selanjutnya diautoklaf (121°C, 15 menit) dan didinginkan (4°C, 24 jam), perlakuan dilakukan untuk satu dan dua siklus. Selanjutnya, irisan gadung dikeringkan (70°C, 16 jam), digiling dan diayak (80 mesh) untuk mendapatkan tepung gadung modifikasi. Perlakuan dua siklus pemanasan bertekanan-pendinginan mampu meningkatkan kadar RS pada tepung gadung modifikasi dibandingkan dengan satu siklus pemanasan bertekanan-pendinginan. Kadar RS tertinggi dicapai pada perlakuan dua siklus pemanasan bertekanan-pendinginan (*Autoclaving Cooling-2* Siklus/AC-2S) tanpa fermentasi sebesar 6,86 persen bobot kering (bk), yang merupakan peningkatan 3,2 kali lipat jika dibandingkan dengan perlakuan kontrol (2,14 persen bk). Kandungan amilosa tinggi yang dihasilkan perlakuan pemanasan bertekanan-pendinginan berasosiasi dengan tingginya kadar RS tepung gadung modifikasi. Peningkatan kadar RS pada tepung gadung modifikasi menyebabkan penurunan daya cerna pati gadung.

kata kunci: pangan fungsional, prebiotik, tepung gadung modifikasi

ABSTRACT

Resistant starch is the starch which cannot hydrolized by digestive enzymes and it can not be absorbed in the small intestine. However it can be fermented slowly by probiotic bacteria in the colon, therefore it can improve the health of the human digestive. This study aimed to improve the levels of resistant starch in yam flour by using Lactic Acid Bacteria (LAB) fermentation and autoclaving-cooling. Yam slices had been fermented with mixed cultures of lactic acid bacteria for 18 hours at 37°C. Then, fermented yam slices had been autoclaved (121°C, 15 min) and cooled (4°C, 24 hours), treatment was done for one and two cycles. Furthermore, yam slices was done dried (70°C, 16 hours), ground and sieved (80 mesh) to obtain modified yam flour. Treatment autoclaving-cooling two cycle can increase levels of resistant starch on modified yam flour. It compared to treatment autoclaving-cooling one cycle. The highest levels of resistant starch can

be achieved to treatment of autoclaving-cooling two cycles (AC-2C) without fermentation by 6,86 percent dry basis (db). It was increase around 3,2-fold, when compared to the control treatment (2,14 percent dry basis). High amylose content which generated from autoclaving-cooling treatment associated with high levels of resistant starch modified yam flour. Improvement levels of resistant starch on modified yam flour causes decrease on digestibility yam starch.

keywords: functional food, prebiotic, modified yam flour

I. PENDAHULUAN

Pangan fungsional merupakan bahan pangan utuh yang secara alami maupun melalui pengolahan diketahui bermanfaat sebagai sumber nutrisi, mampu menjaga kesehatan dan aman untuk dikonsumsi (Setiarto, dkk., 2015). Salah satu komponen pangan fungsional adalah prebiotik yang merupakan komponen nutrisi bagi bakteri probiotik di usus besar (Huebner, dkk., 2007). Prebiotik dapat berupa bahan tambahan pangan, namun juga dapat diperoleh secara alami dari berbagai jenis makanan (Jenie, dkk., 2012). Salah satu komponen bahan pangan yang mempunyai sifat prebiotik unggul adalah pati resisten (Sajilata, dkk., 2006). Pati resisten *Resistant Starch* (RS) merupakan bagian pati yang tidak dapat dicerna oleh enzim pencernaan dan tidak dapat diserap di dalam usus halus, namun dapat mengalami proses fermentasi secara lambat oleh bakteri probiotik di usus besar sehingga bisa memperbaiki kesehatan saluran pencernaan (Liu, 2005).

RS mempunyai sifat dan fungsi, seperti serat pangan, yaitu rendah energi, menurunkan indeks glikemik, menurunkan level kolesterol dalam darah dan menurunkan resiko kanker usus dengan memperbanyak produksi asam lemak rantai pendek, terutama asam butirrat (Zaragoza, dkk., 2009). RS juga mempunyai kelebihan dibandingkan dengan prebiotik lainnya, seperti oligosakarida (Fruktoligosakarida/FOS dan inulin), yaitu mudah mengikat dan memerangkap air sehingga dapat mempertahankan kadar air dalam feses. Hal tersebut mengakibatkan RS tidak menyebabkan sembelit jika dikonsumsi dalam jumlah relatif tinggi (Sajilata, dkk., 2006). FAO merekomendasikan konsumsi RS sebanyak 15–20 gram setiap hari untuk memperoleh manfaat bagi kesehatan (Huebner, dkk., 2007).

RS diklasifikasikan dalam lima kelompok berdasarkan asal dan cara proses pembuatannya, yaitu tipe RS1, RS2, RS3, RS4

dan RS5 (Sajilata, dkk., 2006; dan Zaragoza, dkk., 2009). RS tipe I (RS1) merupakan pati resisten alami yang secara fisik terperangkap dalam sel-sel tanaman dan matriks dalam bahan pangan kaya pati, terutama dari biji-bijian dan sereal yang digiling kasar (Sajilata, dkk., 2006; dan Zaragoza, dkk., 2009). RS tipe II (RS2) merupakan pati yang secara alami sangat resisten terhadap enzim α -amilase, struktur granula pati termasuk kristalin tipe B berdasarkan hasil analisis difraksi sinar X (Sajilata, dkk., 2006; dan Zaragoza, dkk., 2009). Sumber RS2 diantaranya pisang dan kentang yang masih mentah, dan jenis pati jagung dengan kadar amilosa yang tinggi. RS tipe III (RS3) adalah pati teretrogradasi yang diproses dengan pemanasan (gelatinisasi) suspensi pati dan pendinginan pada suhu rendah (4°C) sehingga mengalami retrogradasi (Sajilata, dkk., 2006; dan Zaragoza, dkk., 2009). Retrogradasi pati terjadi melalui penyusunan kembali (reasosiasi) ikatan hidrogen terutama rantai *linear* (amilosa) setelah proses gelatinisasi. RS3 dapat diperoleh dalam gel pati, tepung, adonan, produk yang dipanggang, dan amilosa hasil fragmentasi. RS tipe IV (RS4) adalah pati termodifikasi secara kimia, seperti pati ester, pati eter atau pati ikatan silang (Liu, 2005; Sajilata, dkk., 2006; dan Zaragoza, dkk., 2009). RS tipe V (RS5) terbentuk ketika pati berinteraksi dengan lemak sehingga amilosa membentuk kompleks heliks tunggal dengan asam lemak dan lemak alkohol (Birt, dkk., 2013). RS tipe III (RS3) merupakan RS yang paling sering digunakan sebagai bahan baku pangan fungsional (Setiarto, dkk., 2015). RS3 dapat mempertahankan karakteristik organoleptik suatu makanan ketika ditambahkan pada makanan (Lehmann, dkk., 2002). RS tipe III relatif lebih tahan panas (Eerlingan dan Delcour, 1995) dibandingkan dengan RS tipe lainnya sehingga RS3 stabil selama proses pengolahan pangan (Wang, dkk., 2007).

Salah satu sumber keanekaragaman bahan pangan pokok yang banyak tersebar di Indonesia adalah umbi-umbian (Sugiyono, dkk., 2009). Umbi-umbian mempunyai banyak kandungan inulin, rafinosa, frukto-oligosakarida dan RS yang dapat menjadi sumber prebiotik untuk pangan fungsional (Huebner, dkk., 2007). Salah satu jenis umbi-umbian lokal adalah umbi gadung (*Dioscorea hispida*) yang dapat diolah menjadi tepung gadung. Tepung umbi gadung mempunyai beberapa kelebihan dibandingkan dengan tepung yang berasal dari umbi-umbian lainnya karena mempunyai kandungan pati yang tinggi dan teksturnya yang lembut. Dalam tahap pengolahannya, umbi gadung harus diolah terlebih dulu karena adanya kandungan sianida dan dioskorin. Kadar sianida dan dioskorin umbi gadung harus dikurangi atau dihilangkan agar gadung aman dikonsumsi oleh masyarakat. Kumoro dan Hartati (2015) melaporkan bahwa umbi gadung dapat dikonsumsi apabila diberikan beberapa perlakuan, yaitu pengecilan ukuran, pencucian, perendaman, pemanasan, dan penjemuran. Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, cara yang dapat dilakukan untuk mengurangi kadar sianida dan dioskorin dalam gadung, yaitu gadung dikupas dan diiris tipis, dilumuri abu kayu, direndam, direbus, dan dijemur (Kumoro dan Hartati, 2015).

Pada tepung gadung, peningkatan kadar RS sangat diperlukan karena kadar RS dalam umbi gadung selama ini masih rendah (Moongngarm, 2013). Beberapa upaya yang telah dilakukan untuk meningkatkan kadar RS diantaranya melalui kombinasi fermentasi spontan dengan pemanasan autoklaf pada pisang tanduk (Abdillah, 2010), dan proses pemanasan bertekanan-pendinginan dengan 3 dan 5 siklus pada umbi garut (Sugiyono, dkk., 2009 dan Faridah, dkk., 2013). Kombinasi fermentasi kultur campuran BAL selama 72 jam dengan pemanasan bertekanan-pendinginan terbukti dapat meningkatkan kadar RS tipe III tepung pisang sebesar 2 kali lipat (Jenie, dkk., 2012). Setiarto (2015) menyampaikan bahwa hasil fermentasi kultur campuran BAL (*Lactobacillus plantarum* D-240 dan *Leuconostoc mesenteroides* SU-LS 67), penghasil amilase dan pululanase, selama 18 jam dan pemanasan 1 siklus bertekanan-pendinginan, mampu meningkatkan kadar RS tepung talas 2,8 kali lipat dibandingkan dengan

kontrol tanpa fermentasi. Penelitian ini bertujuan meningkatkan kadar RS pada tepung gadung melalui fermentasi BAL dan pemanasan bertekanan-pendinginan

II. METODOLOGI

2.1. Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoklaf, spektrofotometer UV-VIS, sentrifuse, *pin disc mill* (mesin penggiling tepung), inkubator, neraca analitik, *hot plate*, *water bath*, oven, pipet mikro, peralatan gelas, seperti tabung reaksi, cawan petri, erlenmeyer dan gelas piala. Bahan baku yang digunakan adalah umbi gadung dengan umur panen 8 bulan yang diperoleh di daerah Sukabumi, Jawa Barat. Isolat BAL unggulan yang digunakan, yaitu *L. plantarum* D-240 dan *Leu. mesenteroides* SU-LS 67 koleksi laboratorium mikrobiologi pangan, Pusat Penelitian Biologi LIPI. Sedangkan, media dan bahan kimia yang digunakan antara lain media MRS (*de Mann Rogosa Sharpe*) agar dan Broth, m-MRSB, m-TSB, TSB, TSA, *yeast extract* (*Difco*), *beef extract* (*Difco*), *bacto agar* (*Difco*), enzim α -amilase Sigma A6380, enzim pepsin Sigma P6887, pankreatin Sigma P-1750, enzim amiloglukosidase Sigma A-9913, inulin Sigma I2255, glukosa, maltosa, 3,5-dinitrosalisilat (*Merck*), Na-K-tartarat (*Merck*), fenol (*Merck*), asam sulfat pekat, natrium dodesilsulfat, etanol, aseton, eter, NaCl, CaCO₃, amonium sitrat, natrium asetat, magnesium sulfat, manganase sulfat, dikalium fosfat, *tween* 80, NaOH (25 persen dan 1 N), HCl, akuades, buffer Na fosfat 0,05 M dan 0,01 M pH 6,9 dan pH 7, *buffer* sodium asetat 0,1 M pH 5,2 dan pH 6,0, dan 0,4 M pH 4,75, kertas saring Whatman No. 41.

2.2. Pretreatment pada Umbi Gadung

Umbi gadung dikupas dan diiris dengan ketebalan \pm 1 cm. Selanjutnya, irisan tersebut dilumuri abu kayu (abu dapur) dan dijemur hingga kering selama 1 hari. Setelah kering, irisan umbi gadung direndam dengan air bersih mengalir selama 3 hari dan ditiriskan.

2.3. Perlakuan Fermentasi dan Pemanasan Bertekanan-Pendinginan untuk Produksi Tepung Gadung Modifikasi

Pengelompokan tepung gadung untuk mengetahui pengaruh perlakuan fermentasi Bakteri Asam Laktat dan jumlah siklus pemanasan bertekanan–pendinginan (*autoclaving-cooling/AC*), serta kombinasi keduanya dalam meningkatkan kadar RS. Kelompok A perlakuan tanpa fermentasi, yaitu (i) Kode K (kontrol, tanpa siklus pemanasan bertekanan-pendinginan/AC); (ii) Kode AC-1S (tanpa fermentasi, dengan 1 siklus pemanasan bertekanan-pendinginan/AC); (iii) Kode AC-2S (tanpa fermentasi, dengan 2 siklus pemanasan bertekanan-pendinginan/AC). Kelompok B dengan fermentasi, yaitu (i) Kode F (fermentasi, tanpa siklus pemanasan bertekanan-pendinginan/AC); (ii) Kode FAC-1S (fermentasi, dengan 1 siklus pemanasan bertekanan-pendinginan/AC); (iii) Kode FAC-2S (fermentasi, dengan 2 siklus pemanasan bertekanan-pendinginan/AC). Penelitian ini menggunakan desain eksperimental Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan

setiap perlakuan pembuatan tepung gadung modifikasi dibuat 3 kali ulangan (*triplo*), dimana setiap ulangan dibutuhkan sebanyak 500 g umbi gadung basah.

Pembuatan tepung gadung modifikasi dilakukan dengan mengacu pada metode Setiarto (2015). Hasil irisan gadung *pretreatment* diberi perlakuan yang dijabarkan lebih lanjut. Perlakuan fermentasi irisan gadung dengan menggunakan kultur campuran BAL (*Leu. mesenteroides* SU-LS 67 : *L. plantarum* D-240) dengan rasio (1 : 1), 10^8 cfu/mL, 2 persen (v/v) pada suhu 37°C menggunakan inkubator selama 18 jam. Sementara itu, pada perlakuan pemanasan bertekanan-pendinginan, irisan gadung di *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit (rasio irisan gadung : akuades, yaitu 1 : 2) dan didinginkan dengan menggunakan refrigerator pada suhu 4°C selama 24 jam. Selanjutnya, irisan gadung tersebut dikeringkan dengan oven pada suhu 70°C



Gambar 1. Proses Produksi Tepung Gadung Modifikasi dengan Fermentasi dan Pemanasan Bertekanan-Pendinginan

Keterangan: A (umbi gadung utuh sebelum dikupas), B (umbi gadung setelah dikupas), C (irisn umbi gadung), D (irisn umbi gadung yang dilumuri abu kayu), E (irisn umbi gadung yang siap difermentasi), F (fermentasi irisn gadung), G (proses *autoclaving* irisn umbi gadung), H (irisn umbi gadung setelah diberikan perlakuan *autoclaving-cooling*), I (pengeringan irisn umbi gadung dalam oven), J (penepungan umbi gadung pascapengeringan), K (tepung gadung modifikasi)

selama 16 jam, lalu ditepungkan dengan *pin disc mill*, dan diayak sehingga diperoleh sampel tepung gadung berukuran 80 mesh. Proses produksi tepung gadung kaya RS dengan perlakuan fermentasi dan pemanasan bertekanan-pendinginan dapat dilihat pada Gambar 1.

2.4. Analisis Kimia terhadap Tepung Gadung Kaya RS

Keenam sampel tepung gadung dari 2 kelompok perlakuan tersebut dilakukan analisis kadar amilosa (Faridah, dkk., 2013), kandungan total pati (Dubois, dkk., 1956), kadar gula pereduksi (Miller, 1959), kadar pati cepat cerna (*Rapid Digestible Starch/RDS*), pati lambat cerna (*Slowly Digestible Starch/SDS*) dan kadar RS (Engyst, dkk., 1992), daya cerna pati *in vitro* (Anderson, dkk., 2002) sebanyak tiga kali ulangan (*triplo*).

2.4.1. Analisis Kadar Total Pati

Analisis kadar total pati dilakukan mengacu pada metode Dubois, dkk. (1956). Sebanyak 1 g tepung gadung dimasukkan secara perlahan ke dalam 100 mL etanol 95 persen dan dihomogenkan menggunakan pengaduk magnetik. Selanjutnya, suspensi tepung gadung disaring menggunakan kertas saring. Kertas yang berisi residu tepung gadung tersebut didiamkan semalam dalam desikator. Residu tepung gadung ditimbang untuk diketahui beratnya. Setelah itu, sebanyak 40 mg tepung gadung tepung gadung dihaluskan dengan mortar. tepung tersebut ditambahkan dengan 20 mL akuades dan diautoklaf pada suhu 105 °C selama 1 jam. Setelah diautoklaf, sampel didinginkan pada suhu kamar dan diencerkan dengan akuades sebanyak 40 kali.

Sebanyak 0,5 mL sampel tepung gadung dan 0,5 mL fenol 5 persen dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dihomogenkan dengan menggunakan *vorteks*. Sebanyak 2,5 mL larutan H₂SO₄ pekat lalu ditambahkan secara cepat ke dalam tabung reaksi tersebut sehingga terjadi reaksi eksoterm yang menghasilkan panas. Larutan sampel kemudian didiamkan selama 10 menit pada suhu ruang dan diaduk dengan *vorteks*, selanjutnya didiamkan kembali selama 20 menit pada suhu ruang. Nilai absorbansi diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 490 nm. Kadar glukosa

(µg/mL) ditentukan dengan menggunakan kurva standar. Kadar total gula (persen bk) diperoleh dari kurva standar, sedangkan kadar total pati (persen bk) dihitung dengan mengalikan kadar total gula dengan faktor 0,9.

$$\text{Kadar Total Pati (\%bk)} = \frac{G}{W} \times V \times \text{FP} \times 100\% \times 0,9$$

Keterangan:

G = Kadar Glukosa (mg/mL)

W = Bobot Sampel (mg)

V = Volume Total Reaksi (mL)

FP = Faktor Pengencer

2.4.2. Analisis Kadar Amilosa dan Amilopektin

Analisis kadar amilosa dan amilopektin dilakukan dengan mengacu pada metode Faridah, dkk. (2013). Sebanyak 100 mg sampel tepung gadung, 1 mL etanol 95 persen dan 9 mL larutan NaOH 1 N dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL. Labu takar tersebut dipanaskan dalam penangas air pada suhu 95°C selama 10 menit. Setelah didinginkan, larutan gel tepung gadung ditambahkan akuades sampai dengan tanda tera dan dihomogenkan. Sebanyak 5 mL larutan gel tepung gadung dipipet dari labu takar ini dan dipindahkan ke dalam labu takar 100 mL lainnya. Selanjutnya, ditambahkan 1 mL larutan asam asetat 1 N dan 2 mL larutan iod, dan akuades hingga tanda tera. Larutan sampel ini dibiarkan selama 20 menit pada suhu ruang sebelum diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 625 nm. Kadar amilosa (dalam persen) ditentukan dengan menggunakan persamaan kurva standar larutan amilosa.

$$\text{Kadar Amilosa (\%bk)} = \frac{C \times V \times \text{FP}}{W} \times 100\%$$

Keterangan :

C = Konsentrasi Amilosa (mg/mL)

V = Volume Akhir Sampel (mL)

FP = Faktor Pengencer

W = Berat Sampel (mg)

Sementara itu, penentuan kadar amilopektin dilakukan dengan menyelisihkan persen kadar total pati dengan persen kadar amilosa.

2.4.3. Analisis Kadar Gula Pereduksi

Analisis kadar gula pereduksi dilakukan dengan merujuk pada metode Milller (1959). Sebanyak 1 g tepung gadung dimasukkan

secara perlahan ke dalam 100 mL etanol 95 persen dan dihomogenkan dengan menggunakan pengaduk magnetik. Suspensi tepung gadung tersebut disaring menggunakan kertas saring. Kertas yang berisi residu tepung gadung dидiamkan semalam di dalam desikator. Setelah kering, sebanyak 20 mg tepung gadung dihaluskan dengan mortar. Selanjutnya, tepung tersebut ditambahkan dengan 10 mL akuades dan dipanaskan dalam autoklaf 105°C selama 1 jam. Setelah pemanasan selesai, pasta pati didinginkan pada suhu kamar dan dilakukan pengenceran 10 kali sebelum digunakan.

Prosedur pengujian kadar gula pereduksi dijelaskan lebih lanjut. Sebanyak 1 mL sampel dan 2 mL pereaksi DNS (3,5- *Dinitro Salisic Acid*) dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Sampel tersebut ditempatkan dalam air mendidih selama 5 menit. Selanjutnya, diencerkan dengan 10 mL akuades dan didiamkan sampai dingin pada suhu ruang. Absorbansi diukur pada spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 540 nm. Gula pereduksi (dalam persen) ditentukan dengan menggunakan persamaan kurva standar larutan glukosa.

$$\text{Kadar gula pereduksi (\%bk)} = \frac{G}{W} \times v \times \text{FP} \times 100\%$$

Keterangan :

G = Kadar Glukosa (mg/mL)

W = Bobot Sampel (mg)

V = Volume Total Reaksi (mL)

FP = Faktor Pengencer

2.4.4. Analisis Daya Cerna Pati *in Vitro* (Anderson, dkk., 2002)

Analisis daya cerna pati secara *in vitro* dilakukan dengan mengacu pada metode Anderson, dkk. (2002). Sebanyak 1 g sampel tepung gadung dan 100 mL akuades dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 mL. Labu erlenmeyer ditutup dengan aluminium foil dan dipanaskan dalam penangas air hingga mencapai suhu 90°C sambil terus diaduk, lalu didinginkan. Sebanyak 2 mL larutan sampel tersebut dipipet ke dalam tabung reaksi bertutup dan ditambahkan 3 mL akuades dan 5 mL larutan *buffer* fosfat pH 7. Masing-masing sampel dibuat dua kali, yang

salah satunya digunakan sebagai blanko. Tabung ditutup dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 15 menit. Larutan sampel dan blanko diangkat dan ditambahkan 5 mL larutan enzim α -amilase (1 mg/mL dalam larutan *buffer* fosfat pH 7). Kedua tabung tersebut diinkubasi kembali selama 30 menit dan dipindahkan ke dalam tabung reaksi bertutup berisi 2 mL larutan DNS (asam dinitrosalisilat). Larutan dipanaskan dalam air mendidih selama 12 menit dan didinginkan dengan air mengalir. Sebanyak 10 mL akuades kemudian ditambahkan dan diaduk hingga homogen dengan menggunakan *vorteks*. Larutan sampel dan blanko tersebut kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 520 nm. Daya cerna pati (dalam persen) dihitung dengan menggunakan rumus di bawah ini.

$$\frac{\text{Kadar maltosa sampel} - \text{Kadar maltosa blanko sampel}}{\text{Kadar maltosa pati murni} - \text{Kadar maltosa blanko pati murni}} \times 100$$

2.4.5. Analisis Kadar RDS, SDS dan RS Tepung Gadung

Komposisi pati (RDS, SDS dan RS) ditentukan dengan menggunakan metode Englyst, dkk. (1992). Sampel sebanyak 1 g ditempatkan dalam tabung sentrifus. Sampel dicuci menggunakan 8 mL etanol 80 persen selanjutnya disentrifugasi pada kecepatan 554 x g selama 10 menit dan diulang dua kali. Residu yang merupakan pati ditambah 20 mL *buffer* sodium asetat (0,1M, pH 5,2), selanjutnya dididihkan dalam penangas air selama 30 menit. Sampel didinginkan dan ditambah 5 mL larutan enzim yang mengandung ekstrak pankreatin dan amiloglukosidase. Larutan enzim disiapkan dengan cara mensuspensikan 3 g pankreatin (Sigma, Cat. No. P7545) ke dalam 20 mL air deionisasi, selanjutnya distirer selama 10 menit pada suhu ruang dan disentrifugasi dengan kecepatan 1500 x g, 4°C selama 10 menit. Sebanyak 13,5 mL supernatan pankreatin ditambah 0,25 mL amiloglukosidase 210 U (Sigma Cat. No. A7095) dan 1,25 mL air deionisasi. Selanjutnya, sampel diinkubasi dalam *shaker waterbath* pada suhu 37°C selama 20 menit untuk menentukan kadar RDS dan 120 menit untuk SDS. RDS dinyatakan sebagai total pati yang dicerna selama 20 menit pertama, dan SDS dinyatakan sebagai total pati yang dicerna antara 20 dan 120 menit.

Sampel yang telah dianalisis RDS dan SDS disentrifugasi selama 15 menit, 3000 x g. bagian residu diambil dan dicuci dengan 10 mL akuades. Proses sentrifugasi diulang lagi dengan cara yang sama seperti di atas dan residunya kembali diambil dan dicuci. Residu sampel tersebut ditambahkan 3 mL akuades dan 1,5 mL larutan KOH 10 M, lalu diaduk dengan menggunakan *vorteks* dan didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang. Secara berturut-turut ke dalam sampel tersebut ditambahkan 2,75 mL 2 M HCl dan 1,5 mL *buffer* sodium asetat pH 4,75 dan 40 µl enzim *amiloglukosidase* 210 U. Sebelum diinkubasi pada suhu 60°C selama 45 menit dengan menggunakan *vorteks*. Sampel disentrifugasi selama 15 menit, 3000 x g). Bagian supernatan diambil dan dimasukkan ke dalam labu takar. Bagian residu dicuci dengan 10 mL akuades dan disentrifugasi kembali. Bagian supernatan dicampurkan dengan supernatan sebelumnya. Sebanyak 25–1.000 mL sampel diencerkan dengan akuades (tingkat pengenceran tergantung pada kandungan RS dalam sampel).

Sebanyak 1 mL sampel ditambahkan

550 nm. Akuades digunakan sebagai blanko. Kurva standar dibuat dengan menggunakan larutan glukosa standar, yaitu 2 mg/ml sebagai larutan induk. Larutan kerja yang digunakan sebagai standar adalah 0,2 mg/mL; 0,4 mg/mL; 0,6 mg/mL; dan 0,8 mg/mL; 1,0 mg/mL. Persen RS diperoleh dengan mengalikan persen glukosa dengan faktor koreksi 0,9.

$$\% \text{ RS} = \frac{A}{S} \times \frac{FP}{W} \times 100,9$$

Keterangan :

A = Absorbansi Sampel

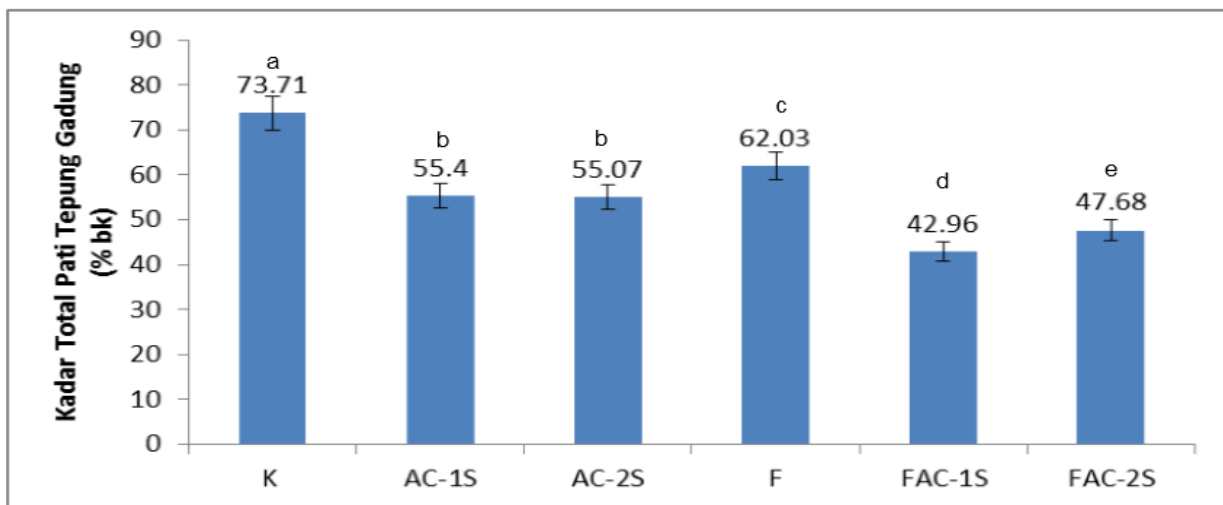
S = *Slope* atau Kemiringan Kurva

FP = Faktor Pengencer

W = Berat Sampel (g)

2.5. Analisis Statistik

Analisis ragam (*Analisis of Variance*) dilakukan terhadap data yang diperoleh dengan menggunakan menggunakan Software SPSS 17. Selanjutnya, dilakukan perbandingan nilai tengah untuk peubah yang menunjukkan beda nyata dengan uji jarak berganda Duncan (*Duncan Multiple Range Test*) pada taraf signifikansi 5 persen.



Gambar 2. Pengaruh Fermentasi dan Siklus AC terhadap Kadar Total Pati Tepung Gadung

Keterangan: huruf yang berbeda pada diagram batang menunjukkan nilai yang berbeda nyata dengan taraf nyata 95 persen, ($\alpha = 5$ persen), setelah dilakukan uji Duncan pada SPSS 17

2 mL pereaksi DNS (asam dinitrosalisilat) dan dipanaskan dalam penangas air dengan suhu air (100°C) selama 10 menit lalu didinginkan pada suhu ruang. Selanjutnya, sampel diencerkan dengan penambahan 10 mL akuades dan diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Kadar Total Pati Tepung Gadung

Pati merupakan karbohidrat yang berbentuk polisakarida berupa polimer anhidro monosakarida dengan rumus umum $(C_6H_{10}O_5)_n$. Pati juga merupakan homopolimer

glukosa dengan ikatan α -glikosidik (Kusnandar, 2011). Berdasarkan sifatnya, pati tergantung dari panjang rantai C-nya, serta lurus maupun bercabang rantai molekulnya. Pati terdiri dari dua fraksi, yaitu fraksi terlarut disebut amilosa dan fraksi tidak larut disebut amilopektin (Winarno, 2007). Hasil analisa kadar total pati (persen bk) terhadap tepung gadung modifikasi dapat dilihat pada Gambar 2. Kadar total pati tepung gadung menunjukkan penurunan setelah diberi perlakuan fermentasi, pemanasan bertekanan-pendinginan dan kombinasi fermentasi dengan pemanasan bertekanan pendinginan.

Pada perlakuan fermentasi tanpa pemanasan bertekanan-pendinginan, kadar total pati tepung gadung menurun akibat hidrolisis kultur campuran BAL *L. plantarum* D-240 dan *Leu. Mesenteroides* SU-LS67. Kedua kultur BAL tersebut mempunyai aktivitas enzim amilase dan pululanase yang tinggi (Setiarto, dkk., 2015). Menurut Bhanwar dan Ganguli (2014), amilase menghidrolisis ikatan linier α -1,4-glikosidik pada amilosa secara acak menghasilkan campuran dekstrin, maltosa, dan glukosa. Sedangkan Vatanasuchart, dkk. (2010) menyebutkan pululanase menghidrolisis ikatan percabangan α -1,6 penghubung amilopektin pada pati sehingga dihasilkan amilosa rantai pendek.

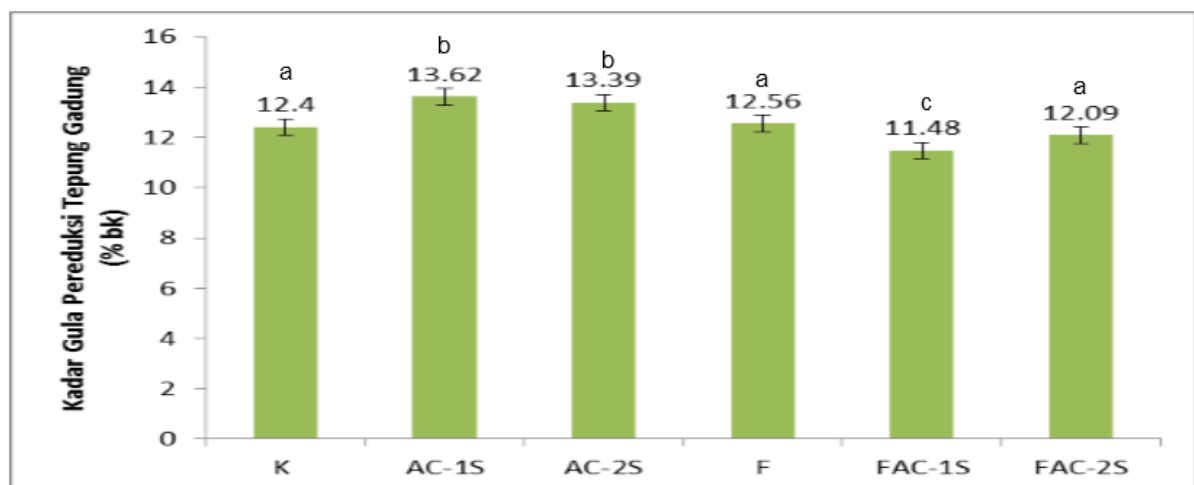
Perlakuan pemanasan bertekanan-pendinginan juga mempengaruhi kadar total

pati gadung karena mengakibatkan peningkatan degradasi pati yang menyebabkan kerusakan pada pati. Zaragoza, dkk., (2010) dan Vatanasuchart, dkk. (2012) menyebutkan degradasi pada pati singkong terjadi akibat putusnya ikatan glikosidik pada fraksi pati baik pada ikatan linier α -1,4 amilosa dan ikatan percabangan α -1,6 amilopektin oleh pemanasan autoklaf. Kombinasi perlakuan fermentasi dan pemanasan bertekanan-pendinginan pada gadung sangat signifikan dapat menurunkan kadar total pati gadung dan paling tinggi dibandingkan dengan perlakuan yang lainnya.

Jenie, dkk. (2012) dan Nurhayati, dkk. (2014) menyebutkan proses fermentasi yang dilanjutkan dengan siklus pemanasan bertekanan-pendinginan menyebabkan penurunan signifikan kadar total pati pada tepung pisang tanduk. Hasil analisa statistik ANOVA menunjukkan bahwa tepung gadung kontrol dan fermentasi berbeda nyata ($\alpha = 5$ persen) dengan tepung gadung AC-1S, AC-2S, FAC-1S, dan FAC-2S. Hasil uji beda nyata Duncan menunjukkan bahwa perlakuan FAC-2S memberikan dampak penurunan kadar total pati yang berbeda nyata dengan perlakuan FAC-1S.

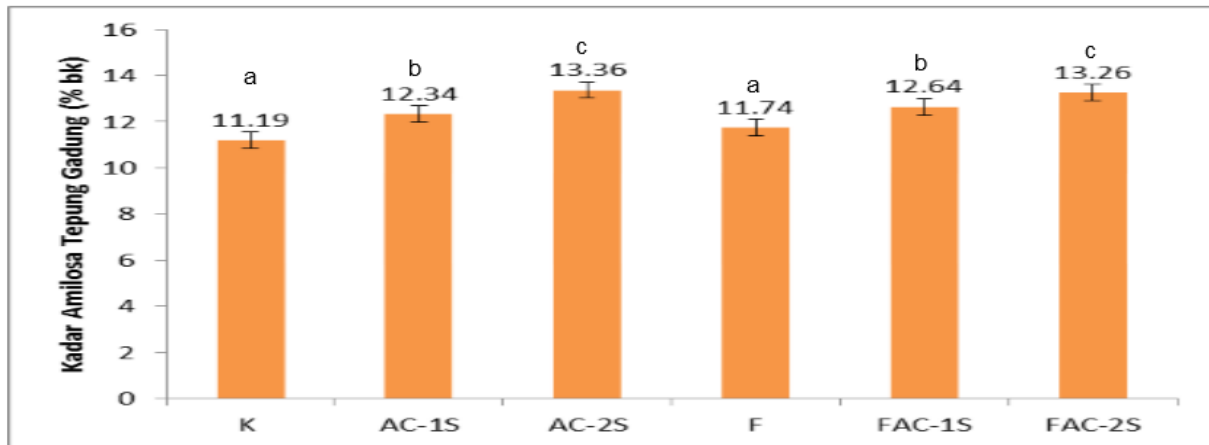
3.2. Kadar Gula Pereduksi Tepung Gadung

Gula pereduksi adalah gula berupa monosakarida dan disakarida yang



Gambar 3. Pengaruh Fermentasi dan Siklus AC terhadap Kadar Gula Pereduksi Tepung Gadung

Keterangan: huruf yang berbeda pada diagram batang menunjukkan nilai yang berbeda nyata dengan taraf nyata 95 persen, ($\alpha = 5$ persen), setelah dilakukan uji Duncan pada SPSS 17



Gambar 4. Pengaruh Fermentasi dan Siklus AC terhadap Kadar Amilosa Tepung Gadung

Keterangan: huruf yang berbeda pada diagram batang menunjukkan nilai yang berbeda nyata dengan taraf nyata 95 persen, ($\alpha = 5$ persen), setelah dilakukan uji Duncan pada SPSS 17

mempunyai gugus hidroksi bebas dan reaktif. Pada glukosa (aldose) biasanya terikat pada atom karbon nomor satu (anomerik), sedangkan pada fruktosa (ketosa) dengan gugus hidroksi reaktifnya terletak pada atom karbon nomor dua. Sementara itu, laktosa mempunyai gugus hidroksi bebas pada atom C nomor satu pada rantai glukosanya (Winarno, 2007). Kadar gula pereduksi tertinggi pada penelitian ini terdapat pada tepung gadung modifikasi dengan perlakuan siklus pemanasan bertekanan-pendinginan baik satu siklus, maupun dua siklus (Gambar 3). Peningkatan kadar gula pereduksi dipengaruhi oleh peningkatan jumlah amilosa rantai pendek yang terbentuk sebagai akibat degradasi pati yang menyebabkan putus ikatan linier α -1,4 glikosidik selama proses pemanasan autoklaf berlangsung sehingga ikut terukur sebagai gula pereduksi (Zaragoza, dkk., 2010 dan Moongngarm, 2013).

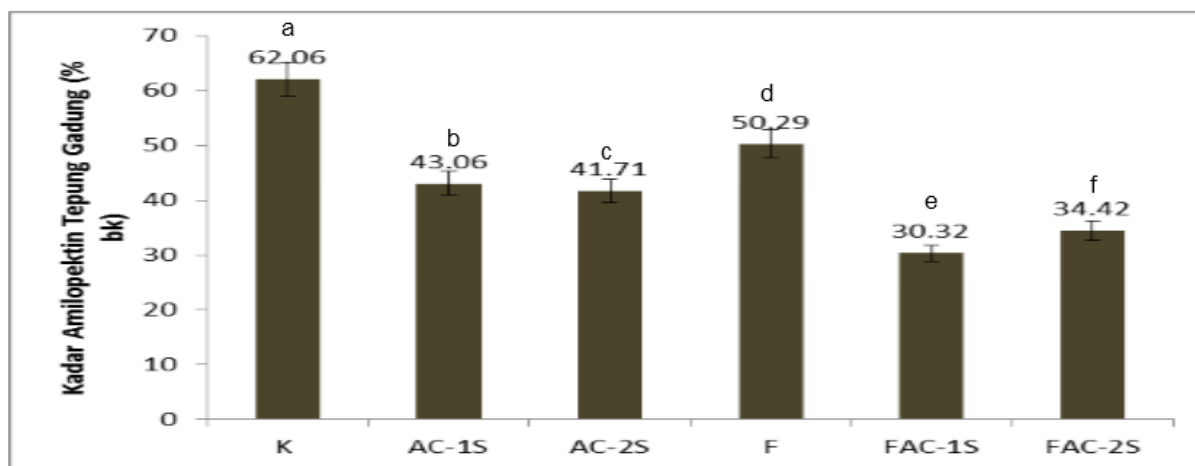
Kombinasi perlakuan fermentasi dengan 1 siklus pemanasan bertekanan-pendinginan menurunkan kadar gula pereduksi jika dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Namun, hal tersebut tidak berlaku untuk perlakuan fermentasi dengan 2 siklus pemanasan bertekanan-pendinginan.

Penurunan tersebut disebabkan karena gula pereduksi yang terkandung dalam gadung yang diberi perlakuan pemanasan bertekanan-pendinginan sebagian besar dimanfaatkan oleh BAL selama fermentasi untuk pertumbuhannya (Bhanwar dan Ganguli, 2014). Vatanasuchart, dkk.(2010)

menyebutkan amilase dan pululanase yang dihasilkan selama proses fermentasi oleh BAL akan menghidrolisis amilosa dan amilopektin pati pisang menjadi glukosa dan maltosa yang merupakan gula pereduksi. Peningkatan kadar gula pereduksi akibat perlakuan fermentasi tidak signifikan karena gula pereduksi (seperti maltosa dan glukosa) dimanfaatkan oleh kultur campuran BAL sebagai sumber karbon untuk pertumbuhannya (Jenie, dkk., 2012).

3.3. Kadar Amilosa dan Amilopektin Tepung Gadung

Berdasarkan hasil analisis diketahui bahwa baik tanpa maupun dengan perlakuan fermentasi, penambahan siklus pemanasan bertekanan-pendinginan dapat meningkatkan kadar amilosa. Sementara itu, perlakuan fermentasi sendiri justru tidak berpengaruh terhadap kadar amilosa tepung gadung modifikasi (Gambar 4 dan 5). Perlakuan fermentasi cenderung menurunkan kadar amilopektin tepung gadung modifikasi. Penambahan siklus pemanasan bertekanan-pendinginan tanpa fermentasi dapat menurunkan kadar amilopektin tepung gadung modifikasi. Penambahan jumlah siklus pemanasan bertekanan-pendinginan dari 1 ke 2 siklus pada perlakuan fermentasi dapat meningkatkan kadar amilopektin pada tepung gadung modifikasi, walaupun nilainya lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan fermentasi saja (Gambar 4 dan 5). Semakin banyak jumlah siklus pemanasan bertekanan-pendinginan yang diaplikasikan, maka dapat



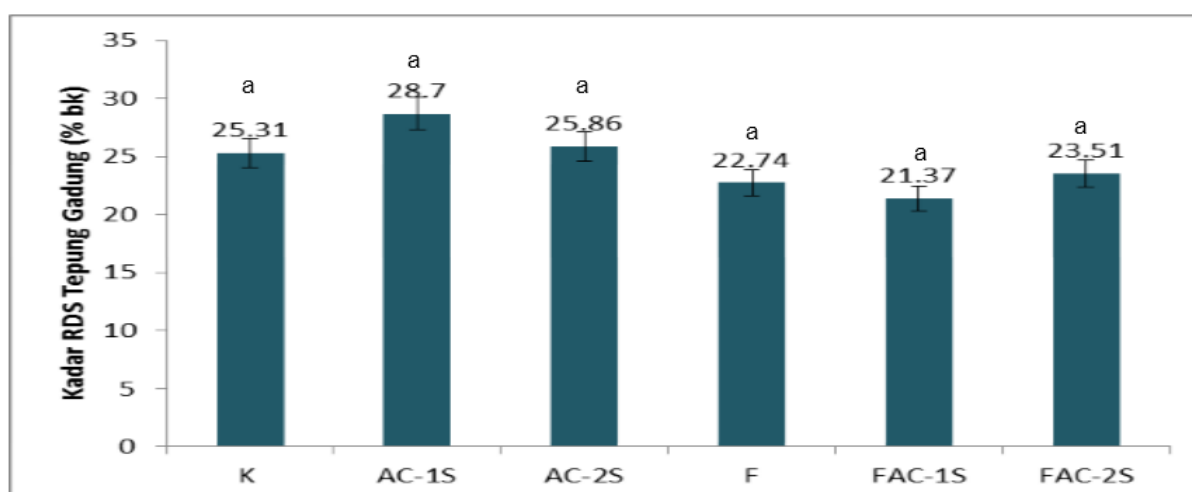
Gambar 5. Pengaruh Fermentasi dan Siklus AC terhadap Kadar Amilopektin Tepung Gadung

Keterangan: huruf yang berbeda pada diagram batang menunjukkan nilai yang berbeda nyata dengan taraf nyata 95 persen, ($\alpha = 5$ persen), setelah dilakukan uji Duncan pada SPSS 17

meningkatkan kadar amilosa rantai pendek yang terbentuk sehingga menurunkan kadar amilopektin pada tepung gadung modifikasi. Zaragoza, dkk. (2010) menyebutkan peningkatan kadar amilosa dan penurunan amilopektin terjadi karena pemanasan autoklaf yang menyebabkan putusya sebagian kecil ikatan glikosidik pada percabangan α -1,6 sehingga terjadi perubahan amilopektin dari struktur cabang menjadi linier.

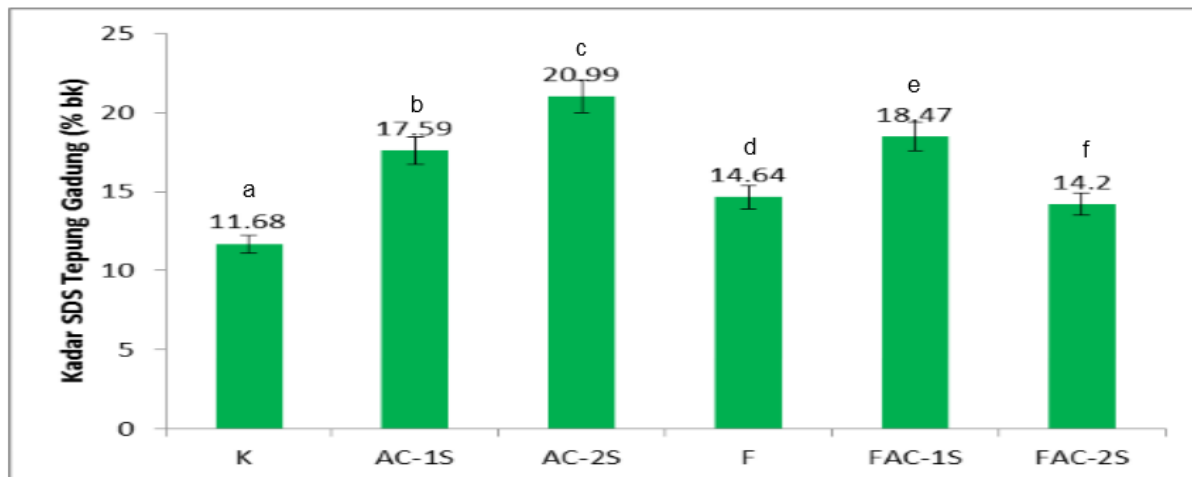
Pati tersusun atas komponen amilosa dan amilopektin. Amilosa mempunyai struktur lurus, yaitu α -D-glukosa yang dihubungkan satu sama lain dengan ikatan glikosidik α -1,4

dan mempunyai berat molekul sekitar 1×10^5 – 1×10^6 . Amilopektin mempunyai struktur bercabang-cabang, yaitu titik percabangannya dihubungkan dengan ikatan glikosidik α -1,6. Karim, dkk. (2000) menyebutkan jumlah α -D-glukosa penyusun titik percabangan pada amilopektin, yaitu 20–30 unit anhidroglukosa. Amilopektin mempunyai berat molekul lebih tinggi bila dibandingkan dengan amilosa, yaitu sekitar 10^6 – 10^9 . Pada jenis pati yang rekat (adesif), amilosa dalam pati berkisar 20–30 persen (Sudarmadji, dkk., 2003). Karakteristik amilosa dalam suatu larutan adalah kecenderungan membentuk koil yang sangat



Gambar 6. Pengaruh Fermentasi dan Siklus AC terhadap Kadar RDS Tepung Gadung

Keterangan: huruf yang berbeda pada diagram batang menunjukkan nilai yang berbeda nyata dengan taraf nyata 95 persen, ($\alpha = 5$ persen), setelah dilakukan uji Duncan pada SPSS 17

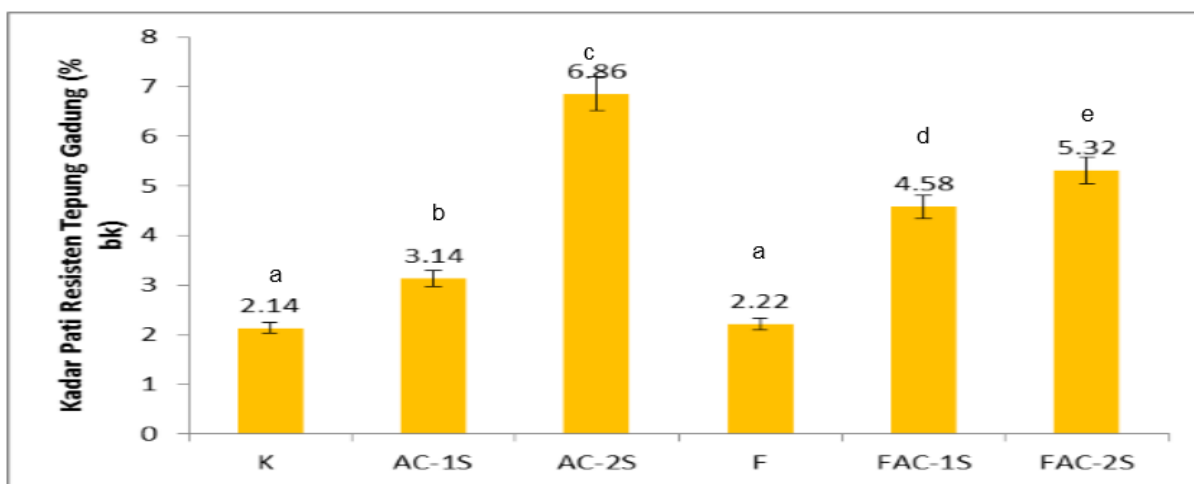


Gambar 7. Pengaruh Fermentasi dan Siklus AC terhadap Kadar SDS Teping Gadung

Keterangan: huruf yang berbeda pada diagram batang menunjukkan nilai yang berbeda nyata dengan taraf nyata 95 persen, ($\alpha = 5$ persen), setelah dilakukan uji Duncan pada SPSS 17

panjang dan fleksibel yang selalu bergerak melingkar. Dalam masakan, amilosa memberikan efek keras bagi pati, sedangkan amilopektin bersifat merangsang terjadinya proses mekar (*puffing*), dimana produk yang berasal dari pati yang kandungan

tersebut disebabkan oleh enzim amilase dan pululanase yang dihasilkan oleh kultur campuran BAL yang menghidrolisis amilosa pada ikatan linier α -1,4 dan amilopektin pada ikatan percabangan α -1,6 selama fermentasi, seperti yang terjadi pada tepung pisang tanduk



Gambar 8. Pengaruh Fermentasi dan Siklus AC terhadap Kadar Pati Resisten (RS) Teping Gadung

Keterangan: huruf yang berbeda pada diagram batang menunjukkan nilai yang berbeda nyata dengan taraf nyata 95 Persen, ($\alpha = 5$ persen), setelah dilakukan uji Duncan pada SPSS 17

amilopektinnya tinggi akan bersifat ringan, berpori, kering, dan renyah (Moongngarm, 2013). Perlakuan fermentasi, pemanasan bertekanan-pendinginan satu dan dua siklus, serta kombinasi keduanya diketahui mampu menurunkan kadar amilopektin. Penurunan

(Jenie, dkk., 2012 dan Nurhayati, dkk., 2014). Hasil analisa statistik ANOVA menunjukkan bahwa tepung gadung modifikasi dengan perlakuan fermentasi, pemanasan bertekanan-pendinginan, baik satu maupun dua siklus, serta kombinasi fermentasi dengan

pemanasan bertekanan-pendinginan akan meningkatkan kadar amilosa dan menurunkan kadar amilopektin secara signifikan dengan taraf nyata 95 persen.

3.4. Kadar RDS dan SDS Tepung Gadung

Pati dapat dikelompokkan menjadi dua, yaitu RDS dan SDS. RDS adalah fraksi pati yang menyebabkan kenaikan glukosa darah secara cepat setelah makanan masuk ke dalam saluran pencernaan selama 20 menit akibat dicerna oleh enzim α -amilase. SDS adalah fraksi pati yang baru dapat dicerna sempurna dalam usus halus dengan kecepatan yang lebih lambat dibandingkan dengan RDS (umumnya setelah 2 jam) (Kusnandar, 2011). Pengaruh perlakuan fermentasi kultur campuran bakteri asam laktat dan siklus pemanasan bertekanan-pendinginan, maupun kombinasi keduanya terhadap kadar RDS dan SDS tepung gadung modifikasi disajikan dalam Gambar 6 dan 7.

Perlakuan fermentasi BAL mampu meningkatkan kadar SDS pada tepung gadung modifikasi. Pada perlakuan tanpa fermentasi, penambahan siklus pemanasan bertekanan-pendinginan dari 1 siklus ke 2 siklus menyebabkan terjadinya peningkatan kadar SDS pada tepung gadung modifikasi. Sementara itu, pada perlakuan fermentasi, penambahan siklus pemanasan bertekanan-pendinginan justru menurunkan kadar SDS tepung gadung modifikasi. Secara umum, perlakuan fermentasi menurunkan kadar RDS tepung gadung dibandingkan dengan kadar RDS tepung gadung tanpa fermentasi. Sedangkan, perlakuan 1 siklus tanpa fermentasi menghasilkan kadar RDS lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol dan 2 siklus (Gambar 6). Perbandingan kadar tersebut menjelaskan bahwa tepung gadung kontrol lebih cepat dicerna dibandingkan dengan tepung gadung hasil fermentasi. Saguilan, dkk. (2005) melaporkan bahwa peningkatan RDS dan penurunan jumlah SDS mengubah karakteristik bahan pangan menjadi lebih mudah dicerna. Kadar SDS tepung gadung fermentasi lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol tanpa fermentasi karena selama fermentasi kultur campuran BAL menghasilkan amilase ekstraseluler.

Perlakuan pemanasan bertekanan-pendinginan satu dan dua siklus, fermentasi

serta kombinasi fermentasi dengan pemanasan bertekanan-pendinginan satu dan dua siklus diketahui mampu meningkatkan kadar SDS tepung gadung modifikasi secara signifikan. Hal tersebut disebabkan karena mulai terjadinya retrogradasi pati yang menyebabkan terbentuknya RS tipe III akibat perlakuan pemanasan bertekanan-pendinginan. Proses *autoclaving-cooling* (AC) secara berulang dapat menyebabkan semakin banyaknya pembentukan fraksi amilosa teretrogradasi atau terkristalisasi (Saguilan dkk., 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, dkk., 2009). Rekristalisasi amilosa ini terjadi selama proses pendinginan (*cooling*). Amilosa teretrogradasi (RS3) bersifat lebih stabil terhadap panas, sangat kompleks dan tahan terhadap enzim amilase.

3.5. Kadar RS Tepung Gadung

Hasil analisis kadar RS terhadap tepung gadung modifikasi dapat dilihat pada Gambar 8. Kadar RS tepung gadung kontrol tidak berbeda nyata dengan perlakuan fermentasi. Penambahan siklus pemanasan bertekanan-pendinginan baik tanpa, maupun dengan fermentasi mampu meningkatkan kadar RS tepung gadung modifikasi. Pada perlakuan satu siklus pemanasan bertekanan-pendinginan, perlakuan fermentasi dapat meningkatkan kadar RS tepung gadung modifikasi. Sementara itu, perlakuan 2 siklus pemanasan bertekanan-pendinginan, perlakuan fermentasi justru menurunkan kadar RS tepung gadung modifikasi. Peningkatan kadar RS dapat dikaitkan dengan amilosa yang terkandung dalam tepung gadung. Zaragoza, dkk. (2009) menyebutkan semakin tinggi kadar amilosa pati, maka semakin meningkat kadar RS dalam bahan pangan. Hasil analisa statistik ANOVA menunjukkan bahwa kadar RS tepung gadung kontrol berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan tepung gadung yang diberi perlakuan pemanasan bertekanan-pendinginan 1 siklus (AC-1 S) dan 2 siklus (AC-2S), serta kombinasi fermentasi dengan pemanasan bertekanan-pendinginan

baik FAC-1S, maupun FAC-2S pada taraf nyata ($\alpha=5$ persen) (Gambar 8).

Sementara itu, perlakuan fermentasi tepung gadung menghasilkan kadar RS yang tidak berbeda nyata ($p>0,05$) dengan perlakuan tepung gadung kontrol. Hal tersebut membuktikan bahwa peningkatan kadar RS tepung gadung lebih disebabkan oleh terjadinya retrogradasi akibat perlakuan pemanasan bertekanan-pendinginan. Jenie, dkk. (2012) dan Nurhayati, dkk. (2014) menyebutkan perlakuan fermentasi dengan kultur campuran bakteri asam laktat lebih berperan dalam meningkatkan jumlah amilosa rantai pendek yang menjadi bahan baku utama pembentukan RS. Selama fermentasi, bakteri asam laktat akan menghasilkan enzim amilase yang akan menghidrolisis ikatan linier α -1,4 glikosidik pada amilosa rantai panjang sehingga akan menghasilkan amilosa rantai pendek. Selain itu, bakteri asam laktat juga menghasilkan enzim pululanase yang berperan dalam menghidrolisis ikatan percabangan α -1,6 penghubung amilopektin pada pati sehingga akan dihasilkan pula amilosa rantai pendek.

Kadar RS tepung gadung meningkat secara signifikan ($p<0,05$) setelah diberikan perlakuan pemanasan bertekanan-pendinginan. Hasil tersebut sesuai dengan hasil penelitian Sugiyono, dkk. (2009) dan Faridah, dkk. (2013) pada pati garut, maupun Jenie, dkk. (2012) dan Nurhayati, dkk. (2014) pada tepung pisang. Perlakuan AC-1S meningkatkan kadar RS sebanyak 1,5 kali dibandingkan dengan kontrol. Sementara itu, perlakuan AC-2S akan semakin meningkatkan kadar RS menjadi 3,2 kali lipat dibandingkan dengan kontrol (Gambar 8). Perlakuan 2 siklus pemanasan bertekanan-pendinginan (AC-2S) menghasilkan kadar RS tertinggi pada tepung gadung dan sangat berbeda nyata ($p<0,05$) jika dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

Peningkatan RS terutama diakibatkan oleh terjadinya retrogradasi pada pati gadung. Pada saat tahap retrogradasi, molekul pati berupa amilosa maupun amilopektin akan saling berikatan kembali secara *double helix* sehingga membentuk struktur yang rapat dan stabil oleh ikatan hidrogen (Sajilata, dkk., 2006 dan Vatanasuchart, dkk., 2012). Granula pati yang kaya akan amilosa mempunyai kemampuan mengkristal yang lebih besar

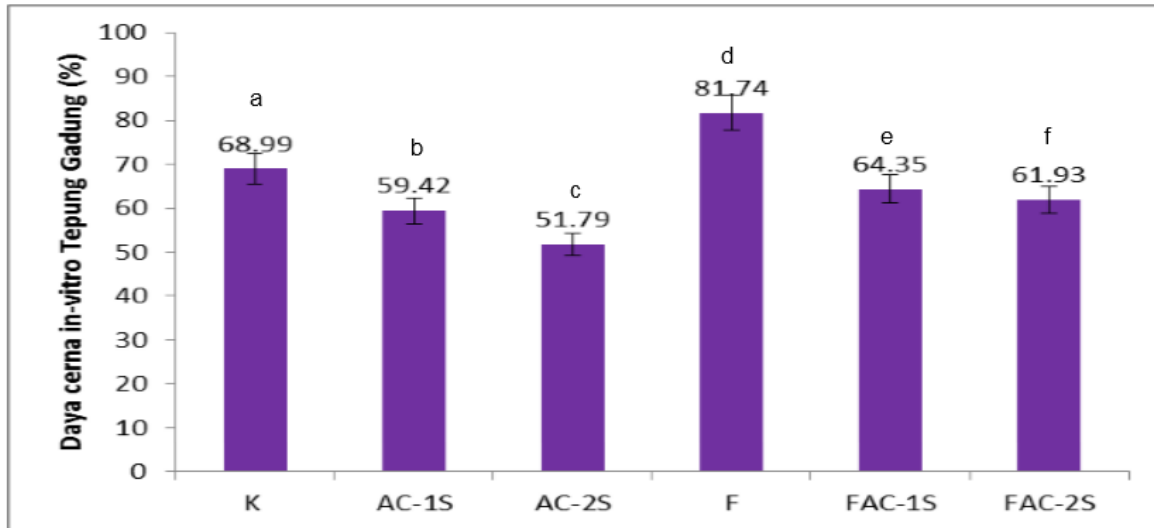
yang disebabkan oleh lebih intensifnya ikatan hidrogen. Hal tersebut mengakibatkan pati tidak mengembang atau mengalami gelatinisasi sempurna pada waktu pemasakan. Pembentukan RS terjadi karena granula pati mengalami gelatinisasi. Granula rusak akibat proses pemanasan basah dan terjadi pelepasan amilosa dari granula ke dalam larutan. Pada saat pendinginan, rantai polimer terpisah sebagai ikatan ganda (*double helix*) dan mengalami pembentukan kembali ke struktur awalnya secara perlahan membentuk struktur kompak yang distabilkan oleh ikatan hidrogen (Sajilata, dkk., 2006).

Perlakuan kombinasi fermentasi dan siklus pemanasan bertekanan-pendinginan berpengaruh signifikan meningkatkan kadar RS tepung gadung modifikasi ($p<0,05$). Tepung gadung dengan perlakuan FAC-1S meningkatkan kadar RS secara signifikan menjadi 2,1 kali lipat jika dibandingkan dengan kontrol (K) (Gambar 8). Sementara itu, perlakuan FAC-2S meningkatkan kadar RS menjadi 2,5 kali lipat (Gambar 8). Perlakuan tepung gadung dengan satu dan dua siklus pemanasan bertekanan-pendinginan memberikan pengaruh yang berbeda nyata ($p<0,05$) dibandingkan dengan tepung gadung kontrol. Hal tersebut terjadi karena adanya proses gelatinisasi dan retrogradasi pati gadung. Semakin banyak siklus pemanasan bertekanan-pendinginan yang diaplikasikan, maka akan semakin meningkatkan kadar RS.

Yadav, dkk. (2009) menyebutkan RS terbentuk selama proses retrogradasi atau kritisasi ulang pati tergelatinisasi, khususnya amilosa. Setiap pemanasan berulang dapat meningkatkan derajat gelatinisasi pati dan pendinginan berulang memicu terjadinya retrogradasi. Retrogradasi amilosa disebabkan karena penyimpanan pati tergelatinisasi pada suhu 4°C selama 24 jam. Hickman, dkk. (2009) juga menyebutkan tiga siklus pemanasan bertekanan-pendinginan memberikan dampak peningkatan RS tiga kali lipat pada tepung jagung dan tepung gandum.

3.6. Daya Cerna Pati *In Vitro* Tepung Gadung

Daya cerna pati adalah tingkat kemudahan suatu jenis pati untuk dihidrolisis oleh enzim α -amilase menjadi unit-unit monomer yang lebih sederhana (Nugent, 2005). Analisis daya cerna pati adalah salah



Gambar 9. Pengaruh Fermentasi dan Siklus AC terhadap Daya Cerna *In Vitro* Tepung Gadung

Keterangan: huruf yang berbeda pada diagram batang menunjukkan nilai yang berbeda nyata dengan taraf nyata 95 persen, ($\alpha = 5$ persen), setelah dilakukan uji Duncan pada SPSS 17

satu parameter yang digunakan untuk mengetahui pengaruh perlakuan modifikasi pati karena daya cerna pati dapat berkorelasi dengan kadar RS yang dihasilkan (Anderson, dkk., 2002). Semakin tinggi kadar RS dalam suatu bahan pangan, maka akan berkorelasi dengan penurunan daya cerna pati dari bahan pangan tersebut (Anderson, dkk., 2002).

Perlakuan fermentasi dapat meningkatkan daya cerna tepung gadung modifikasi. Namun, peningkatan jumlah siklus pemanasan bertekanan-pendinginan dari 1 siklus ke 2 siklus telah menurunkan daya cerna tepung gadung modifikasi baik untuk perlakuan tanpa fermentasi, maupun dengan fermentasi (Gambar 9). Peningkatan daya cerna pada perlakuan fermentasi (F) disebabkan oleh hidrolisis pati gadung oleh amilase dan pululanase sehingga terbentuk amilosa rantai pendek, oligosakarida, maltosa, maltotriosa, glukosa yang lebih mudah dicerna dengan indeks glikemik yang tinggi. Tepung gadung fermentasi (F) dapat diaplikasikan sebagai bahan pangan yang mudah dicerna dan cepat diabsorpsi oleh tubuh sebagai sumber energi. Sebaliknya, perlakuan AC-1S, AC-2S, FAC-1S, dan FAC-2S berpengaruh nyata ($p < 0,05$) menurunkan daya cerna tepung gadung jika dibandingkan dengan perlakuan kontrol (Gambar 9).

Penurunan daya cerna pada perlakuan pemanasan bertekanan-pendinginan berhubungan dengan meningkatnya kadar RS dan serat pangan akibat proses retrogradasi sebagaimana hasil penelitian Vatanasuchart, dkk. (2012) pada tepung pisang, maupun Faridah, dkk. (2013) pada pati garut. Hasil analisa statistik ANOVA menunjukkan bahwa daya cerna pati setiap tepung gadung modifikasi berbeda nyata dengan taraf nyata ($p < 0,05$) untuk setiap perlakuan yang diberikan.

IV. KESIMPULAN

Perlakuan dua siklus pemanasan bertekanan-pendinginan menghasilkan kadar pati resisten (RS) lebih tinggi daripada tepung gadung modifikasi satu siklus pemanasan bertekanan-pendinginan. Kadar RS tertinggi dicapai pada perlakuan 2 dua siklus pemanasan bertekanan-pendinginan (AC-2S) tanpa fermentasi, yaitu 6,86 persen bk. Peningkatan kadar RS tersebut sebesar 3,2 kali lipat dibandingkan dengan perlakuan kontrol (2,14 persen bk). Pada tepung gadung modifikasi, kadar amilosa tinggi yang dihasilkan pada perlakuan pemanasan bertekanan-pendinginan berasosiasi dengan tingginya kadar RS. Peningkatan kadar RS pada tepung gadung modifikasi menyebabkan penurunan daya cerna pati gadung.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kegiatan penelitian ini didanai oleh DIPA Tematik Pusat Penelitian Biologi LIPI 2016. Terima kasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan kepada Ibu Dra. Nunuk Widhyastuti, M.Si, Ibu Kasirah dan Nety Agustin yang telah membantu baik secara teknis maupun non-teknis sehingga penelitian ini berjalan lancar.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdillah, F. 2010. *Modifikasi Tepung Pisang Tanduk (Musa paradisiacal Formatypica) Melalui Proses Fermentasi Spontan dan Pemanasan Otoklaf untuk Meningkatkan Kadar Pati Resisten*. [tesis]. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor, Bogor.
- Anderson, A.K. Guraya H.S., James C., dan Salvaggio L. 2002. Digestibility and Pasting Properties of Rice Starch Heat-Moisture Treated at The Melting Temperature (T_m). *J. Starch/Stärke*. Vol. 54 : 401–409.
- Bhanwar, S., dan Ganguli A. 2014. α -amylase and β -galactosidase Production on Potato Starch Waste by *Lactococcus lactis* subsp *lactis* Isolated from Pickled Yam. *Journal of Scientific & Industrial Research*. Vol. 73 : 324–330.
- Birt, D.F., Boylston T., Hendrich S., Lane J., Hollis J., Li L., McClelland J., Moore S., Phillips G.J., Rowling M., Schalinske K., Scott M.P., dan Whitley M.P. 2013. Resistant Starch: Promise for Improving Human Health. *Advances in Nutrition [Electronic Resource]*. Vol. 4 (6) : 587–601.
- Dubois, M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A., dan Smith, F. 1956. Calorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *J. Analytical Chem.* Vol. 28 : 350–356.
- Eerlingan, R.C., dan Delcour J.A. 1995. Formation, Analysis, Structure and Properties of Type III Enzyme Resistant Starch. *J. Cereal Sci.* Vol. 22 : 129–138.
- Englyst, H.N., Kingman S.M., dan Cummings J.H. 1992. Classification and Measurement of Nutritionally Important Starch Fractions. *European Journal of Clinical Nutrition*. Vol. 46 : 533–550.
- Faridah, D.N., Rahayu W.P., dan Apriyadi M.S. 2013. Modifikasi Pati Garut (*Marantha arundinacea*) dengan Perlakuan Hidrolisis Asam dan Siklus Pemanasan-Pendinginan untuk Menghasilkan Pati Resisten Tipe 3. *J. Teknol Indus Pangan*. Vol. 23 (1) : 61–69.
- Hickman, E., Janaswamy B.S., dan Yao, Y. 2009. Autoclave and β -amylolysis led to reduced *in vitro* digestibility of starch. *J. Agric. Food Chem.* Vol. 57 : 7005–7012.
- Huebner, J., Wehling R.L., dan Hutkins, R.W. 2007. Functional Activity of Commercial Prebiotics. *J. Int Dairy*. Vol. 17 : 770–775.
- Jenie, B.S.L., Reski P.P., dan Kusnandar F. 2012. Fermentasi Kultur Campuran Bakteri Asam Laktat dan Pemanasan Otoklaf dalam Meningkatkan Kadar Pati Resisten dan Sifat Fungsional Tepung Pisang Tanduk (*Musa paradisiaca formatypica*). *J. Pascapanen*. Vol. 9 (1) : 18–26.
- Karim, A.A., Norziah M.H., dan Seow C.C. 2000. Methods for The Study of Starch Retrogradation. *Food Chemistry*. Vol. 71 : 9–36.
- Kumoro, A.C., dan Hartati I. 2015. Microwave Assisted Extraction of Dioscorin from Gadung (*Dioscorea hispida Dennst*) Tuber Flour. *Procedia Chemistry*. Vol. 14 : 47–55.
- Kusnandar, F. 2011. *Kimia Pangan Komponen Makro*. Cetakan Pertama. Jakarta : PT. Dian Rakyat.
- Lehmann, U., Jacobasch G., dan Schmiedl D. 2002. Characterization of Resistant Starch Type III from Banana (*Musa acuminata*). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. Vol. 50 : 5236–5240.
- Liu, Q. 2005. Understanding Starches and Their Role in Foods. *Di dalam RC Taylor & Francis. Food Carbohydrates: Chemistry, Physical Properties and Applications*. Cui SW (editor). Boca Ratn FL.
- Miller, G.L. 1959. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *J. Analytical Chem.* Vol. 31 : 426–428.
- Moongngarm, A. 2013. Chemical Compositions and Resistant Starch Content in Starchy Foods. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*. Vol. 8 (2) : 107–113.
- Mutungi, C., Rosta F., Onyangob C., Jarosa D., dan Rohma H. 2009. Crystallinity, Thermal and Morphological Characteristics of Resistant Starch Type III Produced by Hydrothermal Treatment of Debranched Cassava Starch. *J. Starch/Stärke*. Vol. 61 : 1–12.
- Nugent, A.P. 2005. Health Properties of Resistant Starch. *Br. Nutr. Foundation Nutr.Bull*. Vol. 30 : 27–54.

- Nurhayati, Jenie, B.S.L., Widowati S., Kusumaningrum H.D. 2014. Komposisi Kimia dan Kristalinitas Tepung Pisang Termodifikasi Secara Fermentasi Spontan dan Siklus Pemanasan Bertekanan-Pendinginan. *Agritech*. Vol. 34 (2) : 146–150.
- Saguilan, A.A., Flores-Huicochea E., Tovar J., Garcia-Suarez F., Guterrez-Meraz F., dan Bello-Perez L.A. 2005. Resistant Starch Rich-Powders Prepared by Autoclaving of Native and Lintnerized Banana Starch : Partial Characterization. *J. Starch/Starke*. Vol. 57 : 405–412.
- Sajilata, M.G., Rekha S.S., dan Puspha R.K. 2006. Resistant Starch A Review. *J. Comprehensive Rev in Food Sci and Food Safety*. Vol. 5 : 1–17.
- Setiarto, R.H.B., Jenie B.S.L., Faridah D.N., Saskiawan I., dan Sulistiani. 2015. Seleksi Bakteri Asam Laktat Penghasil Amilase dan Pululanase dan Aplikasinya pada Fermentasi Talas. *J. Teknol dan Industri Pangan*. Vol. 26 (1) : 82–91.
- Setiarto, R.H.B., Jenie B.S.L., Faridah D.N., dan Saskiawan I. 2015. Kajian Peningkatan Pati Resisten yang Terkandung dalam Bahan Pangan Sebagai Sumber Prebiotik. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. Vol. 20 (3) :191–200.
- Setiarto, R.H.B. 2015. *Peningkatan Pati Resisten Tepung Talas Melalui Fermentasi dan Pemanasan Bertekanan-Pendinginan serta Evaluasi Sifat Prebiotiknya*. [tesis]. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor, Bogor.
- Sudarmadji, Haryono B., dan Suhardi. 2003. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta : Kanisius.
- Sugiyono, Pratiwi R., dan Faridah D.N. 2009. Modifikasi Pati Garut dengan Perlakuan Siklus Pemanasan Suhu Tinggi-Pendinginan untuk Menghasilkan Pati Resisten Tipe III. *J. Teknol Indus Pangan*. Vol. 20 (1) : 17–24.
- Vatanasuchart, N., Niyomwit B., dan Wongkrajang K. 2012. Resistant Starch Content, In Vitro Starch Digestibility and Physico-Chemical Properties of Flour and Starch from *Thai bananas*. *Maejo Int. J. Sci. Technol*. Vol. 6 (2) : 259–271.
- Wang, J., Jin Z., dan Yuan X. 2007. Preparation of Resistant Starch from Starch-Guar Gum Extrudates and Their Properties. *Food Chemistry*. Vol. 101 : 20–25.
- Winarno, F.G. 2007. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta : Gramedia Pustaka Utama.
- Yadav, B.S., Sharma A., dan Yadav R.B. 2009. Studies on Effect of Multiple Heating/Cooling Cycles on the Resistant Starch Formation in Cereals, Legumes and Tubers. *International Journal of Food Science Nutrition*. Vol. 60 (4) : 258–272.
- Zaragoza, E.F., Riquelme-Navarrete M.J., Sanchez-Zapata E., dan Perez-Alvarez J.A. 2010. Resistant Starch as Functional Ingredient: A review. *Food Research International*. Vol. 43 (4) : 931–942.

R. Haryo Bimo Setiarto dilahirkan di Bogor pada tanggal 27 Januari 1988. Menyelesaikan pendidikan S1 Biokimia, Institut Pertanian Bogor tahun 2009 dan pendidikan S2 Magister Ilmu Pangan, Institut Pertanian Bogor tahun 2015. Saat ini bekerja sebagai peneliti bidang Mikrobiologi Pangan di Pusat Penelitian Biologi LIPI.

Firda Yunirma dilahirkan di Jakarta pada tanggal 4 Juni 1994. Menyelesaikan pendidikan S1 Keteknikan Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya Malang tahun 2016.