

Peluang Peningkatan Pati Resisten Tipe III pada Bahan Pangan dengan Metode Hidrotermal

Improvement of Type III Resistant Starch on Food Material Using Hydrothermal Method

Shinta Dewi Ardhiyanti^{1*}, Bram Kusbiantoro¹, Adil Basuki Ahza², dan Didah Nur Faridah²

¹Balai Besar Penelitian Tanaman Padi
Jl. Raya 9 Sukamandi Subang 41256, Indonesia

*E-mail: shinta.090886@gmail.com

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

Naskah diterima 25 Mei 2017, direvisi 8 Juni 2017, dan disetujui diterbitkan 14 Juni 2017

ABSTRACT

Resistant starch (RS) on food can not be degraded by human digestive enzyme, so that it gives positive effect on human health. The RS content can be enhanced by chemical, enzymatic or physical methods. Physical modification method that is frequently used including heating and cooling cycles, heat moisture treatment/HMT and annealing. These methods generally produce RS type III, which is the product of retrogradation. Physical modification process promotes the reorganization of starch crystalline, which elevate the level of RS or even decrease it. The interaction between intrinsic and extrinsic factors during modification process can produce variation of RS contents in a particular food materials. Different RS analyses method can also induce the variation.

Keywords: Food material, type III resistant starch, physical modification, hydrothermal method.

ABSTRAK

Pati resisten (RS) merupakan pati yang tidak dapat terdegradasi oleh enzim pencernaan manusia yang mampu memberikan efek positif bagi tubuh. Kandungan RS dapat ditingkatkan melalui modifikasi pati secara kimia, enzimatis, atau fisik. Metode modifikasi pati secara fisik yang sering digunakan antara lain siklus pemanasan dan pendinginan, *heat moisture treatment/HMT* dan *annealing*. Metode-metode tersebut pada umumnya menghasilkan RS tipe III yang merupakan produk retrogradasi. Proses modifikasi fisik menyebabkan reorganisasi kristalin pati dengan dampak peningkatan kadar RS maupun sebaliknya. Faktor intrinsik maupun ekstrinsik yang saling berinteraksi berpeluang menghasilkan kadar dan karakteristik RS yang berbeda pada setiap proses modifikasi pati. Perbedaan metode analisis RS yang digunakan juga dapat menjadi penyebab perbedaan kandungan RS pada bahan pangan tertentu.

Kata kunci: Bahan pangan, pati resisten tipe III, metode hidrotermal.

PENDAHULUAN

Pati resisten telah lama dikenal sebagai bahan campuran pangan fungsional. Pati resisten dideskripsikan oleh Birt *et al.* (2015), Belitz *et al.* (2009), dan Haralampu (2000) sebagai pati yang tidak terdegradasi oleh enzim pencernaan manusia. Jenis pati ini telah dibuktikan memiliki beberapa manfaat kesehatan bagi tubuh, seperti

mengurangi risiko kanker usus besar, membantu meregulasi metabolisme makronutrien, memperbaiki sekresi hormon (Birt *et al.* 2015), mengurangi level patogen dalam usus, mengurangi toksisitas cairan feses, menyebabkan efek laksatif yang lebih ringan (dibandingkan serat pangan) jika dikonsumsi dalam jumlah besar, meningkatkan sistem imun, meningkatkan

pembentukan koloni *Lactobacillus* dan *Bifidobacteria* serta meningkatkan absorpsi Ca dan Mg (Brouns *et al.* 2002).

Pati resisten dapat berfungsi sebagai prebiotik yang merupakan sumber substrat bagi mikroflora usus besar (Hedemann and Knudsen 2007, Vieira *et al.* 2013). Pati resisten mampu mengubah komposisi mikrobiota pada usus besar. Pati dengan struktur tipe B mendorong pertumbuhan *Bifidobacterium* spp., sedangkan pati bertipe A menginduksi pertumbuhan *Atopobium* spp. (Lesmes *et al.* 2008, Vieira *et al.* 2013). Mekanisme penghambatan pertumbuhan patogen dapat melalui kompetisi nutrisi, sekresi bakteriosin, peningkatan imunitas tubuh inang, perubahan kondisi pH lingkungan, dan sekresi metabolit lainnya (Kamada *et al.* 2013). Pati resisten juga dapat dimanfaatkan oleh genus butirogenik yang terdapat dalam usus besar manusia untuk menghasilkan asam lemak berantai pendek (SCFA) seperti asam asetat, asam propionat, asam butirat (Lesmes *et al.* 2008, Kamada *et al.* 2013) yang bersifat antikarsinogenik (Prado-Silva *et al.* 2014).

Hingga saat ini terdapat lima jenis pati resisten yang dapat dijumpai dalam bahan pangan, antara lain pati resisten (RS) tipe I, RS tipe II, RS tipe III, RS tipe IV, dan RS tipe V (Birt *et al.* 2015). Dari kelima di antaranya resisten tersebut, dua jenis pati (RS tipe I dan RS tipe II) terdapat secara alami dalam bahan pangan, sedangkan ketiga jenis pati lainnya (RS tipe III, RS tipe IV, dan RS tipe V) terbentuk setelah mengalami proses pengolahan.

RS tipe III terbentuk karena proses retrogradasi (Witt *et al.* 2010; Belitz *et al.* 2009). Suhu gelatinisasi RS tipe III dapat mencapai 170°C dan akan menurun dengan berkurangnya panjang rantai amilosa (Birt *et al.* 2015). Proses retrogradasi pati akan mencapai maksimum pada suhu rendah ($\pm 4^\circ\text{C}$), dan cenderung dialami oleh amilosa dibandingkan amilopektin. Belitz *et al.* (2009) menjelaskan RS tipe IV terbentuk akibat reaksi kimia tertentu seperti reaksi milliard dan karamelisasi. Jenis pati resisten RS tipe V merupakan hasil pembentukan kompleks antara amilosa atau cabang amilopektin yang panjang dengan asam lemak (Ai *et al.* 2013).

Kandungan pati resisten dalam bahan pangan berpati dapat ditingkatkan jumlahnya dengan cara modifikasi kimia, enzimatis, maupun fisik. Modifikasi pati secara fisik akhir-akhir ini banyak mendapat perhatian, karena tidak melibatkan pereaksi kimia dan lebih sederhana dibandingkan dengan modifikasi enzimatis (Kaur *et al.* 2012). Beberapa metode fisik yang telah digunakan dalam beberapa tahun terakhir untuk memodifikasi pati *native* (pati alami tanpa perlakuan modifikasi) menjadi pati resisten antara lain siklus pemanasan dan pendinginan (Arcila and Rose 2015, Gonza'lez-Soto *et al.* 2007, Ashwar *et al.* 2016), *heat moisture treatment*/HMT (Zhou

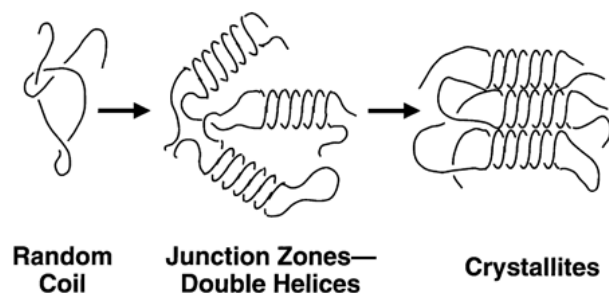
et al. 2014, Chung *et al.* 2009, Pham *et al.* 2016), dan *annealing* (Cham and Suwannaporn 2010, Kiatpongarp *et al.* 2015). Pati resisten yang terbentuk melalui proses modifikasi pati secara fisik sebagian besar berupa RS tipe III.

Tulisan ini mengungkap peluang peningkatan pati resisten tipe III pada bahan pangan dengan metode hidrotermal.

PROSES PEMBENTUKAN RS TIPE III

Pembentukan RS tipe III melibatkan proses gelatinisasi dan retrogradasi (Haralampu 2000, Shamai *et al.* 2003). Pati akan tergelatinisasi ketika dipanaskan dalam kondisi berair. Dalam proses pemanasan air akan terserap ke dalam granula dan mengganggu ikatan hidrogen antarmolekul pati, baik kristalin maupun pada bagian amorf. Hal ini berdampak pada hilangnya sifat *birefringence* pati, dan keluarnya amilosa dari granula yang merupakan ciri khas pati yang mengalami gelatinisasi (Cruz and Khush 2000, BeMiller 2007, Belitz *et al.* 2009).

Pada proses pendinginan, pati akan mengalami retrogradasi, yakni proses reasosiasi molekul pati membentuk struktur kristalin (Haralampu 2000), sehingga terjadi pemisahan antara molekul pati dan pelarut (Karim *et al.* 2000). Fenomena sineresis yang dijelaskan oleh Karim *et al.* (2000) meningkatkan kekerasan gel yang terbentuk. Molekul pati berinteraksi dengan sesamanya melalui ikatan hidrogen membentuk struktur *double helices*. Pada setiap *strand*, enam molekul glukosa membentuk satu ulangan dalam tiap putaran *helix* (Eerlingen and Delcour 1995, Haralampu 2000). Ikatan hidrogen yang mendukung kestabilan struktur polimer dapat ditingkatkan melalui proses dehidrasi. Struktur polimer yang stabil dikenal dengan RS tipe III yang lebih stabil pada suhu tinggi (Haralampu 2000). Proses retrogradasi pati membentuk struktur *double helices* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Proses retrogradasi pati (Haralampu 2000).

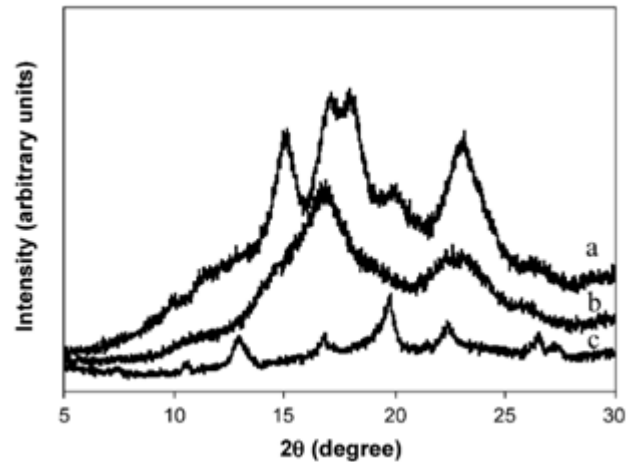
Pembentukan RS pada bahan pangan dan karakteristiknya dipengaruhi oleh faktor intrinsik dan ekstrinsik. Faktor intrinsik meliputi rasio amilosa dan amilopektin (Eerlingen and Delcour 1995, Margareta et al. 2006), panjang rantai polimer, kandungan lemak dan komponen lainnya (Eerlingen and Delcour 1995). Peningkatan kandungan RS yang lebih besar disebabkan oleh polimer amilosa yang lebih mudah mengalami retrogradasi daripada amilopektin. RS tipe III sebagian besar disusun oleh amilosa yang telah teretrogradasi, dengan derajat polimerisasi optimum 100 unit (Shamai et al. 2003). Komponen lemak pada bahan pangan dapat berinteraksi dengan amilosa membentuk RS tipe V (Birt et al. 2015). Faktor ekstrinsik yang mempengaruhi pembentukan RS dan karakteristiknya pada bahan pangan antara lain suhu pemanasan dan lama penyimpanan (Eerlingen and Delcour 1995, Liu et al. 2015). Faktor-faktor tersebut khususnya berlaku untuk metode modifikasi yang menerapkan teknologi hidrotermal.

KARAKTER KRISTAL PATI PADA BEBERAPA BAHAN PANGAN

Pati memiliki beberapa tipe struktur kristalin yang ditunjukkan oleh pola difraksi sinar X yang berbeda dengan hasil analisis *X ray diffraction* (XRD). Karakter ini disebut polimorfisme. Beberapa tipe struktur kristalin pati yang telah dilaporkan antara lain struktur tipe A pada sereal, struktur tipe B pada umbi-umbian dan buah-buahan serta struktur tipe V pada kompleks amilosa lemak (Zhou et al. 2014, Lee and Moon 2015, Pham et al. 2016), dan tipe C yang merupakan campuran antara tipe A dan tipe B (Zeng et al. 2015b).

Shamai et al. (2003) mengamati pola difraksi sinar X tepung jagung *native* dan bentuk RS III-nya, yang dihasilkan dari proses autoklaf dan inkubasi pada suhu rendah (40°C) dan suhu tinggi (95°C) selama 24 jam (Gambar 2). Dari proses tersebut diperoleh struktur kristalin dengan tipe berbeda. Tepung jagung *native* mempunyai struktur kristalin bertipe A, RS III dengan inkubasi pada suhu rendah mempunyai struktur kristalin bertipe B, RS III dengan inkubasi pada suhu tinggi mempunyai struktur kristalin bertipe campuran V dan A). Hal ini sesuai dengan laporan Kiatpongarp et al. (2015) yang menyebutkan kristalisasi pati beras pada suhu lebih rendah cenderung menghasilkan struktur kristalin bertipe B, dan kristalisasi pada suhu lebih tinggi menghasilkan struktur kristalin bertipe A.

Organisasi struktur heliks kristalin tipe A pada sereal lebih kompak dibandingkan dengan struktur heliks kristalin tipe B pada umbi-umbian. Organisasi yang kurang kompak membuat mobilitas molekul pada struktur



Gambar 2. Pola difraksi sinar X (a) tepung jagung *native*; (b) RS III dari tepung jagung inkubasi suhu rendah; (c) RS III dari tepung jagung inkubasi suhu tinggi (Shamai et al. 2003)

kristalin tipe B lebih tinggi sehingga lebih rentan terhadap proses destruksi. Struktur yang kompak membuat kristalin tipe A pada sereal memiliki titik leleh yang lebih tinggi dibandingkan dengan tipe B pada umbi-umbian (Kiatpongarp et al. 2015). Birt et al. (2015) menjelaskan kristalin tipe A memiliki struktur padat dan sejumlah kecil molekul air; sedangkan kristalin tipe B memiliki struktur heksagonal yang simetris dan lebih terbuka.

METODE MODIFIKASI PATI DENGAN TEKNOLOGI HIDROTERMAL

Heat Moisture Treatment (HMT)

HMT merupakan salah satu teknologi hidrotermal yang banyak digunakan dalam memodifikasi struktur pati, salah satunya meningkatkan kandungan pati resisten pada bahan pangan sumber pati. HMT dilakukan pada kadar air rendah, 10–30% (Pinto et al. 2015) atau <35% (Hoover 2010) pada suhu di atas suhu transisi gelas dan suhu gelatinisasi hingga mencapai 120°C (Pinto et al. 2015, Hoover 2010). Menurut Hoover (2010), perubahan sifat fisika kimia pati terjadi karena adanya interaksi antar-rantai pati, baik dalam bagian amorf maupun kristalin. Interaksi tersebut dimulai dengan mengganggu organisasi struktur kristalin pati, sehingga terbentuk struktur kristalin baru yang memiliki karakter fungsional berbeda dengan bentuk *nativenya*.

Kadar air berperan penting dalam proses reorganisasi struktur pati pada perlakuan HMT. Kadar air yang terbatas menyebabkan perubahan pada struktur pati. Hasilnya adalah pati termodifikasi dengan struktur *double helices*

yang lebih teratur dan resisten terhadap amilolisis (Zhou *et al.* 2014). Proses reorganisasi struktur pada kadar air rendah difasilitasi oleh tingginya suhu proses HMT. Beberapa penelitian mengenai upaya peningkatan kadar RS melalui proses HMT dapat dilihat pada Tabel 1.

Peningkatan kadar RS antara satu penelitian dengan penelitian lainnya sangat beragam. Daya cerna dan karakter pati termodifikasi melalui metode HMT ditentukan oleh asal pati serta proses HMT. Asal pati terkait erat dengan komposisi amilosa dan amilopektin, struktur serta

Tabel 1. Pengaruh HMT terhadap kadar pati resisten beberapa jenis pati bahan pangan.

Sampel	Kondisi HMT	RS Awal (%)	RS Akhir (%)	Metode analisis RS
^a Pati beras (<i>normal indica</i>)	Kadar air 25%, digelatinisasi (80°C, 3 menit), perlakuan pemanasan (waterbath 100°C, 90 menit)	2,52	15,3	Goni <i>et al.</i> (1996) dengan modifikasi, inkubasi α amilase berlebih pada suhu 100°C, 30 menit
^b Pati beras	Kadar air 30%, perlakuan pemanasan (<i>forced air oven</i> 110°C, 8 jam). Analisis RS pada pati tergelatinisasi			
	Kadar amilosa pati (%):			
	30,6	6,3	22,4	
	26,7	6,2	22,6	
	24,3	6,5	23,9	
	21,7	11,8	18,7	
	4,7	10,2	18,5	
^c Pati jagung	Kadar air 30%, perlakuan pemanasan (<i>forced air oven</i> 100°C, 2 jam)	Mentah 4,6 Tergelatinisasi 4,6	Mentah 10,5 Tergelatinisasi 9,7	Englyst <i>et al.</i> (1992), dengan modifikasi, analisa dilakukan pada sampel pati (<i>native</i> dan termodifikasi) yang belum tergelatinisasi (mentah) dan yang telah tergelatinisasi.
	Perlakuan pemanasan (<i>forced air oven</i> 120°C, 2 jam)	Mentah 4,6 Tergelatinisasi 4,6	Mentah 12,3 Tergelatinisasi 12,3	
^c Pati lentil	Kadar air 30%, perlakuan pemanasan (<i>forced air oven</i> 100°C, 2 jam)	Mentah 9,1 Tergelatinisasi 5,3	Mentah 13,2 Tergelatinisasi 13,2	Englyst <i>et al.</i> (1992), dengan modifikasi, analisa dilakukan pada sampel pati (<i>native</i> dan termodifikasi) yang belum tergelatinisasi (mentah) dan yang telah tergelatinisasi.
	Perlakuan pemanasan (<i>forced air oven</i> 120°C, 2 jam).	Mentah 9,1 Tergelatinisasi 5,3	Mentah 14,7 Tergelatinisasi 15,7	
^d Pati gandum	Beberapa kadar air berbeda, pemanasan <i>convection oven</i> (120°C, 24 jam)			Englyst <i>et al.</i> (1992)
	<i>Native</i>	1,09		
	Kadar air 15%		1,51	
	Kadar air 25%		5,91	
	Kadar air 35%		13,28	
^d Tepung gandum	Beberapa kadar air berbeda, pemanasan <i>convection oven</i> (120°C, 24 jam)			Englyst <i>et al.</i> (1992)
	<i>Native</i>	2,27		
	Kadar air 15%		3,92	
	Kadar air 25%		2,64	
	Kadar air 35%		14,32	
^c Pati kacang ercis	Kadar air 30%, perlakuan pemanasan (<i>forced air oven</i> 100°C, 2 jam)	Mentah 10,0 Tergelatinisasi 5,2	Mentah 13,3 Tergelatinisasi 11,6	Englyst <i>et al.</i> (1992), dengan modifikasi, analisa dilakukan pada sampel pati (<i>native</i> dan termodifikasi) yang belum tergelatinisasi (mentah) dan yang telah tergelatinisasi.
	Perlakuan pemanasan (<i>forced air oven</i> 120°C, 2 jam).	Mentah 10,0 Tergelatinisasi 5,2	Mentah 14,5 Tergelatinisasi 16,4	

^aZhou *et al.* (2014); ^bPham *et al.* (2016); ^cChung *et al.* (2009); ^dChen *et al.* (2015)

organisasi kedua molekul tersebut dalam granula pati. Menurut Jiranuntakul *et al.* (2011), dalam proses HMT, konformasi dan interaksi molekul amilosa dan amilopektin dapat berubah dengan pendekatan yang berbeda. Beberapa faktor dalam proses HMT yang berpengaruh terhadap daya cerna pati antara lain kadar air sampel, suhu, dan durasi HMT (Hoover 2010). Pengaruh komposisi amilosa dan amilopektin pada kandungan RS setelah proses HMT dapat dilihat pada Tabel 1. Beras dengan kandungan amilosa yang lebih tinggi menghasilkan kadar RS yang lebih besar setelah proses HMT, sesuai dengan penjelasan pada bagian pembentukan RS.

Selain efek peningkatan kadar pati resisten, perlakuan HMT pada suhu dan kadar air yang lebih tinggi dapat memberikan efek sebaliknya. Lee *et al.* (2011) melaporkan pati kentang yang diberikan perlakuan HMT (100°C, 30 menit dilanjutkan dengan penyimpanan pada suhu 30 dan 70°C selama 12 jam) pada kadar air berbeda, kandungan RS menurun seiring dengan meningkatnya kadar air sampel. Penurunan terjadi pada semua tingkatan kadar air, mulai dari 20 hingga 40%. Ambigaipalan *et al.* (2014) juga melaporkan penurunan kandungan RS pada beberapa sampel kacang-kacangan saat dipanaskan pada suhu 120°C. Namun hasil yang berbeda diperoleh Chung *et al.* (2009) dan Chen *et al.* (2015) yang melaporkan terjadi peningkatan kadar RS pada perlakuan dengan suhu dan kadar air yang lebih tinggi (Tabel 1). Dapat disimpulkan bahwa pengaruh HMT terhadap kadar RS sampel bergantung pada interaksi antara asal pati dan proses HMT, atau pada interaksi antarp proses HMT.

Adanya berbagai faktor yang menentukan hasil modifikasi pati dengan HMT, membuat karakter pati termodifikasi cukup beragam. Perlakuan HMT yang diberikan kepada pati beras indica (Zhou *et al.* 2014) mengubah pola pati dari tipe A menjadi tipe B dan tipe V. Pati kacang-kacangan yang memiliki tipe campuran A dan B berubah menjadi tipe A secara keseluruhan seiring dengan meningkatnya suhu proses (Ambigaipalan *et al.* 2014).

Pengamatan karakter termal menunjukkan pati termodifikasi HMT mengalami peningkatan ΔH , T_o , T_p , dan T_c (Zhou *et al.* 2014). Namun pada penelitian Chung *et al.* (2009) dan Chen *et al.* (2015), proses HMT menurunkan ΔH dan meningkatkan T_o , T_p , dan T_c . Pati kentang yang diproses oleh Lee dan Moon (2015) menggunakan metode HMT juga mengalami penurunan ΔH . Penurunan tersebut dapat disebabkan oleh gangguan pada *double helices* molekul pati selama proses transformasi polimorf dari struktur kristal tipe B ke struktur kristal campuran tipe A dan B.

Annealing

Annealing merupakan proses modifikasi dengan memanaskan suspensi pati dalam waktu tertentu dengan kadar air berkisar antara 40% hingga >60% b/b. Proses modifikasi dilakukan pada suhu di atas suhu transisi gelas, namun masih di bawah suhu onset gelatinisasi (Jayakody and Hoover 2008). Beberapa perubahan karakter pati dapat terjadi pada proses annealing, antara lain peningkatan stabilitas granula, penyempurnaan struktur kristal, interaksi rantai pati dalam bagian amorf maupun kristalin, pembentukan struktur *double helices*, peningkatan suhu gelatinisasi, penyempitan kisaran suhu gelatinisasi, penurunan kemampuan mengembang pati, dan penurunan jumlah amilosa terlarut (Chung *et al.* 2009). Annealing mampu menginduksi proses reorganisasi struktur *double helices* amilopektin dan rantai pati menjadi struktur kristalin yang lebih teratur (Wang *et al.* 2014, Jayakody and Hoover 2008).

Menurut Jayakody dan Hoover (2008) terdapat dua mekanisme yang dapat terjadi pada proses annealing polimer semikristalin. Pertama, terjadinya *sliding diffusion* yang memerlukan pergerakan penuh dari sekuen molekuler dalam kisi kristalin. Mekanisme tersebut dapat terjadi karena mobilitas rantai pati yang tinggi dalam bagian kristalin. Kedua, peleburan bagian kristalin, baik sebagian atau seluruhnya, yang diikuti oleh proses rekristalisasi materi tersebut. Kadar air berlebih dan suhu pada proses annealing menyebabkan pembengkakan granula, namun terbatas dan *reversible*, berbeda dengan kondisi granula pada proses gelatinisasi. Kondisi granula yang terhidrasi dan suhu annealing yang bertambah tinggi memungkinkan peningkatan kekompakan struktur amorf dan struktur *double helices* amilopektin. Beberapa penelitian mengenai upaya peningkatan kadar RS melalui proses annealing dapat dilihat pada Tabel 2.

Selain melakukan pengukuran kadar RS, Pham *et al.* (2016) melakukan perbandingan kadar IG antara pati hasil modifikasi HMT (Tabel 1) dan annealing (Tabel 2). Baik HMT maupun annealing mampu menurunkan nilai IG pati. Pada penelitian tersebut, annealing menurunkan nilai IG lebih rendah dibandingkan dengan HMT. Hal ini mungkin disebabkan oleh kemampuan annealing dalam membentuk pati dengan susunan kristal yang lebih kompak dibanding HMT (Zeng *et al.* 2015a, Jayakody and Hoover 2008). Namun efek yang ditimbulkan perlakuan juga dipengaruhi oleh sumber pati. Pada sampel pati jagung, kacang ercis dan lentil, perlakuan HMT menghasilkan kadar pati resisten yang lebih tinggi daripada annealing.

Pada annealing, peningkatan viskositas pasta disebabkan oleh susunan molekul pati yang lebih kompak. Pada HMT, peningkatan karakter pasta disebabkan oleh

Tabel 2. Pengaruh annealing terhadap kadar pati resisten beberapa jenis pati bahan pangan.

Sampel	Kondisi annealing	RS Awal (%)	RS Akhir (%)	Metode analisis RS			
^a Pati jagung	Kadar air 70%, diinkubasi 10°C (waterbath, 24 jam).	Mentah	Mentah	Englystet <i>al.</i> (1992), dengan modifikasi, analisa dilakukan pada sampel pati (<i>native</i> dan termodifikasi) yang belum tergelatinisasi (mentah) dan yang telah tergelatinisasi.			
		4,6	8,7				
	Perlakuan inkubasi 15°C	Tergelatinisasi	Tergelatinisasi				
		4,6	8,2				
^a Pati kacang ercis	Kadar air 70%, diinkubasi 10°C (waterbath, 24 jam).	Mentah	Mentah	Englyst <i>et al.</i> (1992), dengan modifikasi, analisa dilakukan pada sampel pati (<i>native</i> dan termodifikasi) yang belum tergelatinisasi (mentah) dan yang telah tergelatinisasi.			
		10,0	11,2				
	Perlakuan inkubasi 15°C	Tergelatinisasi	Tergelatinisasi				
		5,2	10,5				
^b Pati beras	Rasio penambahan air 1:2, diinkubasi 45°C (waterbath, 24 jam)	Mentah	Mentah	Englyst <i>et al.</i> (1992)			
		10,0	11,2				
	Kadar amilosa pati:	26,7%	20,6				
		24,3%	22,6				
		21,7%	24,4				
		4,7%	26,9				
		^c Pati jagung	Rasio penambahan air 10 g:20 ml, diinkubasi 45°C (waterbath, 24 jam)		Mentah	Mentah	Englyst <i>et al.</i> (1992)
					10,0	10,9	
Perlakuan inkubasi 15°C	Tergelatinisasi		Tergelatinisasi				
	5,2		10,2				
Kadar amilosa pati:	2%		68,9	69,7			
	23%		87,9	86,3			
	85%		95,4	95,2			
	Perlakuan inkubasi 72 jam		Kadar amilosa pati:	2%	68,9	71,2	
		23%		87,9	84,1		
		85%	95,4	96,0			

peningkatan *cross-linking* antarsenyawa pati (Cham and Suwannaporn 2010). Kiatpongarp *et al.* (2015) yang mengombinasikan penggunaan enzim serta metode annealing dan HMT melaporkan bahwa kandungan pati resisten dari hasil kristalisasi pati beras ketan dengan cabang terpotong (*debranched waxy rice starch*) dan pati beras normal (*debranched normal rice starch*) tidak berbeda. Hal ini menunjukkan rantai panjang amilosa tidak terlalu berperan dalam pembentukan pati resisten. Pada pati jagung dengan kandungan amilosa berbeda, annealing tidak mengubah pola difraksi sinar X dan kristalinitas relatif secara signifikan (Wang *et al.* 2014).

Siklus Pemanasan Pendinginan

Metode modifikasi ini menerapkan prinsip dasar pembentukan RS III, yakni pemrosesan pati melalui

proses gelatinisasi dan retrogradasi. Proses gelatinisasi dilakukan dengan cara memanaskan pati melalui pemasakan bertekanan, perebusan dalam air mendidih, dan metode pemasakan lainnya. Proses retrogradasi dilakukan dengan menyimpan pati tergelatinisasi pada suhu rendah. Setelah proses penyimpanan pada suhu rendah hingga sedang, daya cerna pati teretrogradasi menurun (Park *et al.* 2009). Beberapa penelitian mengenai pengaruh siklus pemanasan dan pendinginan terhadap kadar pati resisten terangkum pada Tabel 3.

Faktor utama yang memengaruhi kadar RS pada metode siklus pemanasan dan pendinginan antara lain suhu pemanasan (Dundar and Gocmen 2013) dan waktu penyimpanan pada suhu rendah (Park *et al.* 2009, Dundar and Gocmen 2013). Pada suhu autoklaf yang lebih tinggi (145°C) dan waktu penyimpanan suhu rendah yang lebih

Tabel 3. Pengaruh siklus pemanasan pendinginan terhadap kadar pati resisten beberapa jenis pati bahan pangan.

Sampel	Kondisi proses	RS Awal (%)	RS Akhir (%)	Metode analisis RS
^a <i>Debranched banana starch</i> (pullulan-ase)	<i>Debranched starch gel</i> diautoclave (121°C, 30 menit), disimpan (4°C, 48 jam)	9,07	35,38	Goni et al. (1996)
^b Pati garut	Suspensi (20%), dipanaskan (70°C), diautoklaf (121°C, 15 menit), disimpan (4°C, 24 jam), proses diulang 3 x	2,12	10,91	AOAC (2002)
^c Pati beras	Pati:air (1:4), diautoklaf (121°C, 30 menit), disimpan (4°C, 24 jam), proses diulang 2 kali. Kadar amilosa (%): 8,56 13,85 17,85 24,78	4,42 5,91 8,26 10,94	30,31 32,56 35,80 38,65	AOAC (2002), Megazyme
^d Tepung gandum utuh	1 g tepung:15 ml air, diinkubasi (air mendidih, 20 menit), disimpan (-20°C, 23 jam), diulang 7 kali.	1,03 (dari total pati)	8,07 (dari total pati)	Englyst et al. (1999)
^e Pati talas	Suspensi (8%), waterbath (100°C, 10 menit), autoklaf (121°C, 15 menit), hidrolisis pullulanase, waterbath (100°C, 10 menit), disimpan (suhu ruang semalam). Pemanasan, autoklaf, penyimpanan diulang 2x.	2,2	35,1	AOAC (2002)

^aGonza'lez-Soto et al. (2007); ^bSugiyono et al. (2009); ^cAshwar et al. (2016); ^dArcila and Rose (2015); ^eSimsek and El (2016)

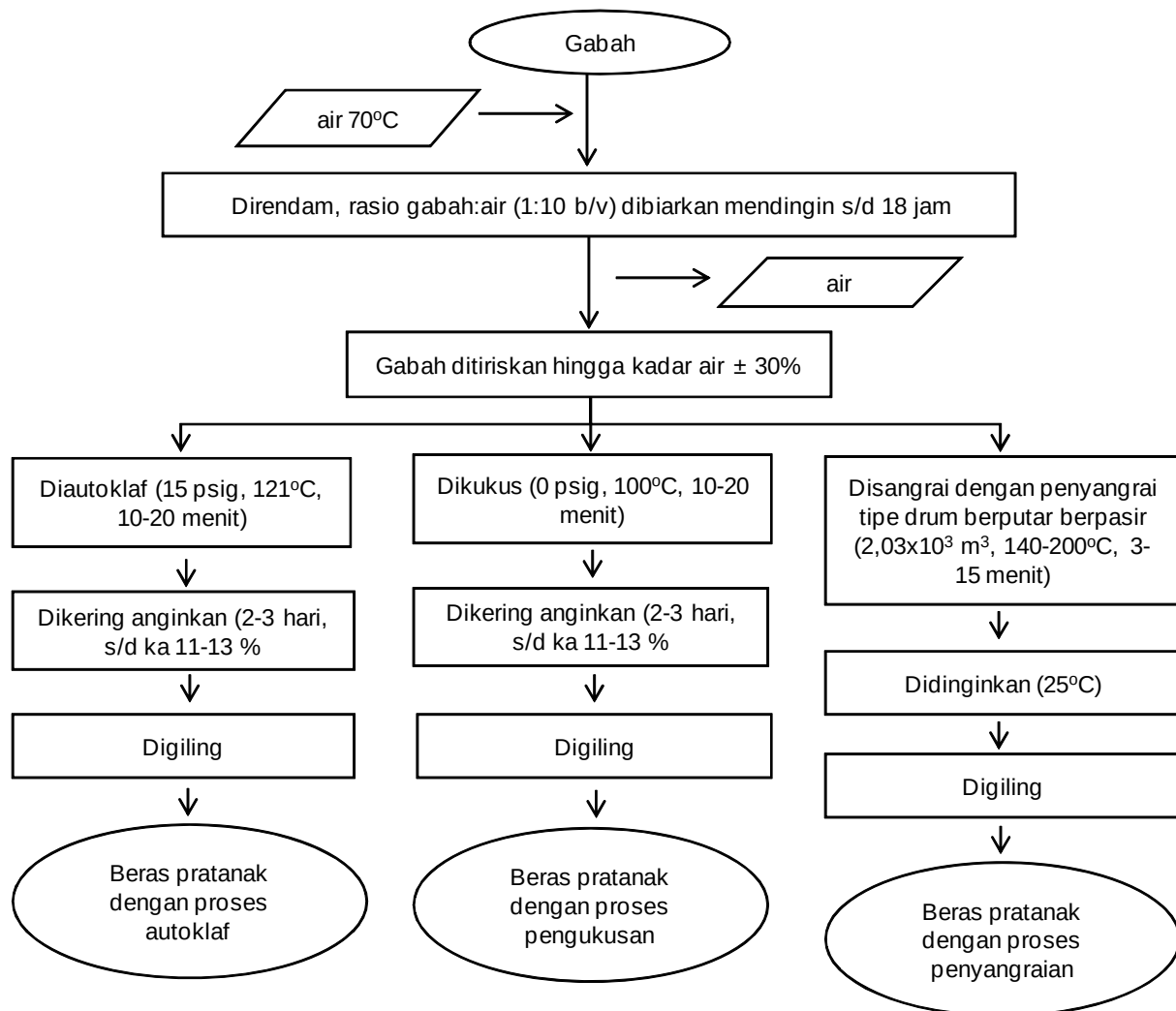
lama (hingga 72 jam) kadar RS lebih tinggi. Siklus pemanasan dan pendinginan yang disertai dengan proses *debranching* enzimatis menghasilkan kadar pati resisten yang lebih tinggi dibandingkan dengan siklus tanpa proses *debranching*. Hal ini disebabkan karena cabang pada molekul amilopektin terpotong oleh enzim, sehingga dihasilkan lebih banyak polimer pati berantai lurus.

Siklus pemanasan dan pendinginan menyebabkan peningkatan ΔH (Park et al. 2009; Ashwar et al. 2016). Selain itu, nilai T_o , T_p , T_c juga mengalami peningkatan, sedangkan selisih T_c dan T_o menurunkan. Namun pada penelitian Dunder dan Gocmen (2015), siklus pemanasan dan pendinginan menyebabkan penurunan ΔH . Fenomena tersebut dapat terjadi karena adanya perbedaan tingkat organisasi antara pati *native* dalam granula dan pati teretrogradasi (Ozturk et al. 2011). Tipe struktur kristalin yang dihasilkan dari siklus pemanasan dan pendinginan pada umumnya adalah tipe B (Park et al. 2009; Simsek and El 2012). Siklus tersebut akan mengubah tipe struktur pati non-B pada pati *native* menjadi tipe B.

Metode Pratanak

Metode pratanak merupakan salah satu teknologi hidrotermal seperti halnya HMT, annealing, dan siklus pemanasan pendinginan. Proses pratanak pada umumnya dilakukan pada gabah padi sebelum digiling. Proses pratanak melibatkan perendaman gabah dan pemasakan dengan pengukusan biasa, pengukusan dengan tekanan, dan penyangraian (Dutta and Mahanta 2014). Metode modifikasi ini, seperti halnya siklus pemanasan pendinginan, melibatkan proses gelatinisasi dan retrogradasi dalam pembentukan pati resisten. Selain RS III yang dihasilkan dari proses gelatinisasi dan retrogradasi, metode pratanak juga menghasilkan RS V. Jenis RS ini merupakan kompleks antara lipida yang terdapat pada beras dan molekul amilosa (Derycke et al. 2005). Metode dasar proses pratanak dapat dilihat pada Gambar 3.

Savitha dan Singh (2011) melaporkan proses pratanak dapat meningkatkan kadar serat pangan pada beras putih dan berpigmen. Kadar pati resisten juga dilaporkan meningkat hingga lebih dari dua kali lipat dengan proses pratanak (Walter et al. 2005). Namun, pada penelitian



Gambar 3. Tiga metode dasar proses pratanak beras (Dutta *et al.* 2015, Dutta and Mahanta 2014).

yang berbeda, perlakuan suhu tinggi proses pratanak kering/penyangraian (Dutta *et al.* 2015) maupun pengukusan dengan tekanan (Dutta and Mahanta 2014), menurunkan kadar pati resisten. Menurut Dutta dan Mahanta (2012) fenomena tersebut dapat disebabkan oleh terpecahnya polimer pati, khususnya amilosa pada proses pemanasan, sehingga menghasilkan struktur yang lebih sederhana dan lebih mudah dicerna enzim.

Beras tanpa proses pratanak memiliki struktur kristalin tipe A. Proses pratanak pada suhu yang lebih rendah menghasilkan struktur kristalin campuran yang didominasi oleh tipe A dan sebagian kecil tipe B dan tipe V. Pada proses pratanak dengan suhu lebih tinggi, struktur kristalin tipe V dan tipe B berbanding seimbang dengan struktur kristalin tipe A. Varietas beras, kadar air, distribusi air, dan suhu proses memengaruhi tipe struktur kristalin pati (Derycke *et al.* 2005).

METODE ANALISIS PATI RESISTEN SECARA IN VITRO

Penelitian sebelumnya (Tabel 1, Tabel 2, Tabel 3) menggunakan beberapa metode analisis RS yang berbeda, antara lain metode AOAC (2002), metode Englyst *et al.* (1992), dan metode Goni *et al.* (1996). Terdapat empat tahapan utama dalam metode analisis RS berdasarkan AOAC (2002) antara lain tahapan pelarutan dan hidrolisis pati non-RS menggunakan kombinasi *pancreatic α-amylase* dan amiloglukosidase (AMG) selama 16 jam pada suhu 37°C, pemisahan fraksi non-RS (supernatan) dan RS (endapan), pelarutan endapan dan hidrolisis RS menggunakan AMG, dan pengukuran konsentrasi glukosa menggunakan reagen GOPOD dengan prinsip spektrofotometri. Bagian non-RS ditentukan dengan menggabungkan supernatan awal dan

Tabel 4. Perbedaan Antar Metode Analisa Pati Resisten (RS).

Perbedaan utama	Metode Analisa RS		
	AOAC (2002)	Goni et al. (1996)	Englyst et al. (1992)
Penentuan kadar RS	Secara langsung	Secara langsung	Tidak langsung, hasil pengurangan total pati dengan RDS dan SDS
Enzim yang digunakan untuk menghidrolisis non RS	α -amilase dan AMG	α -amilase	pancreatin, AMG dan invertase
Kondisi hidrolisis non RS	Suhu 37°C, 16 jam	Suhu 37°C, 16 jam	Suhu 37°C, 20 menit untuk RDS dan 100 menit untuk SDS
Tahap pelarutan dan hidrolisis RS	Ada pada tahapan penentuan RS	Ada pada tahapan penentuan RS	Ada pada tahapan penentuan total glukosa
Kondisi pelarutan RS	Dalam <i>ice waterbath</i> , 20 menit, KOH 2 M	Suhu ruang, 30 menit, KOH 4 M	Suhu 0°C, 30 menit, KOH 7 M
Kondisi hidrolisis RS	Suhu 50°C, 30 menit, enzim AMG	Suhu 60°C, 45 menit, enzim AMG	Suhu 70°C, 30 menit, enzim AMG
Tahap hidrolisis protein	Tidak ada	Ada, menggunakan pepsin	Tidak ada

larutan hasil pencucian, kemudian mengukur kadar glukosa dengan reagen GOPOD.

Metode analisis RS menurut Goni et al. (1996) terdiri atas empat tahapan utama yakni penghilangan protein menggunakan pepsin pada suhu 40°C selama 60 menit, penghilangan pati non resisten menggunakan α -amilase 37°C selama 16 jam, pelarutan dan hidrolisis RS menggunakan AMG pada suhu 60°C selama 45 menit, dan penentuan glukosa hasil hidrolisis RS menggunakan reagen GOPOD.

Pada metode Englyst et al (1992), penentuan RS dilakukan secara bertahap dengan menentukan total pati, kadar pati tercerna cepat (RDS), dan pati tercerna lambat (SDS). Kadar RS merupakan selisih antara total pati dan kedua fraksi pati (RDS dan SDS). Analisis dimulai dengan menentukan total pati pada sampel. Pada metode ini semua glukosa yang berasal dari pati, baik pati non-RS maupun RS, ditentukan kadarnya. Tahapan utama penentuan total pati antara lain pengecilan ukuran dan pemanasan pati pada bufer sodium asetat untuk mendegradasi RS I dan RS II (100°C, 30 menit), pemisahan gula bebas menggunakan invertase (37°C, 30 menit), pengujian kadar gula bebas dengan mengambil sebagian kecil larutan uji, hidrolisis non-RS dengan α -amilase tahan panas (100°C, 15 menit), *pretreatment* RS III dengan KOH 7 M (0°C, 30 menit), hidrolisis RS III dengan AMG (70°C, 30 menit), dan penentuan total glukosa menggunakan reagen GOPOD dengan prinsip spektrofotometri.

Setelah menentukan total glukosa, Englyst et al. (1992) melakukan pengukuran *rapid digestable starch*/RDS (waktu cerna enzim 20 menit) dan *slow digestable*

starch SDS (waktu cerna enzim 100 menit) menggunakan campuran enzim pancreatin, AMG, dan invertase pada suhu 37°C. Penentuan total glukosa menggunakan reagen GOPOD dengan prinsip spektrofotometri. Kadar RS pada sampel merupakan selisih total glukosa dan jumlah antara RDS dan SDS.

Keempat metode analisis RS yang telah dijelaskan di atas memiliki beberapa perbedaan utama, baik jenis enzim yang digunakan maupun tahapan analisisnya. Metode AOAC (2002) menggunakan campuran enzim α -amilase dan AMG untuk menghidrolisis bagian non-RS, sedangkan metode Goni et al. (1996) hanya menggunakan α -amilase untuk menghidrolisis bagian non-RS. Goni et al. (1996) juga menggunakan pepsin untuk menghidrolisis protein sebelum sampel dihidrolisis dengan α -amilase, sedangkan AOAC (2002) dan Englyst et al. (1992) tidak menggunakan pepsin dalam tahapan analisis. Baik metode AOAC (2002) maupun Goni et al. (1996) menggunakan AMG dalam tahapan hidrolisis RS. Metode Englyst et al. (1992) berbeda dengan ketiga metode lainnya karena tidak langsung melakukan pengukuran RS. Nilai RS yang diperoleh merupakan hasil pengurangan (*by difference*).

Jenis RS yang dianalisis juga harus diperhatikan dalam setiap metode. Proses preparasi sampel turut menentukan jenis RS yang teranalisis. Penepungan sampel akan mendegradasi RS I, sedangkan pemanasan hingga pati tergelatinisasi akan mendegradasi RS II (Perera et al. 2010). Metode AOAC (2002), Goni et al. (1996), dan metode penentuan RS total Englyst et al. (1992) menggunakan sampel dalam bentuk tepung tanpa proses gelatinisasi sebelum analisis, sehingga kadar RS yang terukur merupakan RS II dan RS III. Namun Liu et al.

(2015), Chung *et al.* (2009), dan Zhou *et al.* (2014) melakukan modifikasi metode dengan menggelatinisasi sampel terlebih dahulu, sehingga kadar RS terukur merupakan RS III (Tabel 1, 2, 3). Berdasarkan data hasil penelitian RS yang nilainya cukup bervariasi, perbedaan yang muncul selain disebabkan oleh bahan dan proses, juga disebabkan oleh perbedaan metode analisis dan modifikasi metode yang digunakan. Perbedaan utama metode-metode analisis RS yang telah dijelaskan terangkum dalam Tabel 4.

KESIMPULAN

Faktor intrinsik maupun ekstrinsik yang saling berinteraksi berpeluang menghasilkan kadar dan karakteristik RS yang berbeda pada setiap proses modifikasi pati. Perbedaan metode analisis yang digunakan menjadi penyebab perbedaan tersebut. Proses modifikasi fisik dapat menyebabkan reorganisasi kristalin pati dengan dampak peningkatan maupun penurunan kadar RS. Pada umumnya teknologi hidrotermal dapat digunakan secara tunggal untuk meningkatkan kadar RS, namun peningkatan kadar RS menjadi lebih tinggi dengan mengombinasikan teknologi hidrotermal dengan teknologi modifikasi lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Ai, Y., J. Hasjim, and J.I. Jane. 2013. Effects of lipids on enzymatic hydrolysis and physical properties of starch. *Carbohydr. Polym.* 92:120–7. doi:10.1016/j.carbpol.2012.08.092.
- Ambigaipalan, P., R. Hoover, E. Donner, and Q. Liu. 2014. Starch chain interactions within the amorphous and crystalline domains of pulse starches during heat-moisture treatment at different temperatures and their impact on physicochemical properties. *Food Chemistry* 143:175–184. doi:10.1016/j.foodchem.2013.07.112.
- Arcila, J.A. and D.J. Rose. 2015. Repeated cooking and freezing of whole wheat flour increases resistant starch with beneficial impacts on in vitro fecal fermentation properties. *Journal of Functional Foods* 12:230–236. doi:10.1016/j.jff.2014.11.023.
- Ashwar, B.A., A. Gani, I.A. Wani, A. Shah, F.A. Masoodi, and S.D. Chandra. 2016. Production of resistant starch from rice by dual autoclaving-retrogradation treatment: invitro digestibility, thermal and structural characterization. *Food Hydrocolloids* 56:108–117. doi:10.1016/j.foodhyd.2015.12.004.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemistry). 2002. Washington D.C. United State of America. Official Methode of Analysis.
- Belitz, H.D., W. Grosch, and P. Schieberle. 2009. *Food chemistry* 4th revised and extended ed. Berlin (Jerman): Springer-Verlag.
- BeMiller, J.N. 2007. *Carbohydrate chemistry for food scientists* second edition. Minnesota (USA): AACC International Press.
- Birt, D.F., T. Boylston, S. Hendrich, J.L. Jane, J. Hollis, L. Li, J. McClelland, S. Moore, G.J. Phillips, M. Rowling, K. Schalinske, M.P. Scott, and E.M. Whitley. 2015. Resistant Starch: Promise for Improving Human Health. *American Society for Nutrition. Adv. Nutr.* 4:587–601. doi:10.3945/an.113.004325.
- Brouns, F., B. Kettlitz, and E. Arrigoni. 2002. Resistant starch and the butyrate revolution. *Trends in Food Science and Technology* 13:251–261. doi:10.1016/S0924-2244(02)00131-0.
- Cham, S. And P. Suwannaporn. 2010. Effect of hydrothermal treatment of rice flour on various rice noodles quality. *Journal of Cereal Science* 51:284–291. doi:10.1016/j.jcs.2010.01.002.
- Chen, X., X. He, F. Xiong, and Q. Huang. 2015. In vitro digestion and physicochemical properties of wheat starch/flour modified by heat-moisture treatment. *Journal of Cereal Science* 63:109–115. doi:10.1016/j.jcs.2015.03.003.
- Chung, H.J., Q. Liu, and R. Hoover. 2009. Impact of annealing and heat-moisture treatment on rapidly digestible, slowly digestible and resistant starch levels in *native* and gelatinized corn, pea and lentil starches.. *Carbohydrate Polymers* 75:436–447. doi:10.1016/j.carbpol.2008.08.006.
- Cruz, N.J. and G.S. Khush. 2000. Rice grain quality evaluation procedures. *In: Singh, R.K., U.S. Singh, G.S. Khush (Eds.). Aromatic Rice. Calcutta (India): Oxford and IBH Publishing Co. Pvt. Ltd.* p.15–28.
- Derycke, V., G.E. Vandeputte, R. Vermeulen, W. De Man, B. Goderisc, M.H.J. Kochd, and J.A. Delcoura. 2005. Starch gelatinization and amylose–lipid interactions during rice parboiling investigated by temperature resolved wide angle X-ray scattering and differential scanning calorimetry. *Journal of Cereal Science* 42:334–343. doi:10.1016/j.jcs.2005.05.002.
- Dundar, A.N. and D. Gocmen. 2013. Effects of autoclaving temperature and storing time on resistant starch formation and its functional and physicochemical properties. *Carbohydrate Polymers* 97:764–771. doi:10.1016/j.carbpol.2013.04.083.
- Dutta, H. and C.L. Mahanta. 2012. Effect of hydrothermal treatment varying in time and pressure on the properties of parboiled rices with different amylose content. *Mahanta. Food Research International* 49:655–663. doi:10.1016/j.foodres.2012.09.014.
- Dutta, H. and C.L. Mahanta. 2014. Traditional parboiled rice-based products Revisited: current status and future research challenges. *Rice Science* 21(4):187–200. doi: 10.1016/S1672-6308(13)60191-2.
- Dutta, H., C.L. Mahanta, and V. Singh. 2015. Changes in the properties of rice varieties with different amylose content on dry heat parboiling. *Journal of Cereal Science* 65: 227–235. doi:10.1016/j.jcs.2015.07.016.

- Eerlingen RC, Delcour JA. 1995. Formation, Analysis, Structure and Properties of Type III Enzyme Resistant Starch. *Journal of Cereal Science* 22:129-138. doi: 0733-5210/95/020129 + 1 0 \$12.00/0.
- Englyst, H.N., S.M. Kingman, and J.H. Cummings. 1992. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *European Journal of Clinical Nutrition* 46:33-50.
- Goni, I., L. Garcia-Diz, E. Manas', and F. Saura-Calixto'. 1996. Analysis of resistant starch: a method for foods and food products. *Food Chemistry* 56 (4):445-449. doi:10.1016/0308-8146(95)00222-7.
- González-Soto, R.A., R. Mora-Escobedo, H. Hernández-Sánchez, M. Sánchez-Rivera, and L.A. Bello-Pérez. 2007. The influence of time and storage temperature on resistant starch formation from autoclaved debranched banana starch. *Food Research International* 40:304-310. doi:10.1016/j.foodres.2006.04.001.
- Haralampu, S.G. 2000. Resistant starch—a review of the physical properties and biological impact of RS3. *Carbohydrate Polymers* 41:285-292. doi:10.1016/S0144-8617(99)00147-2.
- Hedemann, M.S. and K.E.B. Knudsen. 2007. Resistant starch for weaning pigs — Effect on concentration of short chain fatty acids in digesta and intestinal morphology. *Livestock Science* 108: 175-177. doi:10.1016/j.livsci.2007.01.045.
- Hoover R. 2010. The impact of heat-moisture treatment on molecular structures and properties of starches isolated from different botanical sources. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 50:835-847. doi: 10.1080/10408390903001735.
- Jayakody, L. and R. Hoover. 2008. Effect of annealing on the molecular structure and physicochemical properties of starches from different botanical origins – A review. *Carbohydrate Polymers* 74:691-703. doi:10.1016/j.carbpol.2008.04.032.
- Jiranuntakul, W., C. Puttanlek, V. Rungsardthong, S. Panchaarnon, and D. Uttapap. 2011. Microstructural and physicochemical properties of heat-moisture treated waxy and normal starches. *Journal of Food Engineering* 104:246-258. doi:10.1016/j.jfoodeng.2010.12.016
- Kamada, N., G.Y. Chen, N. Inohara, and G. Núñez. 2013. Control of pathogens and pathobionts by the gut microbiota. *Nature Immunology* 14(7):685-690. doi:10.1038/ni.2608
- Karim, A.A., M.H. Norziah, and C.C. Seow. 2000. Methods for the study of starch retrogradation. *Food Chemistry* 71:9-36. doi:10.1016/S0308-8146(00)00130-8.
- Kaur, B., F. Ariffin, R. Bhat, and A.A. Karim. 2012. Progress in starch modification in the last decade. *Food Hydrocolloids* 26:398-404. doi:10.1016/j.foodhyd.2011.02.016.
- Kiatpongarp, W., S. Tongta, A. Rolland-Sabaté, and A. Buléon. 2015. Crystallization and chain reorganization of debranched rice starches in relation to resistant starch formation. *Carbohydrate Polymers* 122:108-114. doi:10.1016/j.carbpol.2014.12.070.
- Lee, C.J., S.I. Shin, Y. Kim, H.J. Choi, and T.W. Moon. 2011. Structural characteristics and glucose response in mice of potato starch modified by hydrothermal treatments. *Carbohydrate Polymers* 83:1879-1886. doi:10.1016/j.carbpol.2010.10.057.
- Lee, C.J. and T.W. Moon. 2015. Structural characteristics of slowly digestible starch and resistant starch isolated from heat-moisture treated waxy potato starch. *Carbohydrate Polymers* 125:200-205. doi:10.1016/j.carbpol.2015.02.035.
- Lesmes, U., E.J. Beards, G. Gibson, K.M. Tuohy, and E. Shimoni. 2008. Effects of resistant starch type III polymorphs on human colon microbiota and short chain fatty acids in human gut models. *J. Agric. Food Chem.* 56:5415-5421. doi: 10.1021/jf800284d.
- Liu, H., X. Guo, W. Li, X. Wang, M. Lv, Q. Peng, and M. Wanga. 2015. Changes in physicochemical properties and in vitro digestibility of common buckwheat starch by heat-moisture treatment and annealing. *Carbohydrate Polymers* 132:237-244. doi:10.1016/j.carbpol.2015.06.071.
- Margareta, L.A., M.E. Karlsson, A.C. Eliasson, and I.M.E. Bjorck. 2006. Resistant starch formation in temperature treated potato starches varying in amylose/amylopectin ratio. *Carbohydrate Polymers* 65:306-313. doi:10.1016/j.carbpol.2006.01.019.
- Ozturk, S., H. Koksel, and P.K.W. N. 2011. Production of resistant starch from acid-modified amylotype starches with enhanced functional properties. *Journal of Food Engineering* 103:156-164. doi:10.1016/j.jfoodeng.2010.10.011.
- Park, E.Y., B.K. Baik, and S.T. Lim. 2009. Influences of temperature-cycled storage on retrogradation and in vitro digestibility of waxy maize starch gel. *Journal of Cereal Science* 50:43-48. doi:10.1016/j.jcs.2009.02.004.
- Perera, A., V. Meda, and R.T. Tyler. 2010. Resistant starch: A review of analytical protocols for determining resistant starch and of factors affecting the resistant starch content of foods. *Food Research International* 43:1959-1974. doi:10.1016/j.foodres.2010.06.003.
- Pham, V.H., T.C. Huynh, and T.L.P. Nguyen. 2016. In vitro digestibility and in vivo glucose response of native and physically modified rice starches varying amylose contents. *Food Chemistry* 191:74-80. doi:10.1016/j.foodchem.2015.02.118.
- Pinto, V.Z., N.L. Vanier, V.G. Deon, K. Moomand, S.L.M. El Halal, E.R. Zavareze, L.T. Li, and A.R.G. Dias. 2015. Effects of single and dual physical modifications on pinhao starch. *Food Chemistry* 187:98-105. doi:10.1016/j.foodchem.2015.04.037.
- Prado-Silva, L., L. Azevedo, J.A.C. Oliveira, A.P.M. Moreira, M. Schmieles, Y.K. Chang, F.B.A. Paula, and M.T.P.S. Clerici. 2014. Sesame and resistant starch reduce the colon

- carcinogenesis and oxidative stress in 1,2-dimethylhydrazine-induced cancer in Wistar rats. *Food Research International* 62:609–617. doi:10.1016/j.foodres.2014.04.027.
- Savitha, Y.S. and V. Singh. 2011. Status of dietary fiber contents in pigmented and non-pigmented rice varieties before and after parboiling. *LWT - Food Science and Technology* 44:2180-2184. doi:10.1016/j.lwt.2011.06.004.
- Shamai, K., H. Bianco-Peled, and E. Shimoni. 2003. Polymorphism of resistant starch type III. *Carbohydrate Polymers* 54:363–369. doi:10.1016/S0144-8617(03)00192-9.
- Simsek, S. and S.N. El. 2012. Production of resistant starch from taro (*Colocasia esculenta* L. Schott) corm and determination of its effects on health by in vitro methods *Carbohydrate Polymers* 90:1204–1209. doi:10.1016/j.carbpol.2012.06.039.
- Sugiyono, R. Pratiwi, dan D.N. Faridah. 2009. Modifikasi pati garut (*Marantha arundinacea*) dengan perlakuan siklus pemanasan suhu tinggi-pendinginan (*Autoclaving-Cooling Cycling*) untuk menghasilkan pati resisten Tipe III. *J. Teknol. dan Industri Pangan* XX:1.
- Vieira, A.T., M.M. Teixeira, and F.S. Martins. 2013. The role of probiotics and prebiotics in inducing gut immunity. *Frontiers In Immunology* 445:1-12. doi: 10.3389/fimmu.2013.00445.
- Walter, M., L.P. da Silva, and C.C. De Nardin. 2005. Rice and resistant starch: different content depending on chosen methodology. *Journal of Food Composition and Analysis* 18:279–285. doi:10.1016/j.jfca.2004.09.007.
- Wang, S., J. Wang, J. Yu, and S. Wang. 2014. A comparative study of annealing of waxy, normal and high-amylose maize starches: The role of amylose molecules. *Food Chemistry* 164:332–338. doi:10.1016/j.foodchem.2014.05.055.
- Witt, T., M.J. Gidley, and R.G. Gilbert. 2010. Starch digestion mechanistic information from the time evolution of molecular size distributions. *J Agric Food Chem.* 58:8444–52. doi: 10.1021/jf101063m.
- Zeng, F., F. Ma, F. Kong, Q. Gao, and S. Yu. 2015a. Physicochemical properties and digestibility of hydrothermally treated waxy rice starch. *Food Chemistry* 172:92–98. doi:10.1016/j.foodchem.2014.09.020.
- Zeng, S., X. Wua, S. Lin, H. Zeng, X. Lua, Y. Zhang, and B. Zheng. 2015b. Structural characteristics and physicochemical properties of lotus seed resistant starch prepared by different methods. *Food Chemistry* 186:213–222. doi:10.1016/j.foodchem.2015.03.143.
- Zhou, Y., S. Meng, D. Chen, X. Zhu, and H. Yuan. 2014. Structure characterization and hypoglycemic effects of dual modified resistant starch from indica rice starch. *Carbohydrate Polymers* 103:81–86. doi:10.1016/j.carbpol.2013.12.020.