

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)

Raden Haryo Bimo Setiarto^{1*}, Nunuk Widhyastuti¹, Denny Setiadi²

(Diterima Januari 2018/Disetujui Februari 2018)

ABSTRAK

Sorghum dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan pati resisten karena kandungan amilosanya yang tinggi. Pati resisten adalah pati yang tahan terhadap hidrolisis asam lambung dan tidak dapat dicerna oleh enzim pencernaan pankreas, tidak diserap di usus halus, akan tetapi dapat difermentasi oleh mikroba di usus besar. Penelitian ini bertujuan meningkatkan kadar pati resisten pada tepung sorgum termodifikasi dengan fermentasi bakteri asam laktat dan siklus pemanasan bertekanan-pendinginan. Parameter yang dianalisis pada penelitian ini adalah daya cerna pati, kadar amilosa, total pati, gula pereduksi, RDS (*rapidly digestible starch*), SDS (*slowly digestible starch*), dan pati resisten. Perlakuan kombinasi fermentasi dengan 2 siklus pemanasan bertekanan-pendinginan (FAC-2S) merupakan perlakuan terbaik karena mampu menghasilkan kadar pati resisten tertinggi (39,06% bk) dan meningkatkan kadar pati resisten 8,1 kali lipat jika dibandingkan dengan kontrol. Peningkatan jumlah siklus pemanasan bertekanan-pendinginan yang diaplikasikan akan semakin meningkatkan kadar pati resisten dan menurunkan daya cerna tepung sorgum termodifikasi. Semakin tinggi kadar amilosa dalam tepung sorgum modifikasi maka semakin berpotensi dalam pembentukan pati resisten.

Kata kunci: fermentasi, pati resisten, pemanasan bertekanan-pendinginan, tepung sorgum termodifikasi

ABSTRACT

Sorghum can be utilized as raw material to produce resistant starch because of its high amylose content. Resistant starch is the starch that is resistant to gastric acid hydrolysis and it cannot be digested by pancreatic digestive enzymes, it cannot be absorbed in the human small intestine, but it can be fermented by intestinal microbial in the colon. This study aims to increase the levels of resistant starch in modified sorghum flour by lactic acid bacteria fermentation and autoclaving-cooling cycling. Parameters analyzed in this study were proximate analysis starch digestibility, amylose content, total starch, reducing sugar, RDS (*rapidly digestible starch*), SDS (*slowly digestible starch*), and resistant starch. The combination treatment of fermentation and 2 cycles of autoclaving-cooling (FAC-2S) is the best treatment because it was able to produce the highest resistant starch content (39.06% dw) and it increased resistant starch 8.1 fold when compared with control. Improvement the number of autoclaving-cooling cycles was applied will increase the resistant starch content and decrease the digestibility of modified sorghum flour. High amylose content in modified sorghum flour is useful in the formation of resistant starch.

Keywords: autoclaving-cooling, fermentation, modified sorghum flour, resistant starch

PENDAHULUAN

Tepung sorgum merupakan produk olahan biji sorgum melalui proses penggilingan dengan menghilangkan kulit biji dan bagian lembaga (germ) dalam jumlah besar. Sementara itu, bagian endosperm dihaluskan sampai diperoleh derajat kehalusan yang sesuai (Suarni & Patong 2002). Pengolahan sorgum menjadi tepung sorgum lebih dianjurkan karena tepung lebih tahan disimpan, mudah dicampur, dapat diper-

kaya dengan zat gizi, dan lebih cepat dimasak sesuai tuntutan kehidupan modern yang serba praktis (Suarni & Subagio 2013; Sun *et al.* 2014). Tepung sorgum dapat diolah menjadi bahan baku *snack* ekstrusi, roti, *cookies*, mie, maupun sebagai tepung substitusi (Suarni 2009; Sun *et al.* 2014).

Sorghum dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan pati resisten karena kandungan amilosa yang tinggi (Teixiera *et al.* 2016). Pati resisten adalah komponen pati yang tahan terhadap hidrolisis asam lambung dan tidak dapat dicerna oleh enzim α -amilase yang dihasilkan oleh kelenjar pankreas. Pati resisten juga tidak diabsorpsi dalam usus halus manusia yang sehat, namun dapat difermentasi oleh mikroba usus sehingga menghasilkan asam lemak rantai pendek seperti asam laktat, asetat, format, dan butirrat (Saguilan *et al.* 2005; Sajilata *et al.* 2006). Pati resisten

¹ Laboratorium Mikrobiologi Pangan, Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi LIPI, Jl. Raya Jakarta-Bogor Km 46, Kawasan CSC Cibinong, Bogor 16911.

² Fakultas Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional, Jalan Moh Kahfi II, Srengseng Sawah, Jagakarsa, Jakarta Selatan 12630.

* Penulis Korespondensi: E-mail: haryobimo88@gmail.com

berperan dalam mengurangi risiko kanker kolon, mempunyai efek hipoglikemik, berperan sebagai prebiotik, mengurangi risiko pembentukan batu empedu, mempunyai efek hipokolesterolemik, menghambat akumulasi lemak, dan meningkatkan absorpsi mineral (Higgins *et al.* 2004; Birt *et al.* 2013; Shen *et al.* 2015). Pati resisten juga memiliki nilai kalori rendah, yaitu sebesar 11,7 kJ/g atau setara dengan 1,9 Kkal/g, sehingga dapat dijadikan sebagai *ingredient* untuk pangan rendah kalori (Shen *et al.* 2015). Kandungan pati resisten dalam tepung sorgum tanpa modifikasi masih rendah, yaitu sekitar 1,16–2,72% bk (Moongnarm 2013). Oleh karena itu, diperlukan proses modifikasi baik secara fisika, kimia, maupun mikrobiologis untuk meningkatkan kadar pati resistenya.

Beberapa teknik modifikasi untuk meningkatkan kadar pati resisten telah dilaporkan, yaitu siklus pemanasan bertekanan-pendinginan (Sugiyono *et al.* 2009), hidrolisis asam secara lambat di bawah suhu gelatinisasi (lintnerisasi) (Onyango *et al.* 2006; Faridah *et al.* 2013), proses pragelatinisasi, pemutusan ikatan cabang α -1,6 amilopektin (*debranching*) oleh enzim pululanase yang dilanjutkan dengan siklus pemanasan bertekanan-pendinginan (Ozturk *et al.* 2009; Pongjanta *et al.* 2009), perlakuan hidrotermal (*heat moisture treatment*) (Soto *et al.* 2007), modifikasi pati secara kimia dengan pembentukan ikatan silang (*crosslinking*) dengan penambahan pereaksi STPP (Sodium Tri Poli Phosphat) (Zaragoza *et al.* 2010; Faridah *et al.* 2013).

Pemberian pemanasan bertekanan-pendinginan 5 siklus pada pati garut meningkatkan kadar pati resisten hingga 5 kali lipat dari 2,12 menjadi 10,91% (Sugiyono *et al.* 2009). Kombinasi hidrolisis asam dan 3 siklus pemanasan bertekanan-pendinginan juga dapat meningkatkan kadar pati resisten pada pati garut sebesar 5,6 kali lipat (Faridah *et al.* 2013). Dalam upaya untuk mengurangi jumlah siklus pemanasan bertekanan-pendinginan (*autoclaving-cooling/AC*), Jenie *et al.* (2012) telah mengaplikasikan fermentasi bakteri asam laktat (BAL) terhadap irisan pisang tanduk sebagai pra perlakuan dengan 1 siklus AC sehingga terjadi peningkatan kadar RS tepung pisang tanduk sebesar 2 kali lipat dari 5,87–6,45% menjadi 12,99–13,71% yang setara dengan 2 siklus AC tanpa fermentasi.

Pembuatan pati resisten yang berasal dari biji sorgum melalui teknik fermentasi bakteri asam laktat dan siklus pemanasan bertekanan-pendinginan belum pernah dilakukan sebelumnya, sehingga penelitian tentang hal tersebut perlu dilakukan. Penelitian ini bertujuan meningkatkan kadar pati resisten pada tepung sorgum termodifikasi dengan fermentasi bakteri asam laktat dan siklus pemanasan bertekanan-pendinginan, sehingga diperoleh tepung sorgum yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan pangan fungsional.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret–Agustus 2017 di laboratorium Mikrobiologi Pangan, Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi LIPI.

Bahan

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian adalah biji sorgum putih varietas Numbu yang diperoleh dari SEAMEO BIOTROP, Ciawi Bogor. Isolat bakteri asam laktat yang digunakan, yaitu *Lactobacillus plantarum* B-307 koleksi laboratorium mikrobiologi pangan, Pusat Penelitian Biologi LIPI. Bahan kimia yang digunakan antara lain media MRS (de Mann Rogosa Sharpe) Broth, enzim α -amilase Sigma A6380, enzim pepsin Sigma P6887, pankreatin Sigma P-1750, enzim amiloglukosidase Sigma A-9913, inulin Sigma I2255, glukosa, maltosa, 3,5-dinitrosalisilat (*Merck*), Na-K-tartarat (*Merck*), dan fenol (*Merck*).

Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoclave (Hirayama), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-1601), *sentrifuge high speed* (Kubota Model 5922), *pin disk mill*, *incubator*, *oven vacuum* (Isuzu), pH meter (TOA), pipet mikro (Eppendorf), neraca analitik digital, *refrigerator*, *water bath*, *vortex magnetic stirrer*, dan peralatan gelas.

Persiapan Biji Sorgum untuk Fermentasi

Biji sorgum utuh disosoh menggunakan *Satake Grain Testing Mill* dengan tingkat penyosohan 70% untuk menghilangkan sebagian besar kulit ari dari bijinya. Proses penyosohan bertujuan untuk memisahkan kulit sorgum serta untuk menurunkan kadar tanin pada sorgum. Setelah proses penyosohan dilakukan perendaman dengan NaCl 1% selama 24 jam sampai sisa kulit biji sorgum terapung. Tujuan perendaman tersebut adalah menurunkan kandungan senyawa antinutrisi yang terdapat di dalam biji sorgum, yaitu komponen tanin dan asam fitat (Correia *et al.* 2010).

Perlakuan Fermentasi dan Siklus Pemanasan Bertekanan-Pendinginan pada Biji Sorgum

Sebanyak 500 g biji sorgum yang telah disosoh dan dicuci, selanjutnya diberi perlakuan fermentasi dengan kultur *L. plantarum* B-307 10^8 cfu/ml, 2% (v/v) pada suhu 37 °C selama 18 jam. Sementara itu, untuk perlakuan pemanasan bertekanan-pendinginan, biji sorgum diautoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit, dengan rasio biji sorgum : aquades (1:2) yang dilanjutkan dengan pendinginan pada *refrigerator* (4 °C, 24 jam). Selanjutnya, biji sorgum yang telah diberi kedua perlakuan tersebut dikeringkan dengan oven pada

suhu 70 °C selama 16 jam, lalu ditepungkan dengan *pin disk mill* dan diayak sehingga diperoleh sampel tepung sorgum berukuran 80 mesh dengan rendemen susut bobot sebesar 22% dari biji sorgum awal. Setiap unit perlakuan dilakukan sebanyak tiga kali ulangan. Untuk mengetahui pengaruh fermentasi bakteri asam laktat dan jumlah siklus pemanasan bertekanan-pendinginan (*autoclaving-cooling/AC*) terhadap sifat fisikokimia dan kadar pati resisten, maka dilakukan pengelompokan tepung sorgum. Kelompok A perlakuan tanpa fermentasi, yaitu 1) Kode K (kontrol, tanpa siklus pemanasan bertekanan-pendinginan/AC), 2) Kode AC-1S (1 siklus pemanasan bertekanan-pendinginan/AC), 3) Kode AC-2S (2 siklus pemanasan bertekanan-pendinginan/AC), dan 4) kode AC-3S (3 siklus pemanasan bertekanan-pendinginan/AC). Kelompok B dengan fermentasi, yaitu 1) Kode F (fermentasi, tanpa siklus pemanasan bertekanan-pendinginan/AC), 2) Kode FAC-1S (fermentasi, dengan 1 siklus pemanasan bertekanan-pendinginan/AC), dan 3) Kode FAC-2S (fermentasi, dengan 2 siklus pemanasan bertekanan-pendinginan/AC). Mekanisme pembuatan tepung sorgum termodifikasi dengan fermentasi bakteri asam laktat dan siklus pemanasan bertekanan-pendinginan ditampilkan pada Gambar 1. Perlakuan kombinasi fermentasi dengan 3 siklus pemanasan bertekanan-pendinginan (FAC-3S) tidak dilakukan karena keterbatasan sumber dana untuk pelaksanaan penelitian.

Analisis Kimia terhadap Tepung Sorgum Modifikasi

Terhadap ketujuh sampel tepung sorgum modifikasi dari 2 kelompok perlakuan tersebut dilakukan analisis kadar amilosa (Faridah *et al.* 2013), total pati (Dubois *et al.* 1956), gula pereduksi (Miller 1959), RDS (*rapidly digestible starch*), SDS (*slowly digestible starch*), pati resisten secara triplo (Englyst *et al.* 1992), dan daya cerna pati (Anderson *et al.* 2002).

Analisis Kadar Amilosa

Analisis kadar amilosa dilakukan sesuai dengan metode Faridah *et al.* (2013). Sebanyak 100 mg sampel tepung sorgum termodifikasi dimasukkan dalam labu takar 100 ml, lalu ditambahkan 1 ml etanol 95% dan 9 ml larutan NaOH 1 N. Selanjutnya, labu takar tersebut dipanaskan dalam penangas air pada suhu 95 °C selama 10 menit. Setelah didinginkan, larutan gel tepung sorgum termodifikasi ditambahkan akuades sampai tanda tera dan dihomogenkan. Dari labu takar ini dipipet 5 ml larutan gel tepung sorgum termodifikasi dan dipindahkan ke dalam labu takar 100 ml, kemudian ditambahkan 1 ml larutan asam asetat 1 N dan 2 ml larutan iod dan ditambah akuades hingga tanda tera. Larutan sampel diinkubasi selama 20 menit pada suhu ruang sebelum dianalisis absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 625 nm. Kadar amilosa (dalam %) ditentukan dengan menggunakan persamaan kurva standar larutan amilosa.

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

Dimana:

- C : Konsentrasi amilosa (mg/ml)
 FP : Faktor pengencer
 V : Volume akhir sampel (ml)
 W : Berat sampel (mg)

Analisis Kadar Total Pati

Analisis kadar total pati dilakukan mengacu pada metode Dubois *et al.* (1956). Sebanyak 1 g tepung sorgum termodifikasi dimasukkan secara perlahan dalam 100 ml etanol 95% dan dihomogenkan menggunakan pengaduk magnetik. Suspensi tepung sorgum termodifikasi kemudian disaring menggunakan kertas saring. Kertas yang berisi residu tepung sorgum termodifikasi didiamkan semalam dalam desikator. Residu tepung sorgum termodifikasi ditimbang dan dihaluskan dengan mortar. Sebanyak 40 mg tepung sorgum modifikasi yang telah dihaluskan ditambah dengan 20 ml akuades, lalu diautoklaf pada suhu 105 °C selama 1 jam. Setelah diautoklaf, sampel didinginkan pada suhu kamar lalu diencerkan dengan akuades sebanyak 40 kali.

Sebanyak 0,5 ml sampel tepung sorgum termodifikasi dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 0,5 ml fenol 5% dan dihomogenkan dengan menggunakan vorteks. Sebanyak 2,5 ml larutan H₂SO₄ pekat ditambahkan secara cepat ke dalam tabung reaksi, sehingga terjadi reaksi eksoterm yang menghasilkan panas. Larutan sampel diinkubasi selama 10 menit pada suhu ruang, diaduk dengan vorteks dan diinkubasi kembali selama 20 menit pada suhu ruang. Nilai absorbansi diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 490 nm. Kadar glukosa (µg/ml) ditentukan dengan menggunakan kurva standar. Kadar total gula (% bk) diperoleh dari kurva standar, sedangkan kadar total pati (% bk) dihitung dengan mengalikan kadar total gula dengan faktor 0,9.

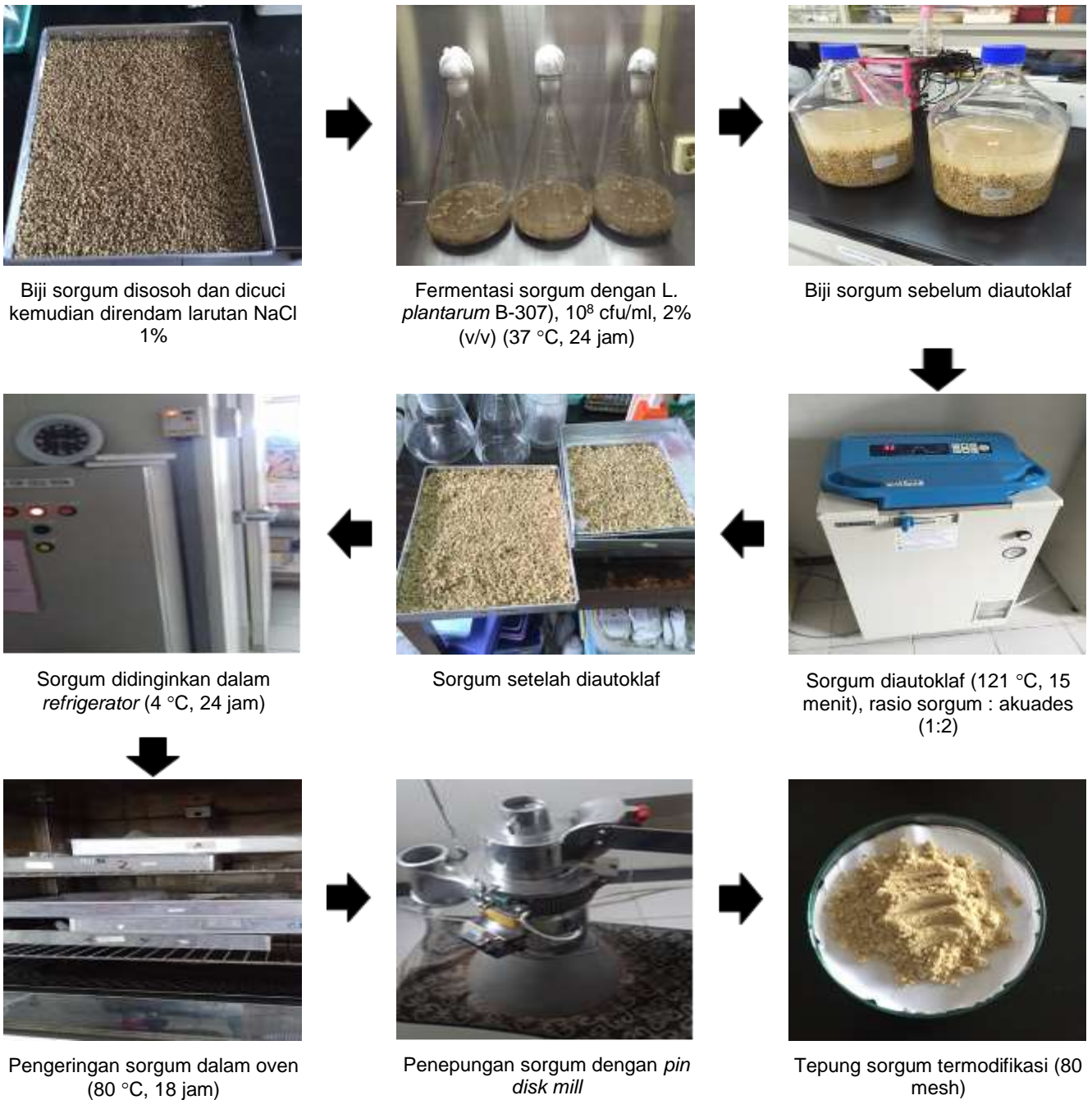
$$\text{Kadar total pati (\% bk)} = \frac{G}{W} \times v \times FP \times 100\% \times 0,9$$

Dimana:

- G : Kadar glukosa (mg/ml)
 V : Volume total reaksi (ml)
 W : Bobot sampel (mg)
 FP : Faktor Pengencer

Analisis Kadar Gula Pereduksi

Analisis kadar gula pereduksi dilakukan dengan merujuk pada metode Miller (1959). Sebanyak 1 g tepung sorgum termodifikasi dimasukkan secara perlahan ke dalam 100 ml etanol 95% dan dihomogenkan dengan menggunakan pengaduk magnetik. Suspensi tepung sorgum termodifikasi tersebut kemudian disaring menggunakan kertas saring. Kertas yang berisi residu tepung sorgum termodifikasi didiamkan semalam dalam desikator. Setelah kering, tepung sorgum termodifikasi dihaluskan dengan mortar. Sebanyak 20 mg tepung sorgum termodifikasi yang telah dihaluskan ditambahkan dengan 10 ml akuades,



Gambar 1 Proses pembuatan tepung sorgum termodifikasi dengan fermentasi bakteri asam laktat dan siklus pemanasan bertekanan-pendinginan.

kemudian dipanaskan dalam autoklaf 105 °C selama 1 jam. Setelah pemanasan selesai, pasta pati didinginkan pada suhu kamar dan dilakukan pengenceran 10 kali sebelum digunakan. Prosedur pengujian kadar gula pereduksi adalah sebagai berikut, 1 ml sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 2 ml pereaksi DNS (3,5-Dinitro Salisic Acid). Sampel tersebut ditempatkan dalam air mendidih selama 5 menit. Selanjutnya, diencerkan dengan 10 ml akuades. Biarkan sampai dingin pada suhu ruang. Absorbansi diukur pada Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 540 nm. Gula pereduksi (dalam %) ditentukan dengan menggunakan persamaan kurva standar larutan glukosa.

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

Dimana:

- G : Kadar glukosa (mg/ml)
- V : Volume total reaksi (ml)
- W : Bobot sampel (mg)
- FP : Faktor pengencer

Analisis Daya Cerna Pati *In-Vitro*

Analisis daya cerna pati secara *in-vitro* dilakukan dengan mengacu pada metode Anderson *et al.* (2002). Sebanyak 1 g sampel pati sorgum yang telah diekstraksi dari tepung sorgum termodifikasi dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 ml, lalu ditambahkan dengan 100 ml akuades. Labu erlenmeyer ditutup dengan

aluminium foil dan dipanaskan dalam penangas air hingga mencapai suhu 90 °C sambil terus diaduk, lalu didinginkan. Sebanyak 2 ml larutan sampel tersebut dipipet ke dalam tabung reaksi bertutup, lalu ditambahkan 3 ml akuades dan 5 ml larutan buffer fosfat pH 7. Masing-masing sampel dibuat dua kali, yang salah satunya digunakan sebagai blanko. Tabung ditutup dan diinkubasikan pada suhu 37 °C selama 15 menit. Larutan sampel dan blanko diangkat dan ditambahkan 5 ml larutan enzim α -amilase (1 mg/ml dalam larutan buffer fosfat pH 7). Kedua tabung tersebut diinkubasi kembali selama 30 menit, lalu dipindahkan ke dalam tabung reaksi bertutup berisi 2 ml larutan DNS (asam dinitrosalisilat). Larutan dipanaskan dalam air mendidih selama 12 menit, lalu segera didinginkan dengan air mengalir. Sebanyak 10 ml akuades kemudian ditambahkan, lalu diaduk hingga homogen dengan menggunakan vorteks. Larutan sampel dan blanko tersebut kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 520 nm. Daya cerna pati (dalam %) dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

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

Analisis Kadar RDS, SDS, dan RS Tepung Sorgum Modifikasi

Komposisi pati yang meliputi kadar RDS, SDS, dan RS ditentukan dengan menggunakan metode Englyst *et al.* (1992). Sampel sebanyak 1 g pati sorgum yang telah diekstraksi dari tepung sorgum termodifikasi ditempatkan dalam tabung sentrifus. Sampel dicuci menggunakan 8 ml etanol 80%, selanjutnya disentrifus pada kecepatan 554 x g selama 10 menit dan diulang dua kali. Residu pati sorgum ditambahkan 20 ml buffer sodium asetat (0,1M pH 5,2), selanjutnya dididihkan dalam penangas air selama 30 menit. Sampel didinginkan dan ditambah 5 ml larutan enzim yang mengandung ekstrak pankreatin dan amiloglukosidase. Larutan enzim disiapkan dengan cara mensuspensikan 3,0 g pankreatin (Sigma, Cat. No. P7545) ke dalam 20 ml air deionisasi, selanjutnya distirer selama 10 menit pada suhu ruang dan disentrifus dengan kecepatan 1500 x g, 4 °C selama 10 menit. Sebanyak 13,5 ml supernatan pankreatin ditambah 0,25 ml amiloglukosidase 210 U (Sigma Cat. No. A7095) dan 1,25 ml air deionisasi. Selanjutnya, sampel diinkubasi dalam *shaker water bath* pada suhu 37 °C selama 20 menit untuk menentukan kadar RDS (pati cepat cerna) dan 120 menit untuk SDS. RDS dinyatakan sebagai total pati yang dicerna selama 20 menit pertama, dan SDS dinyatakan sebagai total pati yang dicerna antara 20 dan 120 menit. Jumlah gula hasil hidrolisis pati diukur dengan menggunakan metode DNS.

$$\% \text{ Kadar RS} = 100\% - \text{RDS} - \text{SDS}$$

Analisis Statistik

Data hasil penelitian diolah secara statistik menggunakan *software* SPSS 17.0 dengan analisis sidik ragam (ANOVA) yang dilanjutkan dengan uji Duncan

pada taraf signifikansi 5% apabila hasil yang diperoleh berbeda nyata antar sampel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar Total Pati

Perlakuan fermentasi, siklus pemanasan bertekanan-pendinginan maupun kombinasi fermentasi dan siklus pemanasan bertekanan-pendinginan berpengaruh secara signifikan ($P < 0,05$) dalam menurunkan kadar total pati tepung sorgum termodifikasi (Gambar 2). Perlakuan fermentasi (F) berpengaruh signifikan ($P < 0,05$) menghasilkan kadar total pati yang lebih rendah jika dibandingkan dengan kontrol. Lebih rendahnya kadar total pati pada tepung sorgum fermentasi disebabkan oleh aktivitas enzim amilase dari bakteri asam laktat *L. plantarum* B-307, yaitu sebesar 7.166 U/ml dalam menghidrolisis komponen amilosa pada pati sorgum selama fermentasi (Setiarto *et al.* 2016). Amilase menghidrolisis ikatan linier α -1,4 glikosidik pada amilosa secara acak menghasilkan campuran dekstrin, maltosa, dan glukosa (Bhanwar & Ganguli 2014).

Semakin banyak jumlah siklus pemanasan bertekanan-pendinginan yang diaplikasikan berpengaruh signifikan ($P < 0,05$) terhadap semakin rendahnya kadar total pati tepung sorgum termodifikasi. Perlakuan pemanasan bertekanan-pendinginan 1, 2, dan 3 siklus (AC-1S, AC-2S, dan AC-3S) menunjukkan kadar total pati yang lebih rendah jika dibandingkan dengan kontrol (Gambar 3). Pemanasan otoklaf mengakibatkan peningkatan degradasi pati pada biji sorgum sehingga terjadi peningkatan level kerusakan pati. Degradasi terjadi akibat putusannya ikatan glikosidik pada fraksi pati baik pada ikatan linier α -1,4 amilosa maupun ikatan percabangan α -1,6 amilopektin akibat pemanasan otoklaf (Zaragoza *et al.* 2010; Vatanasuchart *et al.* 2012).

Kombinasi fermentasi dengan 1 dan 2 siklus pemanasan bertekanan-pendinginan (FAC-1S) dan (FAC-2S) berpengaruh sangat signifikan ($P < 0,05$) dalam menurunkan kadar total pati tepung sorgum jika dibandingkan perlakuan kontrol. Terjadinya hidrolisis amilosa dan amilopektin pati sorgum selama fermentasi ditambah dengan degradasi pati selama proses pemanasan autoklaf menyebabkan tingginya penurunan kadar total pati tepung sorgum. Penurunan kadar total pati berdampak pada peningkatan kadar gula pereduksi dan penurunan kadar amilosa (Faridah *et al.* 2013; Khan *et al.* 2013).

Kadar Amilosa

Perlakuan fermentasi dapat meningkatkan kadar amilosa dari tepung sorgum tersebut jika dibandingkan dengan perlakuan kontrol (Gambar 3). Hal ini dikarenakan selama proses fermentasi terjadi hidrolisis amilosa dan amilopektin oleh enzim amilase dan pululanase. Amilosa dihidrolisis oleh enzim amilase pada ikatan (α -1,4) sehingga akan dihasilkan amilosa rantai pendek dan gula sederhana (maltose dan

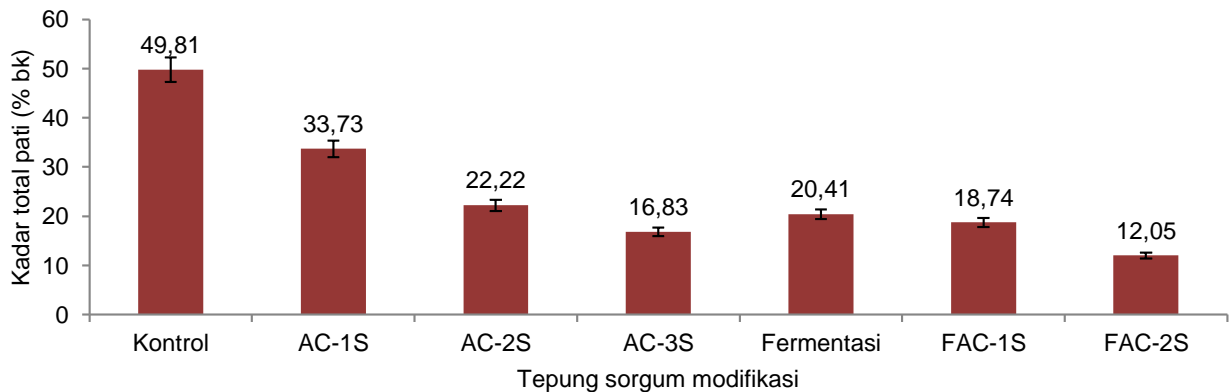
glukosa). Sementara itu, amilopektin dihidrolisis oleh enzim pululanase pada bagian ikatan percabangannya (α -1,6) sehingga akan terbentuk struktur amilosa linier rantai pendek. Meningkatnya jumlah amilosa rantai pendek yang terbentuk dapat menyebabkan peningkatan kandungan amilosa pada tepung sorgum termodifikasi (Zhang & Jin 2011).

Siklus pemanasan bertekanan-pendinginan dan perlakuan kombinasi fermentasi dengan siklus pemanasan bertekanan-pendinginan berpengaruh nyata meningkatkan kadar amilosa pada tepung sorgum termodifikasi (Gambar 3). Semakin banyak jumlah siklus pemanasan bertekanan-pendinginan yang diaplikasikan berdampak nyata terhadap semakin tingginya kadar amilosa. Perlakuan 1,2, dan 3 siklus pemanasan bertekanan-pendinginan (AC-1S, AC-2S, dan AC-3S) berpengaruh nyata ($P < 0,05$) meningkatkan kadar amilosa pada tepung sorgum termodifikasi jika dibandingkan dengan kontrol. Hal tersebut terjadi karena pemanasan autoklaf menyebabkan putusya sebagian kecil ikatan glikosidik pada percabangan α -1,6 sehingga terjadi perubahan amilopektin dari struktur cabang menjadi linier (Zaragoza *et al.* 2010). Linierisasi amilopektin menjadi amilosa rantai pendek selama pemanasan autoklaf tersebut menyebabkan peningkatan kadar amilosa (Moongngarm 2013). Semakin tinggi kadar amilosa

yang terkandung di dalam tepung sorgum modifikasi maka semakin berpotensi dalam pembentukan pati resisten.

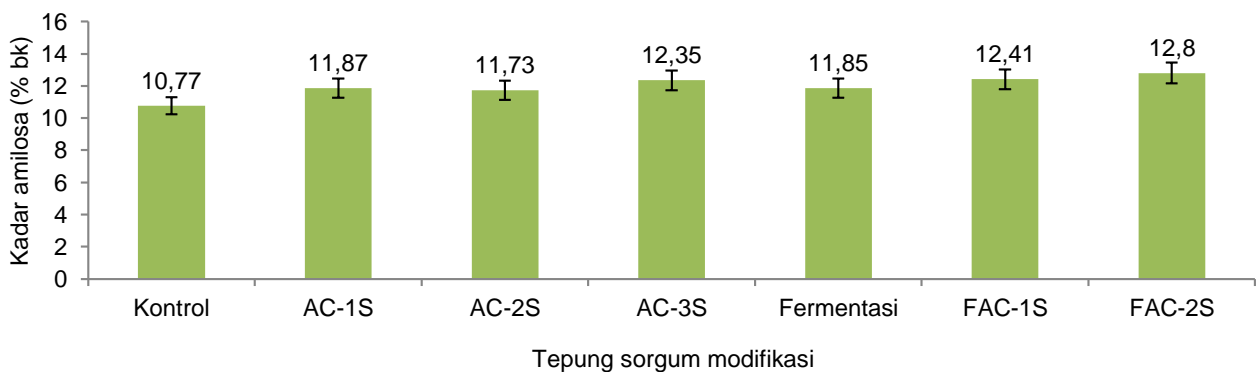
Kadar Gula Pereduksi

Perlakuan fermentasi, siklus pemanasan bertekanan-pendinginan dan kombinasi fermentasi dan siklus pemanasan bertekanan-pendinginan berpengaruh nyata ($P < 0,05$) dalam meningkatkan kadar gula pereduksi tepung sorgum modifikasi (Gambar 4). Peningkatan kadar gula pereduksi tersebut menyebabkan penurunan kadar total pati (amilosa dan amilopektin). Semakin banyak jumlah siklus pemanasan bertekanan-pendinginan yang diaplikasikan akan semakin meningkatkan kadar gula pereduksi tepung sorgum termodifikasi. Perlakuan pemanasan autoklaf dengan suhu tinggi menyebabkan putusya ikatan glikosidik pada ikatan linier α -1,4 amilosa maupun ikatan percabangan α -1,6 amilopektin pati sorgum sehingga dapat meningkatkan kadar gula pereduksi tepung sorgum termodifikasi. Perlakuan fermentasi juga memberikan peningkatan kadar gula pereduksi yang sangat signifikan ($P < 0,05$) dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Enzim amilase yang dihasilkan selama fermentasi *L. plantarum* B-307 akan menghidrolisis pati sorgum menjadi glukosa dan maltosa yang merupakan gula pereduksi. Peningkatan



Keterangan: Huruf yang berbeda pada diagram batang menunjukkan nilai yang berbeda nyata dengan taraf nyata 95%, ($\alpha = 5\%$), dan setelah dilakukan uji Duncan pada SPSS 17.0.

Gambar 2 Kadar total pati tepung sorgum termodifikasi setelah fermentasi dan siklus pemanasan bertekanan-pendinginan.



Keterangan: Huruf yang berbeda pada diagram batang menunjukkan nilai yang berbeda nyata dengan taraf nyata 95%, ($\alpha = 5\%$), dan setelah dilakukan uji Duncan pada SPSS 17.0.

Gambar 3 Kadar amilosa tepung sorgum termodifikasi setelah fermentasi dan siklus pemanasan bertekanan-pendinginan.

gula pereduksi juga dipengaruhi oleh peningkatan kadar amilosa rantai pendek sebagai hasil hidrolisis enzim amilase yang ikut terukur sebagai gula pereduksi (Zaragoza *et al.* 2010; Moongngarm 2013).

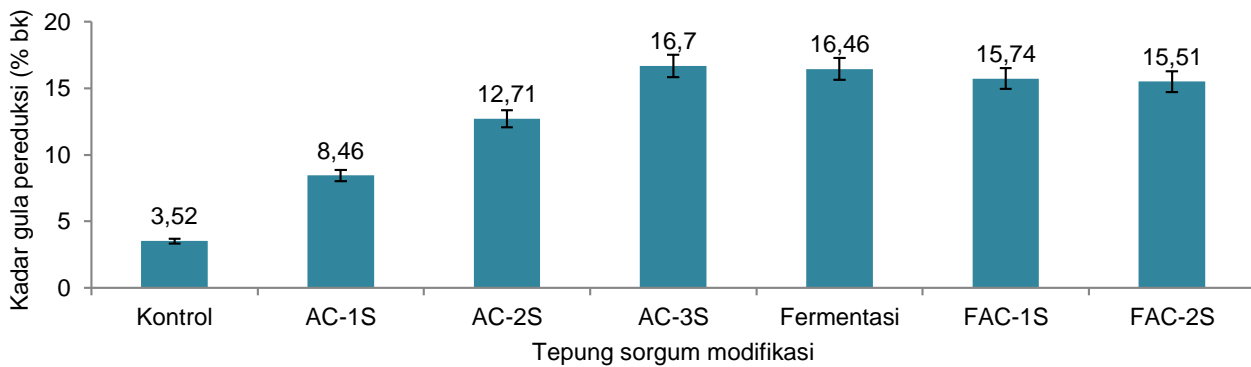
Daya Cerna *In-Vitro*

Perlakuan fermentasi (F) berpengaruh signifikan ($P < 0,05$) dalam meningkatkan daya cerna tepung sorgum jika dibandingkan dengan kontrol (Gambar 5). Peningkatan daya cerna pada perlakuan fermentasi *L. plantarum* B-307 disebabkan hidrolisis pati sorgum oleh enzim amilase sehingga terbentuk amilosa rantai pendek, oligosakarida, maltosa, dan maltotriosa. Senyawa tersebut memiliki berat molekul yang lebih rendah sehingga lebih mudah dicerna dan menyebabkan peningkatan indeks glikemik. Tepung sorgum fermentasi dapat diaplikasikan sebagai bahan pangan yang mudah dicerna dan cepat diabsorpsi oleh tubuh sebagai sumber energi.

Pemanasan bertekanan-pendinginan berpengaruh nyata terhadap penurunan daya cerna tepung sorgum termodifikasi. Hal ini ditunjukkan pada perlakuan 1, 2, dan 3 siklus pemanasan bertekanan-pendinginan (AC-1S, AC-2S, dan AC-3S), kombinasi fermentasi dengan 1 dan 2 siklus pemanasan bertekanan-pendinginan

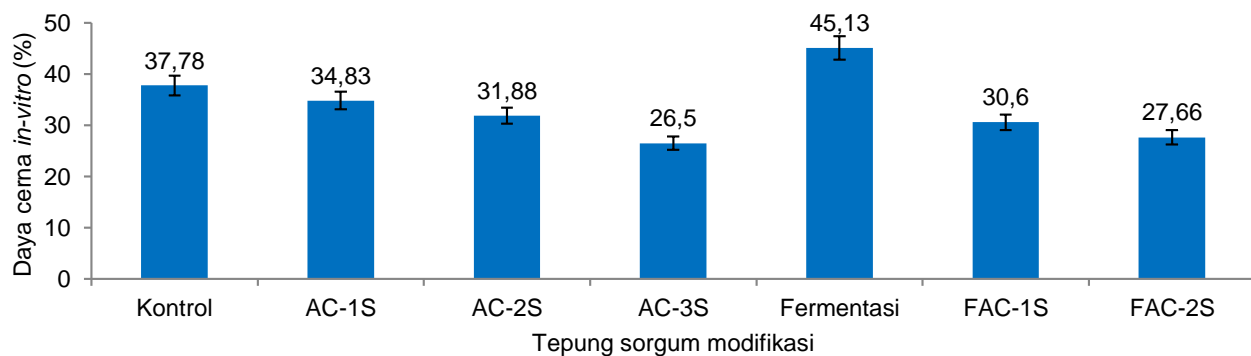
(FAC-1S, dan FAC-2S) yang terbukti berpengaruh signifikan ($P < 0,05$) dalam menurunkan daya cerna tepung sorgum jika dibandingkan dengan kontrol (Gambar 5). Dengan meningkatnya kadar pati resisten maka gula pereduksi yang diperoleh tidak sampai menjadi monosakarida glukosa, karena proses fermentasi pada perlakuan ini hanya bertujuan memotong rantai amilosa dan amilopektin pada tepung sorgum menjadi amilosa rantai pendek sebagai bahan baku utama pati resisten tipe 3 yang dihasilkan melalui proses retrogradasi.

Penurunan daya cerna pada perlakuan pemanasan bertekanan-pendinginan berhubungan dengan meningkatnya kadar pati resisten akibat proses retrogradasi sebagaimana penelitian Sugiyono *et al.* (2009); Faridah *et al.* (2013) pada pati garut. Tepung sorgum dengan perlakuan AC-1S, AC-2S, AC-3S, FAC-1S, dan FAC-2S dapat diaplikasikan sebagai sumber prebiotik dan bahan pangan fungsional bagi penderita penyakit diabetes karena daya cerna yang rendah sehingga lebih lambat diserap oleh tubuh. Dari penelitian ini diketahui bahwa semakin rendah daya cerna *in-vitro* tepung sorgum modifikasi maka akan meningkatkan pati resisten yang terbentuk.



Keterangan: Huruf yang berbeda pada diagram batang menunjukkan nilai yang berbeda nyata dengan taraf nyata 95 %, ($\alpha = 5\%$), dan setelah dilakukan uji Duncan pada SPSS 17.0.

Gambar 4 Kadar gula pereduksi tepung sorgum termodifikasi setelah fermentasi dan siklus pemanasan bertekanan-pendinginan.



Keterangan: Huruf yang berbeda pada diagram batang menunjukkan nilai yang berbeda nyata dengan taraf nyata 95%, ($\alpha = 5\%$), dan setelah dilakukan uji Duncan pada SPSS 17.0.

Gambar 5 Daya cerna *in-vitro* tepung sorgum termodifikasi setelah fermentasi dan siklus pemanasan bertekanan-pendinginan.

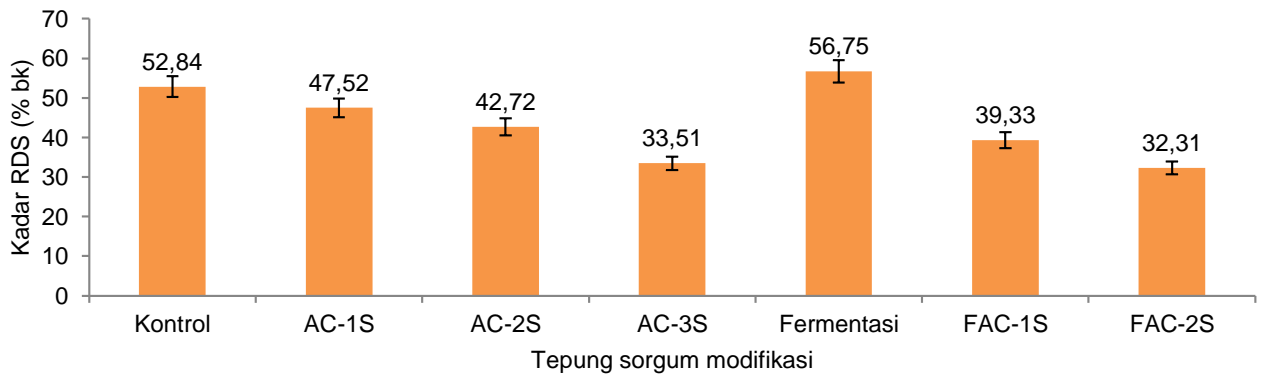
Kadar RDS (Pati Cepat Cerna) dan SDS (Pati Lambat Cerna)

Pati cepat cerna (RDS) merupakan komponen pati yang dicerna oleh enzim pencernaan dengan cepat dalam kurun waktu 20 menit. RDS merupakan fraksi pati yang menyebabkan kenaikan glukosa darah setelah makanan masuk ke dalam saluran pencernaan (Shin *et al.* 2004). Sementara itu, pati lambat cerna (SDS) merupakan komponen pati yang dapat dicerna oleh sistem pencernaan dalam usus halus secara sempurna selama kurun waktu 120 menit (Teixiera *et al.* 2016).

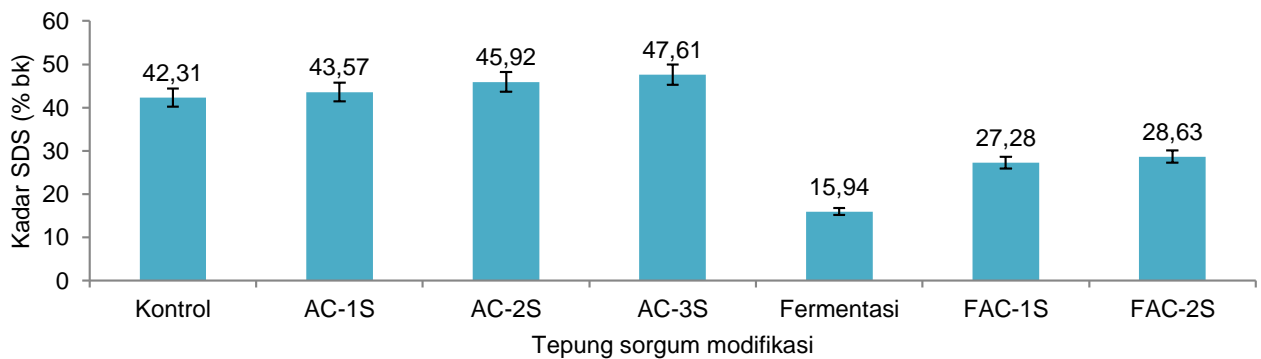
Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa perlakuan fermentasi *L. plantarum* B-307 mampu meningkatkan kadar RDS dan menurunkan kadar SDS tepung sorgum termodifikasi secara signifikan ($P < 0,05$) jika dibandingkan perlakuan kontrol (Gambar 6). Hal ini disebabkan selama proses fermentasi *L. plantarum* B-307 menghasilkan enzim amilase yang dapat menghidrolisis komponen amilosa pada pati sorgum sehingga dihasilkan produk amilosa rantai pendek, maltosa dan glukosa yang jauh lebih cepat dicerna. Peningkatan amilosa rantai pendek akibat proses fermentasi berpotensi meningkatkan kadar pati cepat cerna (RDS) dari tepung sorgum modifikasi. Sementara itu, perlakuan pemanasan bertekanan-

pendinginan (AC) berdampak terhadap peningkatan kadar SDS dan penurunan kadar RDS yang signifikan ($P < 0,05$) jika dibandingkan dengan perlakuan kontrol (Gambar 6).

Hal ini disebabkan selama proses pemanasan bertekanan-pendinginan terjadi retrogradasi pada komponen pati sorgum. Retrogradasi merupakan penggabungan kembali antara ikatan hidrogen dengan molekul amilosa dan amilopektin untuk membentuk struktur baru komponen pati SDS yang lebih kompleks dan sulit dicerna oleh enzim pencernaan (Karim *et al.* 2000). Retrogradasi pati dapat menyebabkan produk tersebut menjadi keras atau kurang lengket. Retrogradasi pati meningkatkan kekuatan gel, menyebabkan gel pati kehilangan kemampuan mengikat air dan terbentuknya kembali kristalinitas dengan ukuran yang besar. Retrogradasi pati dipengaruhi oleh jenis pati, nisbah amilosa dan amilopektin, panjang dan distribusi rantai luar amilopektin, berat molekul amilosa dan amilopektin, dan distribusi ukuran granula pati. Molekul amilosa lebih cepat memengaruhi pembentukan gel dan retrogradasi pati dibandingkan molekul amilopektin, sehingga pati yang mengandung amilosa cenderung mengalami retrogradasi lebih cepat (Shin *et al.* 2004).



(a)



(b)

Keterangan: Huruf yang berbeda pada diagram batang menunjukkan nilai yang berbeda nyata dengan taraf nyata 95%, ($\alpha = 5\%$), dan setelah dilakukan uji Duncan pada SPSS 17.0.

Gambar 6 Kadar (a) RDS dan (b) SDS tepung sorgum termodifikasi setelah fermentasi dan siklus pemanasan bertekanan-pendinginan.

Kadar Pati Resisten

Perlakuan fermentasi sorgum dengan kultur *L. plantarum* B-307 memberikan pengaruh yang signifikan ($P < 0,05$) terhadap peningkatan kadar pati resisten dibandingkan dengan kontrol (Gambar 7). Sebagaimana yang dilaporkan oleh Soto *et al.* (2007); Zaragoza *et al.* (2010); Moongngarm (2013) fermentasi sorgum dengan bakteri asam laktat merupakan tahap pra perlakuan sebelum pemanasan bertekanan-pendinginan yang bertujuan untuk memperoleh amilosa rantai pendek dengan Derajat Polimerisasi (DP) (19–29) sebagai bahan baku pembentukan pati resisten. Peningkatan fraksi amilosa rantai pendek dengan DP (19–29) dapat dihasilkan melalui hidrolisis enzim amilase dan pululanase selama fermentasi pati dengan kultur *L. plantarum* B-307. Nilai DP tersebut dapat diperoleh baik dengan cara menghidrolisis amilosa secara parsial dengan enzim amilase maupun memotong titik percabangan α -1,6 pada rantai amilopektin dengan enzim pululanase (Sajilata *et al.* 2006). Meningkatnya kadar pati resisten maka gula pereduksi yang diperoleh tidak sampai menjadi monosakarida glukosa, karena proses fermentasi hanya bertujuan memotong rantai amilosa dan amilopektin pada tepung sorgum menjadi rantai yang lebih pendek.

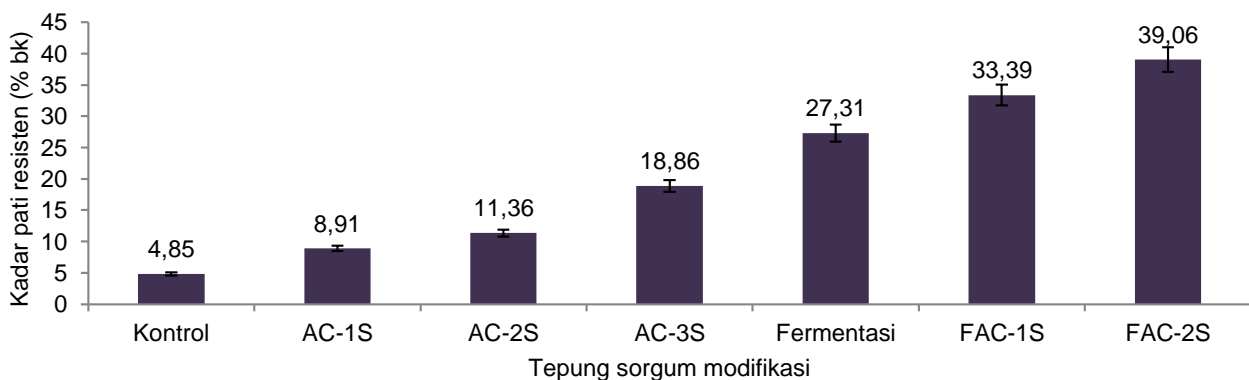
Perlakuan pemanasan bertekanan-pendinginan berpengaruh nyata ($P < 0,05$) dalam meningkatkan kadar pati resisten (Gambar 7). Penambahan jumlah siklus pemanasan bertekanan-pendinginan juga memiliki pengaruh yang signifikan ($P < 0,05$) dalam meningkatkan kadar pati resisten tepung sorgum termodifikasi. Hal ini dibuktikan oleh perlakuan 1 siklus pemanasan bertekanan-pendinginan (AC-1S) yang meningkatkan kadar pati resisten sebesar 1,8 kali lipat dari 4,85 menjadi 8,91% jika dibandingkan dengan kontrol. Sementara itu, perlakuan 2 siklus pemanasan bertekanan-pendinginan (AC-2S) memberikan peningkatan kadar pati resisten yang lebih tinggi, yaitu sebesar 2,3 kali lipat dari 4,85 menjadi 11,36% dibandingkan dengan kontrol (Gambar 7). Perlakuan 3 siklus pemanasan bertekanan-pendinginan (AC-3S) memberikan peningkatan kadar pati resisten yang

lebih tinggi, yaitu sebesar 3,9 kali lipat dari 4,85 menjadi 18,86% dibandingkan dengan kontrol (Gambar 7). Hasil tersebut sesuai dengan penelitian Sugiyono *et al.* (2009); Faridah *et al.* (2013), pada pati garut maupun tepung pisang tanduk Jenie *et al.* (2012); Nurhayati *et al.* (2014).

Peningkatan kadar pati resisten juga dilaporkan oleh Hickman *et al.* (2009), di mana tiga siklus pemanasan bertekanan-pendinginan memberikan dampak peningkatan pati resisten tiga kali lipat pada pati gandum dan jagung. Proses pemanasan bertekanan-pendinginan dapat menyebabkan terjadinya retrogradasi fraksi amilosa sehingga menyebabkan terjadinya rekristalisasi dan pembentukan pati resisten (Sajilata *et al.* 2006). Kristalisasi ini disebabkan oleh terbentuknya *double helix* di antara molekul-molekul amilosa sehingga menyebabkan terjadinya pembesaran (agregasi) terhadap *double helix* pada molekul amilosa lainnya melalui ikatan hidrogen yang kompak sehingga membentuk kristal (Zaragoza *et al.* 2010).

Perlakuan kombinasi fermentasi dengan 1 siklus pemanasan bertekanan-pendinginan (FAC-1S) berpengaruh nyata ($P < 0,05$) meningkatkan kadar pati resisten b(b) menjadi 6,9 kali lipat dari 4,85 menjadi 33,39% jika dibandingkan dengan kontrol (Gambar 7). Sementara itu perlakuan fermentasi dengan 2 siklus pemanasan bertekanan-pendinginan (FAC-2S) mampu meningkatkan kadar pati resisten menjadi 8,1 kali lipat dari 4,85 menjadi 39,06% dibandingkan dengan kontrol (K) (Gambar 7). Perlakuan FAC-2S memberikan dampak berbeda nyata ($P < 0,05$) dalam meningkatkan kadar pati resisten jika dibandingkan dengan FAC-1S. Perlakuan FAC-1S dan FAC-2S terbukti dapat mengurangi jumlah siklus pemanasan bertekanan-pendinginan dengan tetap meningkatkan kadar pati resisten tepung sorgum termodifikasi secara signifikan.

Proses pembentukan pati resisten dalam bahan pangan dipengaruhi oleh sifat alami pati (kristalinitas pati, struktur granula, rasio amilosa dan amilopektin, retrogradasi amilosa, pengaruh panjang rantai amilosa, dan linearisasi amilopektin), interaksi pati



Keterangan: Huruf yang berbeda pada diagram batang menunjukkan nilai yang berbeda nyata dengan taraf nyata 95%, ($\alpha = 5\%$), dan setelah dilakukan uji Duncan pada SPSS 17.0.

Gambar 7 Kadar pati resisten tepung sorgum termodifikasi setelah fermentasi dan siklus pemanasan bertekanan-pendinginan.

dengan komponen lain (protein, serat pangan, inhibitor enzim, ion, gula, lipid, atau emulsifier), konsentrasi enzim pululanase, konsentrasi pati, suhu pemanasan, siklus pemanasan dan pendinginan, kondisi penyimpanan, adanya lipid, atau substansi bermolekul rendah seperti gula (Sajilata *et al.* 2006). Proses pembentukan pati resisten didahului oleh mekanisme gelatinisasi dan retrogradasi pati. Onyango *et al.* (2006) melaporkan bahwa, suhu pemanasan dan air berlebih yang dapat menyebabkan gelatinisasi sehingga granula pati membengkak dan bersifat *irreversible* adalah pada suhu di atas suhu gelatinisasi (suhu karakteristik) dengan perbandingan air dengan pati yang berlebih (>90% b/b). Pati tergelatinisasi kemudian mengalami penurunan suhu sehingga dapat mengkristal kembali, peristiwa ini disebut dengan retrogradasi (Nurhayati *et al.* 2014). Retrogradasi pati terutama dipercepat dengan penyimpanan gel pati pada suhu rendah, yaitu umumnya pada suhu sekitar 4 °C. Pongjanta *et al.* (2009) melaporkan bahwa, pendinginan pada suhu 4 °C memberikan efek yang sangat nyata terhadap peningkatan kadar pati resisten karena pada suhu tersebut lebih banyak pati yang mengalami retrogradasi.

Pembentukan pati resisten dipertimbangkan sebagai proses kristalisasi amilosa. Selama proses fermentasi dan siklus pemanasan bertekanan-pendinginan, amilosa dan amilopektin mengalami hidrolisis atau pemecahan yang menghasilkan amilosa dengan rantai pendek. Amilosa rantai pendek yang terbentuk pada akhirnya memiliki bentuk kristal dengan ikatan yang lebih kuat. Ikatan tersebut tidak bisa di hidrolisis oleh enzim pencernaan yang menyebabkan pati termodifikasi tidak dapat dicerna dalam saluran pencernaan sehingga dapat disebut sebagai pati resisten (Zhang & Jin 2011).

KESIMPULAN

Perlakuan kombinasi fermentasi dan 2 siklus pemanasan bertekanan-pendinginan (FAC-2S) merupakan perlakuan terbaik karena mampu menghasilkan kadar pati resisten tertinggi (39,06% bk) jika dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Perlakuan AC-1S, AC-2S, AC-3S, fermentasi, FAC-1S, dan FAC-2S terbukti mampu meningkatkan kadar pati resisten berturut-turut sebesar 1,8; 2,3; 3,9; 5,6; 6,9; dan 8,1 kali lipat jika dibandingkan dengan kontrol. Peningkatan jumlah siklus pemanasan bertekanan-pendinginan yang diaplikasikan akan semakin meningkatkan kadar pati resisten dan menurunkan daya cerna pati yang terkandung dalam tepung sorgum modifikasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh kegiatan DIPA TEMATIK Pusat Penelitian Biologi LIPI 2017. Terima kasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan kepada ibu

Kasirah dan Nety Agustin yang telah membantu baik secara teknis maupun non teknis sehingga penelitian ini berjalan lancar.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson AK, Guraya HS, James C, Salvaggio L. 2002. Digestibility and pasting properties of rice starch heat-moisture treated at the melting temperature (T_m). *Journal Starch/Starke*. 54: 401–409.
- Bhanwar S, Ganguli A. 2014. α -amylase and β -galactosidase production on potato starch waste by *Lactococcus lactis* subsp *lactis* isolated from pickled yam. *Journal of Scientific & Industrial Research*. 73: 324–330.
- Birt DF, Boylston T, Hendrich S, Lane J, Hollis J, Li L, McClelland J, Moore S, Phillips GJ, Rowling M, Schalinske K, Scott MP, Whitley MP. 2013. Resistant Starch: Promise for Improving Human Health. *Advances in Nutrition*. 4(6): 587–601. <http://doi.org/7hd>
- Correia I, Nunes A, Guedes S, Baros AS, Delgadillo I. 2010. Screening of lactic acid bacteria potentially useful for sorghum fermentation. *Journal of Cereal Science*. 52: 9–15. <http://doi.org/ctsmhc>
- Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F. 1956. Calorimetric method for determination of sugars and related substances. *Journal Analytical Chemistry*. 28: 350–356. <http://doi.org/bq8hfw>
- Englyst HN, Kingman SM, Cummings JH. 1992. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *European Journal of Clinical Nutrition*. 46: 533–550.
- Faridah DN, Rahayu WP, Apriyadi MS. 2013. Modifikasi Pati Garut (*Marantha Arundinacea*) dengan Perlakuan Hidrolisis Asam dan Siklus Pemanasan-Pendinginan Untuk Menghasilkan Pati Resisten Tipe 3. *Jurnal Teknologi Industri Pangan*. 23(1): 61–69.
- Hickman E, Janaswamy BS, Yao Y. 2009. Autoclave and β -amylolysis led to reduce in vitro digestibility of starch. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57: 7005–7012. <http://doi.org/bvbmzt>
- Higgins JA, Higbee DR, Donahoo WT, Brown IL, Bell ML, Bessesen DH. 2004. Resistant starch consumption promotes lipid oxidation. *Nutrition Metabolism*. 1(1): 8–16. <http://doi.org/bfgx4s>
- Jenie BSL, Reski PP, 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*). *Journal Pascapanen*. 9(1): 18–26.

- Karim AA, Norziah MH, Seow CC. 2000. Methods for the study of starch retrogradation. *Food Chemistry*. 71: 9–36. <http://doi.org/d4dhpj>
- Khan I, Yousif A, Johnson SK, Gamlatha S. 2013. Effect of sorghum flour addition on resistant starch content, phenolic profile and antioxidant capacity of durum wheat pasta. *Food Research International*. 54(1): 578–586. <http://doi.org/f5m89r>
- Miller GL. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Journal Analytical Chemistry*. 31: 426–428. <http://doi.org/bgmwwt>
- Moongngarm A. 2013. Chemical Compositions and Resistant Starch Content in Starchy Foods. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*. 8(2): 107–113. <http://doi.org/676>
- Nurhayati, Jenie BSL, Widowati S, Kusumaningrum HD. 2014. Komposisi Kimia dan Kristalinitas Tepung Pisang Termodifikasi Secara Fermentasi Spontan dan Siklus Pemanasan Bertekanan-Pendinginan. *Agritech*. 34(2): 146–150.
- Onyango C, Bley T, Jacob A, Henle T, Rohm H. 2006. Influence of incubation temperature and time on resistant starch type III formation from autoclaved and acid-hydrolysed cassava starch. *Carbohydrate Polymers*. 66(4): 494–499. <http://doi.org/d3gzdd>
- Ozturk S, Koksel H, Kahraman K. 2009. Effect of debranching and heat treatments on formation and functional properties of resistant starch from high amylose corn starch. *Europe Food Tes Technology*. 229: 115–125. <http://doi.org/c9nb2p>
- Pongjanta J, Utaipattanaceep O, Naivikul, Piyachomkwan K. 2009. Effect of preheated treatments on physicochemical properties of resistant starch type III from pululanase hydrolysis of high amylose rice starch. *American Journal of Food Technology*. 4(2): 79–89. <http://doi.org/fgsj3w>
- Saguilan AA, Flores-Huicochea E, Tovar J, Garcia-Suarez F, Guitierrez-Meraz F, Bello-Perez LA. 2005. Resistant starch rich-powders prepared by autoclaving of native and lintnerized banana starch: partial characterization. *Journal Starch/Starke*. 57: 405–412.
- Sajilata MG, Rekha SS, Puspha RK. 2006. Resistant starch a review. *Journal Comprehensive Review in Food Science and Food Safety*. 5(1): 1–17. <http://doi.org/fnkkfw>
- Setiarto RHB, Widhyastuti N. 2016. Pengaruh Fermentasi Bakteri Asam Laktat Terhadap Sifat Fisikokimia Tepung Gadung Modifikasi (*Dioscorea hispida*). *Jurnal Litbang Industri*. 6(1): 61–72.
- Shen RL, Zhang WL, Dong JL, Ren GX, Chen M. 2015. Sorghum resistant starch reduces adiposity in high-fat diet-induced overweight and obese rats via mechanisms involving adipokines and intestinal flora. *Food and Agricultural Immunology*. 26(1): 120–130. <http://doi.org/cmkn>
- Shin SI, Byun J, Park KH, Moon TW. 2004. Effect of partial acid hydrolysis and heat-moisture treatment on formation of resistant tuber starch. *Cereal Chemistry*. 81: 194–198. <http://doi.org/ctb9c3>
- Soto RAG, Escobedo RM, Sanchez HH, Rivera MS, Perez LAB. 2007. The influence of time and storage temperature on resistant starch formation from autoclaved debranched banana starch. *Food Research International*. 40(2): 304–310. <http://doi.org/fp2xz5>
- Suarni, Patong R. 2002. Tepung sorgum sebagai bahan substitusi terigu. *Jurnal Penelitian Pertanian Tanaman Pangan*. 21(1): 43–47.
- Suarni. 2009. Potensi tepung jagung dan sorgum sebagai substitusi terigu dalam produk olahan. *Iptek Tanaman Pangan*. 4(2): 181–193.
- Suarni, Subagio H. 2013. Prospek pengembangan jagung dan sorgum sebagai sumber pangan fungsional. *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian*. 32(3): 47–55.
- Sugiyono, Pratiwi R, Faridah DN. 2009. Modifikasi Pati Garut dengan Perlakuan Siklus Pemanasan Suhu Tinggi-Pendinginan Untuk Menghasilkan Pati Resisten Tipe III. *Jurnal Teknologi Industri Pangan*. 20(1): 17–24.
- Sun Q, Han Z, Wang L, Xiong L. 2014. Physicochemical differences between sorghum starch and sorghum flour modified by heat-moisture treatment. *Food Chemistry*. 145(1): 756–764. <http://doi.org/cmkn>
- Teixeira NC, Queiroz VAV, Rocha MC, Amorim ACP, Soares TO, Monteiro MAM, Menezes CB, Schaffert RE, Garcia MAVT, Junqueira RG. 2016. Resistant starch content among several sorghum (Sorghum bicolor) genotypes and the effect of heat treatment on resistant starch retention in two genotypes. *Food Chemistry*. 197: 291–296. <http://doi.org/cmkn>
- Vatanasuchart N, Niyomwit B, Wongkrajang K. 2012. Resistant starch content, in vitro starch digestibility and physico-chemical properties of flour and starch from Thai bananas. *Maejo International Journal Science Technology*. 6(2): 259–271.
- Zaragoza EF, Riquelme-Navarrete MJ, Sanchez-Zapata E, Perez-Alvarez JA. 2010. Resistant starch as functional ingredient: A review. *Food Research International*. 43(4): 931–942. <http://doi.org/fgpc2w>
- Zhang H, Jin Z. 2011. Preparation of resistant starch by hydrolysis of maize starch with pululanase. *Carbohydrate Polymers*. 83: 865–867. <http://doi.org/ddv7v8>