

**UJI CERNA PATI RESISTEN DARI BIJI ALPUKAT SEBAGAI
KANDIDAT PREBIOTIK YANG DIFERMENTASI OLEH BAKTERI
Streptomyces sp. AB 8 DAN VARIASI PEMANASAN BERTEKANAN-
PENDINGINAN**

(Skripsi)

Oleh

**SITI INAH
NPM 1817021007**



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

ABSTRAK

UJI CERNA PATI RESISTEN DARI BIJI ALPUKAT SEBAGAI KANDIDAT PREBIOTIK YANG DIFERMENTASI OLEH BAKTERI *Streptomyces* sp. AB 8 DAN VARIASI PEMANASAN BERTEKANAN- PENDINGINAN

Oleh

Siti Inah

Biji alpukat memiliki kandungan pati yang cukup tinggi sebesar 23% yang berpotensi dimanfaatkan sebagai sumber pati resisten. Salah satu metode yang umum digunakan dalam modifikasi pati resisten yaitu metode kombinasi fermentasi dilanjutkan dengan pemanasan bertekanan-pendinginan. Oleh sebab itu penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perlakuan fermentasi bakteri *Streptomyces* sp. AB 8 dan variasi jumlah siklus pemanasan bertekanan-pendinginan dalam upaya meningkatkan pati resisten biji alpukat, serta uji cerna oleh *Lactobacillus* sp.. Penelitian diawali *pretreatment* biji alpukat terlebih dahulu. Selanjutnya dilakukan tahap fermentasi oleh *Streptomyces* sp. AB 8. Kemudian dilanjutkan dengan pemanasan bertekanan-pendinginan dengan 0, 1, 2 dan 3 siklus. Pati hasil modifikasi dianalisis kadar amilosa dan amilopektin, serta kadar pati resisten. Lalu diuji cerna oleh *Lactobacillus* sp. dengan melihat zona jernih di sekitar koloni. Hasil penelitian menunjukkan perlakuan S1 dan S2 menghasilkan kadar pati resisten terbaik yaitu sebesar 7,5% dan 7,4% dengan indeks enzimatik hasil uji cerna sebesar 2,48 cm dan 1,65 cm, dibandingkan dengan perlakuan S0 dan S3. Pati resisten yang dihasilkan dengan 1 kali siklus pemanasan bertekanan-pendinginan lebih efektif dan efisien dibandingkan dari S2, walaupun secara statistik sama. Berdasarkan hasil tersebut perlakuan fermentasi oleh *Streptomyces* AB 8 dan variasi pemanasan bertekanan-pendinginan menunjukkan pengaruh terhadap hasil peningkatan kadar pati resisten biji alpukat.

Kata kunci: Biji alpukat, Fermentasi, *Lactobacillus* sp., Pati resisten, Pemanasan bertekanan-pendinginan, *Streptomyces* sp. AB 8

**UJI CERNA PATI RESISTEN DARI BIJI ALPUKAT SEBAGAI
KANDIDAT PREBIOTIK YANG DIFERMENTASI OLEH BAKTERI
Streptomyces sp. AB 8 DAN VARIASI PEMANASAN BERTEKANAN-
PENDINGINAN**

Oleh

SITI INAH

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

**Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2023**

Judul Skripsi : **UJI CERNA PATI RESISTEN DARI BIJI ALPUKAT
SEBAGAI KANDIDAT PREBIOTIK YANG
DIFERMENTASI OLEH BAKTERI *Streptomyces* sp.
AB 8 DAN VARIASI PEMANASAN BERTEKANAN-
PENDINGINAN**

Nama Mahasiswa : **Siti Inah**

Nomor Pokok Mahasiswa : **1817021007**

Jurusan / Program Studi : **Biologi**

Fakultas : **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**




Dra. Christina Nugroho Ekowati, M.Si.
NIP 19580818 198503 2 001


Achmad Arifiyanto, S.Si., M.Si.
NIP 19901130 201903 1 013

2. **Ketua Jurusan Biologi FMIPA**


Dr. Jani Master, S.Si., M.Si.
NIP 19830131 200812 1 001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua Penguji : Dra. Christina Nugroho Ekowati, M.Si.



Anggota Penguji : Achmad Arifiyanto, S.Si., M.Si.



Penguji Utama : Dra. Tundjung Tripeni H., M.S.



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dr. Eng. Surtpto Dwi Yuwono, M.T.
NIP 19740705 200003 1 001



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 06 Februari 2023

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Siti Inah
NPM : 1817021007
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sesungguhnya dan sejujurnya, bahwa skripsi saya yang berjudul :

"Uji Cerna Pati Resisten dari Biji Alpukat sebagai Kandidat Prebiotik yang difermentasi oleh Bakteri *Streptomyces* sp. AB 8 dan Variasi Pemanasan bertekanan-Pendinginan"

Baik data, gagasan, data, maupun pembahasannya adalah benar karya saya sendiri berdasarkan pengetahuan dan informasi yang telah saya dapatkan. Skripsi ini saya susun dengan mengikuti pedoman dan norma akademik yang berlaku dan saya memastikan bahwa karya ini tidak berisi material yang telah dipublikasi sebelumnya atau plagiat dari karya orang lain.

Demikian pernyataan ini saya buat dan dapat dipertanggungjawabkan. Apabila dikemudian hari terdapat kecurangan dalam karya ilmiah ini, maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, 16 Februari 2023
Yang Menyatakan,



Siti Inah
82803AKX285993755

NPM. 1817021007

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Parungpanjang, Bogor, Jawa Barat pada tanggal 02 Oktober 2000, sebagai anak ketiga dari lima bersaudara, dari pasangan Bapak Usin dan Ibu Yati.

Penulis menempuh Pendidikan Sekolah Dasar (SD) di SDN 1 Pingku pada tahun 2006-2012. Setelah itu, Sekolah Menengah Pertama (SMP) ditempuh di SMPN 1 Parungpanjang, Bogor pada tahun 2012-2015, dan Sekolah Menengah Atas (SMA) ditempuh di SMAN 1 Parungpanjang, Bogor. Tahun 2018 penulis resmi terdaftar sebagai mahasiswa Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN). Penulis menyelesaikan pendidikan pada perguruan tinggi dan meraih gelar Sarjana Sains pada tahun 2023.

Selama menjadi mahasiswa Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung, penulis aktif di beberapa kegiatan dan organisasi kampus. Pada tahun 2020 penulis meraih pendanaan PKM dan menjadi finalis Pekan Ilmiah Mahasiswa Nasional (PIMNAS) 33 di UGM, Yogyakarta sebagai ketua dengan judul **“Produksi Pati Resisten dari Biji Alpukat dengan Fermentasi oleh *Streptomyces* sp. AB 8 dan Pemanasan bertekanan-Pendinginan sebagai Kandidat Prebiotik”**.

Tahun 2021 meraih Juara 1 lomba PKM tingkat Fakultas MIPA sebagai anggota meraih pendanaan Program Wirausaha Mahasiswa (PMW), menjadi mentor dan juri PKM mahasiswa BIDIKMISI Universitas Lampung, serta menjadi pemateri di pelatihan kepenulisan KTI dan PKM yang diselenggarakan oleh ROIS FMIPA UNILA. Penulis juga aktif di organisasi diantaranya pernah menjadi anggota bidang ekspedisi HIMBIO, sekretaris bidang Akademik dan Riset ROIS FMIPA UNILA, anggota komisi legislatif DPM F, staff komisi keuangan DPM U, anggota bidang advokasi dan kemahasiswaan BEM F, serta aktif menjadi volunteer di Dompot Dhuafa Lampung (DDV) sebagai anggota Humas.

Selain itu, penulis juga pernah menjadi asisten dan kakak pendamping asisten mikrobiologi umum, serta asisten mikroteknik. Pada tahun 2018, penulis melaksanakan Karya Wisata Ilmiah (KWI) di Desa Tanjung tirta, Way Bungur, Lampung Timur. Penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan di Balai Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan (BKIPM) Lampung yang menghasilkan karya ilmiah berupa laporan kerja praktik yang berjudul **“Deteksi Cemaran *Salmonella sp.* pada Sampel Udang Vaname (*Litopenaeus Vannamei*) Beku di Laboratorium Balai Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan (BKIPM)”**, serta melaksanakan KKN mandiri di desa Hajimena, Natar, Lampung Selatan

PERSEMBAHAN

Yang utama dari segalanya, sujud syukur kepada Allah SWT. Taburan kasih sayang-Nya, ridho dan karunia-Nya telah memberiku kekuatan serta kemudahan dalam segala langkah ku. Sholawat dan salam selalu terlimpahkan kehariban Rasulullah Muhammad SAW yang dinantikan syafaatnya di yaumul akhir

Kupersembahkan karya sederhana ini kepada semua orang yang sangat berjasa dan ku sayangi,

Bapak dan ibuku tercinta sebagai tanda bakti, hormat, dan rasa terima kasih yang tiada terhingga, yang telah memberikan kasih dan sayang, dukungan serta doa yang tiada henti untuk anakmu ini. Semoga hasil kerja keras ini dapat menjadi suatu kebanggan

Kakak dan adikku yang senantiasa mendukungku dan mendoakan untuk terus semangat dan berusaha

Bapak/Ibu guru dan seluruh dosen yang telah dengan sabar dan ikhlas dalam menyampaikan dan memberikan ilmu yang bermanfaat untuk saya yang insya Allah akan menjadi amal jariyah

Siti Inah

MOTTO

Allah dulu, Allah terus, Allah lagi.

“Maka ingatlah kepada-Ku, Aku pun akan ingat kepadamu. Bersyukurlah kepada-Ku, dan janganlah kamu ingkar kepada-Ku” (QS. Al-Baqarah: 152).

“...Dan Dia bersama kamu di mana saja kamu berada. Dan Allah Maha Melihat apa yang kamu kerjakan” (QS. Al-Hadid: 4).

“Dan janganlah kamu (merasa) lemah, dan jangan (pula) bersedih hati, sebab kamu paling tinggi (derajatnya), jika kamu orang beriman”(QS. Al Imran: 39).

IMPOSSIBLE IS NOTHING

Aku percaya akan kekuatan Allah yang tak terlihat

Love my self, love your self

“Jika kamu berbuat baik (berarti) kamu berbuat baik bagi dirimu sendiri dan jika kamu berbuat jahat, maka (kejahatan) itu bagi dirimu sendiri..” (QS. Al-Isra: 7).

"The possibility of all those possibilities being possible is just another possibility that can possibly happen" (Mark nct).

"Yakinlah, ada sesuatu yang menantimu setelah sekian banyak kesabaran yang kau jalani, yang akan membuatmu terpana hingga kau lupa betapa pedihnya rasa sakit."
(Ali bin Abi Thalib)

SANWACANA

Assalamualaikum warrahmatullahi wabarakatuh

Bismillahirrahmaanirrahim Alhamdulillahirabbil 'Alamin, puji syukur saya haturkan kehadiran Allah *Subhanahu wa ta'ala* atas limpahan rahmat dan karunianya, serta ridho-Nya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan. Shalawat serta salam selalu tercurahkan kepada baginda Nabi Muhammad *Shalallahu 'Alaihi Wasallam* dengan mengharap syafaatnya di yaumul akhir kelak.

Skripsi dengan judul **“Uji Cerna Pati Resisten dari Biji Alpukat sebagai Kandidat Prebiotik yang difermentasi oleh Bakteri *Streptomyces* sp. AB 8 dan Pemanasan bertekanan-Pendinginan”** dibuat sebagai bentuk pertanggungjawaban penulis selama menempuh pendidikan S1 dan merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si) di Universitas Lampung.

Penulis menyadari bahwa menyelesaikan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna dan banyak kekurangan yang tentu tidak luput dari pengarahan, kritik, saran, dukungan, serta bimbingan dari berbagai pihak sehingga dapat terselesaikan pada waktu yang tepat. Dalam kesempatan ini, penulis menyampaikan rasa hormat dan ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Kedua orang tuaku tercinta, Bapak Usin dan Ibu Yati yang telah menjadi orangtua yang sangat luar biasa, selalu mendoakan yang terbaik, mendidik dengan sabar, memberikan cinta dan kasih sayang serta materi demi

mewujudkan impian anaknya

2. Kepada kakak dan adikku serta seluruh keluarga besar yang telah memberi dukungan, perhatian, semangat serta doa yang tiada hentinya kepada penulis
3. Ibu Dra. C. N Ekowati, M. Si, selaku dosen pembimbing 1 yang telah memberikan ilmunya, serta arahan dan masukkan dalam membimbing penulis hingga terselesainya skripsi ini
4. Bapak Achmad Arifiyanto, S. Si., M.Si, selaku dosen pembimbing 2 yang telah memberikan banyak ilmu yang penulis dapatkan, motivasi, serta arahan dan bimbingan selama proses skripsi ini
5. Ibu Dra. Tundjung Tripeni Handayani, M. Si, selaku pembahas yang sangat baik hati, penulis ucapkan banyak terimakasih selama proses bimbingan arahan serta masukan dalam memperbaiki penyusunan skripsi ini menjadi lebih baik
6. Bapak Dr. Eng. Suropto Dwi Yuwono, M.T., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung.
7. Bapak Dr. Jani Master, M.Si., selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung.
8. Ibu Kusuma Handayani, S.Si., M.Si., selaku Ketua Program Studi Biologi, Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung.
9. Ibu Dr. Endang Nurcahyani, M. Si., selaku pembimbing akademik yang senantiasa membimbing penulis dalam perkuliahan.
10. Ibu Oni selaku laboran lab. Mikrobiologi yang selalu memberikan semangat dan kenyamanan di lab, motivasi serta arahan hingga lab lebih berwarna
11. Kakak pendamping cantik mikrobiologi Masnoni, Nurul Insani, Kartika, Chika, Puput, Rini, dan Dinda, terimakasih banyak yang sudah membantu dalam proses penelitian, selalu membawa keceriaan untuk selalu semangat dan berbagi ilmu belajar bersama

12. Mba Suminta, mba Nuri, mba Niken dan kakak tingkat lain penelitian lab. Mikrobiologi yang sudah mengajarkan banyak ilmu dan motivasi
13. Keluarga besar lab. Mikrobiologi yang aku sayangi, yang selalu membawa kebahagiaan
14. Teman-teman milumoy selalu memberikan semangat dalam menjalani penelitian
15. Semua teman-teman satu angkatan Biologi 2018 yang selalu memotivasi dalam perkuliahan dan sampai saat ini masih berjuang bersama-sama.
16. Keluarga besar guru-guru SMAN 1 PARUNG PANJANG yang telah memberikan ilmu serta motivasi, menjadi wadah untuk mewujudkan mimpi ini
17. *Last but not least, i wanna thank me, i wanna thank me for the believing me, i wanna thank me for doing all this work, i wanna thank me for having no days off, i wanna thank me for never quitting, i wanna thank me for just being me all the time*

Akhir kata, penulis menyadari dalam menulis skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik, saran dan masukan yang membangun. Semoga skripsi ini berguna dan bermanfaat bagi orang lain yang membacanya.

Bandar Lampung, Februari 2023

Siti Inah

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL.....	1
DAFTAR GAMBAR.....	2
I. PENDAHULUAN.....	3
1.1 Latar Belakang.....	3
1.2 Tujuan Penelitian.....	3
1.3 Manfaat penelitian.....	3
1.4 Kerangka Pemikiran.....	3
1.5 Hipotesis.....	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.)	6
2.1.1 Morfologi Alpukat.....	6
2.1.2 Klasifikasi Alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.).....	7
2.1.3 Biji Alpukat dan Potensinya sebagai Sumber Pati	7
2.2 Pati Termodifikasi	9
2.2.1 Pati Resisten	10
2.2.2 Manfaat Pati Resisten.....	11
2.3 Teknik Modifikasi untuk Peningkatan Pati Resisten.....	12
2.3.1 Teknik Siklus Pemanasan Bertekanan dan Pendinginan.....	12
2.3.2 Teknik Modifikasi RS dengan Perlakuan Hidrotermal	13
2.3.3 Teknik Kombinasi Fermentasi dan pemanasan bertekanan- pendinginan.....	14
2.4 <i>Actinomyces</i> sebagai Penghasil Amilase	17
2.4.1 Morfologi <i>Streptomyces</i> sp.	17
2.4.2 Klasifikasi <i>Streptomyces</i> sp.	18
2.5 Bakteri <i>Lactobacillus</i> sp.	19
III. METODE PENELITIAN.....	21
3.1 Waktu dan Tempat	21

3.2	Alat dan Bahan	21
3.3	Metodologi Penelitian.....	22
3.4	Pelaksanaan Penelitian	23
3.4.1	Tahap 1: <i>Pretreatment</i> Biji Alpukat	23
3.4.2	Tahap 2: Perlakuan Fermentasi oleh <i>Streptomyces</i> sp. AB 8	24
3.4.3	Tahap 3: Pemanasan Bertekanan-Pendinginan (<i>Autoclaving-Cooling</i>)	25
3.4.4	Analisis Sampel	25
3.6	Diagram Alir Penelitian.....	31
V.	KESIMPULAN DAN SARAN	34
5.1	Kesimpulan.....	34
5.2	Saran.....	34
	DAFTAR PUSTAKA	35

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Komposisi kimia biji alpukat	8
Tabel 2. Teknik modifikasi peningkatan pati resisten pada berbagai bahan pangan	16
Tabel 3. Rancangan penelitian	22

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Biji Alpukat.....	7
Gambar 2. Pati biji alpukat dengan SEM.....	8
Gambar 3. Struktur (a) Amilosa (b) Amilopektin.....	9
Gambar 4. Morfologi <i>Streptomyces</i> AB 8 perbesaran 1000x	18
Gambar 5. Morfologi <i>Lactobacillus</i> sp. perbesaran 100X.....	19
Gambar 6. Diagram alir <i>pretreatmeant</i>	31
Gambar 7. Tahap produksi pati resisten.....	32
Gambar 8. Analisis Kimia pati biji alpukat.....	33

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Biji buah alpukat mengandung alkaloid, tanin, triterpen, dan kuinonal serta memiliki kandungan pati yang cukup tinggi, yaitu sebesar 23%, dengan kandungan amilosa 43,3% dan amilopektin sebesar 37,7% yang memungkinkan biji alpukat sebagai sumber pati alternatif (Maryam *et al.*, 2016). Pati merupakan polimer D-glukosa yang ditemukan sebagai karbohidrat simpanan dalam tumbuhan, berupa butiran kecil dengan berbagai ukuran dan bentuk yang khas untuk setiap spesies tumbuhan. Kandungan pati tersebut dapat dimodifikasi menjadi pati resisten (*resistant starch/ RS*) melalui proses fermentasi dan dilanjutkan dengan pemanasan bertekanan-pendinginan (*autoclaving-cooling*) (Ashwar *et al.*, 2016).

Pati resisten (RS) termasuk sumber serat yang penting bagi kesehatan usus besar (kolon) dan memiliki kelebihan sebagai prebiotik, karena mempunyai sifat yang tidak dapat dicerna oleh saluran pencernaan manusia, akan tetapi dapat difermentasi oleh bakteri probiotik (Aulia *et al.*, 2021). Secara alamiah kandungan pati resisten pada bahan pangan tanpa perlakuan masih rendah. Pemberian perlakuan bertujuan untuk meningkatkan sifat resisten terhadap pati. Upaya untuk memperoleh hasil yang efektif dan efisien sejauh ini ditempuh melalui fermentasi, teknik pemanasan bertekanan pendinginan, atau kombinasi keduanya. Perlakuan fermentasi tidak cukup meningkatkan pati resisten, sebaliknya kombinasi pemanasan bertekanan pendinginan dan proses fermentasi terbukti meningkatkan kadar pati resisten (Setiarto *et al.*, 2018).

Dalam penelitian yang telah dilakukan oleh Setiarto *et al.* (2018) pada peningkatan kadar pati resisten tepung singkong, didapatkan perlakuan kombinasi fermentasi dengan 2 siklus pemanasan bertekanan pendinginan (*autoclaving-cooling*) dihasilkan kadar pati resisten tertinggi jika dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Perlakuan tersebut terbukti mampu meningkatkan kadar pati resisten sebesar 4,5 kali lipat jika dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Berdasarkan hal tersebut kombinasi fermentasi kultur campuran BAL (*L. plantarum* dan *L. fermentum*) dengan pemanasan bertekanan-pendinginan telah terbukti dapat meningkatkan kadar pati resisten dengan mengurangi jumlah siklus pemanasan bertekanan-pendinginan (Jenie *et al.*, 2012).

Pada perlakuan fermentasi dalam penelitian ini digunakan salah satu jenis bakteri *Actinomycetes* yaitu *Streptomyces* sp. AB 8. Dimana bakteri *Streptomyces* sp. memiliki kemampuan sebagai penghasil antibiotik, dekomposer, dan biokatalis (Arifiyanto *et al.*, 2021). Sifatnya yang dapat menjadi biokatalis mampu menghasilkan enzim amilase yang digunakan untuk mendegradasi pati, sehingga dapat dijadikan sebagai kandidat untuk produksi pati biji alpukat kaya akan pati resisten (Mukhtar *et al.*, 2018).

Sifatnya yang sulit dicerna oleh enzim pencernaan di usus halus, dapat dimanfaatkan sebagai substrat bagi pertumbuhan probiotik salah satunya yaitu jenis *Lactobacillus*. Oleh sebab itu, diperlukan uji *in vitro* oleh *Lactobacillus* untuk mengetahui proses cerna pati resisten menjadi unit-unit monomer yang lebih sederhana sehingga dapat diserap oleh tubuh yang digunakan sebagai sumber energi bagi pertumbuhannya dan memberikan pengaruh yang menguntungkan bagi saluran pencernaan (Aulia *et al.*, 2021).

Berdasarkan uraian latarbelakang tersebut penulis mengajukan penelitian dengan judul **“Uji Cerna Pati Resisten dari Biji Alpukat sebagai Kandidat Prebiotik dengan Fermentasi Bakteri *Streptomyces* sp. AB 8 Menggunakan Variasi Pemanasan bertekanan-Pendinginan”**

1.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh fermentasi bakteri *Streptomyces* sp. AB 8 dan pengaruh perlakuan jumlah siklus pemanasan bertekanan-pendinginan yang diberika dalam upaya meningkatkan pati resisten biji alpukat, serta untuk menguji cerna pati resisten dari biji alpukat oleh *Lactobacillus* sp.

1.3 Manfaat penelitian

Penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi ilmiah mengenai potensi biji alpukat sebagai pati resisten dan kandidat prebiotik, diperolehnya teknologi proses peningkatan kadar pati resisten untuk mengembangkan produk RS dari sumber karbohidrat lain, serta dapat dijadikan sebagai referensi untuk penelitian selanjutnya.

1.4 Kerangka Pemikiran

Pemanfaatan biji alpukat dapat menjadi alternatif produksi pati resisten dalam upaya mengurangi limbah biji. Secara alamiah kadar pati resisten masih rendah, sehingga diperlukan teknik peningkatan pada proses pengolahannya. Salah satu teknik yang digunakan untuk modifikasi pati resisten yaitu teknik kombinasi fermentasi dan pemanasan bertekanan-pendinginan.

Pada proses pembentukan pati resisten dengan pemanasan bertekanan-pendinginan terjadi 2 tahap yaitu gelatinisasi dan retrogradasi pada suspensi pati. Pada pemanasan suhu 121 °C selama 15 menit dengan penambahan air menyebabkan suspensi pati mengalami gelatinisasi secara sempurna akibat keluarnya fraksi amilosa dari granula. Kemudian pati didinginkan didalam kulkas akan menyebabkan fraksi amilosa mengalami retrogradasi. Pada saat pendinginan, molekul pati berupa amilosa maupun amilopektin mengalami pembentukan kembali pada struktur awal secara *double helix* dengan perlahan melalui ikatan- hidrogen sehingga membentuk struktur yang rapat dan kuat (Vatanasuchart *et al.*, 2012). Proses pemanasan bertekanan-pendinginan dapat dilakukan secara berulang. Semakin banyak jumlah siklus pemanasan bertekanan-pendinginan yang diterapkan maka semakin tinggi kadar pati resisten yang diperoleh. Hal ini tentu sangat berpengaruh terhadap besarnya biaya produksi, energi serta waktu produksi yang lebih lama. Sehingga pada penelitian ini ditentukan jumlah siklus pemanasan bertekanan-pendinginan yang paling optimal. Oleh karena itu dengan mengkombinasikan teknik fermentasi dan pemanasan bertekanan pendinginan diharapkan lebih efektif dan efisien.

Pada penelitian ini digunakan isolat *Streptomyces* sp. AB 8. Bakteri ini merupakan salah satu jenis *Actinomycetes* memiliki kemampuan sebagai penghasil enzim amilase. Hal terbukti pada penelitian yang telah dilakukan oleh Qatrunada *et al.* (2021), dimana memiliki kemampuan menghasilkan enzim amilase. Fermentasi oleh *Streptomyces* sp. AB 8 ini merupakan tahap awal sebelum dilakukan proses pemanasan bertekanan-pendinginan. Enzim amilase yang di hasilkan oleh *Streptomyces* sp. akan menghidrolisis amilosa pada ikatan rantai α -1,4 glikosidik secara acak sehingga diperoleh amilosa rantai pendek dan gula sederhana (maltose dan glukosa) yang digunakan sebagai bahan baku pembentukan pati resisten. Hal tersebut mengakibatkan adanya perubahan pada stuktur granula pati menjadi semakin kristal hingga amorf, sehingga pati mengalami gelatinisasi lebih

mudah dan menurunkan suhu gelatinisasi (Reddy *et al.*, 2008). Oleh karena itu, jika dilanjutkan dengan pemanasan bertekanan-pendinginan dapat meningkatkan pati resisten dengan mengurangi siklus pemanasan bertekanan-pendinginan dengan waktu lebih optimal, mudah, dan biaya produksi lebih murah.

Sifat pati resisten pada biji alpukat dapat dilakukan uji cerna oleh *Lactobacillus* sp. dengan melihat luas zona jernih disekitar koloni. Semakin luas zona jernih yang terbentuk, semakin terhidrolisis pati oleh *Lactobacillus* sp. Oleh sebab itu pati resisten dapat dijadikan sebagai kandidat prebiotik karena mampu menjadi substrat bagi pertumbuhan *lactobacillus* sp.

1.5 Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini yaitu perlakuan dengan fermentasi bakteri *Streptomyces* sp. AB 8 dan pemanasan bertekanan-pendinginan berpengaruh terhadap peningkatan kadar pati resisten biji alpukat, serta uji cernanya yang diberi *Lactobacillus* sp.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Alpukat (*Persea americana* Mill.)

2.1.1 Morfologi Alpukat

Alpukat (*Persea americana* Mill.) merupakan tanaman daerah subtropikal yang berasal dari Amerika Tengah. Alpukat masuk dalam suku Lauraceae dan marga *Persea*. Memiliki bentuk pohon seperti kubah dengan tinggi dapat mencapai 8-19 m. Sistem perakarannya tunggang dan memiliki akar rambut. Daunnya panjang (lonjong) yang tersusun seperti pilin. Memiliki bunga bentuk malai berwarna putih yang terletak diujung ranting (Janice *et al.*, 2018).

Bentuk buah alpukat bervariasi yaitu berbentuk lonjong, bola atau bulat telur dan bulat tidak simetris. Panjangnya mencapai 9 cm – 11,5 cm dengan massa 0,3 kg – 0,5 kg. Warna buah alpukat berwarna hijau tua hingga ungu kecoklatan. Buah alpukat memiliki satu biji yang tergolong besar yaitu sekitar 13-18% dari buahnya merupakan bagian dari biji. Panjangnya berukuran sekitar 5,5 x 4 cm dengan berdiameter 6,5 – 7,5 cm. Biji dilapisi kulit biji yang tipis dan terdiri dari dua keping (*cotyledon*) yang disusun oleh jaringan arenchyma yang mengandung sel-sel minyak dan butir tepung sebagai cadangan makanan. Keping biji alpukat berwarna putih kemerahan (Marsigit, 2016).

Gambar buah alpukat dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Biji Alpukat (Dok. Pribadi)

2.1.2 Klasifikasi Alpukat (*Persea americana* Mill.) (Dasuki, 1991)

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Laurales
Famili	: Lauraceae
Genus	: <i>Persea</i>
Spesies	: <i>Persea americana</i> Mill.

2.1.3 Biji Alpukat dan Potensinya sebagai Sumber Pati

Biji alpukat memiliki kandungan polifenol, flavonoid, triterpenoid, kuinon, saponin, tannin, monoterpenoid, dan seskuiterpenoid. Kandungan zat pati yang terdapat dalam biji alpukat cukup tinggi, yaitu sebesar 23% dengan persentase kadar pati yang berjumlah 80,1% (Winarti dan Purnomo, 2006) . Berikut ini komposisi fitokimia biji alpukat pada tabel 1.

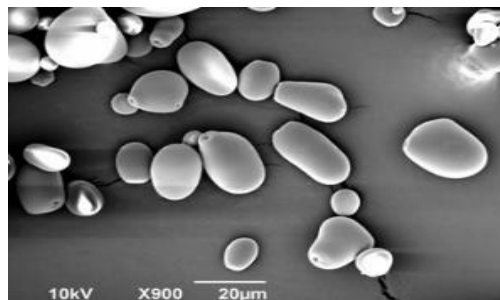
Tabel 1. Komposisi kimia biji alpukat

Komponen	Jumlah (%)	Komponen	Jumlah (%)
Kadar air	10,2	Lemak	tn
Kadar pati	80,1	Serat kasar	1,21
*Amilosa	43,3	Rendemen pati	21,3
*Amilopektin	37,7	Kehalusan granula	Halus
Protein	tn	Warna	Putih coklat

*Amilosa + amilopektin = pati ;

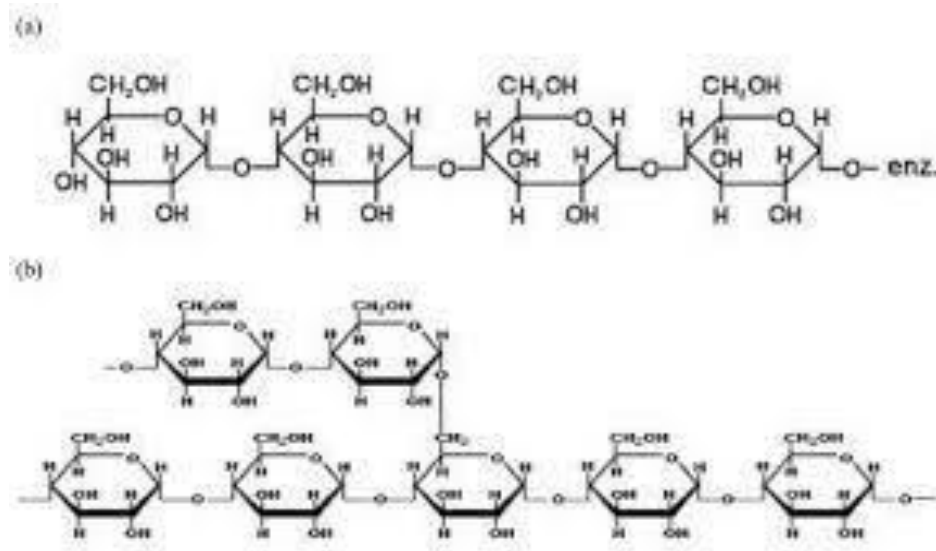
*tn = tidak dianalisa

Kandungan kadar pati yang cukup tinggi tersebut dapat dijadikan sebagai sumber pati alternatif. Morais *et al.* (2016) menginformasikan pati dari biji alpukat memiliki ukuran yang bervariasi dari 1,9-57,6 μm dan diameter 5-35 μm . Memiliki struktur kristal pati tipe B dengan kristalinitas 25,7%. Bentuknya oval dengan permukaan yang relatif halus, patinya tidak berlilin dan non-ionik. Biji alpukat yang difermentasi memiliki ukuran granula yang lebih besar dengan ukuran 17,8 μm . Pengolahan pati dari biji alpukat menghasilkan rendemen pati sebesar 42,2%, dan amilosa 21,5%. Pati biji alpukat termodifikasi pada suhu antara 72-85°C, waktu 4,22- 5,42 menit untuk menjalani gelatinisasi, sedangkan viskositasnya berkisar antara 157-390 Pa.s. Penampakan pati biji alpukat dibawah mikroskop SEM dapat dilihat pada gambar 2.

**Gambar 2.** Pati biji alpukat dengan SEM (Marcena *et al.*, 2020)

2.2 Pati Termodifikasi

Pati merupakan polisakarida yang tersusun atas 2 gluko-homopolisakarida amilosa dan amilopektin, dengan rumus kimia $C_6H_{10}O_5$. Amilosa dan amilopektin disusun oleh monomer α -D-glukosa yang berikatan satu sama lain melalui ikatan glikosidik. Amilopektin tersusun atas rantai cabang α -(1-4) dan rantai α -(1,6)-glukosidik, serta amilosa α -(1,4) glukosidik (Aulia *et al.*, 2021). Keduanya memiliki perbedaan pada bentuk percabangan struktur linier, ukuran molekul, ukuran derajat polimerisasi dan pengaturan posisi granula pati, serta sifat fisiknya. Amilosa bersifat lebih mudah larut dalam air dibandingkan amilopektin. Bila direaksikan dengan larutan iod amilosa membentuk warna biru tua, sedangkan amilopektin warna merah. Amilosa dan amilopektin berperan dalam menentukan karakteristik fisik, kimia dan fungsional pati. Amilosa berkontribusi terhadap karakteristik gel karena kehadiran amilosa berpengaruh terhadap pembentukan gel (Nisah, 2017). Berikut ini struktur amilosa dan amilopektin dalam jurnal Sari *et al.* (2020).



Gambar 3. Struktur (a) Amilosa (b) Amilopektin (Sari *et al.*, 2020)

Dalam meningkatkan kandungan pati secara alami yang masih terbatas dilakukan modifikasi pati. Pati modifikasi merupakan pati dengan diberi perlakuan tertentu untuk menghasilkan sifat yang lebih baik dari sifat sebelumnya, yaitu sifat fisiko - kimia dan fungsionalnya atau mengubah beberapa sifat lainnya.

Berdasarkan daya cernanya pati termodifikasi diklasifikasikan menjadi pati dicerna dengan cepat (*Rapidly Digestible Starch*), pati dicerna dengan lambat (*Slowly Digestible Starch*), dan pati resisten (*Resistant Starch*) (Morais *et al.*, 2016).

2.2.1 Pati Resisten

Pati resisten diartikan sebagai pati yang tidak dapat dicerna, disebabkan karena fraksi pati tidak dapat dicerna pada usus halus dan dengan cara parsial difermentasi di usus besar untuk menghasilkan *Short Chain Fatty Acid* (SCFA) dan produk-produk lainnya.

Pati resisten tidak bisa dihidrolisis oleh enzim pencernaan dalam usus kecil setelah 120 menit dicerna dan akan masuk ke usus besar untuk kemudian difermentasi oleh mikroflora usus. Pati resisten (RS) terbagi menjadi lima tipe berdasarkan asal dan cara proses pembuatannya, yaitu tipe RS1, RS2, RS3, RS4 dan RS5 (Włodarczyk & Ślizewska, 2021).

RS 1 yaitu pati yang diperoleh secara alamiah dan terperangkap dalam sel-sel tanaman dan matriks bahan pangan yang kaya pati seperti pada biji-bijian dan sereal. RS tipe 2 yaitu jenis pati secara alami sangat resisten terhadap enzim pencernaan. Bentuk granulanya kristalin. Umumnya RS 2 berasal dari bahan pangan yang dikonsumsi mentah seperti pisang dan kentang, serta pati jagung yang tinggi amilosa. RS 3 yaitu pati resisten hasil modifikasi secara fisik melalui proses retrogradasi melalui pemanasan autoklaf (121°C), *annealing*, dan

HMT (*Heat Moisture Treatment*). RS 4 yaitu pati yang dimodifikasi secara kimia seperti pati ester, pati eter atau pati ikatan silang. RS 5 yaitu pati resisten yang terbentuk oleh interaksi pati dengan asam lemak, sehingga amilosa membentuk kompleks heliks tunggal dengan asam lemak dan lemak alkohol. Pada beberapa tipe tersebut, RS 3 menjadi salah satu jenis RS yang paling banyak digunakan sebagai bahan baku fungsional berbasis RS. Hal ini karena RS 3 dapat mempertahankan organoleptiknya selama proses pengolahan pangan karena tahan terhadap panas (Włodarczyk & Ślizewska, 2021).

2.2.2 Manfaat Pati Resisten

Pati resisten memiliki sifat dan fungsi sebagai serat pangan, diantaranya rendah energi, dapat menurunkan indeks glikemik, menurunkan level kolesterol dalam darah dan menurunkan resiko kanker usus dengan memperbanyak produksi asam lemak rantai pendek, terutama asam butirat. Selain itu, pati resisten memiliki kelebihan dari prebiotik lain seperti oligosakarida (Fruktooligosakarida/FOS dan inulin), karena mampu mengikat dan mempertahankan kadar air dalam feses. Konsumsi pati resisten dalam jumlah besar dapat mencegah terjadinya sembelit dan menganjurkan konsumsi prebiotik karena dapat mengurangi kerja pankreas dalam mencerna kelebihan glukosa darah. Dilansir dari Aulia *et al.* (2021) pati resisten dapat memberi rasa kenyang lebih lama sehingga mampu mengendalikan asupan kalori agar tidak berlebihan. Alasan ini mendukung pati resisten sebagai bahan pangan untuk diet alami. FAO merekomendasikan konsumsi RS sebanyak 15–20 gram setiap hari untuk memperoleh manfaat bagi kesehatan.

2.3 Teknik Modifikasi untuk Peningkatan Pati Resisten

Kadar pati resisten dalam bahan pangan dapat ditingkatkan melalui berbagai metode fisik, kimia, radiasi gamma, metode genetik dan biologis. Terdapat beberapa teknik yang digunakan dalam meningkatkan kadar pati resisten diantaranya sebagai berikut:

2.3.1 Teknik Siklus Pemanasan Bertekanan dan Pendinginan

Metode fisik yang umum digunakan dalam modifikasi pati resisten adalah pemanasan bertekanan-pendinginan. Metode pemanasan bertekanan-pendinginan dilakukan dengan menggunakan autoklaf. Suhu yang diberikan berkisar 121-145°C dengan tekanan 1-3 atm. Pendinginan ditempuh untuk mempercepat proses retrogradasi . Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Ashwar *et al.* (2016) produksi pati resisten menggunakan metode fisik dilakukan dengan memasak campuran pati dan air dimana perbandingan pati dan air 1:4. Tekanan diberikan selama 30 menit pada suhu 121°C. Pasta pati yang diperoleh selanjutnya didinginkan dan disimpan pada suhu ruang 4°C selama 24 jam. Siklus pemanasan bertekanan-pendinginan dilakukan sebanyak 1–5 kali. Kemudian pasta pati tersebut dikeringkan dalam oven pada suhu 45°C lalu dihaluskan.

Proses pengulangan siklus pemanasan bertekanan-pendinginan bertujuan dalam pembentukan fraksi amilosa teretrogradasi atau terkristalisasi lebih banyak. Oleh karena itu, semakin banyak jumlah siklus pemanasan bertekanan pendinginan yang diterapkan maka akan semakin tinggi kadar pati resisten yang diperoleh. Pada hasil penelitian yang dilakukan oleh Ashwar *et al.* (2016) produksi pati resisten dari beras dengan teknik pemanasan bertekanan-pendinginan mengalami peningkatan yang cukup tinggi yaitu semula 4,42–10,94 % menjadi 30,31– 38,65 %. Sedangkan pada kadar pati resisten keladi

yang semula 1,25% naik menjadi 3,5 kalinya dengan 2 siklus hingga 4,38% (Wiadnyani *et al.*, 2017).

Pembentukan pati resisten pada teknik ini dipengaruhi oleh faktor konsentrasi pati dan suhu autoklaf. Konsentrasi suspensi pati dalam air optimum sebesar 20% (b/b) dengan suhu autoklaf 121°C.

Jika konsentrasi suspensi pati lebih kecil atau lebih besar dari 20% (b/b) maka kadar RS3 menurun. Selain itu, jumlah air yang ditambahkan dalam suspensi pati juga berpengaruh pada konsentrasi pati dalam proses pemanasan bertekanan-pendinginan dan menyebabkan kadar pati resisten berkurang. Hal ini disebabkan karena reasosiasi amilosa-amilosa dan amilosa-amilopektin menurun.

Teknik waktu pemanasan bertekanan-pendinginan memiliki keunggulan lebih mudah diaplikasikan. Tetapi, juga memiliki kelemahan yaitu memerlukan energi dalam bentuk kalor (panas) yang lebih besar, waktu relatif lama, dan biaya produksi yang tinggi. Hal ini menjadi alasan teknik waktu pemanasan bertekanan-pendinginan kurang tepat apabila diaplikasikan untuk industri skala kecil dan menengah. Sehingga diperlukan suatu strategi alternatif untuk meningkatkan kadar pati resisten dalam bahan pangan tetapi mampu mengurangi biaya produksi, besarnya energi, dan lamanya waktu produksi (Setiarto *et al.*, 2015).

2.3.2 Teknik Modifikasi RS dengan Perlakuan Hidrotermal

Perlakuan hidotermal merupakan metode fisik dengan prinsip menggunakan air dan panas untuk modifikasi pati. Perlakuan hidotermal terdiri dari metode *heat moisture treatment* (HMT) dan *annealing*. Metode HMT dilakukan dengan memberikan perlakuan panas dengan suhu melebihi suhu gelatinisasi (80–120 °C) dan jumlah air terbatas atau dibawah 35%. Sedangkan, metode *annealing* dilakukan

dengan jumlah air yang berlebih (>40%) dan suhu rendah dibawah suhu gelatinasi.

Perlakuan hidrotermal memiliki kelebihan pada karakteristik gelatinisasi pati diantaranya dapat meningkatkan suhu gelatinisasi, viskositas pasta pati, dan meningkatkan kecenderungan pati untuk mengalami retrogradasi (Hung *et al.*, 2015).

2.3.3 Teknik Kombinasi Fermentasi dan pemanasan bertekanan-pendinginan

Teknik modifikasi peningkatan pati resisten lainnya dapat ditempuh dengan perlakuan kombinasi fermentasi dan pemanasan bertekanan-pendinginan. Fermentasi dengan bakteri asam laktat (BAL) mampu memproduksi enzim amilase dan pululanase yang digunakan untuk meningkatkan kadar pati resisten. Kedua jenis enzim ini stabil pada suhu tinggi dan mengikat sisi aktif cabang terluar dari rantai glukosa. Pada enzim pululanase akan memutus ikatan rantai cabang α 1-6 glikosidik pada pullulan dan amilopektin, sedangkan amilase akan memutus ikatan cabang α 1-4 glikosidik pada rantai amilosa dan amilopektin. Proses ini menghasilkan amilosa rantai pendek sebagai bahan baku pati resisten. Semakin banyak polisakarida rantai pendek yang terbentuk, maka akan semakin meningkatkan kadar pati resisten yang dihasilkan melalui proses retrogradasi (Zhou *et al.*, 2014). Produksi kedua enzim ini dapat dihasilkan dari Bakteri Asam Laktat (BAL) seperti *Lactobacillus plantarum*, *L. fermentum*, *L. manihotivorans*, *L. amylophilus*, bakteri *Actinomyces*, dan dari jenis jamur (Asha *et al.*, 2013).

Pada proses fermentasi, bakteri akan mengeluarkan enzim sekaligus asam yang menyebabkan perubahan karakteristik pati. Degradasi pati terjadi karena pati menjadi sumber karbon yang dibutuhkan untuk

pertumbuhannya. Bakteri tersebut akan memproduksi enzim amilase-ekstraseluler yang memecah ikatan polimer pati menjadi lebih pendek, oligosakarida atau molekul gula sederhana (Nangin & Sutrisno, 2015). Perlakuan fermentasi ini bertujuan dalam upaya mengurangi jumlah siklus pemanasan bertekanan-pendinginan. Kombinasi kedua teknik ini telah banyak dilakukan dan terbukti dapat meningkatkan kadar pati resisten.

Dalam penelitian yang telah dilakukan oleh Setiarto dan Widhyastuti (2017) pada tepung ubi jalar ungu dihasilkan perlakuan *autoclaving cooling* (AC) 1 siklus meningkatkan kadar pati resisten sebesar (5,19 %), dengan 2,46 kali lipat daripada kontrol (2,11 %). Pada AC-2S meningkat (8,78 %) dan AC-3S (10,36 %). Sementara perlakuan dengan kombinasi fermentasi 1 siklus *autoclaving-cooling* (FAC-1S) menghasilkan kadar pati resisten tertinggi (11,26 %) sebesar 5,34 kali lipat dibandingkan kontrol (2,11 %). Pada perlakuan FAC-2S meningkat sebesar (10,75 %). Berdasarkan hal tersebut membuktikan bahwa pada perlakuan FAC-1S dapat mengurangi jumlah siklus pemanasan bertekanan-pendinginan dengan tetap meningkatkan kadar RS tepung ubi jalar.

Modifikasi ini dipengaruhi oleh faktor lama waktu fermentasi, strain bakteri, aktivitas amilase atau pululanase yang dihasilkan oleh mikroba, jumlah inokulum starter yang ditambahkan, suhu dan waktu pemanasan (*autoclaving*), serta suhu dan waktu pendinginan (*cooling*).

Peningkatan kadar pati resisten dari berbagai bahan pangan dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Teknik modifikasi peningkatan pati resisten pada berbagai bahan pangan

Bahan Pangan	Teknik Modifikasi	Kadar RS tertinggi	Referensi
Tepung uwi	Fermentasi <i>L. plantarum</i> (24 jam) dan 3 siklus <i>autoclaving-cooling</i>	5,48%	Winarti <i>et al.</i> (2019)
Pisang tanduk	Fermentasi kultur campuran <i>L. plantarum</i> kik dan <i>L. fermentum</i> 2B4 (72 jam) dengan 1 siklus <i>autoclaving-cooling</i>	12,99-13,71%	Jenie <i>et al.</i> (2012)
Ubi jalar ungu	Fermentasi <i>Leuconostoc mesenteroides</i> SU-LS 67 : <i>Lactobacillus plantarum</i> B307) dengan 1 siklus pemanasan bertekanan-pendinginan	11,26 %	Setiarto <i>et al.</i> (2017)
	Fermentasi	2,45%	
	3 siklus pemanasan bertekanan-pendinginan	10,36%	
Pati keladi	1 siklus pemanasan bertekanan-pendinginan	3,63%	Wiadnyani <i>et al.</i> (2017)
	2 siklus pemanasan bertekanan-pendinginan	4,38%	
Tepung singkong	3 siklus pemanasan bertekanan-pendinginan	11,5%	Setiarto <i>et al.</i> (2018)
	Fermentasi	3,9 %	
	Fermentasi <i>Leuconostoc mesenteroides</i> SU-LS 67 : <i>Lactobacillus plantarum</i> B307) dengan 2 siklus pemanasan bertekanan-pendinginan	12,5%	

2.4 *Actinomycetes* sebagai Penghasil Amilase

Actinomycetes termasuk bakteri bersifat Gram positif yang memiliki struktur berupa filament lembut yang disebut hifa layaknya yang terdapat pada fungi, memiliki konidia pada hifa yang menegak. Hifa tersusun bercabang dan agak panjang dengan diameter 0,5-1,0 μ . *Actinomycetes* umumnya tidak toleran terhadap asam dan jumlahnya menurun pada pH 5,0. pH yang cocok digunakan untuk pertumbuhan *Actinomycetes* yaitu antara 6,5 dan 8,0 (Nurkanto dan Agusta, 2015).

Keberadaan *Actinomycetes* berlimpah dan memiliki karakteristik unik di ekosistem darat maupun laut. Kelas Actinobacteria memiliki 6 ordo, 46 famili dan 202 genus, dan jumlah spesies yang telah ditemukan sebanyak 2.335. Secara umum, *actinomycetes* dibedakan menjadi dua kelompok, yaitu *Streptomyces* dan *rare-actinomycetes*. *Rare-actinomycetes* merupakan istilah untuk menyebut genus selain *Streptomyces* (Nurkanto dan Agusta, 2015).

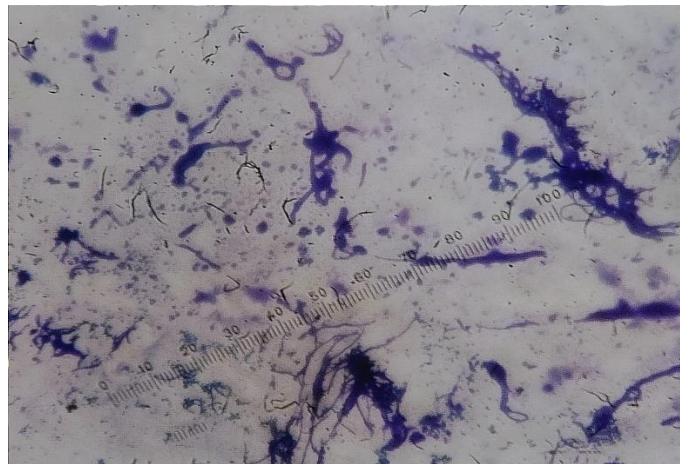
2.4.1 Morfologi *Streptomyces* sp.

Genus *Streptomyces* termasuk jumlah terbanyak di tanah dari *actinomycetes* lainnya karena mampu memanfaatkan kitin sebagai sumber karbon dan nitrogen. Produksi *Streptomyces* telah banyak dilakukan sebagai penghasil senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antibiotik (Bleomisin, Eritromisin, Josamisin, Kanamisin, Neomisin, dan Tetrasiklin), penghasil enzim, dan sebagai immunodulator (Fathurahman, 2019).

Pada produksi enzim sendiri *Streptomyces* mampu menghasilkan jenis enzim komersial salah satunya yaitu enzim amilase yang digunakan untuk mendegradasi pati. Berdasarkan literatur, *Streptomyces* penghasil enzim amilase yang menjanjikan adalah galur *Streptomyces*

hygroscopicus dan *Streptomyces praecox*. Kedua bakteri tersebut sudah digunakan dalam industri pada pembuatan sirup dengan kadar maltosa yang tinggi (Fathurahman, 2019).

Bila ditinjau dari koloninya, *Streptomyces* memiliki koloni kecil dengan diameter 1-10 nm, terpisah-pisah seperti liken, kulit atau butirus (memiliki konsistensi mirip mentega). Bagian permukaan berserabut, lembut, berduri atau berkerut, warna spora yaitu berwarna putih, abu-abu, kuning, hijau, atau violet. Bentuk rantai spora flexous atau spira. *Streptomyces* tumbuh pada suhu 25-35 °C dan pH 6.5-8.0 (Fardiyanti *et al.*, 2021). Berikut ini morfologi *Streptomyces* sp. AB 8 secara makroskopis.



Gambar 4. Morfologi *Streptomyces* AB 8 perbesaran 1000x (Dok. Pribadi)

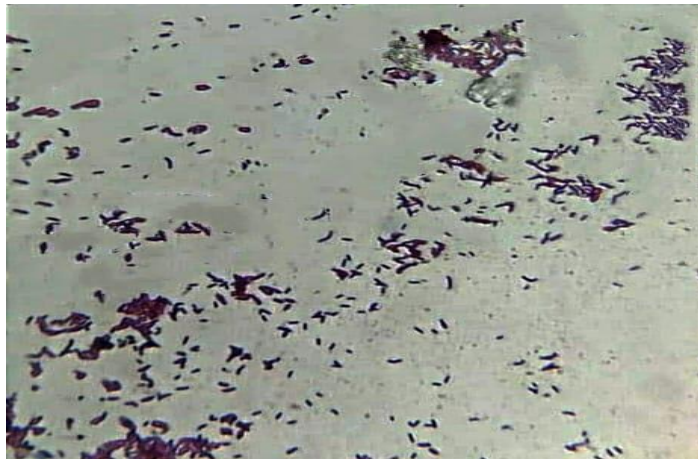
2.4.2 Klasifikasi *Streptomyces* sp.

Klasifikasi *Streptomyces* sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Actinobacteria
Kelas	: Actinomycetes
Ordo	: Actinomycetales
Famili	: Streptomycetaceae
Genus	: <i>Streptomyces</i>
Spesies	: <i>Streptomyces</i> sp. (Waksman dan Henrici, 1943)

2.5 Bakteri *Lactobacillus* sp.

Lactobacillus merupakan salah satu kelompok bakteri asam laktat (BAL) yang banyak digunakan sebagai bakteri probiotik. Penggunaan yang disertai dengan prebiotik akan menjadi substrat bagi pertumbuhan *Lactobacillus*. Ciri-ciri bakteri ini yaitu termasuk Gram positif, bersifat anaerob fakultatif, tidak berspora berbentuk batang pendek dengan panjang 3-8 nm dan lebar 0,9-1,2 nm, berwarna putih abu-abu sedikit kekuningan, dan hidup pada suhu 15-37 °C pada pH 3,0-4,6 (**Gambar 4**). *Lactobacillus* dapat memproduksi asam laktat dengan cara memfermentasi karbohidrat



Gambar 5. Morfologi *Lactobacillus* sp. perbesaran 100X
(Sumber: Dok. Pribadi)

Berdasarkan sifatnya *Lactobacillus* sp. dikelompokkan sebagai berikut:

1. *Lactobacillus* sp. homofermentatif, yaitu jenis *lactobacillus* yang menghasilkan asam laktat murni hampir 90%. Spesies dari kelompok ini diantaranya *L. Lactis*, *L. Bulgaricus*, *L. helveticus*, *L. Acidophilus*, *L. casei*, dan *L. Plantarum*.
2. *Lactobacillus* sp. heterofermentatif, yaitu jenis *lactobacillus* yang memproduksi satu molekul asam laktat dan satu molekul etanol serta satu molekul karbon dioksida. Spesies dari kelompok ini diantaranya *L. fermentum*, *L. brevis*, *L. bucheri* dan *L. Viridences* (Wardinal, 2019).

Berikut ini klasifikasi *Lactobacillus* sp. dikutip dari jurnal Wardinal, (2019)

Kerajaan	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacili
Ordo	: Lactobacillales
Famili	: Lactobacillaceae
Genus	: <i>Lactobacillus</i>
Spesies	: <i>Lactobacillus</i> sp.

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April-Agustus 2022 di Laboratorium Mikrobiologi dan Botani, Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu tabung reaksi, cawan petri, gelas ukur, erlenmeyer, labu ukur, jarum ose, pisau, baskom, sendok, autoklaf (ALP KT-30LDP), oven (Heraeus), inkubator (Heraeus), bunsen, *hot plate*, corong, pipet tetes, neraca analitik, pipet volumetri, bulb, kertas saring, blender (Phillips), saringan, *shaker* inkubator, sentrifuge, *waterbath*, kulkas (Sharp), mortar, mikroskop, gelas objek, *cover glass*, pH meter, *biosafety cabinet*, dan spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu corp).

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu biji alpukat, aquades, alkohol, MRSA (De Mann Rogosa Sharpe Agar) (Komposisi dari setiap liter MRSA yaitu 0,04 gram manganese sulfat, 0,2 gram magnesium sulfat, 1 gram tween 80, 2 gram ammonium-hydrogencitrat, 2 gram dikalium hydrogen phosphate, 4 gram ekstrak yeast, 5 gram sodium acetate, 10 gram pep ton kasein, 14 gram agar-agar, 20 gram D (+)-glucose, dan 10 gram ekstrak daging), air, NaCl, *Starch soluble*, K_2HPO_4 , $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, $(NH_4)_2SO_4$, $CaCO_3$, Agar, glukosa, NaOH, HCL, enzim α -amilase, enzim

protease, enzim amiloglukosidase, buffer fosfat pH 6.0, etanol 80%, KOH 4 M, buffer asetat pH 4.75, amilosa murni, asam asetat, asam sulfat, larutan iod, KI (larutan iod dibuat dengan cara 0,2 g I₂ dan 2,0 g KI) dilarutkan dalam 100 mL aquades), isolat *Streptomyces* sp. AB 8, dan isolat *Lactobacillus* sp.

3.3 Metodologi Penelitian

Penelitian ini digunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) terdiri dari 3 perlakuan fermentasi oleh bakteri *Streptomyces* sp. AB 8 dan variasi siklus pemanasan bertekanan- pendinginan, dan 1 perlakuan tanpa difermentasi dan pemanasan bertekanan-pendinginan sebagai kontrol. Biji alpukat yang telah melalui tahap fermentasi oleh bakteri *Streptomyces* sp. AB 8 dan siklus pemanasan bertekanan- pendinginan, lalu dianalisis kadar amilosa dan amilopektin, serta kadar pati resisten dengan spektrofotometer UV-VIS. Prinsip analisis kadar pati resisten pada penelitian ini, didasarkan pada glukosa hasil hidrolisis pati oleh enzim –enzim pencernaan yang direaksikan dengan reagen DNS. Kemudian dihitung dalam rumus kadar pati resisten. Untuk mengetahui uji ceran pati resisten dihitung dengan indeks enzimatik dari zona jernih yang terbentuk. Berikut rancangan percobaan dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Rancangan penelitian

Perlakuan	Keterangan
S0	Pati biji alpukat alami tanpa fermentasi dan pemanasan bertekanan- pendinginan (kontrol)
S1	Pati difermentasi <i>Streptomyces</i> sp. AB 8 dengan 1 siklus pemanasan bertekanan- pendinginan
S2	Pati difermentasi <i>Streptomyces</i> sp. AB 8 dengan 2 siklus pemanasan bertekanan-pendinginan
S3	Pati difermentasi <i>Streptomyces</i> sp. AB 8 dengan 3 siklus pemanasan bertekanan-pendinginan

Data hasil penelitian dianalisis dengan ANOVA menggunakan aplikasi IBM SPSS Statistic 20 dengan taraf kepercayaan 5% ($P=0,05$). Apabila data diketahui berbeda nyata, maka dilakukan uji lanjut menggunakan uji lanjut Duncan pada aplikasi yang sama. Serta data yang diperoleh disajikan dalam bentuk gambar dan tabel lalu dibahas secara deskriptif.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini mengacu pada metode Setiarto *et al.* (2018) yang dimodifikasi. Berikut tahapan metode pelaksanaan penelitian:

3.4.1 Tahap 1: *Pretreatment* Biji Alpukat

Biji alpukat yang digunakan dikumpulkan dari pedagang jus buah di Bandar Lampung dan sekitarnya. Setelah biji alpukat terkumpul, biji alpukat dikupas kulit cangkangnya yang berwarna coklat. Kemudian dilakukan sortasi antara biji yang baik dan yang telah rusak. Biji yang telah disortasi selanjutnya dicuci bersih dengan air. Pencucian bertujuan untuk menghilangkan kotoran dan sisa-sisa daging buah yang masih menempel pada biji. Kemudian biji alpukat di iris-iris dengan ketebalan ± 5 mm berbentuk *chips*. Selanjutnya irisan biji direndam dalam larutan NaCl 1% selama 24 jam untuk menghilangkan kandungan tanin dan menghindari kecoklatan. Setelah proses perendaman, irisan biji dicuci bersih dengan air mengalir dan ditiriskan. Di dapatkan irisan biji alpukat. Selanjutnya dilanjutkan pada tahap berikutnya yaitu proses fermentasi.

3.4.2 Tahap 2: Perlakuan Fermentasi oleh *Streptomyces* sp. AB 8

a. Pembuatan media ISP 4

Peremajaan dan persiapan kultur *Streptomyces* sp. AB 8 digunakan media ISP 4. Komposisi tiap 100 ml media ISP 4 terdiri dari 1 gram *Starch soluble*, 0,1 gram K_2HPO_4 , 0,1 gram $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,1 gram NaCl, 0,2 gram $(NH_4)_2SO_4$, 0,2 gram $CaCO_3$, 2 gram agar, dan 100 ml aquades. Bahan-bahan tersebut dimasukkan kedalam *beaker glass*, dan dihomogenkan pada *hot plate*.

Selanjutnya media tersebut dipindahkan ke dalam Erlenmeyer steril dan disterilisasi dengan autoklaf selama 15 menit. Media ISP 4 yang telah di sterilisasi dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 4 ml. Kemudian tabung reaksi dimiringkan untuk membuat media agar miring, dan didiamkan hingga memadat

b. Peremajaan inokulum *Streptomyces* sp. AB 8

Sebanyak 1 ose isolat *Streptomyces* sp. AB 8 diambil, lalu di gores di media agar miring ISP 4. Inokulum diinkubasi dalam suhu ruang selama 4-7 hari.

c. Kultur bakteri *Streptomyces* sp. AB 8

Dibuat kultur cair *Streptomyces* sp. AB 8 dengan cara sebanyak 1 ose isolat *Streptomyces* sp. AB 8 diambil dimasukkan ke dalam erlenmeyer berisi media ISP 4 100 ml. Selanjutnya isolat dinkubasi pada inkubator *shaker* selama 4-7 hari.

d. Tahap fermentasi biji alpukat oleh *Streptomyces* sp. AB 8

Setelah mendapatkan kultur *Streptomyces* sp. AB 8 dalam bentuk granul, selanjutnya dilakukan proses fermentasi. Irisan biji alpukat hasil *pretreatment* ditimbang sebanyak 200 gram pada masing-

masing perlakuan, lalu dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer yang telah berisi aquades steril 500 ml. Kemudian ditambahkan kultur *Streptomyces* sp. AB 8 sebanyak 1%. Fermentasi dilakukan di *shaker inkubator* selama 24 jam. Setelah fermentasi selesai, cairan fermentasi dipisahkan dan dihasilkan irisan biji alpukat terfermentasi.

3.4.3 Tahap 3: Pemanasan Bertekanan-Pendinginan (*Autoclaving-Cooling*)

Irisan biji alpukat hasil fermentasi selanjutnya dipanaskan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan rasio irisan: aquades 1:2. Setelah itu, didiamkan pada suhu ruang selama 1 jam hingga mencapai suhu ruang. Kemudian dilanjutkan dengan pendinginan di kulkas selama 24 jam yang bertujuan untuk retrogradasi. Proses pemanasan hingga pendinginan diulangi sebanyak 1 kali untuk 2 siklus pemanasan bertekanan-pendinginan, dan 2 kali pengulangan untuk 3 siklus pemanasan bertekanan-pendinginan. Selanjutnya, cairan irisan hasil *autoclaf-cooling* dibuang dan irisan biji alpukat dikeringkan di oven pada suhu 60°C selama 24 jam. Setelah kering, irisan biji kemudian dihaluskan menggunakan blender di dapatkan serbuk biji alpukat. Selanjutnya dilakukan analisis sampel.

3.4.4 Analisis Sampel

3.4.4.1 Analisis Kadar Amilosa dan Amilopektin

Penelitian ini ditempuh mengacu pada Haryo *et al.* (2018) dengan tahapan sebagai berikut.

a. Pembuatan kurva standar amilosa

Ditimbang sebanyak 40,0 mg amilosa murni lalu dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL. Kemudian ditambahkan 1,0 mL etanol

95% dan 9,0 mL larutan NaOH 1 N. Selanjutnya labu takar dipanaskan di *waterbath* pada suhu 95 °C selama 10 menit. Larutan didinginkan, setelah itu endapan amilosa yang terbentuk ditambah aquades hingga tanda tera dan dikocok. Larutan tersebut digunakan sebagai larutan stok amilosa standar.

Larutan stok amilosa yang telah dibuat, diambil sebanyak 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; dan 5,0 mL masing-masing ditempatkan dalam labu takar 100 mL. Kemudian pada larutan tersebut ditambahkan 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; dan 1,0 mL larutan asam asetat 1 N. Setelah itu ditambahkan larutan iod sebanyak 2,0 ml. Lalu pada masing-masing larutan ditambahkan aquades hingga tanda tera dan didiamkan selama 20 menit. Selanjutnya setiap larutan dipindahkan dalam kuvet untuk diukur nilai absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 625 nm. Hasil pengukuran absorbansi dibuat kurva standar antara konsentrasi amilosa (sumbu x) dan nilai absorbansi amilosa (sumbu y), sehingga diperoleh persamaan garis regresi $y = a+bx$

b. Analisis kadar amilosa

Di siapkan 4 buah labu takar 100 ml, kemudian pada masing-masing labu takar dimasukkan sampel serbuk biji alpukat yang telah dimodifikasi sebanyak 100 mg. Lalu ditambahkan 1 ml etanol 95% dan 9 ml NaOH 1 N, dan dikocok hingga larut. Larutan dipanaskan dalam *waterbath* pada suhu 95% selama 10 menit. Setelah itu, ditambahkan aquades hingga tanda tera, lalu dikocok hingga homogen. Larutan tersebut disebut sebagai larutan sampel stok.

Larutan stok dipipet sebanyak 5 ml dan ditempatkan pada labu takar 100 ml. Kemudian ditambahkan 1 ml asam asetat 1 N dan 2

ml larutan iod, lalu dihomogenkan. Setelah itu ditambahkan aquades hingga tanda tera. Larutan dipindahkan dalam kuvet dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 625 nm. Kadar amilosa stok ditentukan dengan menggunakan persamaan kurva standar larutan amilosa. Lalu dihitung menggunakan rumus berikut:

$$\text{Kadar amilosa total(\%)} = \frac{\text{Kadar amilosa (mg/ml)}}{\text{bobot sampel (mg)}} \times \text{FP} \times 100$$

$$\text{Kadar Amilopektin (\%)} = 100\% - \text{Kadar Amilosa (\%)}$$

3.4.4.3 Analisis Kadar Pati Resisten

Penelitian ini dilaksanakan menggunakan metode yang bersumber dari Haryo *et al.*, (2018) dengan tahapan sebagai berikut:

a. Pembuatan kurva standar glukosa

Pembuatan kurva standar glukosa digunakan dengan uji DNS (Miller, 1959) sebanyak 200 mg glukosa dimasukkan dalam labu takar 100 ml dan dilarutkan dengan aquades hingga tanda tera, lalu dihomogenkan. Kemudian larutan glukosa dibuat konsentrasi 0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 dan 2,5 mg/mL dan ditambah aquades hingga 5 ml. Lalu ditambah pereaksi DNS sebanyak 2 ml. Larutan tersebut dipanaskan dalam penangas air pada suhu 100 °C selama 15 menit. Larutan kemudian didiamkan dalam air dingin sekitar 10 menit, lalu dipindahkan dalam kuvet. Selanjutnya diukur nilai absorbansinya pada panjang gelombang 540 nm. Lalu dibuat kurva standar glukosa antara konsentrasi larutan glukosa (pada sumbu x) dan absorbansi (pada sumbu y),

sehingga diperoleh persamaan garis regresi $y = a+bx$ untuk mengetahui nilai a dan b , yang selanjutnya digunakan untuk menghitung kadar pati resisten.

b. Persiapan sampel

Sampel serbuk biji alpukat ditimbang masing-masing sebanyak 500 mg dan ditempatkan pada erlenmeyer 100 ml. Kemudian ditambah 25 ml buffer fosfat pH 6, dan diaduk hingga larut. Setelah itu, larutan ditambah 0,2 mL enzim α -amilase. Setelah dihomogenkan sampel diinkubasi dalam waterbath pada suhu 95°C selama 30 menit dan diaduk perlahan setiap 5 menit sekali. Sampel didinginkan hingga mencapai suhu ruang, lalu pH diatur dengan ditambah larutan HCl 0,275 M hingga pH 5. Sampel ditambah 30 μ L enzim amiloglukosidase lalu diinkubasi pada waterbath suhu 60°C selama 30 menit, dan didinginkan hingga suhu ruang. pH larutan diatur menjadi pH 7 dengan ditambah NaOH 0,325 M.. Selanjutnya larutan ditambah enzim protease sebanyak 50 μ L (40 mg protease/50 mL buffer fosfat pH 6.0), lalu diinkubasi kembali di waterbath dengan suhu 60°C selama 30 menit.

Selanjutnya masing-masing sampel dipindahkan dalam tabung reaksi dan disentrifuse 3000 rpm selama 10 menit. Hasil sentrifuse bagian pelet dan supernatan dipisahkan. Lalu pelet dicuci dengan etanol 80% dan aquades. Kemudian ditambah aquades 1 ml dan di panaskan pada penangas air suhu 100 °C selama 20 menit sambil dikocok perlahan. Setelah inkubasi selesai, ditambah KOH 4 M sebanyak 1 ml dan dihomogenkan. Larutan dibiarkan dalam suhu ruang selama 30 menit. Kemudian dipipet 1 ml buffer

asetat pH 4,75 (0,4 M), lalu ditambah HCl 2 M hingga pH 5. Setelah itu, ditambah 60 μ L amiloglukosidase dan dimasukkan dalam waterbath suhu 60°C selama 30 menit. Kemudian larutan disentrifuse kembali selama 30 menit. Bagian supernatan dipisahkan dan ditempatkan hingga 10 mL yang disebut dengan larutan stok.

c. Analisis kadar pati resisten

Supernatan stok sampel pati resisten biji alpukat yang telah diencerkan dengan aquades hingga 100 ml. Kemudian diambil 1 ml, dan ditambah 5 ml pereaksi DNS. Lalu dimasukkan dalam penangas air suhu 100 °C selama 15 menit. Setelah itu didiamkan dalam air dingin sekitar 10 menit, lalu dipindahkan dalam kuvet. Selanjutnya diukur nilai absorbansinya pada panjang gelombang 540 nm.

Kadar pati resisten ditentukan berdasarkan kurva standar glukosa yang diperoleh dari plot kadar glukosa pati biji alpukat dan absorbansi larutan glukosa murni hasil pengukuran spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm dengan uji DNS, sehingga diperoleh suatu persamaan regresi linear yang selanjutnya digunakan dalam penentuan kadar pati resisten pada sampel. Kadar pati resisten dihitung dengan mengalikan kadar total gula dengan faktor 0,9
Kadar pati resisten (% bk) dihitung dengan rumus berikut:

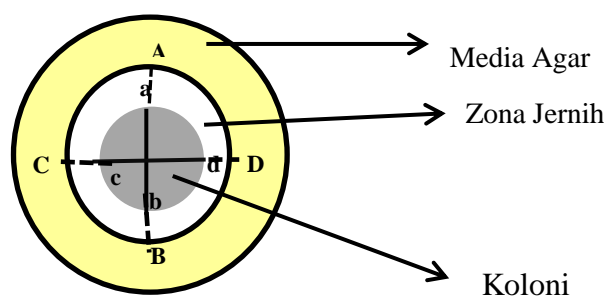
$$\text{Kadar pati resisten (\%)} = \frac{\text{Kadar glukosa (mg/ml)}}{\text{Bobot sampel (mg)}} \times \text{volume sampel (ml)} \times \text{FP} \times 0,9 \times 100\%$$

3.4.4.4 Uji Kemampuan Cerna Pati Resisten oleh *Lactobacillus* sp.

Serbuk biji alpukat hasil tahap pemanasan bertekanan-pendinginan selanjutnya di uji kemampuan cernanya oleh *Lactobacillus* sp. Metode uji cerna mengacu pada jurnal Qatrunada *et al.*, (2021). Serbuk pati resisten biji alpukat sebanyak 1% dari jumlah media MRSA ditambahkan sebagai substrat amilum, lalu dihomogenkan di atas *hot plate*. Kemudian dituangkan pada cawan petri steril hingga memadat. Setelah itu, 1 ose isolat *Lactobacillus* sp. diinokulasikan pada tengah cawan petri dengan metode titik. Kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Setelah masa inkubasi, media disiram dengan larutan lugol selama 15 menit, kemudian dibilas dengan larutan NaCl 1M. Kemampuan cerna dari pati resisten oleh *Lactobacillus* sp. ditandai dengan adanya zona jernih disekitar koloni.

Selanjutnya luas zona jernih yang terlihat dihitung menggunakan menggunakan rumus berikut ini:

$$\text{Diameter zona bening} = \frac{(D_v - D_c) + (D_h - D_c)}{2}$$



Keterangan:

AB (Dv): Diameter vertikal

CD (Dh): Diameter horizontal

ab atau cd (Dc): Diameter koloni

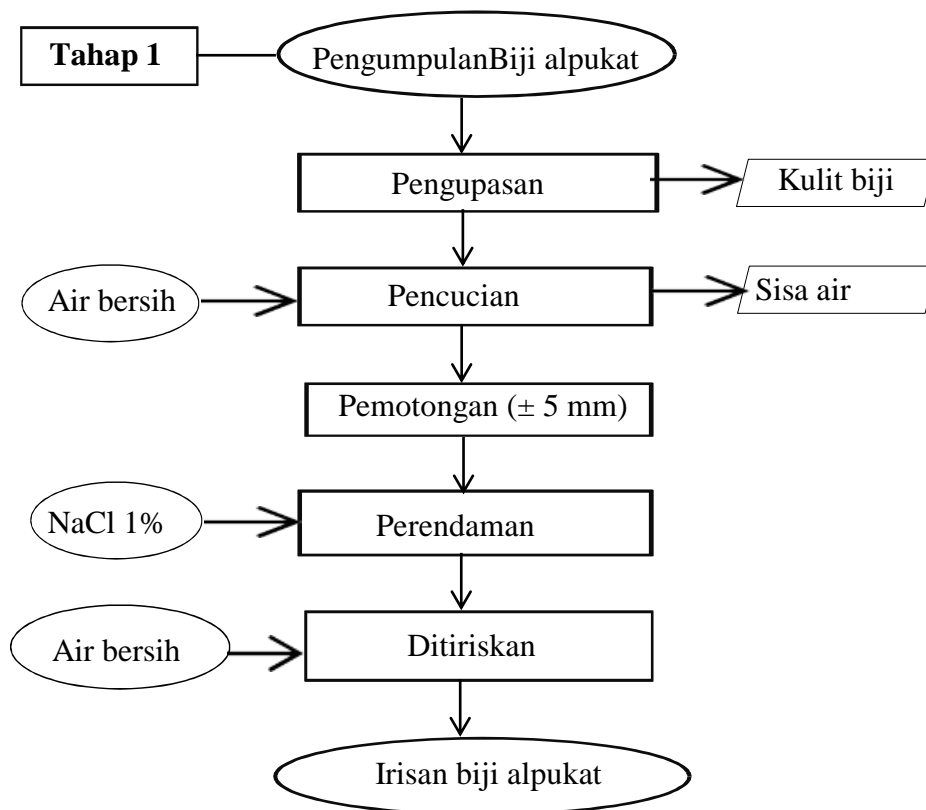
Perhitungan Indeks Enzimatik

Pada penentuan indeks enzimatik dihitung menggunakan rumus sebagai berikut (Rosa *et al.*, 2020).

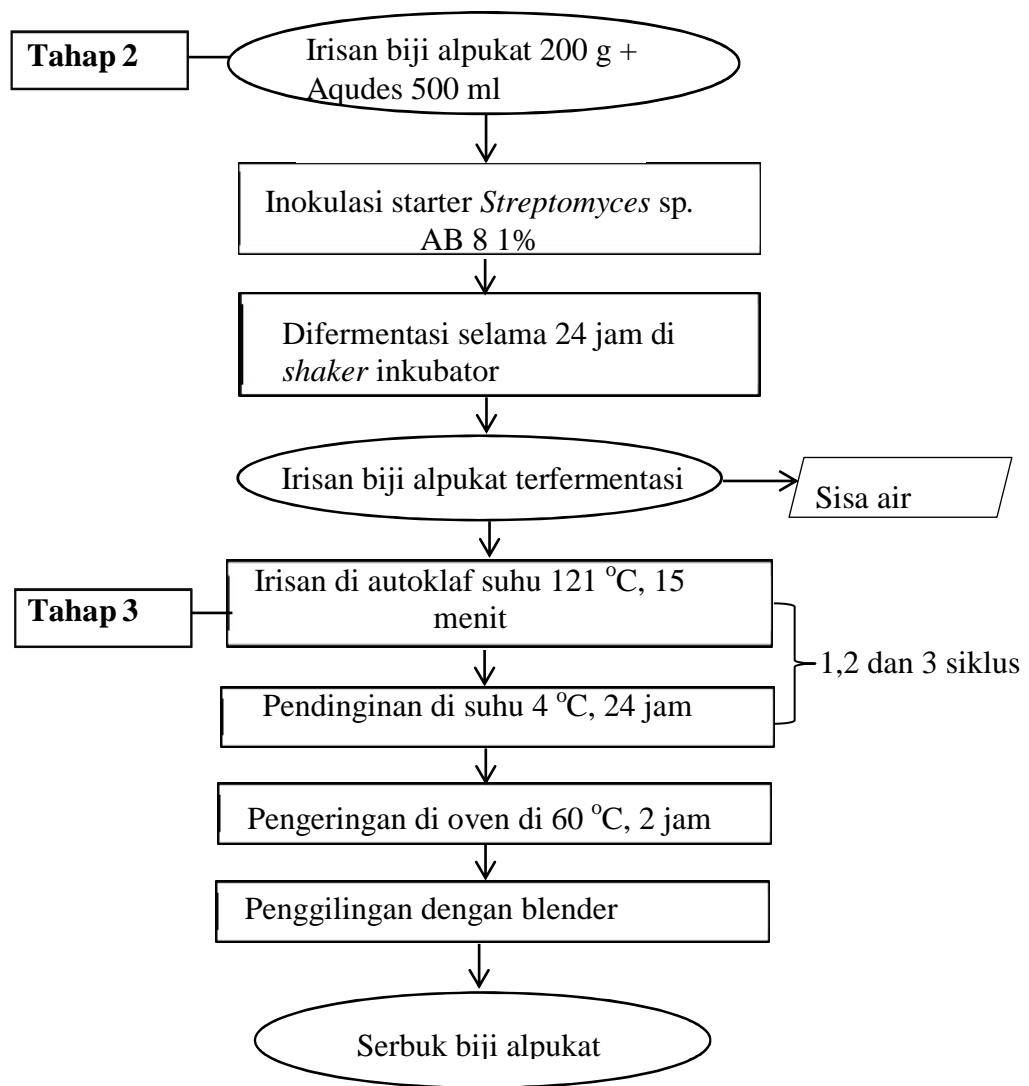
$$IE = \frac{\text{Diameter zona jernih} - \text{Diameter koloni}}{\text{Diameter koloni}}$$

3.6 Diagram Alir Penelitian

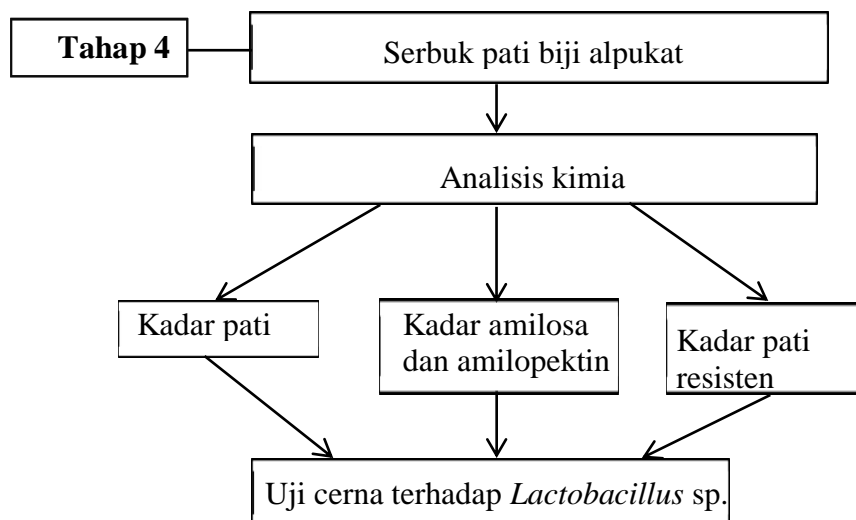
Metode penelitian secara umum disajikan dalam diagram alir berikut :

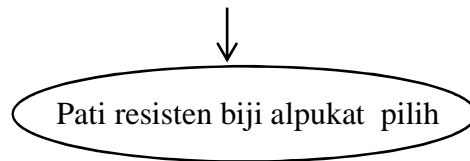


Gambar 6. Diagram alir *pretreatment*



Gambar 7. Tahap produksi pati resisten





Gambar 8. Analisis Kimia pati biji alpukat

Tahapan pembuatan pati resisten biji alpukat juga dapat dilihat pada gambar 9 dibawah ini.



V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa perlakuan kombinasi fermentasi, pemanasan bertekanan-pendinginan menunjukkan adanya peningkatan pati resisten dibandingkan dengan kontrol, serta nilai IE S1 dan S2 lebih baik dibandingkan dengan S3 dan S0. Namun dari segi ekonomis dan waktu yang digunakan tentu dalam menghasilkan pati resisten perlakuan pemanasan bertekanan-pendinginan dengan 1 kali siklus lebih efektif dan efisien dibandingkan dari S2. Walaupun secara statistik sama. Baik dari pati resisten yang dihasilkan maupun uji cerna.

5.2 Saran

Saran untuk penelitian selanjutnya masih perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk melengkapi informasi ilmiah pati resisten biji alpukat terkait dengan karakteristik pati biji alpukat, kandungan-kandungan pati resisten biji alpukat yang lainnya, pengujian sifat prebiotiknya, serta dilakukan uji pati resisten pada mencit.

DAFTAR PUSTAKA

- Arifiyanto, A., Setyaningrum, E., Nukmal, N., & Aeny, T. N. U. R. (2021). Short Communication : In vitro antimicrobial and antimalarial screening of a crude extract of *Streptomyces* sp . AB8 isolated from Lapindo Mud Volcano Area , Sidoarjo , Indonesia. *BIODERVISITAS*, 22(7), 2817–2823.
<https://doi.org/10.13057/biodiv/d220731>
- Asha R, Niyonzima FN, S. S. (2013). Purification and Properties of Pullulanase from *Bacillus halodurans*. *International Research Journal of Biological Sciences*, 2(3), 35–43.
- Ashwar, B. A., Gani, A., Wani, I. A., Shah, A., Masoodi, F. A., & Saxena, D. C. (2016). Production of resistant starch from rice by dual autoclaving-retrogradation treatment: Invitro digestibility, thermal and structural characterization. *Food Hydrocolloids*, 56, 108–117.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.12.004>.
- Aulia, V., Pachira, P., Olvi, M., & Simamora, C. J. K. (2021). Nipah Resistant Starch (*Nypa fruticans*): Modulation of Normal Microflora of Digestion, and Control of Diabetes. *Bioeduscience*, 5(3), 224–233.
<https://doi.org/10.22236/j.bes/536899>
- Fardiyanti, R., Kasrina, dan Bustaman, H. (2021). Ragam Jenis *Streptomyces* sp. Pada Rizosfer Tanaman Suku Liliaceae di Kawasan Desa Sumber Bening, Rejang Lebong, Bengkulu. *Journal Unib*, 17(1), 29–34.
- Fathurahman, A. T. (2019). Actinobacteria : Sumber Biokatalis Baru yang Potensial. *BioTrends*, 10(1).
- Fitriani, Z.A., Dieny, F.F., Margawati, A. and Jauharany, F. F. (2021). Alternative Snack for Individuals With Diabetes Mellitus. *Food Research*, 5(1), 394–400.
- Goñi L, García-Díaz L, Mañas E, S.-C. F. (1996). Analysis of Resistant Starch : A Method for Food and Food Products. Elsevier Science Ltd. *Elsevier Science Ltd*, 56(4), 445–449.
- Hung, P. Van, Lam, N., Thi, N., & Phi, L. (2015). Resistant starch improvement

of rice starches under a combination of acid and heat-moisture treatments. *FOOD CHEMISTRY*, 191, 67–73.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.02.002>

- Janice, J. and J. (2018). Morphological characteristics of avocado (*Persea americana* Mill.). *African Journal of Plant Science*, 12(4), 88–97.
- Jenie, B.S.L., Reski, P.P. & Kusnandar, F. (2012). Fermentasi Kultur Campuran Bakteri Asam Laktat dan Pemanasan Otoklaf dalam Meningkatkan Kadar Pati Resisten dan Sifat Fungsional Tepung Pisang Tanduk (*Musa parasidiaca* formatypica). *Jurnal Pascapanen*, 9(1), 18–26.
- Lapu, P., & Telussa, I. (2013). Analyzed The Resistent Starch Content Of Some Types Of Sago Starch In Embarassment With Heating Temperature Variations. *Ind. J. Chem. Res.*, 1, 6–14.
- Li, H., Zhang, W., Zhu, H., Chao, C., & Guo, Q. (2023). Unlocking the Potential of High-Amylose Starch for Gut Health : Not All Function the Same. *Fermentation*, 9(134), 1–17.
- Marcena, J., Cardoso, J., Souza, A., Camilloto, G., & Cruz, R. (2020). Physico-chemical, morphological and technological properties of the avocado (. *Food Science and Technology*, 44(1), 1420.
- Marsigit, W. (2016). Karakteristik Morfometrik, Proporsi, Kandungan Fenol Total dan Profil Fenol Daging Buah, Biji, Kulit Alpukat (*Persea americana*, Mill) Varietas Ijo Panjang dan Ijo Bundar. *Jurnal Agroindustri*, 6(1), 18–27.
- Martens, B. M. J., Gerrits, W. J. J., Bruininx, E. M. A. M., & Schols, H. A. (2018). Amylopectin structure and crystallinity explains variation in digestion kinetics of starches across botanic sources in an in vitro pig model. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 9(1), 1–13.
<https://doi.org/10.1186/s40104-018-0303-8>
- Maryam, Kasim, A., & Andalas. (2016). *Utilization Starch of Avocado Seed (Persea Americana Mill.) as a Raw Material for Dextrin. March 2018.*
<https://doi.org/10.17265/2159-5828/2016.01.005>
- Miller, G. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *J Analytical Chem*, 31, 426–428.
- Morais, C. C., Wanderlei, C., Carvalho, P., Luis, J., & Ascheri, R. (2016a). Physicochemical properties of starch from avocado seed (*Persea americana* mill). *B.CEPPA, Curitiba*, 34(2). <https://doi.org/10.5380/cep.v34i2.51302>
- Morais, C. C., Wanderlei, C., Carvalho, P., Luis, J., & Ascheri, R. (2016b). *Sifat fisikokimia pati biji alpukat (pabrik Persea Americana). September 2017.*
- Mukhtar, Salma, Ahmad Z, Dalaq A, Kauser AM, dan S. M. (2018).

Actinomycetes: A Source of Industrially Important Enzymes. Journal of Proteomics & Bioinformatics, 10(12).

- Nangin, D., & Sutrisno, A. (2015). Enzim Amilase Pemecah Pati Mentah Dari Mikroba : Kajian Pustaka Raw Starch Degrading Amylase Enzyme from Microbes : A Review. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri, 3(3)*, 1032–1039.
- Nisah, K. (2017). Study Pengaruh Amilosa dan Amilopektin Umbi-umbian Terhadap Karakteristik Fisik Plastik Biodegradable. *Jurnal Biotik, 5(2)*, 106–113. <https://jurnal.ar-raniry.ac.id/index.php/biotik/article/view/3018/0>
- Noorul, H., Nesar, A., Zafar, K., K., & M., Zeeshan, A., and Vartika, S. (2016). Research in Health benefits and pharmacology of *Persea americana* mill . (Avocado). *International Journal, 5(2)*, 131–142.
- Nurhayati, Jenie BSL, Widowati S, K., & HD. (2014). Komposisi Kimia dan Kristalinitas Tepung Pisang Termodifikasi Secara Fermentasi Spontan dan Siklus Pemanasan Bertekanan_Pendinginan. *Agritech, 34(2)*, 146–150.
- Nurkanto, A & Agusta, A. (2015). Identifikasi Molekular dan Karakterisasi Morfo - Fisiologi Actinomycetes Penghasil Senyawa Antimikroba (Molecular Identification and Morpho - Physiological Characterization of Actinomycetes with Antimicrobial Properties). *Jurnal Biologi Indonesia, 11(2)*, 195–205.
- Ozturk S, Koksel H, P. K. (2011). Production of resistant starch from acid-modified amylopectin starches with enhanced functional properties. *Journal of Food Engineering, 103(2)*, 156–164. <http://doi.org/cjkbwm>
- Qatrunada, V., Ekowati, C. N., & Farisi, S. (2021). Aktivitas Enzim Hidrolase pada Penapisan Isolat Actinomycetes Kandidat Probiotik. *BIOMA:Jurnal Biologi Dan Pembelajaran Biologi, 6(1)*, 24–36. <https://doi.org/10.32528/bioma.v6i1.3548>
- Reddy G, Altaf MD, Naveena BJ, Venkateshwar M, K. E. (2008). Amylolytic bacterial lactic acid fermentation-A review. *Biotechnology Advances, 26(1)*, 22–34. <http://doi.org/c6m9ms>
- Rosa, E., Ekowati, C. N., Handayani, T. T., Ikhsanudin, A., Apriliani, F., & Arifiyanto, A. (2020). Characterization of entomopathogenic fungi as a natural biological control of American cockroaches (*Periplaneta americana*). *Biodiversitas, 21(11)*, 5276–5282. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d211131>
- Sari, A. R., Martono, Y., & Rondonuwu, F. S. (2020). Identifikasi Kualitas Beras Putih (*Oryza sativa* L.) Berdasarkan Kandungan Amilosa dan Amilopektin di Pasar Tradisional dan “Selepan” Kota Salatiga. *Titian Ilmu: Jurnal Ilmiah Multi Sciences, 12(1)*, 24–30. <https://doi.org/10.30599/jti.v12i1.599>
- Setiarto, R.H.B., Jenie, B.S.L., Faridah, D.N. & Saskiawan, I. (2015). Kajian

Peningkatan Pati Resisten yang Terkandung dalam Bahan Pangan Sebagai Sumber Prebiotik. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 20(3), 191–200.

- Setiarto, R. & W. (2017). Pengaruh Fermentasi Bakteri Asam Laktat dan Siklus Pemanasan Bertekanan-Pendinginan Terhadap Kadar Pati Resisten Tepung Ubi Jalar Ungu (*Ipomea Batatas* Var Ayamurasaki) Termodifikasi. *Warta IHP/Journal of Agro-Based Industry*, 3(1), 26–35. <https://doi.org/10.32765/wartaihp.v34i1.4069>
- Setiarto, R Haryo Bimo, & Widhyastuti, N. (2018). Peningkatan Kadar Pati Resisten Tipe III Tepung Singkong Termodifikasi Melalui Fermentasi dan Pemanasan Bertekanan-Pendinginan. *BIOPROPAL INDUSTRI*, 9(1), 9–23.
- Setiarto, Raden Haryo Bimo, Widhyastuti, N., & Setiadi, D. (2018). Peningkatan Pati Resisten Tepung Sorgum Termodifikasi Melalui Fermentasi dan Siklus Pemanasan Bertekanan-Pendinginan (Improvement Resistant Starch from Modified Sorghum Flour by Using Fermentation and Autoclaving-Cooling Cycling). *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI)*, 23(April), 10–20. <https://doi.org/10.18343/jipi.23.1.10>
- Seung, D. (2020). Amylose in starch: towards an understanding of biosynthesis, structure and function. *New Phytologist*, 228(5), 1490–1504. <https://doi.org/10.1111/nph.16858>
- Silitonga, L. R., & Effendi, I. (2019). Isolation , Identification and Sensitivity of Amilolytic Bacteria From Mangrove Ecosystem Sediment In Purnama Marine Station Dumai On The Pathogenic. *Asian Journal of Aquatic Sciences*, 2(3), 257–266.
- Souripet, A. (2016). Potensi Prebiotik Nasi Ungu (Prebiotic Potential of Purple Rice). *AGRITEKNO, Jurnal Teknologi Pertanian*, 5(1), 18–25. <https://doi.org/10.30598/jagritekno.2016.5.1.18>
- Vatanasuchart N, Niyomwit B, W. 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*, 6(02), 259–271.
- Wardinal, Safika dan Ismail, Y. S. (2019). Identifikasi *Lactobacillus* sp Pada Orangutan Sumatra (*Pongo abelii*) Liar Menggunakan Kit Api 50 CHL di Stasiun Penelitian Suaq Belimbing Aceh Selatan. *Jurnal Biotik*, 7(1), 49–56.
- Wiadnyani, A., Permana, I., & W. (2017). Modifikasi Pati Keladi Dengan Metode Autoclaving-Cooling Sebagai Sumber Pangan Fungsional. *Scientific Journal of Food Technology*, 4(2), 94–102.
- Winarti, Sri., J. dan R. A. A. (2019). Karakteristik dan Aaktivitas Prebiotik Pati Resisten dari Tepung Umbi Uwi (*Dioscorea alata*) Termodifikasi
Characteristics and Prebiotics Activity of Resistant Starch from Modified

Yam Flour (*Dioscorea alata*). *Jurnal Teknologi Pangan*, 13(2), 53–67.

Winarti, S. dan Y. P. (2006). *Olahan Biji Buah*. Trubus Agrisarana.

Włodarczyk, M., & Ślizewska, K. (2021). Efficiency of resistant starch and dextrins as prebiotics: A review of the existing evidence and clinical trials. *Nutrients*, 13(11). <https://doi.org/10.3390/nu13113808>

Yuliwardi, F., E. Syamsir, P. Hariyadi, S. W. (2014). uliwardi, F., E. Syamsir, P. Hariyadi, S. Widowati. 2014. Pengaruh Dua Siklus Autoclaving-Cooling Terhadap Kadar Pati Resisten Tepung Beras dan Bihun yang Dihasilkannya. *Media Komunikasi dan Informasi PANGAN*. Vol. 23, 43-52. *Media Komunikasi Dan Informasi Pangan*, 23, 43–52.

Yusmarini, Y., Pato, U., Johan, V. S., Ali, A., & Kusumaningrum, K. (2017). Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Amilolitik dari Industri Pengolahan Pati Sagu Characterization of Amylolytic Lactic Acid Bacteria from Sago Starch Processing Industry. *Agritech*, 37(1), 95–100.

Zhou, Y., Meng, S., Chen, D., Zhu, X., & Yuan, H. (2014). Structure characterization and hypoglycemic effects of dual modified resistant starch from indica rice starch. *Carbohydrate Polymers*, 103, 81–86. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.12.020>