

FERMENTASI KULTUR CAMPURAN BAKTERI ASAM LAKTAT DAN PEMANASAN OTOKLAF DALAM MENINGKATKAN KADAR PATI RESISTEN DAN SIFAT FUNGSIONAL TEPUNG PISANG TANDUK (*Musa paradisiaca formatypica*)

Betty Sri Laksmi Jenie¹, Reski Praja Putra², Feri Kusnandar¹

¹⁾ Dosen Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian-IPB

²⁾ Alumni Program Studi Ilmu Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian-IPB

email : betty_jenie@yahoo.com

Modifikasi pati pisang dilakukan dengan fermentasi menggunakan kultur campuran *Lactobacillus plantarum* kik dan *L. fermentum* 2B4 dan perlakuan pemanasan otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Tujuan penelitian adalah untuk menentukan waktu optimal fermentasi irisan pisang, perbandingan kultur campuran *L. plantarum* kik dan *L. fermentum* 2B4 (1 : 1; 2 : 1; 3 : 1) dan mengevaluasi sifat fungsional tepung pisang. Fermentasi selama 72 jam pada suhu ruang merupakan waktu optimal berdasarkan jumlah bakteri asam laktat, nilai pH, total asam tertitras dan aktivitas amilase. Pembentukan pati resisten hanya dipengaruhi oleh pemanasan otoklaf, dimana peningkatan kadar pati resisten mencapai dua kali lipat (13.22%). Proses fermentasi menggunakan kultur campuran *L. plantarum* kik dan *L. fermentum* 2B4 dengan rasio 2:1 diikuti pemanasan otoklaf, berhasil menurunkan daya cerna pati tepung pisang (56.45%) dan memiliki kadar amilosa yang tidak berbeda nyata dengan tepung pisang kontrol. Kombinasi proses modifikasi ini juga berhasil meningkatkan kadar serat pangan (15.91%) dan menurunkan indeks glikemik prediktif secara in vitro (61.40) dibandingkan tepung pisang kontrol. Tepung pisang modifikasi ini juga menunjukkan sifat prebiotik berdasarkan kemampuan dalam mendukung pertumbuhan tiga kandidat probiotik (*L. plantarum* sa28k, *L. fermentum* 2B4 dan *L. acidophilus*).

Kata kunci : tepung pisang modifikasi, bakteri asam laktat, pemanasan otoklaf, pati resisten, prebiotik

ABSTRACT. Betty Sri Laksmi Jenie, Reski Praja Putra, and Feri Kusnandar. 2010. Mixed culture fermentation of lactic acid bacteria and autoclaving to improve resistant starch and functional properties of banana tanduk flour (*Musa paradisiaca formatypica*). Modified banana flour prepared by mixed culture fermentation of *Lactobacillus plantarum* kik and *L. fermentum* 2B4 and autoclaving (121°C, 15') of banana chips were studied. The aims of this study were to determine the optimum fermentation time, ratio of mixed culture of *L. plantarum* kik and *L. fermentum* 2B4 (1 : 1, 2 : 1, and 3 : 1) and to evaluate the functional properties of modified banana flour. Fermentation for 72 h at room temperature was considered to be the optimum fermentation time based on the number of lactic acid bacteria, pH, total titratable acids and amylase activity observed during fermentation. Analysis of RS content of the modified banana flour produced by banana chips fermentation followed by autoclaving compared to control without fermentation, showed that the formation of RS was only affected by autoclaving. Autoclaving the banana chips significantly increased the RS content of the flour up to two fold (13.22%). Fermentation of banana chips using *L. plantarum* kik and *L. fermentum* 2B4 at the ratio of 2 : 1 followed by autoclaving significantly decreased the starch digestibility of the modified banana flour and had amylose content that was nonsignificantly different with control banana flour. Further evaluation showed that the modified banana flour was not only had high RS and dietary fibre contents (15.91%) with low glycemic index (61.40) but also promising as prebiotic candidate represented by supporting the growth of three candidate probiotics (*L. plantarum* sa28k, *L. fermentum* 2B4 and *L. acidophilus*) grown on the flour.

Key words : modified banana flour, lactic acid bacteria, autoclaving, resistant starch, prebiotic

PENDAHULUAN

Meningkatnya kesadaran konsumen akan pangan dan kesehatan menyebabkan tuntutan terhadap pangan juga meningkat. Saat ini, konsumen tidak hanya menilai pangan dari segi sensorik dan keamanan bagi tubuh, tetapi juga mempertimbangkan efek pangan tersebut bagi kesehatan atau yang dikelompokkan sebagai pangan fungsional. Pangan fungsional adalah pangan yang bersifat aman dan juga memiliki efek positif bagi kesehatan. Prebiotik adalah salah satu pangan fungsional yang hingga saat ini masih dikembangkan.

Salah satu kandidat prebiotik yang berpotensi untuk dikembangkan adalah pati resisten (RS). RS

adalah semua jenis pati dan produk degradasi pati yang tidak dapat diserap dalam saluran pencernaan, sehingga RS digolongkan sebagai sumber serat¹. RS dapat diklasifikasikan menjadi 4 jenis. RS tipe I yaitu pati alami yang secara fisik terperangkap di antara dinding sel bahan pangan. RS tipe II yaitu granula pati yang secara alami tahan terhadap enzim pencernaan. Tipe III yaitu pati retrogradasi yang dihasilkan melalui proses pengolahan makanan dan tipe IV yaitu pati yang dimodifikasi secara kimia². RS tipe III memiliki kelebihan dibandingkan RS tipe lain yaitu bersifat sangat stabil selama pemanasan³, sehingga dapat digunakan sebagai ingredien pangan karena sifat fungsionalnya tidak mengalami perubahan selama proses pengolahan⁴.

Pisang merupakan komoditas pertanian yang mengandung karbohidrat tinggi, mengandung komponen pati (17,2-38%) dengan kadar amilosa berkisar 9.1-17,2%. Kadar amilosa yang cukup tinggi pada pisang berpotensi sebagai salah satu sumber alternatif pembuatan RS. Pengembangan RS komersial, sebaiknya digunakan pati yang secara alami mengandung kadar amilosa yang tinggi⁵.

RS secara selektif menstimulasi pertumbuhan bakteri menguntungkan (probiotik) seperti *Bifidobacteria* dan *Lactobacillus*². Pemanasan otoklaf dan penambahan 0,2% POCl₃ mampu meningkatkan kadar RS III dan RS IV dari umbi garut, singkong, dan kimpul serta dapat dimanfaatkan oleh *Lactobacillus casei*, *L. plantarum*, dan *Bifidobacterium bifidum* sebagai prebiotik secara in vitro⁶. Kadar RS III pada pati alami umumnya sangat rendah. Kadar RS III pati singkong dapat ditingkatkan dengan pemanasan otoklaf dan dioptimalkan dengan penambahan asam laktat⁷. *Lactobacillus plantarum* dan *L. fermentum* adalah bakteri asam laktat yang mampu menghasilkan asam laktat melalui metabolisme glukosa⁸, memproduksi enzim pemecah pati (amilase)⁹, dan enzim amilopululanase yang memutus ikatan amilosa dan amilopektin sehingga dapat hidup pada substrat pati. Amilase yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat mengakibatkan terjadinya perubahan struktur granula pada pati menjadi semi kristal^{10; 11}.

Selain itu, pemanfaatan bakteri asam laktat juga bertujuan agar selama fermentasi, asam laktat dihasilkan secara alami dan mengakibatkan terjadinya linierisasi amilopektin. Oleh karena itu, kadar RS tepung pisang diduga dapat ditingkatkan apabila sebelum pemanasan, pisang terlebih dahulu difermentasi. Tujuan penelitian ini adalah mempelajari pengaruh lama fermentasi irisan pisang dan mengkaji pengaruh rasio *L. plantarum* kik dan *L. fermentum* 2B4 serta perlakuan pemanasan otoklaf (suhu 121°C) terhadap pembentukan RS III tepung pisang tanduk, dan menguji sifat fungsional tepung pisang tanduk modifikasi.

BAHAN DAN METODE

A. Bahan dan Alat

Bahan baku utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah pisang tanduk (*Musa paradisiaca formatypica*) dengan tingkat kematangan level 1 (tua, mentah dan kulit hijau) diperoleh dari Lumajang, Jawa Timur. Bakteri yang digunakan terdiri dari *Lactobacillus plantarum* kik, *L. plantarum* sa28k, *L. acidophilus* diperoleh dari Lab. Mikrobiologi Pangan, IPB, dan *L. fermentum* 2B4. Kultur *Lactobacillus* sp. dibuka dari ampul dan disegarkan ke dalam 10 ml MRSB. MRSB dimasukkan ke dalam inkubator 37°C selama 48 jam. Setelah 48 jam, kultur *Lactobacillus* sp. kembali disegarkan dengan mengambil 1 ml dari tabung MRSB lama ke tabung berisi MRSB baru. MRSB diinkubasi kembali selama 48 jam pada suhu 37°C.

B. Metode Penelitian

Fermentasi pisang dengan kultur campuran BAL

Pisang diiris membentuk lembaran setebal ± 6 mm. Selanjutnya 300 g irisan pisang direndam dalam 400 ml akuades steril yang telah diinokulasi dengan 0,25% (v/v) kultur campuran *L. plantarum* kik : *L. fermentum* 2B4 (1 : 1) dengan jumlah 10⁸ cfu/ml. Inkubasi dilakukan pada suhu ruang (±30°C) selama 0, 24, 48, 72, 96 jam. Waktu fermentasi dipilih berdasarkan jumlah BAL (cfu/ml), TAT (%), pH, dan aktivitas amilase ekstraseluler (unit/ml) pada cairan fermentasi.

Pembuatan Tepung Pisang dengan Kombinasi Fermentasi dan Pemanasan Otoklaf

Irisan pisang difermentasi mengikuti prosedur yang sama seperti di atas. Pada tahap ini digunakan tiga rasio kultur campuran *L. plantarum* kik : *L. fermentum* 2B4 yaitu (1 : 1); (2 : 1); dan (3 : 1).

Irisan pisang hasil fermentasi dibagi menjadi dua kelompok, yaitu tanpa perlakuan pemanasan otoklaf dan diberi perlakuan pemanasan otoklaf. Pada kelompok tanpa perlakuan pemanasan otoklaf, irisan setelah fermentasi langsung dikeringkan dengan sinar matahari hingga kadar air 12%; sedangkan pada kelompok perlakuan pemanasan otoklaf, irisan setelah fermentasi diberi perlakuan pemanasan otoklaf 121°C selama 15 menit, kemudian diretrogradasi dengan cara didinginkan pada suhu ruang (±30°C) selama 24 jam, dan selanjutnya dikeringkan menggunakan sinar matahari hingga kadar air 13-14%. Irisan pisang yang telah dikeringkan baik yang diberi perlakuan fermentasi maupun tanpa fermentasi dihaluskan menggunakan disk mill dan diayak menggunakan saringan ukuran 80 mesh. Tepung pisang modifikasi (TPM) selanjutnya dianalisis kadar RS (%)⁽¹²⁾, daya cerna secara in vitro (%)⁽¹³⁾, dan amilosa (%).

Analisis Sifat Fungsional Tepung Pisang Modifikasi (TPM)

TPM terbaik diuji potensinya sebagai prebiotik melalui uji viabilitas⁽⁶⁾, efek dan indeks prebiotik⁽¹⁴⁾ terhadap tiga strain kandidat probiotik yaitu *L. plantarum* sa28k, *L. fermentum* 2B4, dan *L. acidophilus*. Analisis lain yang dilakukan meliputi kadar serat pangan⁽¹⁵⁾, pati cepat cerna (RDS), pati lambat cerna (SDS), dan indeks glikemik secara in vitro⁽¹⁶⁾.

Rancangan Percobaan dan Pengolahan Data

Rancangan percobaan pada tahap fermentasi pisang dengan kultur campuran BAL adalah rancangan acak lengkap dengan lama fermentasi (0, 24, 48, 72, dan 96 jam) sebagai variabel. Pada tahap pembuatan tepung pisang dengan kombinasi fermentasi dan pemanasan otoklaf, rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap pola faktorial dengan rasio kultur campuran BAL (1 : 1, 2 : 1, dan 3 : 1) sebagai variabel A dan pemanasan otoklaf sebagai variabel B.

Pengolahan data dilakukan dengan menggunakan Analisis ragam (ANOVA). Jika berbeda signifikan maka dilanjutkan dengan Uji Duncan pada level 95% ($\alpha = 0,05$). Pada tahap analisis sifat fungsional tepung pisang modifikasi (TPM), dilakukan analisis *t-student*. Data diolah menggunakan perangkat lunak SPSS 17,0.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penentuan Lama Fermentasi Kultur Campuran

Kultur yang digunakan dalam penelitian ini adalah kultur campuran *L. plantarum* kik dan *L. fermentum* 2B4 berumur 12 jam (10^8 cfu/ml). Pada Tabel 1 terlihat pertumbuhan BAL semakin meningkat yang mencapai 8,3 log cfu/ml pada 96 jam fermentasi. Peningkatan juga terjadi pada nilai TAT (0,31% asam laktat) dan aktivitas amilase yaitu 0,30 unit/ml, sedangkan pH menurun dari 6,38 menjadi 4,12. Peningkatan nilai TAT dan turunnya pH menunjukkan bahwa kultur campuran BAL tumbuh baik pada irisan pisang dan memproduksi asam laktat.

Setelah 24 jam fermentasi, nilai pH cairan fermentasi meningkat menjadi 4,14 pada 72 jam. Peningkatan pH ini disebabkan oleh *L. fermentum* 2B4 yang bersifat heterofermentatif sehingga mampu menghasilkan asam laktat dan etanol (bersifat basa). Pengujian etanol terhadap cairan fermentasi irisan pisang dilakukan secara kualitatif menggunakan cawan Conway. Cairan fermentasi menyebabkan terjadinya perubahan warna larutan indikator dari kuning menjadi biru pada cawan. Warna biru mengindikasikan cairan fermentasi mengandung etanol. Bakteri asam laktat homofermentatif memfermentasi 1 mol glukosa menjadi

2 mol asam laktat sedangkan BAL heterofermentatif memfermentasi 1 mol glukosa menjadi 1 mol asam laktat, 1 mol etanol, dan 1 mol $\text{CO}_2^{(11)}$. Dalam media yang mengandung pati, glukosa, fruktosa, dan sukrosa, *L. fermentum* menghasilkan asam laktat sebesar 10 g (mmol/L), etanol 91 mmol/l, asam asetat 21 mmol/l, manitol 57 mmol/l, dan aktivitas amilase 8 unit/ml(17).

Berdasarkan jumlah BAL tertinggi, TAT tertinggi, dan pH rendah, maka dipilih lama fermentasi irisan pisang tanduk 72 jam untuk diteliti lebih lanjut. Jumlah BAL, TAT, dan pH cairan dengan lama fermentasi 72 jam tidak berbeda signifikan dengan fermentasi 96 jam. Aktivitas amilase fermentasi irisan pisang selama 96 jam lebih tinggi dibandingkan waktu fermentasi 72 jam. Hal ini juga menjadi salah satu alasan waktu fermentasi dihentikan hanya sampai 72 jam, amilase tinggi diduga dapat mengakibatkan degradasi amilosa yang tinggi menjadi senyawa yang lebih sederhana, sehingga berpengaruh terhadap produksi RS tepung pisang tanduk.

Pengaruh Rasio Kultur Campuran *L. plantarum* kik dan *L. fermentum* 2B4 dan Pemanasan otoklaf terhadap Sifat Fisikokimia dan Daya Cerna Pati Tepung Pisang Tanduk

Hasil analisis ragam menunjukkan interaksi rasio campuran BAL dengan pemanasan otoklaf ($P < 0,05$) tidak berpengaruh signifikan terhadap kadar RS dan kadar pati, tetapi berpengaruh signifikan terhadap daya cerna pati tepung pisang dan kadar amilosa. Kadar RS dan kadar pati hanya dipengaruhi oleh perlakuan pemanasan otoklaf.

Tabel 1. Pengaruh waktu fermentasi terhadap pertumbuhan kultur campuran *L. plantarum* kik dan *L. fermentum* 2B4 (1 : 1), nilai pH, TAT dan aktivitas amilase

Table 1. Effect of fermentation time on the growth of mixed culture of *L. plantarum* kik and *L. fermentum* 2B4 (1:1), pH value, total titratable acids, and amylase activity

Waktu Fermentasi (Jam)/ Fermentation time (h)	Jumlah Mikroba (log cfu/ml)/ Total plate count (log cfu/ml)	TAT (%)/ Total titratable acids	pH	Aktivitas amilase ekstraseluler (unit/ml)/ Extracellular amylase activity (unit/ml)
0	6,39 ^c	0,03 ^d	6,38 ^a	0,03 ^e
24	6,68 ^c	0,21 ^c	3,77 ^d	0,05 ^d
48	7,17 ^b	0,25 ^b	3,98 ^c	0,09 ^c
72	7,99 ^a	0,30 ^a	4,14 ^b	0,18 ^b
96	8,31 ^a	0,31 ^a	4,12 ^b	0,30 ^a

Keterangan : Huruf yang sama pada kolom yang sama di belakang angka menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf 5%

Remarks : mean values in a column followed by different letters are significantly different ($p < 0.05$)

Tabel 2 Pengaruh rasio kultur campuran BAL dan pemanasan otoklaf terhadap sifat fisikokimia tepung pisang modifikasi
 Table 2 Effect of mixed culture ratios of lactic acid bacteria (LAB) and autoclaving on physicochemical properties of modified banana flour

Rasio kultur campuran/ Mixed culture ratio	Kadar air (%)/ Moisture content (%)	RS (%)	Pati (%)/ Starch (%)	Daya Cerna Pati (%)/ Starch digestibility (%)	Amilosa (%)/ Amylose (%)
Tanpa pemanasan otoklaf/ Without autoclaving					
Kontrol tanpa fermentasi/ Control without fermentation	14,05	6,39 ^b	70,29 ^a	29,65 ^c	24,94 ^{ab}
Kultur campuran/Mixed culture					
LP/LF (1 : 1)	14,92	6,02 ^b	67,43 ^{ab}	20,65 ^{dc}	23,16 ^c
LP/LF (2 : 1)	15,05	5,87 ^b	65,98 ^{ab}	19,72 ^e	24,08 ^{bc}
LP/LF (3 : 1)	14,75	6,45 ^b	69,98 ^a	24,43 ^d	21,16 ^d
Dengan pemanasan otoklaf/ autoclaving					
Kontrol tanpa fermentasi/ Control without fermentation	14,11	12,99 ^a	62,76 ^b	69,66 ^a	26,01 ^a
Kultur campuran/Mixed culture					
LP/LF (1 : 1)	13,71	13,08 ^a	64,81 ^{ab}	58,61 ^b	25,54 ^a
LP/LF (2 : 1)	13,35	13,22 ^a	63,14 ^{ab}	56,45 ^b	25,92 ^a
LP/LF (3 : 1)	13,76	13,71 ^a	62,12 ^b	68,03 ^a	24,66 ^{ab}

Keterangan : Huruf yang sama pada kolom yang sama di belakang angka menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf 5%

Remarks : mean values in a column followed by different letters are significantly different ($p < 0.05$) LP = *L. plantarum* kik; LF = *L. fermentum* 2B4

Tabel 3 Uji lanjut Duncan pengaruh rasio kultur campuran BAL terhadap kadar amilosa (%) tepung pisang modifikasi
 Table 3 Duncan test from effect of mixed culture ratios of lactic acid bacteria (LAB) on amylose (%) modified banana flour

Fermentasi	N	Subset		
		1	2	3
LP/LF 3 : 1	8	22,91		
LP/LF 1 : 1	8		24,35	
LP/LF 2 : 1	8		25,00	25,00
Kontrol Tanpa Fermentasi/ Control without fermentation	8			25,47
Sig.		1.000	.134	.276

Pati Resisten (RS)

Tabel 2 menunjukkan kadar RS tepung pisang tanpa perlakuan pemanasan otoklaf yaitu 5,87-6,45% dan meningkat signifikan setelah perlakuan pemanasan otoklaf menjadi 12,99-13,71%. Fermentasi irisan pisang menggunakan kultur campuran BAL tidak memberikan pengaruh terhadap kadar RS tepung pisang yang dihasilkan. Selama fermentasi, total asam (asam laktat) yang dihasilkan pada tepung pisang hanya berkisar 0,34-0,35% (data tidak ditampilkan) yang ekuivalen dengan 3 mmol/l asam laktat. Jumlah asam laktat yang dihasilkan relatif rendah sehingga tidak memberikan pengaruh terhadap pembentukan RS disebabkan linierisasi amilopektin oleh asam laktat belum optimal,

jumlah asam laktat yang mampu meningkatkan kadar RS adalah 10 mmol/l⁷. Peningkatan RS tepung pisang terutama disebabkan oleh perlakuan pemanasan otoklaf. Pemanasan otoklaf menyebabkan terjadinya gelatinisasi pati pisang dan retrogradasi pati pada irisan pisang selama penyimpanan 24 jam pada suhu ruang ($\pm 30^{\circ}\text{C}$). Gelatinisasi pati pisang menyebabkan terjadinya kerusakan pada pati pisang (perubahan pada stuktur granula), sehingga terjadi penurunan kadar pati dan menyebabkan fraksi amilosa keluar dari granula pati dan terdispersi dalam air. Tetapi setelah tahap retrogradasi, ikatan hidrogen pada amilosa yang telah putus berikatan kembali dan membentuk struktur yang baru (struktur amorf menjadi kristal) dan stabil. Struktur ini bersifat resisten terhadap enzim pencernaan.

Kadar Pati dan Amilosa

Tabel 2 juga menunjukkan penurunan kadar pati yang signifikan akibat perlakuan pemanasan otoklaf. Kadar pati tepung pisang perlakuan tanpa pemanasan otoklaf yaitu 65,98 - 70,29% dan menurun signifikan pada tepung pisang perlakuan pemanasan otoklaf yaitu 62,12-64,81%. Pemanasan otoklaf mereduksi kandungan pati akibat gelatinisasi pati, gelatinisasi pati menyebabkan substansi kerusakan pati yang menunjukkan peningkatan level kerusakan pati. Peningkatan level kerusakan pati berkorelasi positif dengan peningkatan daya cerna dan kadar amilosa. Daya cerna pati tepung pisang perlakuan pemanasan otoklaf yaitu 56,45 - 69,66% dan kadar amilosa berkisar 24,66 - 26,01%.

Pemanasan otoklaf mengakibatkan peningkatan degradasi pati pada irisan pisang. Degradasi terjadi akibat putusannya ikatan hidrogen fraksi pati (amilosa dan amilopektin) oleh pemanasan otoklaf. Oleh karena itu, terjadi perubahan amilopektin dari struktur cabang menjadi linier. Linierisasi amilopektin selama pemanasan otoklaf menyebabkan kadar amilosa tepung pisang perlakuan pemanasan otoklaf meningkat dibandingkan tepung pisang tanpa pemanasan otoklaf. Sebaliknya, fermentasi kultur campuran BAL mengakibatkan penurunan kadar amilosa tepung pisang. Kadar amilosa menurun dari 24,94% menjadi 21,16-24,08% (Tabel 2). Penurunan kadar amilosa pada tepung pisang fermentasi diakibatkan oleh amilase ekstraseluler yang dihasilkan oleh kultur campuran BAL selama fermentasi. Amilase ekstraseluler menyebabkan degradasi pada amilosa pati pisang.

Hasil penelitian ini tidak menunjukkan korelasi positif antara kadar amilosa dengan pembentukan RS tepung pisang. Tepung pisang yang dimodifikasi dengan fermentasi mengakibatkan penurunan kadar amilosa yang signifikan dibandingkan tepung pisang tanpa fermentasi. Kadar RS tepung pisang hasil fermentasi tidak berbeda signifikan dengan kadar RS tepung pisang tanpa fermentasi. Kadar pati resisten yang dihasilkan pada tepung pisang fermentasi lebih dipengaruhi oleh linierisasi (*debranching*) amilopektin selama pemanasan otoklaf, bukan kadar amilosa alami pati pisang. *Debranching* amilopektin meningkatkan kadar pati resisten secara signifikan akibat molekul linier yang berasal dari amilopektin memiliki peranan dalam retrogradasi¹⁸.

Hasil uji lanjut Duncan (Tabel 3) memperlihatkan kultur campuran BAL memberikan pengaruh yang signifikan terhadap penurunan kadar amilosa TPM dibandingkan tepung pisang kontrol tanpa fermentasi, dari ketiga perlakuan kultur campuran BAL, hanya perlakuan rasio BAL 2 : 1 yang memiliki kadar amilosa yang sama dengan kontrol tanpa fermentasi. Kadar amilosa memiliki peranan penting dalam penentuan IG bahan pangan. Nilai IG secara signifikan lebih rendah pada kadar amilosa yang tinggi dibandingkan kadar

amilosa rendah¹⁹, nilai IG tidak hanya ditentukan oleh pati resisten, tetapi produk dengan kadar amilosa tinggi juga menghasilkan respon metabolik yang lebih rendah¹⁸ dan berkorelasi positif terhadap penurunan glukosa darah²⁰. Oleh karena itu, TPM terpilih yang akan diuji sifat fungsionalnya dalam penelitian ini adalah perlakuan rasio BAL 2 : 1 yang didasarkan pada kadar amilosa yang tidak berbeda dengan tepung pisang kontrol tanpa fermentasi dengan harapan kadar amilosa yang tinggi akan memberikan nilai IG yang rendah.

Daya Cerna

Degradasi pati selama pemanasan otoklaf mengakibatkan peningkatan daya cerna pati tepung pisang dibandingkan tepung pisang tanpa pemanasan otoklaf. Pati yang telah terdegradasi menyebabkan perubahan struktur kompleks (amilosa dan amilopektin) menjadi struktur yang lebih sederhana (maltosa dan glukosa). Hal ini menyebabkan terjadinya peningkatan daya cerna pada tepung pisang. Tetapi, tepung pisang perlakuan fermentasi dengan pemanasan otoklaf memiliki daya cerna yang tetap lebih rendah (56,45-68,03%) dibandingkan tepung pisang tanpa fermentasi dengan pemanasan otoklaf (69,66%).

Penurunan daya cerna pati tepung pisang fermentasi disebabkan selama fermentasi irisan pisang, kultur campuran BAL terlebih dahulu memanfaatkan gula-gula sederhana (maltosa dan glukosa) pada pisang. Kadar maltosa tepung pisang fermentasi lebih rendah dibandingkan kontrol, kadar maltosa yang rendah berkorelasi positif dengan penurunan daya cerna. Selain itu, faktor amilase ekstraseluler, dan perubahan pH selama fermentasi juga berperan dalam menurunkan daya cerna tepung pisang fermentasi. Amilase ekstraseluler yang dihasilkan pada fermentasi 72 jam adalah 0,18 unit/ml dengan nilai pH 4,14 (Tabel 1). Pada pH 4,14, aktivitas amilase ekstraseluler yang dihasilkan oleh kultur campuran BAL tidak bekerja optimum, karena pH optimum amilase BAL berkisar 5-5,5^[21]. Hal ini menyebabkan degradasi amilosa tidak terjadi secara sempurna, tetapi terjadi secara parsial yang menghasilkan produk maltodekstrin bukan maltosa atau glukosa¹⁷. Dekstrin memiliki sifat yang agak tahan terhadap enzim pencernaan dan dapat berfungsi sebagai pati lambat cerna (SDS) dan serat pangan yang larut air²².

Parameter utama yang digunakan dalam menentukan perlakuan kombinasi rasio kultur campuran BAL dengan perlakuan pemanasan terbaik, dalam rangka menghasilkan tepung pisang modifikasi yang berpotensi sebagai kandidat prebiotik, sumber serat, dan memiliki sifat indeks glikemik rendah adalah parameter kadar amilosa, kadar RS, dan daya cerna pati secara in vitro. Hasil studi pengaruh rasio BAL dan pemanasan otoklaf menunjukkan rasio BAL 2 : 1 dengan pemanasan otoklaf terpilih untuk diuji lebih lanjut sifat fungsionalnya. Pemilihan ini berdasarkan kadar amilosa yang tinggi (25,92%) (tidak berbeda signifikan dengan tepung

pisang tanpa fermentasi), kadar pati resisten yang tinggi (13,22%), dan daya cerna pati secara *in vitro* yang rendah (56,45%).

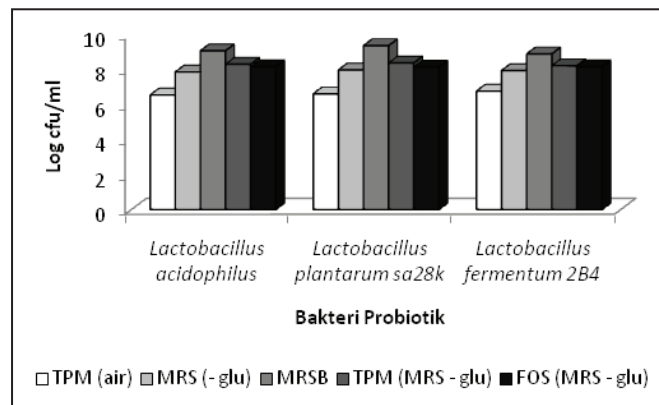
Sifat Fungsional Tepung Pisang Modifikasi (TPM)

TPM yang dikaji sifat fungsionalnya adalah tepung pisang yang dihasilkan dari perlakuan kombinasi fermentasi kultur campuran *L. plantarum* kik dan *L. fermentum* 2B4 (2 : 1) dengan pemanasan otoklaf. Dalam pengujian sifat fungsional TPM, tepung pisang perlakuan pemanasan otoklaf tanpa fermentasi digunakan sebagai kontrol.

Pengujian Potensi Prebiotik

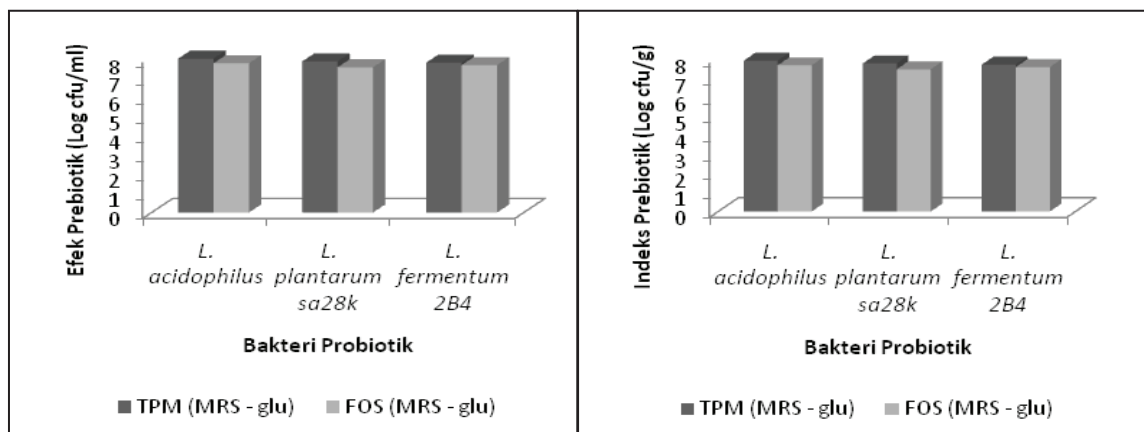
Jumlah *L. acidophilus*, *L. plantarum* sa28k, dan *L.*

fermentum 2B4 awal yang terdapat dalam media pertumbuhan adalah 10^5 cfu/ml. Pertumbuhan ketiga bakteri probiotik mencapai 10^8 cfu/ml pada media MRSB (- glukosa) yang mengandung TPM, FOS, dan media MRSB. Akan tetapi, pertumbuhan ketiga bakteri probiotik hanya meningkat 10^6 cfu/ml pada media yang hanya mengandung TPM dalam akuades (Gambar 1). Pertumbuhan ketiga bakteri probiotik pada media TPM dalam akuades memperlihatkan bahwa bakteri probiotik diduga menggunakan RS sebagai salah satu sumber karbon untuk pertumbuhan. RS diketahui sebagai oligosakarida dengan derajat polimerisasi (DP) yang rendah, sehingga lebih mudah dimanfaatkan oleh bakteri



Gambar 1. Viabilitas *L. acidophilus*, *L. plantarum* sa28k, dan *L. fermentum* 2B4 pada media yang mengandung TPM dibanding FOS.

Figure 1. Viabilities of *L. acidophilus*, *L. plantarum* sa28k, and *L. fermentum* 2B4 on media containing modified banana flour compared with FOS



(A) Efek prebiotik/Prebiotic effect

(B) Indeks prebiotik/Prebiotic index

Gambar 2. Efek dan indeks prebiotik TPM dan FOS terhadap pertumbuhan *L. acidophilus*, *L. plantarum* sa28k, dan *L. fermentum* 2B4

Figure 2. Prebiotic effect and index of modified banana flour and FOS on the growth of *L. acidophilus*, *L. plantarum* sa28k, and *L. fermentum* 2B4

Tabel 4 Pengaruh fermentasi dan pemanasan otoklaf terhadap sifat fungsional TPM
 Table 4 Effect of fermentation and autoclave heating on functional properties of modified banana flour

Perlakuan/ Treatment	Kadar serat pangan (%) / Dietary fiber content (%)			RDS (%)	SDS (%)	Indeks glikemik / Glycemic index			
	Serat tidak larut / Insoluble dietary fiber	Serat larut / Soluble dietary fiber	Total serat / Total dietary fiber			C _∞	k	IH90	IG
Tanpa fermentasi / without fermentation	14,99 ^a	2,90 ^a	17,88 ^a	59,13 ^a	47,75 ^b	52,55 ^a	0,033 ^a	32,19 ^a	65,06 ^a
Fermentasi / fermentation	13,64 ^a	2,27 ^a	15,91 ^a	53,13 ^b	51,19 ^a	49,15 ^b	0,027 ^b	27,63 ^b	61,40 ^b

Keterangan : Huruf yang sama pada kolom yang sama di belakang angka menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf 5%
 Remarks : Mean values in a column followed by different letters are significantly different ($p < 0.05$)

probiotik dibandingkan pati lain yang terdapat dalam TPM. Derajat polimerisasi *RS* pati pisang adalah 12 dan 25⁽²³⁾.

Gambar 2 memperlihatkan efek dan indeks prebiotik TPM terhadap ketiga probiotik masing-masing berkisar 7,91-8,12 log cfu/ml dan 7,81-8,02 log cfu/g yang tidak berbeda dengan FOS masing-masing berkisar 7,60-7,88 log cfu/ml dan 7,57-7,78 log cfu/g. Hal ini mengindikasikan bahwa TPM memiliki kemampuan menstimulasi pertumbuhan ketiga bakteri probiotik (*L. acidophilus*, *L. plantarum* sa28k, dan *L. fermentum* 2B4). Klasifikasi ingredien makanan sebagai prebiotik antara lain menstimulasi pertumbuhan atau aktivitas bakteri intestinal yang dihubungkan dengan kesehatan⁽²⁴⁾.

TPM masih mengandung karbohidrat selain *RS*, sehingga diduga probiotik selain menggunakan *RS* juga memanfaatkan karbohidrat lain yang terdapat dalam TPM. Oleh karena itu, perlu konfirmasi sifat prebiotik *RS* III yang diisolasi dari pati TPM. Konfirmasi dapat dilakukan melalui pengujian viabilitas probiotik dalam media *RS* III pati pisang.

Kadar Serat Pangan

Tabel 4 menunjukkan proses fermentasi TPM fermentasi tidak menyebabkan penurunan signifikan baik terhadap kadar serat pangan larut, kadar serat tidak larut, maupun total serat pangan jika dibandingkan dengan kontrol. Hal ini berkorelasi positif dengan kadar *RS* TPM yang dihasilkan. Kadar *RS* merupakan bagian dari serat pangan.

RDS dan SDS

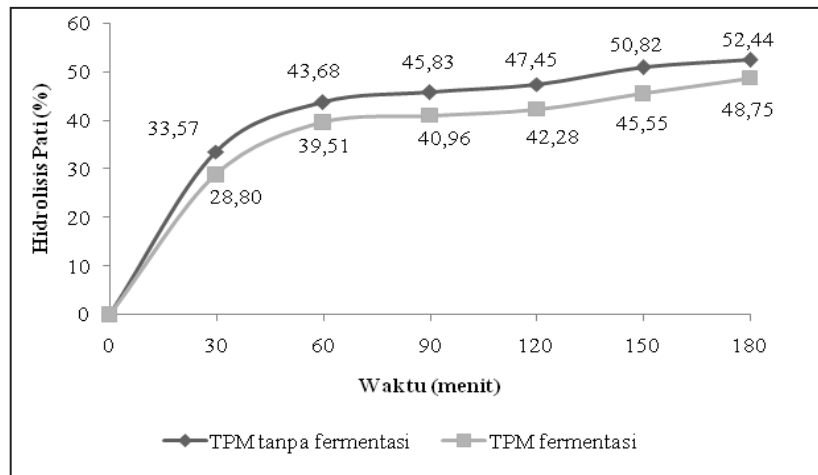
Tabel 4 juga menunjukkan TPM dengan fermentasi memiliki nilai *RDS* yang lebih rendah dibandingkan TPM tanpa fermentasi. Nilai *RDS* TPM yang lebih rendah pada TPM fermentasi berkorelasi positif dengan daya cerna TPM fermentasi. Sebaliknya, kadar *SDS* TPM fermentasi meningkat dibandingkan TPM tanpa

fermentasi. Peningkatan kadar *SDS* setelah fermentasi disebabkan selama fermentasi kemungkinan terjadi akumulasi maltodekstrin dari amilosa oleh aktivitas amilase ekstraseluler yang dihasilkan oleh fermentasi kultur campuran BAL yang tidak bekerja optimal pada pH 4,14.

Indeks Glikemik secara in vitro

Gambar 3 memperlihatkan TPM fermentasi memiliki persen hidrolisis pati yang lebih rendah dibandingkan TPM tanpa fermentasi yang diamati selama 180 menit. Hal ini berkorelasi positif dengan penurunan daya cerna pati TPM yang difermentasi. Persen hidrolisis pati yang lebih rendah pada TPM fermentasi menyebabkan nilai C_∞ (persentase kesetimbangan hidrolisis pati setelah 180 menit) dan k (konstanta kinetik) lebih rendah dibandingkan TPM tanpa fermentasi. Nilai C_∞ dan k adalah nilai yang digunakan untuk menentukan nilai indeks hidrolisis (IH) suatu sampel (Tabel 4). Nilai IH berkorelasi positif dengan nilai estimasi indeks glikemik (IG). Hasil analisis memperlihatkan TPM fermentasi memiliki IG yang lebih rendah dibandingkan TPM tanpa fermentasi.

Penurunan nilai IG pada TPM fermentasi yang dihasilkan, tidak dipengaruhi oleh kadar *RS*, amilosa, dan kadar serat pangan (serat pangan larut dan serat pangan tidak larut). Perbedaan nilai IG disebabkan TPM fermentasi memiliki kadar *SDS* yang lebih tinggi dibandingkan TPM tanpa fermentasi (Tabel 4). Peningkatan *RDS* dan penurunan jumlah *SDS* menyebabkan nasi menjadi lebih mudah dicerna. Faktor-faktor yang mempengaruhi IG adalah struktur matriks makanan, dinding sel dan struktur pati, struktur granula pati, kandungan amilosa dan amilopektin, kadar serat pangan, asam organik, penghambat amilase, komposisi monosakarida, komposisi karbohidrat, kadar *RS*, dan gula alkohol^(25; 26).



Gambar 3. Pengaruh fermentasi terhadap persentase hidrolisis pati tepung pisang modifikasi secara uji *in vitro*
 Figure 3. Effect of fermentation on starch hydrolysis percentage of modified banana flour by *in vitro* test

KESIMPULAN DAN SARAN

DAFTAR PUSTAKA

Proses fermentasi pisang menggunakan kultur campuran *L. plantarum* kik dan *L. fermentum* 2B4 pada beberapa rasio selama 72 jam tidak mempengaruhi kadar pati resisten dari tepung pisang yang dihasilkan. Peningkatan pati resisten hingga dua kali lipat dari 5,87-6,45% menjadi 12,99-13,71% bk dihasilkan oleh pemanasan otoklaf. Fermentasi pisang dengan kultur campuran *L. plantarum* kik dan *L. fermentum* 2B4 dengan rasio (1:1) dan (2:1) menurunkan daya cerna pati tepung pisang menjadi lebih rendah dari tepung pisang tanpa fermentasi. Kultur campuran *L. plantarum* kik dan *L. fermentum* 2B4 dengan rasio (2:1) menghasilkan kadar amilosa yang tidak berbeda nyata dengan kontrol tanpa fermentasi.

Kombinasi proses fermentasi *L. plantarum* kik dan *L. fermentum* 2B4 (2 : 1) dengan pemanasan otoklaf menghasilkan tepung pisang dengan beberapa sifat fungsional yang menguntungkan yaitu berpotensi sebagai kandidat prebiotik karena kadar pati resistennya yang tinggi (13,22%) dan dapat mendukung pertumbuhan probiotik (*L. plantarum* sa28k, *L. fermentum* 2B4, dan *L. acidophilus*). Proses fermentasi yang diterapkan juga berhasil mengungguli tepung pisang tanpa fermentasi dalam hal kadar serat pangan yang lebih tinggi serta daya cerna dan IG yang lebih rendah.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional melalui Hibah Kompetitif Penelitian sesuai Prioritas Nasional Batch II Nomor : 343/SP2H/PP/DP2M/VI/ 2009.

1. British Nutrition Foundation. 2005. Resistant starch-question and answerS.
2. 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. *Nutritional Outlook*.
3. Thompson DB. 2000. Strategies for the manufacture of resistant starch. *Trends in Food Science and Technology* 11 : 245-253.
4. Wang J, Jin Z, Yuan X. 2007. Preparation of resistant starch from starch-guar gum extrudates and their properties. *Food Chemistry* 101 : 20-25.
5. Sajilata MG, Singhal RS, Kulkarni PR. 2006. Resistant starch-a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, Institute of Food Technologists.
6. Jenie BSL, Nurwitri CC, Nurjanah S, Firlieyanti AS. 2006. Pengembangan produk pangan tinggi serat dan sumber prebiotik dari resistant starch umbi-umbian (laporan *research grant* program hibah kompetisi B). Bogor: Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
7. Onyango C, Thomas B, Annette J, Thomas H, Harald R. 2006. Influence of incubation temperature and time on resistant starch type III formation from autoclaved and acid-hydrolysed cassava starch. *Carbohydrate Polymers* 66: 494-499.
8. Axelsson L. 2004. Lactic acid bacteria : classification and physiology. Di dalam: Salminen S, Wright AV, Ouwehand A, editor. *Lactic Acid Bacteria Microbiological and Functional Aspects*. New York. Marcel Dekker, INC. hlm 1-66.
9. Sanni AI. 2002. New efficient amylase-producing strains of *Lactobacillus plantarum* and *L. fermentum* isolated from

- different Nigerian traditional fermented foods. *International Journal of Food Microbiology* 72 : 53–62.
10. Kim JH. 2009. Characterization of the C-terminal truncated form of amylopullulanase from *Lactobacillus plantarum* L137. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 107 : 124-129.
 11. Reddy G, Altaf Md, Naveena BJ, Venkateshwar M, Kumar EV. 2008. Amyolytic bacterial lactic acid fermentation-A review. *Biotechnology Advances* 26 : 22–34.
 12. Englyst HN, Kingman SM, Cummings JH. 1992. Classification and measurement of nutritionally important starch fraction. *European Journal of Clinical Nutrition* 46 : 533-550.
 13. Anderson AK, Guraya HS, James C, Salvaggio L. 2002. Digestibility and pasting properties of rice starch heat-moisture treated at the melting temperature (Tm). *J Starch/Stärke* 54 : 401-409.
 14. Roberfroid M. 2007. Prebiotics : The concept revisited. *The Journal of Nutrition* 137 : 830S-837S.
 15. AOAC. 1995. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist*. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
 16. Goni I, Garcia-Alonso A, Saura-Calixto F. 1997. A Starch hydrolysis procedure to estimate glycemic index. *Nutrition Research* 17 : 427-437.
 17. Calderon MS, Loiseau G, Sanoja RR, Guyot JP. 2003. Study of starch fermentation at low pH by *Lactobacillus fermentum* Ogi E1 reveals uncoupling between growth and α -amylase production at pH 4.0. *International Journal of Food Microbiology* 80 : 77– 87.
 18. Akerberg A, Liljeberg H, Bjoorck I. 1998. Effects of amylose/amylopectin ratio and baking conditions on resistant starch formation and glycaemic indices. *Journal of Cereal Science* 28 : 71–80.
 19. Margareta-Leeman M, Karlsson ME, Eliasson AC, Björck IME. 2006. Resistant starch formation in temperature treated potato starches varying in amylose/amylopectin ratio *Carbohydrate Polymers* 65 : 306 – 313.
 20. Xue Q, Newman RK ,Newman CW. 1996. Effects of heat treatment of barley starches on in vitro digestibility and glucose responses in rats. *Cereal Chem.* 73 : 588-592.
 21. Giraud E, Brauman A, Kéléke S, Gosselin L, Raimbault M. 1996. A lactic acid bacterium with potential application in cassava fermentation. *CIAT Publication* 271 ISBN 958-9439-888. Colombia.
 22. Fiedorowicz M, Chaczatryan G, Kapusniak J, Tomasik PJ, Tomasik P, 2003. Novel dextrins as potential prebiotics. *Food, Agriculture and Environment* 1 : 54-58.
 23. Lehmann U, Jacobasch G, Schmiedl D. 2002. Characterization of resistant starch type III from banana (*Musa acuminata*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
 24. Roberfroid MB. 2008. Prebiotics : concept, definition, criteria, methodologies, and products. Di dalam : Gibson GR, Roberfroid MB, editor. *Handbook of Prebiotics*. New York : CRC Press. hlm 39-68.
 25. Patterson CA. 2006. Glycemic Index (GI). *Technology Watch.Wellness West*.
 26. Sagum R, Arcot J. 2000. Effect of domestic processing methods on the starch, non-starch polysaccharides and in vitro starch and protein digestibility of three varieties of rice with varying levels of amylose. *Food Chemistry* 70 : 107-111.