

**PENGARUH DURASI FERMENTASI BIJI ALPUKAT OLEH
Actinomyces YANG DILANJUTKAN PEMANASAN BERTEKANAN-
PENDINGINAN TERHADAP PENINGKATAN KADAR PATI RESISTEN**

(Skripsi)

Oleh

INDAH SUKMA NINGSIH

1817021051



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

ABSTRAK

PENGARUH DURASI FERMENTASI BIJI ALPUKAT OLEH *Actinomycetes* YANG DILANJUTKAN PEMANASAN BERTEKANAN- PENDINGINAN TERHADAP PENINGKATAN KADAR PATI RESISTEN

Oleh

INDAH SUKMA NINGSIH

Pati resisten adalah produk hasil retrogradasi yang memiliki amilosa rantai pendek serta tidak dapat dipecah menjadi bentuk yang sederhana lagi sehingga tidak dicerna di usus halus. Biji alpukat memiliki kandungan pati sebesar 80% dan dapat dijadikan sumber pati alternatif. Penelitian ini bertujuan mengetahui peningkatan kadar pati resisten dari biji alpukat dengan perlakuan durasi fermentasi yang berbeda yang dilanjutkan pemanasan bertekanan pendinginan. Tahap penelitian ini terdiri dari pengumpulan dan pemilihan sampel biji alpukat dalam keadaan baik. Selanjutnya irisan biji alpukat difermentasi oleh kultur *Actinomycetes* selama 24, 48, dan 72 jam dengan satu perlakuan kontrol. Sampel diautoklaf (121°C, 15 menit) dan didinginkan (4°C, 24 jam). Irisan biji alpukat dikeringkan (40°C, 24 jam), digiling dan diayak (100 mesh) untuk mendapatkan hasil akhir pati resisten. Pati hasil modifikasi dianalisis kadar pati resisten dengan metode anthrone dan DNS oleh *spectrophotometer* 540 nm serta amilosa dan amilopektin 625 nm. Uji cerna dilakukan oleh *Lactobacillus* sp. dan *Escherichia coli* dengan melihat zona jernih disekitar koloni selama 48 dan 24 jam. Hasil analisis kadar pati resisten menggunakan metode anthrone sampel irisan biji alpukat selama 72, 48, dan 24 jam yang dilanjutkan pemanasan bertekanan-pendinginan menghasilkan kadar pati resisten berturut-turut (20.71%), (15.41%), dan (9.94%), serta kontrol (7.18%). Sedangkan metode DNS berturut-turut (1.26%), (0.92%), 0.60%, dan (0.37%). Pati resisten dari semua perlakuan tidak dapat dicerna oleh *Lactobacillus* sp. tetapi dapat dicerna oleh *Escherichia coli* dengan zona bening terluas pada P0 yaitu 0.7 cm dan terkecil P3 0.1 cm. Oleh karena itu dapat disimpulkan fermentasi biji alpukat oleh *Actinomycetes* yang dilanjutkan pemanasan bertekanan-pendinginan dapat meningkatkan kadar pati resisten dengan durasi fermentasi terbaik yaitu 72 jam.

Kata kunci: *Actinomycetes*, biji alpukat, fermentasi, pati resisten, pemanasan bertekanan-pendinginan.

**PENGARUH DURASI FERMENTASI BIJI ALPUKAT OLEH
Actinomyces YANG DILANJUTKAN PEMANASAN BERTEKANAN-
PENDINGINAN TERHADAP PENINGKATAN KADAR PATI RESISTEN**

Oleh

Indah Sukma Ningsih

Skripsi

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

Pada

Jurusan Biologi

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG**

2023

Judul Skripsi : **PENGARUH DURASI FERMENTASI BIJI ALPUKAT
OLEH Actinomycetes YANG DILANJUTKAN
PEMANASAN BERTEKANAN PENDINGINAN
TERHADAP PENINGKATAN KADAR PATI RESISTEN**

Nama Mahasiswa : **Indah Sukma Ningsih**

Nomor Pokok Mahasiswa : **1817021051**

Jurusan / Program Studi : **Biologi**

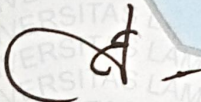
Fakultas : **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**

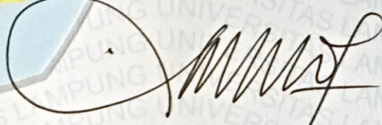


1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I


Pembimbing II


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


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

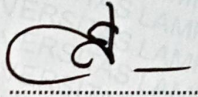
MENGETAHUI

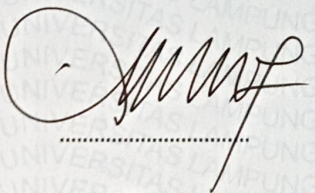
2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung


Dr. Jani Mater, M.Si.
NIP 19830131 200812 1 001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

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

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

Penguji Utama : Dr. Bambang Irawan, M. Sc. 

2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam




Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.
NIP 19711001 200501 1 002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 29 Mei 2023

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Indah Sukma Ningsih

NPM : 1817021051

Jurusan : Biologi

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Perguruan tinggi: Universitas Lampung

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi yang berjudul:

PENGARUH DURASI FERMENTASI BIJI ALPUKAT OLEH *Actinomyces* YANG DILANJUTKAN PEMANASAN BERTEKANAN- PENDINGINAN TERHADAP PENINGKATAN KADAR PATI RESISTEN

Skrripsi yang tersusun atas gagasan, metode, data penelitian, pembahasan hingga kesimpulan ini **benar** karya atas nama **Indah Sukma Ningsih**. Selanjutnya, saya tidak keberatan jika dikemudian hari hasil skripsi tersebut digunakan oleh dosen atau program studi untuk keperluan publikasi sepanjang nama saya diikutsertakan. Demikian surat pernyataan ini saya buat, apabila pernyataan ini tidak benar atau melanggar norma dan etika yang berlaku. Saya siap bertanggung jawab akan hal tersebut.

Bandar Lampung, 29 Mei 2023

Yang menyatakan,



(Indah Sukma Ningsih)

NPM. 1817021051

RIWAYAT HIDUP



Penulis lahir di Liwa, 17 Desember 2000. Penulis anak pertama dari Ma'un Azima (Alm) dan Ibu Dedek Kurniasih (Almarhumah). Penulis beralamat di Desa Pugung Penengahan, Kecamatan Lemong Kabupaten Pesisir Barat, Lampung. Penulis menempuh pendidikan pertamanya di TK Al-Kautsar Tahun 2005. Kemudian Tahun 2006, penulis melanjutkan pendidikan di Sekolah Dasar Negeri (SDN) 1 Pg Penengahan. Penulis

melanjutkan pendidikan di Sekolah Menengah Pertama Negeri (SMPN) 1 Lemong Tahun 2013 dan pada Tahun 2015, penulis melanjutkan pendidikan di Sekolah Menengah Atas Negeri (SMAN) 1 Lemong. Pada Tahun 2018 penulis tercatat sebagai salah satu mahasiswa jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Penulis juga aktif sebagai bendahara bidang ristek Unit Kegiatan Mahasiswa (UKM) Penelitian Universitas Lampung Tahun 2020, dan Anggota bidang ristek Unit Kegiatan Mahasiswa (UKM) Saintek Universitas Lampung Tahun 2020.

Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Lemong, Kecamatan Lemong, Kabupaten Pesisir Barat Tahun 2020 dan penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Badan Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan (BKIPM) Tahun 2021 dengan judul “Deteksi Cemaran *Salmonella* sp. pada Sampel Udang *Argentina Red Shrimp* (*Pleoticus muelleri*) Beku di Laboratorium Mikrobiologi Balai Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Lampung”.

Selain aktif pada organisasi kampus, penulis juga aktif di organisasi eksternal. Penulis merupakan sekretaris bidang pendidikan Ikatan Mahasiswa Muslim Pesisir Barat Tahun 2020. Penulis merupakan bendahara umum program desa bersinar cabang lampung yang diinisiasi oleh lembaga yosh foundation Indonesia Tahun 2020. Penulis diamanahkan sebagai sekretaris media sekaligus relawan dompet dhuafa volunteer Lampung sekaligus content creator LPI Dompet Dhuafa Pusat Tahun 2021. Penulis sebagai Kader Inti Anti Narkoba (KIPAN) Provinsi Lampung yang dinaungi Kemenpora Tahun 2021.

Penulis bersama rekannya membangun komunitas Nuwokarya.Id sebagai komunitas yang menginisiasi agar anak muda berani bermimpi besar untuk melanjutkan ke perguruan tinggi sekaligus berani berkompetisi. Penulis merupakan peraih juara 1 putri hijabers Indonesia Tahun 2021. Penulis alumni purna delegasi Provinsi Lampung sekaligus peraih juara 3 di Inovasi Kemah Budaya Kaum Muda (KBKM) Kementrian Kebudayaan (Kemendikbud) Tahun 2021, dan Penulis juga purna delegasi Provinsi Lampung sekaligus peraih juara 2 Inovasi Ayo Muda Berkarya di Festival Pemuda yang diselenggarakan Yayasan Harapan Pemuda Indonesia bekerjasama dengan Kemenpora RI Tahun 2022.

MOTTO

“Hai orang-orang yang beriman, bersabarlah kamu dan kuatkanlah kesabaranmu dan tetap bersiap siaga dan bertaqwalah kepada Allah supaya kamu menang”

(Q.S Ali-Imran:200)

“Only you can change your life. Nobody else can do it for you”

(Carol Burnett)

“Berusahalah tidak hanya menjadi manusia yang berhasil, tetapi berusahalah menjadi manusia yang berguna”

(Albert Einstein)

“Kita yang telah berdiri setelah badai, maka tidak akan terusik oleh gerimis”

(Penulis)

“Nothing great is going to come if quite, so now or never”

(Penulis)

PERSEMBAHAN

Dengan mengucapkan Alhamdulillah dan syukur kepada Allah SWT, yang telah memberikan rahmat, nikmat, hidayah, karunia, serta kemudahan kepada penulis sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik. Karya ini kupersembahkan kepada orang tuaku Bapak Ma'un Azima (Alm), Bapak Ghozali Thohir, Ibu Dedek Kurniasih (Alamarhumah), Adek Muhammad Ilham Isnaini, Kakek Wahyudin Latif, dan Nenek Nuriyah Wati. Terima kasih telah memberikan dukungan dalam bentuk moril dan moral, do'a, motivasi, cinta, kasih sayang, dan kepercayaan yang tak henti-hentinya.

Bapak Ibu dosen yang telah dengan sabar dan ikhlas dalam menyampaikan ilmu yang bermanfaat untuk saya. Ibu laboratorium, sahabat-sahabat yang telah menemani sejak mahasiswa baru, saat ini, dan seterusnya. Serta Almamaterku tercinta Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

UCAPAN TERIMA KASIH

Dengan mengucap Alhamdulillah, puji syukur penulis ucapkan kepada Allah SWT yang telah menguatkan dan memberikan kemudahan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Durasi Fermentasi Biji Alpukat Oleh *Actinomyces* yang Dilanjutkan Pemanasan Bertekanan-Pendinginan Terhadap Kadar Pati Resisten”.

Selama penyusunan skripsi ini, penulis menyadari bahwa ada banyak pihak yang telah membantu dan memberikan semangat serta dorongan kepada penulis agar terselesainya skripsi ini. Dengan telah selesainya penulisan skripsi ini, penulis mengucapkan rasa terima kasih kepada:

1. Bapak Dr. Eng Suropto Dwi Yuwono, M. T., selaku Dekan FMIPA Unila.
2. Bapak Dr. Jani Master, M.Si. selaku Ketua Jurusan Biologi FMIPA Unila
3. Ibu Kusuma Handayani, S.Si., M.Si., selaku ketua Program Studi S1 Biologi FMIPA Unila yang selalu memberikan motivasi dan dukungan.
4. Ibu Dra. Christina Nugroho Ekowati, M.Si., selaku pembimbing I yang telah memberikan bimbingan, nasihat, motivasi, do'a, dan arahan sehingga skripsi ini terselesaikan.
5. Bapak Achmad Arifiyanto, S.Si., M.Si., selaku pembimbing II yang telah memberi bimbingan, arahan, nasihat, motivasi, doa, kritik, dan saran membangun sehingga penulis dapat mengeksplor hal baru sekaligus menyelesaikan skripsi ini.
6. Bapak Dr. Bambang Irawan, M. Sc., selaku penguji utama pada ujian skripsi, yang telah memberi saran, motivasi, dan nasihat yang sangat membantu penulis dalam menyelesaikan penulisan skripsi ini menjadi lebih baik lagi.

7. Ibu Lili Chrisnawati, S.Pd., M. Si., selaku pembimbing akademik yang selalu mendukung penulis selama menempuh pendidikan di jurusan Biologi.
8. Orang Tua dan adik penulis Penulis, Bapak Ma'un Azima (Alm), Ibu Dedek Kurniasih (Almarhumah), Bapak Ghazali Thohir, dan M. Ilham Isnaini yang menjadi alasan utama penulis untuk menyelesaikan skripsi ini.
9. Kelurga penulis di Pesisir Barat, Nenek Nuriyah Wati, Kakek Wahyudin Latif, Wak Ani, Wak Toni, Kang Parhan, Mang Dedi, Bi Fitri, Mang Umar, Kosim, Om Awan, Om Boy, Tante Lia, Gevya, Sezan, dan Kiano yang selalu mendukung penulis saat menempuh pendidikan baik dalam bidang akademik, non akademik, lomba, hingga menyelesaikan tugas akhir dengan selalu memberikan kepercayaan penuh kepada penulis bahwa penulis bisa melewati ini semua.
10. Teman seperjuangan Siti Inah dan Nadila marantika yang selalu memberikan semangat dan dukungan selama penulis berkuliah di biologi.
11. Teman teman angkatan 2018, kelas A dan kelas B yang selalu berbagi keceriaan pada masanya.
12. Teman-teman seperjuangan Inah, Noni, Nurul Insani, Mba Tri, Roni, Ayuni, Rahmat, Raihan, Rian, Alvian, Kartika, Dinda, Emil, Annisa yang sangat membantu penulis semasa penelitian dan menyelesaikan skripsi ini. Aku sayang kalian semua. Thank for everything guys.
13. Ibu Oni as always supportive at laboratorium, makasih banget bu arahan, motivasi, support, do'a, dan semua pengalaman berharganya selama penulis melakukan penelitian.
14. Mba dini dan Inka yang selalu membantu dan memberi support ketika penulis melakukan penelitian.
15. Beasiswa Etos Id yang selalu memberi dukungan baik dalam bidang material maupun non material kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan tugas akhir ini.
16. Big Family Etos Id Lampung 2018. Kak Dani, Mba Endah, Kak Pujo, Ayu, Mirda, Mba Armi, Mba Novita, Sheli, Mumuf, Dwi, Irma, Nurindah, Rifai, Soni, Wahyudi, Rendi, Amiza, Rican, dendi, sahrul, khozin, dan Hilmi yang selalu memberi dukungan, motivasi, canda tawa yang tidak pernah usai,

- pengalaman, dan saling menguatkan selama proses perkuliahan di Unila.
17. Best support of this experience Sri Rahayu dan Muhammad Rifa'i, everything will be easy if passed together.
 18. Nuwokarya team. Soni, Dimas, Rahmat, Jovan, Reynaldo, Al Khasanah, Ummu, dan Anisya yang selalu memberi dukungan selama masa perkuliahan. Sayang banget sama kalian.
 19. Tim wisuda bulan juli Amiza, Rican, Rendi, dan Angga yang selalu mendukung dan selalu direpotkan selama seminar hasil.
 20. Purna Delegasi Festival Pemuda. Kak Zezen, Dewa, Robin, Salman yang memberikan dukungan penuh dan canda tawa kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
 21. Rumah Queen. Pak Lingga, Bu Linni, Queen, King, Melan, Ayu, Mirda, Erlin, Mba Armi, Fegi, Mba Isti, Mba Niken, Mba Anne, dan Ira keluarga baru yang selalu mendukung penulis dalam hal apapun. Sayang banget sama kalian.
 22. Kelurga Bimbel. Wildan, Delta Indah, Ibu, Bapak, Kak Pika, Kak Azam, Rizki, Bunda Rizki, Nadira, Syavira, Bunda Nadira, dan Nenek yang selalu mendukung dalam bidang material dan non material.
 23. Trimakasih untuk seluruh pihak yang selalu nanya kapan sempro, kapan semhas, kapan kompre, dan kapan wisuda sehingga menjadi salah satu dorongan kuat dalam penyelesaian skripsi ini.
 24. *Thanks to myself for the time, hard work, effort, mind. always working hard to find funds to complete the thesis, never stop trying and always believe that there will be a smile after a long journey. see you in the next adventure.*

Bandar Lampung, 29 Mei 2023

Penulis,

Indah Sukma Ningsih

DAFTAR ISI

ABSTRAK	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	v
RIWAYAT HIDUP	vi
UCAPAN TERIMA KASIH	x
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR TABEL	xvii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	4
1.2 Manfaat Penelitian.....	5
1.3 Kerangka Pemikiran	5
1.4 Hipotesis Penelitian	7
II. TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Biji Alpukat	8
2.2 Pati Resisten	9
2.3 <i>Actinomyces</i>	10
2.4 <i>Lactobacillus</i> sp.....	11
2.5 <i>Escherichia coli</i>	12
III. METODE PENELITIAN	14
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	14
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	14
3.3 Metode Penelitian.....	14
3.4 Rancangan Penelitian	15

3.5 Pelaksanaan Penelitian	16
3.5.1 Produksi AB8 dari Isolat <i>Streptomyces</i> sp kode AB3.....	16
3.5.2 Produksi Pati Resisten.....	17
3.5.3 Analisis Kadar Total Pati Resisten.....	18
3.5.4 Analisis Kadar Amilosa dan Amilopektin	21
3.5.5 Uji Cerna Pati Resisten	23
3.6 Alur Tahapan Penelitian	25
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	26
4.1 Hasil.....	26
4.1.1 Karakteristik Pati Biji Alpukat	26
4.1.2 Analisis Kimia Pati Resisten Biji Alpukat.....	28
4.1.3 Uji Cerna Pati Resisten	33
4.1.4 Perbandingan Hasil Penelitian dengan Penelitian Sebelumnya.....	35
4.2 Pembahasan	36
4.2.1 Karakteristik Pati Biji Alpukat	36
4.2.2 Analisis Kadar Amilosa dan Amilopektin	38
4.2.3 Analisis Kadar Pati Resisten.....	39
4.2.4 Uji Cerna Pati Resisten oleh <i>Lactobacillus</i> sp.....	41
4.2.5 Uji Cerna Pati Resisten oleh <i>Escherichia coli</i>	42
4.2.6 Perbandingan Hasil Penelitian dengan Penelitian Sebelumnya.....	43
V. KESIMPULAN DAN SARAN	46
5.1 Kesimpulan.....	46
5.2 Saran	46
DAFTAR PUSTAKA	47
LAMPIRAN.....	57

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Biji alpukat	8
Gambar 2. <i>Actinomycetes</i> perbesaran 1000x	11
Gambar 3. <i>Lactobacillus</i> sp. perbesaran 1000x	12
Gambar 4. <i>Escherichia coli</i> perbesaran 1000x	13
Gambar 5. Zona Bening	24
Gambar 6. Alur tahapan penelitian	25
Gambar 7. Biji alpukat sebelum di fermentas	26
Gambar 8. Biji alpukat setelah di fermentasi	26
Gambar 9. Biji alpukat setelah perlakuan pemanasan	27
Gambar 10. Karakteristik biji alpukat pada setiap perlakuan	27
Gambar 11. Karakteristik fisik pati resisten dari biji alpukat	28
Gambar 12. Kurva standar amilosa dan amilopektin	29
Gambar 13. Hasil uji lanjut Duncan kadar amilosa dan amilopektin	30
Gambar 14. Kurva standar glukosa dengan pereaksi anthron	31
Gambar 15. Kurva standar glukosa dengan pereaksi DNS	31
Gambar 16. Hasil uji Duncan pati resisten dengan pereaksi anthron	32
Gambar 17. Hasil uji Duncan pati resisten dengan pereaksi DNS	33
Gambar 18. Uji cerna pati resisten oleh <i>Lactobacillus</i> sp.	34
Gambar 19. Uji cerna pati resisten oleh <i>Escherichia coli</i>	35
Gambar 20. Biji alpukat	57
Gambar 21. Irisan biji alpukat	57
Gambar 22. Biji alpukat direndam NaCl	57
Gambar 23. Biji alpukat ditiriskan	57
Gambar 24. Irisan ditimbang	57
Gambar 25. <i>Actinomycetes</i> / ACT (AB3)	57

Gambar 26. Media ISP4.....	58
Gambar 27. Peremajaan <i>Actinomycetes</i>	58
Gambar 28. <i>Actinomycetes</i> / ACT (AB8).....	58
Gambar 29. Produksi kultur cair <i>Actinomycetes</i>	58
Gambar 30. Kultur cair <i>Actinomycetes</i>	58
Gambar 31 Penimbangan kultur cair <i>Actinomycetes</i>	58
Gambar 32. Fermentasi irisan biji alpukat	59
Gambar 33. Fermentasi 24, 48, & 72 jam oleh <i>Actinomycetes</i>	59
Gambar 34. Biji alpukat perlakuan P0, P1, P2, dan P3 sebelum difermentasi....	59
Gambar 35. Biji alpukat perlakuan P0, P1, P2, dan P3 setelah difermentasi.....	59
Gambar 36. Pemanasan bertekanan.....	60
Gambar 37. Pendinginan di kulkas 24 jam.....	60
Gambar 38. Pengeringan biji alpukat.....	60
Gambar 39. Biji alpukat kering.....	60
Gambar 40. Penghalusan biji alpukat.....	60
Gambar 41. Pati resisten.....	60
Gambar 42. Hasil akhir pati resisten perlakuan P0, P1, P2, dan P3.....	61
Gambar 43. Sampel uji amilosa dan amilopektin dengan <i>spectrophotometer</i> ...	61
Gambar 44. Larutan stok pati resisten.....	61
Gambar 45. Sampel uji pati resisten (anthrone) dengan <i>spectrophotometer</i>	61
Gambar 46. Sampel uji pati resisten (DNS) dengan <i>spectrophotometer</i>	61
Gambar 47. Hasil uji cerna pati resisten oleh <i>Lactobacillus</i> sp.....	68
Gambar 48. Hasil uji cerna pati resisten oleh <i>Escherichia coli</i>	69

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Kandungan pati pada biji Alpukat	9
Tabel 2. Rancangan penelitian	15
Tabel 3. Perbandingan hasil penelitian dengan penelitian sebelumnya	35
Tabel 4. Kadar amilosa dan amilopektin.....	63
Tabel 5. Uji anova kadar amilosa.....	63
Tabel 6. Hasil anova kadar amilosa	64
Tabel 7. Hasil uji DUNCAN kadar amilosa	64
Tabel 8. Hasil anova kadar amilopektin.....	64
Tabel 9. Hasil uji DUNCAN kadar amilopektin.....	65
Tabel 10. Kadar pati resisten anthrone.....	65
Tabel 11. Uji anova pati resisten dengan pereaksi anthrone	66
Tabel 12. Uji lanjut DUNCAN pati resisten dengan pereaksi anthrone	66
Tabel 13. Kadar pati resisten dengan pereaksi DNS.....	67
Tabel 14. Uji anova pati resisten dengan pereaksi DNS	67
Tabel 15. Uji lanjut DUNCAN kadar pati resisten pereaksi DNS.....	68

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Pati resisten berbeda dari pati pada umumnya. Magallanes-Cruz et al., (2017) menyatakan pati merupakan karbohidrat yang terdiri dari amilosa rantai panjang dan amilopektin rantai bercabang sedangkan pati resisten adalah jenis pati yang memiliki amilosa rantai pendek karena telah mengalami retrogradasi. Pati resisten adalah produk pangan yang dihasilkan dari proses retrogradasi pati dan tidak dapat dicerna oleh enzim α -amilase di usus halus (Li et al., 2014). Pati resisten adalah jenis pati yang tidak dapat dipecah ke dalam bentuk yang sederhana (glukosa) sehingga tidak dapat dicerna oleh usus halus. Pati resisten justru berperan penting dalam menstimulasi pertumbuhan bakteri probiotik yaitu *Lactobacillus* sp.

Terdapat 4 macam tipe pati resisten yaitu tipe 1, 2, 3, dan 4. Pati resisten tipe 1 seringkali terperangkap diantara dinding sel bahan pangan, pati ini ditemukan pada biji-bijian misalnya kacang kedelai, kacang polong, dan gandum. Pati resisten tipe 2 yaitu jenis pati resisten yang tersusun atas struktur yang kaku dan sulit larut dalam air, biasanya ditemukan pada kentang yang belum dimasak. Pati resisten tipe 3 yaitu jenis pati resisten yang dihasilkan dari proses pemanasan dan pendinginan misalnya kentang yang sudah di masak sedangkan pati resisten tipe 4 adalah pati yang termodifikasi secara kimia (Jyothisna & Hymavathi, 2017).

Pati resisten memiliki peran penting bagi kesehatan tubuh diantaranya membantu keberhasilan program diet, menjaga kestabilan gula darah, dan menstimulasi peningkatan pertumbuhan bakteri baik yaitu *Lactobacillus* sp. dan *Bifidobacteriaceae* yang memiliki peran menjaga kesehatan pencernaan (Khan et al., 2022).

Sumber pati resisten yang diketahui masyarakat secara umum misalnya ubi jalar, sagu, singkong dan beras merah (Wahjuningsih et al., 2018). Akan tetapi, pati resisten dari sumber alami memiliki kelemahan yaitu terbatas dan seringkali diolah menjadi kebutuhan lain. Berdasarkan penelitian Zai & Sidabalok, (2021), biji alpukat memiliki kandungan pati yang tinggi yaitu 80.10% dengan akumulasi 37.70% amilopektin dan 43.30% amilosa. Berdasarkan data tersebut, biji alpukat memungkinkan dijadikan sebagai sumber pati alternatif.

Produksi pati resisten selama ini telah banyak dilakukan oleh para peneliti melalui metode secara kimia, fisik dan enzimatik (Nagy et al., 2021). Produksi pati resisten secara kimia dilakukan dengan esterifikasi. Esterifikasi memiliki kelebihan yaitu stabil pada suhu rendah, panas maupun kondisi asam tetapi metode ini memiliki kelemahan yaitu pH yang digunakan harus selalu 8 untuk mendapatkan hasil yang optimal. Jika pH lebih dari 8, maka pati akan mudah terhidrolisis. Namun, jika kurang dari 8 proses esterifikasi tidak dapat terjadi secara efektif (Golachowski et al., 2020).

Pati resisten secara fisik dapat dilakukan dengan teknik pemanasan bertekanan-pendinginan (Faridah et al., 2022). Semakin banyak siklus pemanasan bertekanan-pendinginan yang diterapkan maka akan semakin tinggi kadar pati resisten yang dihasilkan. Hal ini diperkuat dengan hasil penelitian Istri et al., (2017) yang menyatakan kadar pati keladi sebesar 1.25% meningkat menjadi 4.38% setelah diberi perlakuan pemanasan bertekanan-pendinginan. Teknik pemanasan bertekanan-pendinginan memiliki keunggulan yaitu lebih mudah diaplikasikan. Akan tetapi, teknik ini

memiliki kelemahan yaitu memerlukan energi kalor yang tinggi, waktu relatif lama, dan menghabiskan biaya yang cukup tinggi (Menchavez et al., 2014).

Produksi pati resisten dapat ditingkatkan melalui fermentasi. Hal ini sesuai dengan pernyataan Ge et al., (2020) bahwa produksi pati resisten dari sorgum dengan penambahan perlakuan fermentasi kultur campuran *Lactobacillus* sp. penghasil amilase yang dilakukan dalam jangka waktu 18 jam mampu meningkatkan kadar pati resisten dibandingkan kontrol tanpa fermentasi.

Selain bakteri *Lactobacillus* sp., *Actinomyces* juga dapat memproduksi enzim amilase. *Actinomyces* adalah mikroorganisme penghasil amilase yang memiliki kemampuan memecah ikatan glukosida pada pati menjadi rantai pendek). Kelebihan teknik fermentasi adalah biaya yang digunakan relatif rendah, tetapi memiliki kekurangan yaitu waktu yang digunakan cukup lama dan peningkatan kadar pati resisten hasil fermentasi tidak se signifikan teknik pemanasan bertekanan-pendinginan (Al-Agamy et al., 2021).

Teknik terbaik untuk meningkatkan pati resisten adalah dengan cara mengkombinasikan teknik fermentasi dan pemanasan bertekanan-pendinginan. Hal ini sesuai dengan penelitian Setiarto et al., (2018) pati resisten yang didapatkan dari proses fermentasi yang dilanjutkan pemanasan bertekanan pendinginan meningkat sebanyak 2.8 kali lipat dibandingkan dengan kontrol tanpa fermentasi. Akan tetapi, pada metode kombinasi ini, belum diketahui lama waktu fermentasi terbaik untuk meningkatkan kadar pati resisten.

Metode uji cerna adalah salah satu cara mengetahui tingkat resistensi pati. Daya cerna pati merupakan tingkat kemampuan enzim amilase yang terdapat pada usus halus untuk mencerna pati. Semakin tinggi daya cerna pati maka semakin tinggi pati tersebut diubah menjadi glukosa sehingga semakin tinggi juga kemampuan pati untuk meningkatkan glukosa darah. Uji cerna pati

resisten salah satunya menggunakan bakteri *Lactobacillus* yang diberi perlakuan metode titik pada media dengan substrat MRSA dan 2% pati resisten untuk melihat zona bening yang terbentuk. Semakin tinggi kandungan amilosa pada pati maka semakin resisten pati tersebut yang menyebabkan pati semakin sulit dicerna oleh *Lactobacillus* sp (Isra et al., 2023). Uji cerna pati resisten juga menggunakan bakteri *E. coli*. Hal ini bertujuan untuk membuktikan bahwasanya pati resisten tidak dapat dicerna di usus halus sehingga mengurangi penyerapan glukosa. Namun, ketika sampai di usus besar pati tersebut dicerna selayaknya makanan pada umumnya menjadi feses (Gopalsamy et al., 2019).

Berdasarkan uraian di atas, penulis tertarik melakukan penelitian mengenai “Pengaruh Durasi Fermentasi Biji Alpukat oleh *Actinomyces* yang Dilanjutkan Pemanasan Bertekanan-Pendinginan Terhadap Kadar Pati Resisten”.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini sebagai berikut:

1. Mengetahui peningkatan kadar pati resisten dari biji alpukat melalui fermentasi oleh *Actinomyces* dengan durasi berbeda yang dilanjutkan pemanasan bertekanan-pendinginan
2. Mengetahui uji cerna pati resisten dari biji alpukat oleh bakteri *Lactobacillus* sp.
3. Mengetahui uji cerna pati resisten dari biji alpukat oleh bakteri *Escherichia coli*.

1.2 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini sebagai berikut:

1. Diperoleh informasi tentang peningkatan kadar pati resisten dari biji alpukat melalui proses fermentasi dengan durasi berbeda yang dilanjutkan pemanasan bertekanan-pendinginan
2. Diperoleh informasi hasil uji cerna pati resisten dari biji alpukat oleh bakteri *Lactobacillus* sp.
3. Diperoleh informasi hasil uji cerna pati resisten dari biji alpukat oleh bakteri *Escherichia coli*.

1.3 Kerangka Pemikiran

Pati resisten menjadi salah satu pangan yang berdampak baik bagi kesehatan tubuh. Sumber pati resisten yang diketahui masyarakat secara umum misalnya ubi jalar, sagu, singkong, dan beras merah. Akan tetapi, sumber pati resisten ini memiliki kelemahan karena terbatas dan seringkali diolah menjadi kebutuhan lain.

Biji alpukat memiliki kandungan pati yang tinggi yaitu 80.10% dengan akumulasi 37.70% amilopektin dan 43.30% amilosa. Sumber pati pada biji alpukat dapat dijadikan sebagai alternatif untuk memproduksi pati resisten. Peningkatan kadar pati dari biji alpukat tentu saja diperlukan untuk pengoptimalan ketersediaan pati resisten yang semakin hari semakin dibutuhkan. Beberapa cara telah dilakukan para peneliti untuk meningkatkan kadar pati resisten salah satunya adalah metode fermentasi oleh bakteri penghasil amilase yang dilanjutkan pemanasan bertekanan-pendinginan.

Actinomyces adalah mikroorganisme penghasil amilase yang memiliki kemampuan memecah ikatan glukosida pada pati sehingga pati didominasi amilosa rantai pendek. Pati yang telah difermentasi oleh *Actinomyces* selanjutnya diberi perlakuan pemanasan-bertekanan pendinginan agar pati teretrogradasi dan menjadi pati resisten. Durasi waktu fermentasi pati yang berbeda yaitu 24, 48, dan 72 jam yang dilanjutkan pemanasan bertekanan

pendinginan tentu saja menghasilkan kadar pati resisten yang berbeda. Kadar pati tertinggi dihasilkan pada perlakuan fermentasi 72 jam yang dilanjutkan pemanasan bertekanan pendinginan. Hal ini dikarenakan semakin lama suatu pati difermentasi oleh *Actinomyces* maka akan semakin meningkat jumlah amilosa rantai pendek yang menjadi bahan baku utama pembuatan pati resisten yang selanjutnya pati akan tergelatinisasi pada proses pemanasan bertekanan serta teretrogradasi pada proses pendinginan.

Kadar pati resisten diukur menggunakan *spectrophotometer*. Sedangkan untuk melihat pati resisten dapat dicerna atau tidaknya di usus kecil dan usus besar dilakukan uji cerna pati resisten oleh *Lactobacillus* sp. dan *Escheria coli* dengan cara mengukur zona bening yang dihasilkan.

Pati hasil retrogradasi (pati resisten) tidak dapat dipecah ke dalam bentuk glukosa karenanya tidak dapat dicerna oleh *Lactobacillus* sp. Pati resisten yang dilakukan uji cerna oleh bakteri tersebut, maka tidak terbentuk zona bening. Sedangkan seluruh makanan termasuk pati resisten yang masuk ke dalam usus besar akan mengalami proses pembusukan yang dibantu oleh *Escheria coli* sehingga apabila pati resisten dilakukan uji cerna oleh bakteri tersebut, maka akan terbentuk zona bening.

Berdasarkan kerangka pikir di atas maka dilakukan penelitian tentang “Pengaruh Durasi Fermentasi Biji Alpukat oleh *Actinomyces* yang Dilanjutkan Pemanasan Bertekanan Pendinginan Terhadap Kadar Pati Resistensi.

1.4 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kerangka pemikiran yang telah dikemukakan, hipotesis yang dapat diambil yaitu

1. Semakin lama durasi fermentasi pati yang dilanjutkan pemanasan-bertekanan pendinginan maka semakin meningkat kadar pati resisten.
2. Pati resisten dari biji alpukat yang diberi perlakuan fermentasi dan dilanjutkan dengan pemanasan bertekanan-pendinginan tidak dapat dicerna oleh bakteri *Lactobacillus* sp.
3. Pati resisten dari biji alpukat yang diberi perlakuan fermentasi dan dilanjutkan dengan pemanasan bertekanan-pendinginan dapat dicerna oleh bakteri *Escherichia coli*.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biji Alpukat

Alpukat merupakan tanaman yang berasal dari negara Amerika Tengah yang memiliki iklim tropis dan buah ini telah menyebar luas ke negara lain termasuk Indonesia (Lestari et al., 2016). Alpukat tumbuh subur di Indonesia dan menjadi salah satu sumber obat tradisional yang telah lama dikonsumsi masyarakat (Martins et al., 2022). Biji alpukat dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Biji alpukat
(Dokumentasi pribadi)

Dikutip dari (Ahmad et al., 2016), klasifikasi alpukat sebagai berikut:

Kerajaan : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Bangsa : Laurales
Suku : Lauraceae
Marga : *Persea*
Jenis : *Persea americana*

Biji alpukat adalah jenis biji yang memiliki struktur besar dan terdiri atas dua keping kotiledon. Berdasarkan data Wardiyah (2021) biji alpukat memiliki kandungan pati yang tinggi. Data tersebut dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Kandungan pati pada biji Alpukat

No	Komponen	Jumlah
1.	Kadar Air	10.2%
2.	Kadar Pati	80.1%
3.	Amilosa	43.3%
4.	Amilopektin	37.7%
5.	Serat Kasar	1.21%
6.	Rendemen Pati	21.3%

2.2 Pati Resisten

Pati dapat digolongkan berdasarkan kemampuan enzim amilase untuk mencerna pati tersebut yaitu pati resisten (*resistant starch*), pati yang dicerna secara cepat (*rapidly digestible starch*), dan pati yang dicerna secara lambat (*slowly digestible starch*) (Bimo & Yunirma, 2017). Pada dasarnya pati dapat dijadikan sebagai pati resisten.

Menurut Garg et al., (2017) pati resisten adalah komponen pati yang memiliki dampak positif bagi tubuh yaitu berkhasiat bagi kesehatan. Disarikan dari Tan et al., (2021) pati resisten merupakan jenis pati yang memiliki kadar amilosa yang tinggi karena telah mengalami retrogradasi. Li et al., (2014) menyatakan pati resisten adalah produk pangan yang dihasilkan dari proses retrogradasi pati. Pati resisten di dalam usus halus tidak dapat dicerna oleh enzim α -amilase menjadi glukosa, tetapi berperan penting dalam menstimulasi pertumbuhan bakteri probiotik yaitu *Lactobacillus* sp.

Berdasarkan asal dan cara pembuatannya, pati resisten digolongkan menjadi 4 jenis yaitu pati resisten tipe 1, 2, 3, dan 4. Pati resisten tipe 1 merupakan pati

yang terdapat secara alami dalam tumbuhan misalnya pada biji alpukat. Pati resisten tipe 2 merupakan pati yang memiliki granula berbentuk kristalin dan sulit larut dalam air misalnya pisang hijau mentah. Pati resisten tipe 3 merupakan pati resisten yang terbentuk karena adanya proses retrogradasi misalnya melalui pemanasan bertekanan-pendinginan. Sedangkan pati resisten tipe 4 merupakan pati resisten yang terbentuk karena adanya proses kimia misalnya pati ester (Jyothsna & Hymavathi, 2017).

Pati resisten berdampak positif bagi kesehatan tubuh. Garcia et al., (2019) melaporkan pati resisten memiliki nilai fungsional sebagai serat, mengoksidasi lemak, dan membantu mereduksi kalori. Hal ini menunjukkan bahwa pati resisten memiliki potensi sebagai pangan fungsional yang bermanfaat bagi kesehatan tubuh. Yusrina et al., (2020) menyatakan pati resisten dapat menjaga kestabilan gula darah karena pati resisten tidak dapat dicerna menjadi glukosa sehingga terjadi peningkatan sensitivitas insulin.

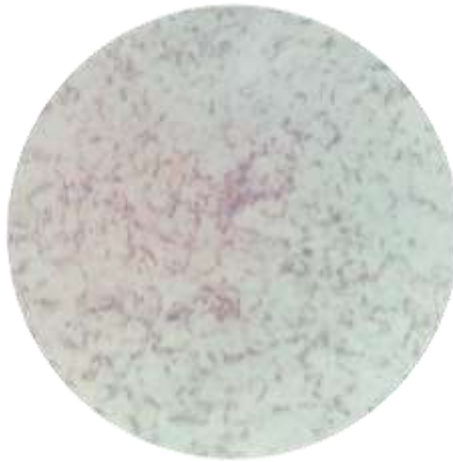
2.3 *Actinomyces*

Actinomyces adalah salah satu kelompok bakteri Gram positif penghasil antibiotik yang menjadi andalan di dunia kesehatan (Rozirwan et al., 2020). Menurut Dianty et al., (2015) 10.000 strain dari *Actinomyces* dapat menghasilkan lebih dari 2.000 antibiotik. Selain memiliki potensi sebagai penghasil antibiotik, *Actinomyces* sangat mudah ditemukan misalnya di tanah gambut, gua, dan bukit (Bawazir et al., 2018).

Keanekaragaman *Actinomyces* yang terdapat di tanah dipengaruhi oleh keadaan lingkungan seperti karakteristik tanah, pH tanah, serta kandungan senyawa organik. *Actinomyces* tumbuh optimum pada pH 6-8 dengan kisaran pH terendah 4-5 (Charousová et al., 2019). Keberadaan *Actinomyces* yang berlimpah dan memiliki karakteristik yang unik serta beragam dapat menjadi salah satu solusi sumber amilase alternatif yang efisien. Hal ini dikarenakan *Actinomyces* dapat dikulturkan dalam jumlah yang besar melalui fermentasi dengan biaya produksi enzim amilase yang

rendah, produktivitas dan spesifikasi tinggi, dan memiliki toleransi tinggi terhadap inhibitor (Chaudhary et al., 2013).

Actinomycetes jenis *Streptomyces* sp. memiliki potensi sebagai probiotik. *Streptomyces* sp. juga memproduksi enzim amilase yang mampu menghasilkan polisakarida rantai pendek. Semakin banyak polisakarida rantai pendek yang dihasilkan, maka semakin meningkat kadar pati resisten (Drake et al., 2022). Gambar *Actinomycetes* dapat dilihat pada gambar 2.



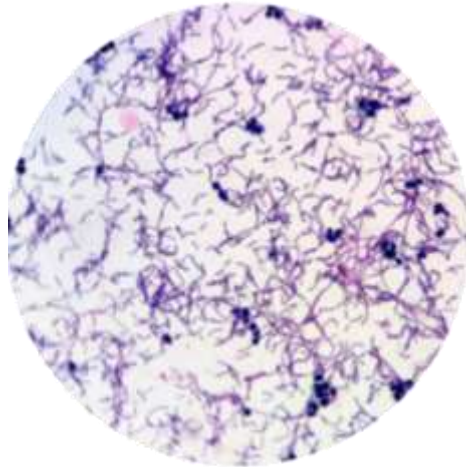
Gambar 2. *Actinomycetes* perbesaran 1000x
(Dokumentasi pribadi)

2.4 *Lactobacillus* sp.

Lactobacillus sp. merupakan bakteri Gram positif dengan bentuk batang, non-spora, dan mampu memproduksi asam laktat sebagai produk utama hasil metabolik selama proses fermentasi (Burhan et al., 2017). *Lactobacillus* sp. adalah jenis bakteri asam laktat yang tumbuh pada pH 6.5 dan suhu 15°C sampai 45 °C dengan suhu optimal 30°C sampai 37°C (Purba et al., 2021).

Lactobacillus sp. berperan dalam mempertahankan pH asam yang berfungsi sebagai pembatas bagi bakteri patogen pada saluran pencernaan inang sekaligus menghasilkan bakteriosin yang memiliki sifat antibakteri (Aritonang et al., 2020). *Lactobacillus* sp. memiliki kemampuan memproduksi memproduksi enzim amilase (Padmavathi et al., 2018). Amilase merupakan

enzim yang berfungsi memutus ikatan glikosida pada amilum dengan hasil hidrolisisnya berupa molekul sederhana misalnya glukosa, maltosa, dan dekstrin (Agirre et al., 2019). Amilase menghidrolisis amilum dalam tiga tahap yaitu gelatinisasi, likuifikasi, dan sakarifikasi. *Lactobacillus* sp. (Eshra et al., 2014). *Lactobacillus* sp. dapat dilihat pada gambar 3.

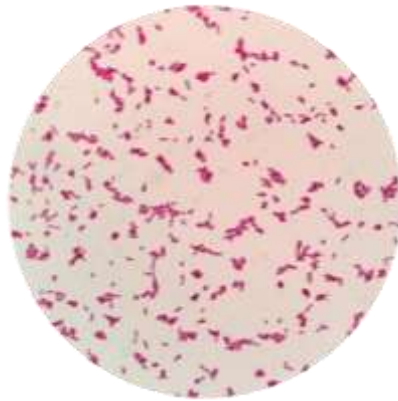


Gambar 3. *Lactobacillus* sp. perbesaran 1000x
(Dokumentasi pribadi)

2.5 *Escherichia coli*

Escherichia coli atau *E. coli* merupakan bakteri Gram negatif, tidak membentuk spora, fakultatif aerob, dan flora alami yang hidup di usus mamalia (Cho et al., 2018). Rumball et al., (2021) melaporkan *E. coli* memiliki bentuk kokus atau bulat dan ada yang sedikit memanjang atau kokobasil.

E. coli tumbuh pada pH 7-7.5 dan suhu 7-44°C dengan suhu optimal 37°C (Allocati et al., 2013). *E. coli* memiliki peran yang penting bagi tubuh yaitu membantu pembusukan sisa makanan menjadi kotoran sekaligus membantu memproduksi vitamin K dari hasil pembusukan makanan tersebut (Christofi et al., 2019). *E. coli* dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4. *Escherichia coli* perbesaran 1000x
(Dokumentasi pribadi)

III. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret-Desember 2022 di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah pisau, ember, blender, tabung reaksi, gelas ukur, *Erlenmeyer*, *beaker glass*, pipet tetes, autoklaf, *refrigerator*, inkubator, jarum ose, neraca analitik, Laminar Air Flow (LAF), Cawan Petri, *waterbath*, oven, bunsen, penangas air, sentrifugasi, *shaker waterbath*, *vortex*, labu takar, pipet volumetri, dan spektrofotometer

Bahan-bahan yang digunakan antara lain biji alpukat, media ISP4 yang terdiri dari *starch soluble*, K_2HPO_4 , $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, $(NH_4)_2SO_4$, $CaCO_3$, $NaCl$, media De Man Rogosa Sharp Agar (MRSA), akuades, alkohol, *Actinomycetes*, *Lactobacillus* sp., *E. coli*, buffer fosfat 0.08 M (pH 6.0), enzim α -amilase, HCl 0.27 M, enzim amiloglukosidase, NaOH 0.32 M, enzim protease, etanol 80%, KOH 4 M, buffer asetat pH 4.75 0.4 M, HCL, buffer asetat 0.1 M pH 4.75, glukosa murni, amilosa, etanol 95%, NaOH 1 N, larutan iod, asam asetat 1N, pereaksi anthrone dan DNS.

3.3 Metode Penelitian

Produksi pati resisten dilakukan dengan cara memfermentasikan irisan biji alpukat dengan bakteri *Actinomycetes* dengan durasi fermentasi 24, 48, 72 jam dan kontrol. Setelah itu, irisan biji alpukat di *autoclave* pada suhu $121^\circ C$

selama 15 menit. Sampel didinginkan selama satu jam pada suhu ruang kemudian dilakukan proses pendinginan di dalam kulkas pada suhu 4°C selama 24 jam. Irisan biji alpukat dipisahkan dari cairan aquades kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 40°C selama 24 jam. Pati yang telah kering dihaluskan menggunakan blander.

Pati yang telah diproduksi dilakukan analisis kandungan amilosa dan amilopektin menggunakan *spectrophotometer* dengan panjang gelombang 625 nm, kadar total pati resisten menggunakan *spectrophotometer* dengan panjang gelombang 540 nm, serta uji cerna pati resisten oleh bakteri *Lactobacillus* sp. dan *E. coli*.

3.4 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) menggunakan 1 faktor yaitu lama fermentasi dengan 3 perlakuan dan 3 kali pengulangan. Pati biji alpukat tanpa perlakuan dijadikan sebagai kontrol. Tahap pertama dalam penelitian ini yaitu pembuatan pati biji alpukat.

Tahap kedua pati difermentasi menggunakan kultur *Actinomycetes* selama 24, 42, dan 72 jam pada suhu 37°C. Sedangkan 0 jam pati biji alpukat dijadikan sebagai kontrol. Rancangan penelitian dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Rancangan penelitian

Jenis starter	Lama Fermentasi (B) jam			
	0 jam	24 jam	48 jam	72 jam
<i>Actinomycetes</i>	P0	P1	P2	P3

Keterangan:

pati biji alpukat alami tanpa perlakuan (P0)

pati difermentasi *Actinomycetes* dengan lama fermentasi 24 jam (1)

pati difermentasi *Actinomycetes* dengan lama fermentasi 48 jam (2)

pati difermentasi *Actinomycetes* dengan lama fermentasi 72 jam (3)

Setelah dilakukan fermentasi oleh *Actinomycetes* selanjutnya dilakukan pemanasan bertekanan-pendinginan sebanyak 1 siklus lalu pati resisten dikeringkan. Tahap ketiga, yaitu analisis peningkatan kadar pati resisten dari ketiga perlakuan menggunakan *spectrophotometer* yang mengacu pada penelitian (Bimo & Yunirma, 2017). Pada tahapan ini disiapkan larutan standar, larutan sampel, dan larutan pereaksi untuk analisis kadar total pati dan dilanjutkan dengan analisis kadar amilosa serta amilopektin.

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Produksi AB8 dari Isolat *Streptomyces* sp kode AB3

Actinomycetes yang digunakan pada penelitian ini adalah *Streptomyces* sp. dengan kode AB3, isolat di kultur kan pada media baru dengan kode *Actinomycetes* AB8.

3.5.1.1 Pembuatan Media

Media yang digunakan dalam peremajaan inokulum bakteri yaitu ISP4 padat. Proses pembuatan media ISP4 dilakukan penimbangan pada neraca analitik bahan-bahan *starch soluble* 2.50 g, K_2HPO_4 0.25 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.25 g, NaCl 0.25 g, $(NH_4)_2SO_4$ 0.50 g, $CaCO_3$ 0.50 g, agar 5 g, dan akuades 250 ml. Bahan-bahan tersebut dimasukkan ke dalam *beaker glass* dan dihomogenkan pada *hot plate*. Setelah itu, media dipindahkan ke dalam *Erlenmeyer* steril dan diautoklaf selama 15 menit dengan tekanan 1 atm (Mohamed et al., 2017).

3.5.1.2 Peremajaan Inokulum Bakteri

Media ISP4 setengah dingin dituang sebanyak 10 ml pada 25 tabung reaksi steril. Setelah itu media diposisikan miring dan dibiarkan pada suhu ruang hingga memadat. Isolat *Streptomyces* sp strain AB3 di kultur dengan cara diambil 1 ose dan diinokulasikan pada media tersebut. Inkubasi inokulum bakteri AB8 pada suhu 37°C selama 7 hari.

3.5.1.3 Pembuatan Starter Inokulum Bakteri

Pembuatan starter inokulum bakteri *Streptomyces* sp AB8 dilakukan dengan cara menimbang bahan-bahan pada neraca analitik yaitu *starch soluble* 2.50 g, K_2HPO_4 0.25 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.25 g, NaCl 0.25 g, $(NH_4)_2SO_4$ 0.50 g, $CaCO_3$ 0.50 g, dan akuades 250 ml.

Bahan-bahan tersebut dimasukkan ke dalam *beaker glass* kemudian diletakkan diatas *hot plate* untuk proses penghomogenan. Setelah itu, media dipindahkan ke dalam *Erlenmeyer* steril dan diautoklaf selama 15 menit dengan tekanan 1 atm. Media yang sudah steril didiamkan pada suhu ruang hingga dingin. Kemudian sebanyak 10 ml media cair tersebut dimasukkan ke setiap tabung reaksi dengan jumlah tabung 25 buah. 1 ose isolat *Streptomyces* sp. AB8 dimasukkan ke dalam media ISP4 cair dan diinkubasi selama 7 hari pada *shaker incubator* dengan kecepatan 150 rpm pada suhu ruang ($28^\circ C$ - $30^\circ C$) (Sari et al., 2014).

3.5.2 Produksi Pati Resisten

Proses ini dilaksanakan dalam tiga tahap. Tahap pertama, yaitu pengumpulan biji alpukat dari berbagai tempat misalnya dari penjual es buah dan pasar di Bandar Lampung. Setelah biji alpukat terkumpul, biji alpukat ditimbang untuk mengetahui berat kotorannya. Pada penelitian ini berat kotor biji alpukat yaitu 2 Kg. Kemudian biji alpukat dibersihkan dari kulitnya, dicuci serta ditiriskan. Biji alpukat yang bersih dilakukan penimbangan untuk mengetahui berat biji alpukat. Pada penelitian ini berat bersih biji alpukat yaitu 1.60 Kg. Biji alpukat yang telah ditimbang diiris dan direndam dalam larutan NaCl 1% selama 24 jam. Setelah dilakukan perendaman biji alpukat ditiriskan.

Tahap kedua yaitu fermentasi biji alpukat dengan bantuan *Actinomycetes*. Adapun starter kultur *Actinomycetes* yang digunakan sebanyak 1%. Tahap fermentasi dilakukan dengan 4 perlakuan dan 3 kali pengulangan.

Suspensi biji alpukat dan akuades dengan perbandingan 1:1 dimasukkan kedalam 3 *Erlenmeyer*. Setelah itu, starter *Actinomyces* yang telah diremajakan di inokulasi dalam jumlah yang sama. Selanjutnya dilakukan fermentasi selama 24, 48, 72 jam dan kontrol tanpa fermentasi.

Pati hasil fermentasi dipisahkan dari cairan akuades yang digunakan selama fermentasi. Akuades diganti dengan akuades yang baru selanjutnya dilakukan tahap pemanasan bertekanan-pendinginan. Pati diautoklaf selama 15 menit kemudian diangkat dan didinginkan pada suhu ruang selama 1 jam. Pati yang telah dingin dimasukkan ke dalam refrigerator pada suhu 4°C selama 24 jam. Pati dipisahkan dari cairan akuades kemudian dikeringkan di oven pada suhu 40°C selama 24 jam. Pati yang telah kering dihaluskan menggunakan blender (Setiarto et al., 2018).

3.5.3 Analisis Kadar Total Pati Resisten

Analisis kadar total pati resisten dilakukan dengan mengacu pada metode (Wang et al., 2022). Larutan sampel dibuat dengan cara sebanyak 0.50 g sampel pati resisten perlakuan kontrol tanpa fermentasi, fermentasi 24, 48, dan 72 jam yang dilanjutkan pemanasan bertekanan pendinginan di masukkan ke dalam gelas piala ukuran 250 ml, kemudian dilarutkan dengan buffer fosfat 0.08 M (pH 6.0), dan ditutup menggunakan aluminium foil. Larutan tersebut ditambahkan 0.2 ml enzim α -amilase selanjutnya dimasukkan ke dalam penangas air pada suhu 95°C dalam rentang waktu 30 menit untuk diinkubasi sembari diaduk.

Larutan sampel tersebut diangkat kemudian didinginkan pada suhu ruang. Sebelum ke tahap selanjutnya disiapkan terlebih dahulu buffer fosfat pH 6. Buffer fosfat pH 6 ini didapatkan dari 2 g natrium hidroksida yang dilarutkan ke dalam 250 ml. Sebanyak 6.80 g kalium dihidrogen fosfat yang dilarutkan ke dalam 250 ml akuades. Selanjutnya kalium dihidrogen fosfat yang telah larut ini dimasukkan ke dalam beaker glass dengan

ukuran 1000 ml. Ditambahkan sebanyak 20 ml larutan natrium hidroksida dan akuades hingga tanda tera.

Larutan sampel yang telah diinkubasi dan dingin kemudian diatur pH nya menjadi 4.5 dengan cara menambahkan 5 ml larutan HCl 0.275 M dan ditambahkan 30 μ l enzim amiloglukosidase atau setara dengan 10 mg amiloglukosidase/ml buffer fosfat pH 6. Setelah itu diinkubasi menggunakan penangas air bergoyang pada suhu 60°C dalam rentang waktu 30 menit.

Larutan sampel diangkat dan didinginkan pada suhu ruang untuk kedua kalinya. pH diatur menjadi 7.5 dengan cara menambahkan sebanyak 5 ml larutan NaOH 0.325 lalu ditambahkan 50 μ l enzim protease yang terbuat dari 40 mg enzim protease/50 ml buffer fosfat pH 6. Campuran ini diinkubasi dalam penangas air bergoyang pada suhu 60°C dalam rentang waktu 30 menit.

Setelah dilakukan proses inkubasi, larutan sampel tersebut disentrifuse 300 rpm selama 10 menit kemudian diambil bagian pelet nya. Pelet tersebut dicuci dengan etanol 80% dan akuades sebanyak 2 kali ulangan. Supernatan dari larutan sampel tersebut dibuang kemudian ditambahkan 1 ml akuades.

Larutan sampel dimasukkan kembali ke dalam penangas air dalam rentang waktu 20 menit pada suhu 100°C sembari dikocok secara halus. Larutan KOH 4 M sebanyak 1 ml ditambahkan pada larutan sampel kemudian diaduk pada suhu ruang selama 30 menit. Larutan buffer asetat 0.4 M pH 4.75 dibuat dengan cara sebanyak 5.40 g asam asetat ditimbang kemudian dimasukkan ke dalam beaker glass yang telah berisi 500 ml akuades. pH larutan di cek menggunakan kertas pH universal. Kemudian ditambahkan larutan natrium asetat sedikit demi sedikit dan di cek pH larutan secara berkala hingga mencapai 4.75.

Sebanyak 1 ml larutan buffer asetat 0.4 M pH 4.75 tersebut dicampurkan ke dalam larutan sampel. Ditambahkan juga 1.5 ml HCl 2M kemudian elektroda dicuci dengan 1.5 ml buffer asetat 0.4 M pH 4.75. Sebanyak 60 μ l amiloglukosidase (10 mg/ml buffer asetat 0.4 M pH 4.75). Larutan sampel diletakkan dalam penangas air bergoyang selama 30 menit pada suhu 60°C. Setelah itu disentrifuse dalam rentang waktu 30 menit 3500 rpm. Supernatan larutan sampel diambil dan ditempatkan menjadi 10 ml sebagai larutan stok.

Setelah larutan sampel tersedia maka disiapkan larutan pereaksi Anthrone yang dibuat sesaat sebelum digunakan. Larutan tersebut dibuat dengan cara 0.1 gram bubuk Anthrone dilarutkan dalam 100 ml asam sulfat pekat. Larutan sampel yang telah dibuat stok diencerkan sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan pereaksi sebanyak 5 ml.

Larutan standar dibuat dengan cara menimbang 0.20 mg/ml glukosa murni. Diambil sebanyak 0.0; 0.5; 1.0; 1.5; dan 2.0 ml larutan glukosa murni lalu ditempatkan dalam 1 ml akuades. Masing-masing larutan standar dengan perbandingan larutan glukosa murni yang berbeda tersebut ditambahkan 1 ml pereaksi Anthrone dan dipanaskan pada penangas air selama 5 menit pada suhu 100°C. Setelah larutan dingin, larutan sampel dan larutan standar glukosa dibaca absorbansinya menggunakan *spectrophotometer* pada panjang gelombang 630 nm.

Sebagai pembanding, digunakan pereaksi DNS yang dibuat dengan cara melarutkan 1 gram DNS dalam bentuk serbuk, 20 ml NaOH 2M, 30 gram Ka-Na tartrate hingga volume 100 ml. Larutan sampel diambil sebanyak 1 ml dan ditempatkan dalam tabung reaksi lalu ditambahkan larutan pereaksi DNS sebanyak 2 ml. Larutan standar yang telah dibuat diambil sebanyak 0.0; 0.5; 1.0; 1.5; dan 2.0 ml lalu ditempatkan dalam 1 ml akuades.

Masing-masing larutan standar dengan perbandingan larutan glukosa murni yang berbeda tersebut ditambahkan 1 ml pereaksi DNS dan dipanaskan pada penangas air selama 5 menit pada suhu 100°C. Setelah larutan dingin, larutan sampel dan larutan standar glukosa dibaca absorbansinya menggunakan *spectrophotometer* pada panjang gelombang 540 nm. Hasil pengukuran absorbansi dengan penambahan pereaksi Anthrone maupun DNS dibuat kurva standar.

Nigudkar (2014) menyatakan kadar pati resisten dihitung menggunakan rumus berikut:

Kadar pati resisten:

$$\frac{\text{kadar absorbansi} \times \text{volume total reaksi} \times \text{FP} \times 100\% \times 0.9}{\text{bobot sampel (mg)}}$$

3.5.4 Analisis Kadar Amilosa dan Amilopektin

Sebelum melakukan analisis kadar amilosa dan amilopektin disiapkan terlebih dahulu larutan etanol 95% dan NaOH 1 N. Larutan NaOH 1 N disiapkan dengan cara menimbang sebanyak 40 g Kristal NaOH. NaOH yang telah ditimbang dimasukkan kedalam gelas piala ukuran 200 ml dan dilarutkan dengan akuades. Larutan yang telah mencapai suhu ruang dipindahkan ke labu takar ukuran 1000 ml dan ditambahkan akuades hingga tanda tera.

Analisis kadar amilosa dan amilopektin dilakukan dengan metode yang mengacu pada (Bimo & Yunirma, 2017). Sebanyak 0.1 gram sampel pati resisten dengan perlakuan yang berbeda ditimbang dan dimasukkan ke dalam labu takar berukuran 100 ml, kemudian ditambahkan 1 ml etanol 95% dan 9 ml larutan NaOH 1 N. Labu takar yang telah berisi larutan dipanaskan selama 10 menit pada suhu 95°C. Setelah larutan dingin, ditambahkan akuades hingga tanda tera kemudian dihomogenkan. 5 ml

larutan tersebut diambil menggunakan pipet volumetri lalu dipindahkan ke *Erlenmeyer* dengan ukuran 100 ml.

Disiapkan asam asetat 1 N dan larutan iod. Asam asetat 1 N dibuat dengan cara asam asetat murni sebanyak 57.1 ml diambil menggunakan pipet volumetri dan ditempatkan pada gelas piala berukuran 500 ml yang telah terisi akuades 200 ml, dilakukan pengadukan hingga homogen. Larutan yang telah homogen dituang ke dalam labu takar berukuran 1000 ml dan ditambah akuades hingga tanda tera. Larutan iod dibuat dengan cara menimbang sebanyak 12.69 gram serbuk iodine dan 18 gram KI. Iodine dan KI yang telah ditimbang dimasukkan ke dalam *beaker glass* 250 ml dan ditambahkan akuades sebanyak 150 ml. Setelah serbuk larut dengan sempurna, larutan dipindahkan ke dalam labu takar 1000 ml dan ditambah akuades hingga tanda tera.

Asam asetat 1 N yang telah disiapkan diambil sebanyak 1 ml lalu ditambahkan ke dalam larutan sampel yang akan dianalisis. Kemudian tambahkan 2 ml larutan iod serta akuades hingga tanda tera. Larutan sampel dibiarkan selama 20 menit pada suhu ruang. Larutan sampel yang telah melalui semua proses kemudian diukur absorbansinya menggunakan *spectrophotometer* UV-Vis pada panjang gelombang 625 nm.

Kadar amilosa ditentukan dengan menggunakan persamaan kurva standar larutan amilosa. Larutan standar amilosa dibuat dengan cara menimbang sebanyak 4.0 gram amilosa murni yang dilarutkan dengan 1 ml etanol 95% dan 9 ml NaOH pada *Erlenmeyer* 100 ml. *Erlenmeyer* yang berisi larutan tersebut dimasukkan ke dalam penangas air selama 10 menit pada suhu 95°C.

Larutan didinginkan pada suhu ruang dan ditambahkan akuades hingga tanda tera. Larutan tersebut di pipet sebanyak 1.0; 2.0; 3.0; 4.0; dan 5.0 ml untuk dipindahkan ke dalam *Erlenmeyer* 100 ml lainnya. Larutan asam asetat ditambahkan sebanyak 0.2; 0.4; 0.6; 0.8; dan 1.0 dan larutan iod

sebanyak 2 ml. Akuades ditambahkan pada larutan hingga batas tanda tera. Larutan dibiarkan selama 20 menit kemudian diukur absorbansinya di *spectrophotometer* pada panjang gelombang 625 nm.

Bimo et al., (2018) melaporkan kadar amilosa dan amilopektin dihitung menggunakan rumus berikut:

Kadar amilosa (%):

Bobot sampel (mg) x volume total reaksi (ml) x FP x 100%

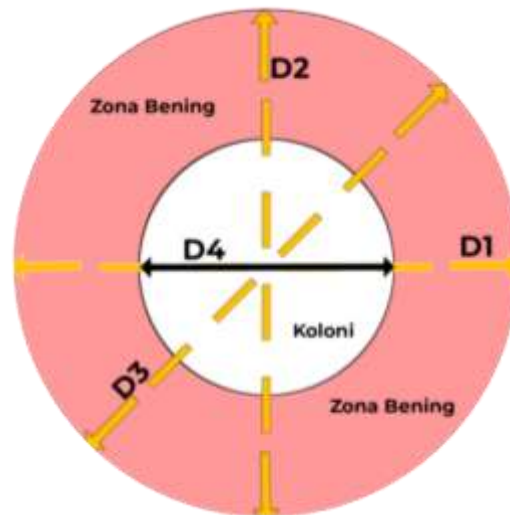
Kadar amilopektin (%):

100% - kadar amilosa (%)

3.5.5 Uji Cerna Pati Resisten

Tahap ketiga yaitu uji kemampuan cerna pati resisten oleh *Lactobacillus* sp. dan *E.coli*. Uji cerna pati resisten oleh *Lactobacillus* sp. mengacu pada metode (Sumardi et al., 2021) dilakukan dengan cara menyiapkan media MRSA yang ditambah pati resisten sebanyak 2% sebagai substrat. Isolat *Lactobacillus* sp. diinokulasi dengan metode titik. Sedangkan uji cerna pati resisten oleh *E.coli* dilakukan dengan cara menyiapkan media Nutrient Agar (NA) secukupnya lalu ditambahkan pati resisten sebanyak 2%. Isolat *E. coli* diinokulasi tepat ditengah media yang telah tersedia.

Cawan Petri yang berisi media dan isolat diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Media MRSA yang terdapat isolat *Lactobacillus* sp. dan NA yang terdapat isolat *E. coli* disiram dengan larutan iodine 2%, kemudian dicuci dengan larutan NaCl. Setelah semua proses selesai, dilakukan perbandingan luas zona jernih yang terbentuk dari pati resisten kontrol, hasil fermentasi 24, 48, dan 72 jam. Kemampuan cerna dari pati resisten ditandai dengan adanya zona jernih di sekitar koloni. Zona bening dapat dilihat pada gambar 5.



Gambar 5. Zona Bening
(Ilustrasi)

Rosa et al., (2020) menyatakan zona bening yang terlihat dihitung menggunakan rumus berikut ini:

$$\text{Diameter zona bening: } \frac{(D1-D4) + (D2-D4) + (D3-D4)}{D4}$$

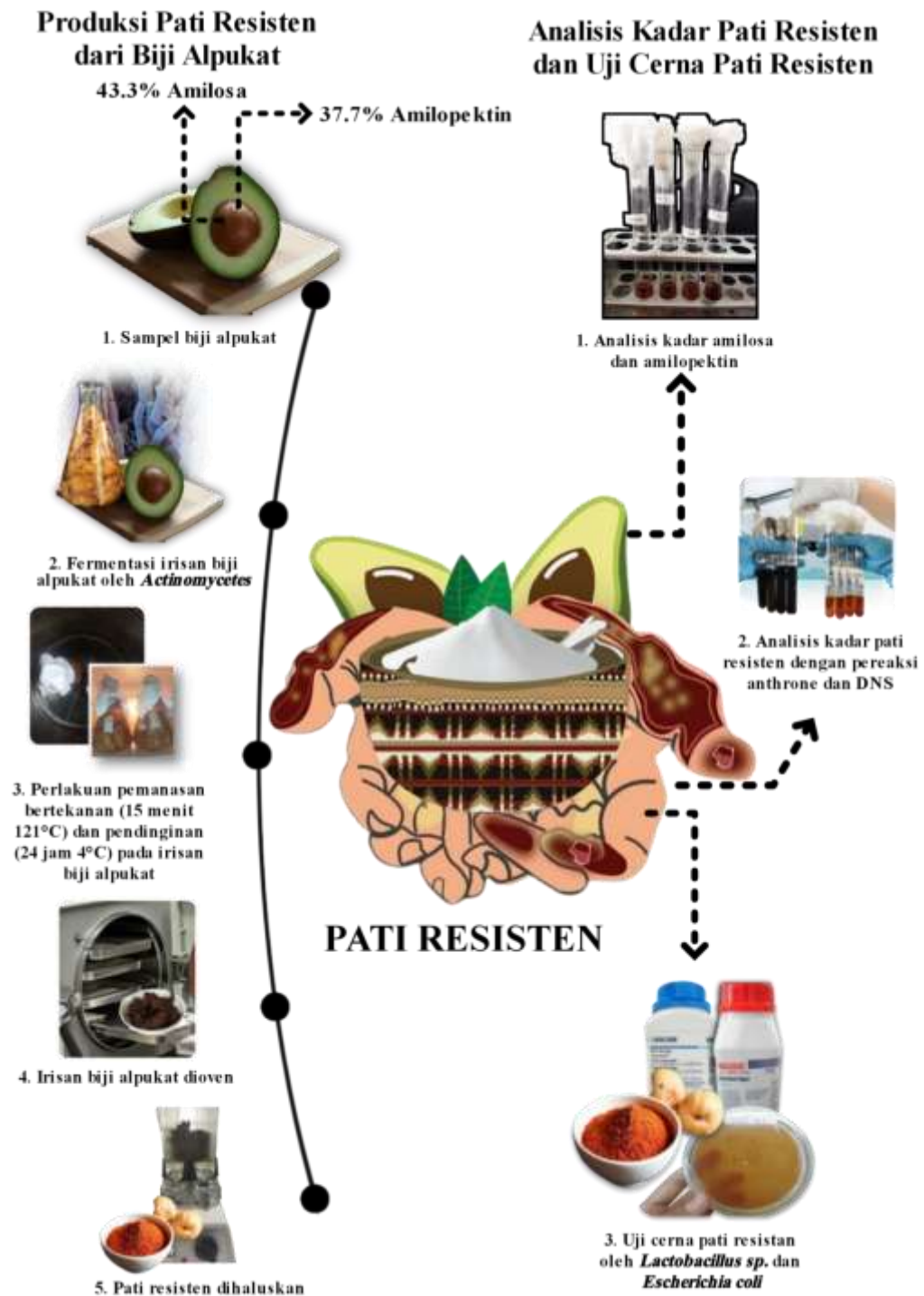
Keterangan: D1= Diameter zona hambat horizontal

D2= Diameter zona hambat vertikal

D3= Diameter zona hambat sisi miring

D4= Diameter koloni

3.6 Alur Tahapan Penelitian



Gambar 6. Alur tahapan penelitian

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan didapatkan kesimpulan

1. Terjadi peningkatan kadar pati resisten dengan kadar tertinggi terdapat pada perlakuan fermentasi 72 jam yang dilanjutkan pemanasan bertekanan-pendinginan.
2. Pati resisten dari semua perlakuan pada penelitian ini tidak dapat dicerna oleh bakteri *Lactobacillus* s.p.
3. Pati resisten dari semua perlakuan pada penelitian ini dapat dicerna oleh bakteri *E. coli*.

5.2 Saran

Saran untuk penelitian selanjutnya perlu diadakan evaluasi sifat prebiotik pati resisten biji alpukat dengan perlakuan fermentasi yang dilanjutkan pemanasan bertekanan pendinginan. Selain itu, perlu dilakukan penelitian lanjutan uji dampak pati resisten dengan metode ini pada mencit.

DAFTAR PUSTAKA

- Agirre, J., Moroz, O., Meier, S., Brask, J., Munch, A., Hoff, T., Andersen, C., Wilson, K. S., & Davies, G. J. (2019). The Structure of The AliC GH13 Amylase from Alicyclobacillus sp. Reveals The Accommodation of Starch Branching Points In The α -amylase Family. *Acta Crystallographica Section D: Structural Biology*, 75(1), 1–7.
<https://doi.org/10.1107/S2059798318014900>
- Ahmad, N., Noorul, H., Nesar, A., Zafar, K., Khalid, M., Zeeshan, A., & Vartika, S. (2016). Health Benefits and Pharmacology of Persea americana mill . (Avocado). *International Journal of Research in Pharmacology & Pharmacotherapeutics*, 5(2), 132–141.
- Al-Agamy, M. H., Alhuzani, M. R., Kelany, M. S., & Hamed, M. M. (2021). Production and Partial Characterization of α -Amylase Enzyme from Marine Actinomycetes. *BioMed Research International*, 2021.
<https://doi.org/10.1155/2021/5289848>
- Allocati, N., Masulli, M., Alexeyev, M. F., & Di Ilio, C. (2013). Escherichia coli in Europe: An Overview. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 10(12), 6235–6254.
<https://doi.org/10.3390/ijerph10126235>
- Aritonang, S. N., Roza, E., & Sandra, A. (2020). Short Communication: Application of Bacteriocin from Lactobacillus plantarum SRCM 1 004 34 Strain Isolated from Okara As A Natural Preservative in Beef Sausage. *Biodiversitas*, 21(5), 2240–2245. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d210553>
- Bangar, S. P., Dunno, K., Dhull, S. B., Kumar Siroha, A., Changan, S., Maqsood, S., & Rusu, A. V. (2022). Avocado seed discoveries: Chemical composition,

- biological properties, and industrial food applications. *Food Chemistry: X*, 16(November), 100507. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100507>
- Bawazir, M. A., Shantaram, M., Kaveri, J., Aluvara, C., Kaveri, J., & Aluvara, C. (2018). *Research Article Ecology and Distribution of Actinomycetes In Nature Nature*.
- Bimo, Setiarto, R. H., Widhyastuti, N., & Setiadi, D. (2018). Improvement Resistant Starch from Modified Sorghum Flour by Using Fermentation and Autoclaving-Cooling Cycling. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 23(1), 10–20. <https://doi.org/10.18343/jipi.23.1.10>
- Bimo, R. H., & Yunirma, F. (2017). Produksi Tepung Gadung (*Dioscorea hispida* Dennst) Kaya Pati Resisten Melalui Fermentasi Bakteri Asam Laktat dan Pemanasan Bertekanan Pendinginan. *Jurnal Pangan*, 26(2), 1–16.
- Burhan, H., Priyambada, S. A., Taufik, E., & Arief, I. I. (2017). Potential of Lactic acid Bacteria Isolated from Dangke and Indonesian Beef As Hypocholesterolaemic Agent. *Media Peternakan*, 40(2), 136–142. <https://doi.org/10.5398/medpet.2017.40.2.136>
- Chaiwanichsiri, S. (2016). Effects of Heat-Moisture Treatment on Molecular Interactions and Physicochemical Properties of Tapioca Starch. *MOJ Food Processing & Technology*, 3(3), 304–311. <https://doi.org/10.15406/mojfpt.2016.03.00072>
- Charousová, I., Medo, J., Hleba, L., Císarová, M., & Javoreková, S. (2019). Antimicrobial Activity of Actinomycetes and Characterization of Actinomycin-Producing Strain KRG-1 Isolated from Karoo, South Africa. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 55, 1–11. <https://doi.org/10.1590/s2175-97902019000217249>
- Chaudhary, H. S., Yadav, J., Shrivastava, A. R., Singh, S., Singh, A. K., & Gopalan, N. (2013). Antibacterial Activity of Actinomycetes Isolated from Different Soil Samples of Sheopur (A city of central India). *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research*, 4(2), 118–123. <https://doi.org/10.4103/2231-4040.111528>
- Cho, S., Hiott, L. M., Barrett, J. B., McMillan, E. A., House, S. L., Humayoun, S. B., Adams, E. S., Jackson, C. R., & Frye, J. G. (2018). Prevalence and

- Characterization of *Escherichia coli* Isolated from The Upper Oconee Watershed in Northeast Georgia. *PLoS ONE*, *13*(5), 1–15.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197005>
- Christofi, T., Panayidou, S., Dieronitou, I., Michael, C., & Apidianakis, Y. (2019). Metabolic Output Defines *Escherichia coli* As A Health-Promoting Microbe Against Intestinal *Pseudomonas aeruginosa*. *Scientific Reports*, *9*(1), 1–13.
<https://doi.org/10.1038/s41598-019-51058-3>
- Dianty, R., Ardiningsih, P., Buchary, :, & Rahman, A. (2015). Antimicrobial Activity Of Actinomycetes Extract From Sea Water Of Randayan Island, Bengkulu Againts *Salmonella* Sp. *Jurnal Mahasiswa PSPD FK Universitas Tanjungpura*, *3*(1), 1–13.
- Divakaran, D., Chandran, A., & Pratap Chandran, R. (2011). Comparative study on production of α -amylase from *Bacillus licheniformis* strains. *Brazilian Journal of Microbiology*, *42*(4), 1397–1404. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822011000400022>
- Drake, A. M., Coughlan, M. T., Christophersen, C. T., & Snelson, M. (2022). Resistant Starch as a Dietary Intervention to Limit The Progression of Diabetic Kidney Disease. *Nutrients*, *14*(21).
<https://doi.org/10.3390/nu14214547>
- Eshra, D. H., El-Iraki, S. M., & Abo Bakr, T. M. (2014). Performance of Starch Hydrolysis and Production of Corn Syrup Using Some Commercial Enzymes. *International Food Research Journal*, *21*(2), 815–821.
- Faridah, D. N., Silitonga, R. F., Indrasti, D., Afandi, F. A., Jayanegara, A., & Anugerah, M. P. (2022). Verification of autoclaving-cooling treatment to increase the resistant starch contents in food starches based on meta-analysis result. *Frontiers in Nutrition*, *9*(July).
<https://doi.org/10.3389/fnut.2022.904700>
- Garcia-Santos, M. de S. L., Conceição, F. S., Villas Boas, F., SALOTTI DE SOUZA, B. M., & Barretto, A. C. da S. (2019). Effect of The Addition of Resistant Starch In Sausage with Fat Reduction On The Physicochemical and Sensory Properties. *Food Science and Technology (Brazil)*, *39*, 491–497.
<https://doi.org/10.1590/fst.18918>

- Garg, N. K., Singh, A., & Chaudhary, D. P. (2017). Resistant Starch: A Potential Impact on Human Health. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(5), 2046–2057.
<https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.605.228>
- Ge, Y., Wang, W., Shen, M., Kang, Z., Wang, J., Quan, Z., Xiao, J., Zhao, S., Liu, D., & Cao, L. (2020). Effect of Natural Fermentation of Sorghum on Resistant Starch Molecular Structure and Fermentation Property. *Journal of Chemistry*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/9835214>
- Golachowski, A., Drożdż, W., Golachowska, M., Kapelko-Zeberska, M., & Raszewski, B. (2020). Production and properties of starch citrates—Current research. *Foods*, 9(9), 1–14. <https://doi.org/10.3390/foods9091311>
- Gopalsamy, G., Mortimer, E., Greenfield, P., Bird, A. R., Young, G. P., & Christophersen, C. T. (2019). Faecal Microbiota and Increases Microbial Diversity. *Nutrients*, 1–16.
- Isra, M., Andrianto, D., & Setiarto, R. H. B. (2023). Effect Heat Moisture Treatment for Resistant Starch Levels and Prebiotic Properties of High Carbohydrate Food: Meta-Analysis Study. *Food Research*, 7(1), 144–150.
[https://doi.org/10.26656/fr.2017.7\(1\).928](https://doi.org/10.26656/fr.2017.7(1).928)
- Istri Sri Wiadnyani, A., Mayun Permana, I., Rai Widarta Jurusan Ilmu dan Teknologi Pangan, I., Teknologi Pertanian, F., Udayana Jl Kampus Bukit Jimbaran, U., & Diterima, B.-B. (2017). Modifikasi Pati Keladi Dengan Metode Autoclaving-Cooling Sebagai Sumber Pangan Fungsional. *Scientific Journal of Food Technology*, 4(2), 2477–2739.
- Jyothsna, E., & Hymavathi, T. V. (2017). Resistant starch: Importance, categories, food sources and physiological effects. *Journal of Pharmacognosy and Phytochem*, 6(2), 67–69.
<https://www.researchgate.net/publication/324106324>
- Khan, A., Ali, H., Rehman, U. U., Belduz, A. O., Bibi, A., Abdurahman, M. A., Shah, A. A., Badshah, M., Hasan, F., Kilic, A. O., Ullah, A., Jahan, S., Ur Rehman, M. M., Mansoor, R., & Khan, S. (2022). Prebiotic potential of enzymatically prepared resistant starch in reshaping gut microbiota and their respond to body physiology. *PLoS ONE*, 17(5 May), 1–17.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0267318>

- Kurzyna-Szklarek, M., Cybulska, J., & Zdunek, A. (2022). Analysis of the chemical composition of natural carbohydrates – An overview of methods. *Food Chemistry*, 394(June), 133466.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133466>
- Lado, K., Sube, L., Daniel, J., Lako, W., Stephen, C., Lumori, G., Yengkopiong, J. P., Augustino, J., Utong, M., Binyason, S. A., Samuel, Y., Ngerja, L., Kalisto Moilinga, M., Lado, T. F., & Kheiralla, A. H. (2020). Heat-Induced Changes of Corn, Potato, and Wheat Starches. *World Journal of Advanced Research and Reviews*, 2020(01), 2581–9615. <https://doi.org/10.30574/wjarr>
- Lestari, R., Agus Sukamto, L., Aprilianti, P., Wahyuni, S., & Putri, W. U. (2016). Selection of Avocado Plants Based on Fruit Characters, Fat Content, and Continual Harvest Along the Year in West Java-Indonesia. *International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology*, 6(1), 77–83. <https://doi.org/10.18517/ijaseit.6.1.621>
- Li, G., Liu, B., Zhang, G., Zeng, J., Sun, J., & Ma, H. (2014). Characterization of digestion resistance sweet potato starch phosphodiester. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 13(9), 1393–1400.
<https://doi.org/10.4314/tjpr.v13i9.3>
- Magallanes-Cruz, P. A., Flores-Silva, P. C., & Bello-Perez, L. A. (2017). Starch Structure Influences Its Digestibility: A Review. *Journal of Food Science*, 82(9), 2016–2023. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13809>
- Martins, S. H. F., Pontes, K. V., Fialho, R. L., & Fakhouri, F. M. (2022). Extraction and Characterization of The Starch Present In The Avocado Seed (*Persea americana* mill) for Future Applications. *Journal of Agriculture and Food Research*, 8(January), 100303.
<https://doi.org/10.1016/j.jafr.2022.100303>
- Mastuti, E. (2013). Hidrolisa Pati Dari Kulit Singkong (Variabel Ratio Bahan Dan Konsentrasi Asam). *Ekuilibium*, 12(1), 5–10.
<https://doi.org/10.20961/ekuilibrium.v12i1.2168>
- Menchavez, R. L., Adavan, C. R. M., & Calgas, J. M. (2014). Starch Consolidation of Red Clay-Based Ceramic Slurry Inside a Pressure-Cooking

- System. *Materials Research*, 17(1), 157–167. <https://doi.org/10.1590/S1516-14392013005000162>
- Mohamed, H., Zohra, F., Mohamed, H., Miloud, B., Garcia-Arenzana, J. M., Veloso, A., Rodriguez-Couto, S., & Rodriguez-Couto, S. (2017). Isolation and Characterization of Actinobacteria from Algerian Sahara Soils with Antimicrobial Activities. *International Journal of Molecular and Cellular Medicine*, 6(2), 109–120.
- Nagy, R., Máthé, E., Csapó, J., & Sipos, P. (2021). Modifying effects of physical processes on starch and dietary fiber content of foodstuffs. *Processes*, 9(1), 1–16. <https://doi.org/10.3390/pr9010017>
- Nigudkar, M. R. (2014). Estimation of resistant starch content of selected routinely consumed Indian food preparations. *Current Research in Nutrition and Food Science*, 2(2), 73–83. <https://doi.org/10.12944/CRNFSJ.2.2.03>
- Nurhidajah, Astuti, Mary, Sardjono, Murdiati, Agnes, Marsono, Y. (2015). *Kadar Serat Pangan dan Daya Cerna Pati Nasi Merah yang Diperkaya Kappa-Karagenan dan Ekstrak Antosianin dengan Variasi Metode Pengolahan*.
- Oloo, B. O., Shitandi, A., Mahungu, S., Malinga, J. B., & Rose, O. B. (2014). Effects of Lactic acid Fermentation On The Retention of Beta-Carotene Content in Orange Fleshed Sweet Potatoes. *International Journal of Food Studies*, 3(1), 13–33. <https://doi.org/10.7455/ijfs/3.1.2014.a2>
- Padmavathi, T., Bhargavi, R., Priyanka, P. R., Niranjana, N. R., & Pavitra, P. V. (2018). Screening of potential probiotic lactic acid bacteria and production of amylase and its partial purification. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 16(2), 357–362. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2018.03.005>
- Purba, M. B., Yudi, Y. H. C., Sihotang, M. A. E. D., & Wilast, Y. (2021). Pengaruh pH Media MRSA Terhadap Pertumbuhan Bakteri Lactobacillus casei dan Lactobacillus reuteri. *Jurnal Labora Medika*, 5, 39–42.
- 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>

- Rozirwan, Muda, H. I., & Ulqodry, T. Z. (2020). Short Communication: Antibacterial Potential of Actinomycetes Isolated from Mangrove Sediment in Tanjung Api-Api, South Sumatra, Indonesia. *Biodiversitas*, 21(12), 5723–5728. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d211232>
- Rumball, N. A., Mayer, H. R. C., & McLellan, S. L. (2021). Selective Survival of *Escherichia coli* Phylotypes in Freshwater Beach Sand. *Applied and Environmental Microbiology*, 87(4). <https://doi.org/10.1128/AEM.02473-20>
- Sarifudin, A., Sholichah, E., Setiaboma, W., Afifah, N., Desnilasari, D., Amri, K., & Tongta, S. (2021). Impact of Heating Temperatures On The Properties of Instant Cassava Flour. *Czech Journal of Food Sciences*, 39(5), 360–367. <https://doi.org/10.17221/42/2021-CJFS>
- Sensoy, I. (2021). A Review On The Food Digestion in The Digestive Tract and The Used in Vitro Models. *Current Research in Food Science*, 4(April), 308–319. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.04.004>
- Setiarto, R. H. B., Jenie, B. S. L., Faridah, D. N., Saskiawan, I., & Sulistiani. (2018). Effect of Lactic acid Bacteria Fermentation and Autoclaving-Cooling for Resistant Starch and Prebiotic Properties of Modified Taro Flour. *International Food Research Journal*, 25(4), 1691–1697.
- Shi, C., Zhang, Y., Lu, Z., & Wang, Y. (2017). Solid-State Fermentation of Corn-Soybean Meal Mixed Feed with *Bacillus subtilis* and *Enterococcus faecium* for Degrading Antinutritional Factors and Enhancing Nutritional Value. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 8(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s40104-017-0184-2>
- Suloi, A. N. F. (2019). Potensi Pati Resisten dari Berbagai Jenis Pisang – A Review. *Jurnal Penelitian Dan Pengembangan Agrokompleks*, 2(1), 92–96.
- Sumardi, S., Qatrunada, V., Farisi, S., Arifiyanto, A., Ekowati, C. N., & Farisi, S. (2021). Aktivitas Enzim Hidrolase Pada Penapisan Isolat Actinomycetes Toleran Salinitas. *Bioma : Jurnal Biologi Dan Pembelajaran Biologi*, 6(1), 24–36. <https://doi.org/10.32528/bioma.v6i1.3548>
- Tan, F. P. Y., Beltranena, E., & Zijlstra, R. T. (2021). Resistant Starch: Implications of Dietary Inclusion On Gut Health and Growth in Pigs: A Review. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 12(1), 1–15.

<https://doi.org/10.1186/s40104-021-00644-5>

Upadhyay, D., Universiy, P., & Andhare, P. (2021). a Study on Amylase: Review. *International Journal of Biology, Pharmacy and Allied Sciences*, 10(4).

<https://doi.org/10.31032/ijbpas/2021/10.4.1037>

Venegas, D. P., De La Fuente, M. K., Landskron, G., González, M. J., Quera, R., Dijkstra, G., Harmsen, H. J. M., Faber, K. N., & Hermoso, M. A. (2019).

Short chain fatty acids (SCFAs) mediated gut epithelial and immune regulation and its relevance for inflammatory bowel diseases. *Frontiers in Immunology*, 10(MAR). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00277>

Wahjuningsih, S., Haslina, H., & Marsono, M. (2018). Hypolipidaemic Effects of High Resistant Starch Sago and Red Bean Flour- based Analog Rice on Diabetic Rats. *Materia Socio Medica*, 30(4), 232.

<https://doi.org/10.5455/msm.2018.30.232-239>

Wang, Y., Sheng, Y., Zhang, Y., Geng, F., & Cao, J. (2022). Effect of High Pressure/Heating Combination on the Structure and Texture of Chinese Traditional Pig Trotter Stewed with Soy Sauce. *Foods*, 11(15).

<https://doi.org/10.3390/foods11152248>

Wardiyah, W. (2021). Review Article: The Effectiveness of Avocado Seed Starch (Persea Americana Mill) As An Excipients in Tablets Formulation.

SANITAS: Jurnal Teknologi Dan Seni Kesehatan, 12(2), 159–171.

<https://doi.org/10.36525/sanitas.2021.15>

Wei, C., Ge, Y., Zhao, S., Liu, D., Jiliu, J., Wu, Y., Hu, X., Wei, M., Wang, Y., Wang, W., Wang, L., & Cao, L. K. (2022). Effect of Fermentation Time on Molecular Structure and Physicochemical Properties of Corn Ballast Starch. *Frontiers in Nutrition*, 9(April), 1–12.

<https://doi.org/10.3389/fnut.2022.885662>

Yi, R., Pan, Y., Long, X., Tan, F., & Zhao, X. (2020). Enzyme Producing Activity of Probiotics and Preparation of Compound Enzyme. *Journal of Chemistry*, 2020.

<https://doi.org/10.1155/2020/9140281>

Yusrina, F., Puspitasari, R., Dewanti Widyaningsih, T., & Narsito Wulan, S.

(2020). Perbaikan Respon Glisemik dan Profil Lipid Setelah Mengonsumsi Tepung Pisang Mentah Termodifikasi. *Indonesian Journal of Human*

Nutrition, 7(2), 92–107. <https://doi.org/10.21776/ub.ijhn.2020.007.02.2>
Zai, K., & Sidabalok, I. (2021). *Karakteristik Mutu Flakes dengan Substitusi Tepung Biji Alpukat (Persea Americana Mill) Terhadap Tepung Terigu P- ISSN : 2549-3043*. 7, 10–20.