

PENAMBAHAN BAKTERI ASAM LAKTAT TERENKAPSULASI UNTUK MENEKAN PERTUMBUHAN BAKTERI PATOGEN PADA PROSES PRODUKSI TAPIOKA

[Addition of Encapsulated Lactic Acid Bacteria to Suppress the Growth
of Pathogenic Bacteria during Tapioca Production]

Glisina Dwinoor Rembulan¹⁾, Titi Candra Sunarti^{2)*}, dan Anja Meryandini³⁾

¹⁾ Program Studi Teknologi Industri Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor

²⁾ Departemen Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor

³⁾ Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Bogor

Diterima 23 September 2014 / Disetujui 06 Mei 2015

ABSTRACT

*Lactic acid bacteria (LAB) produce organic acids and active compounds which can inhibit the growth of pathogenic bacteria. Lactic acid bacteria potentially can be introduced to inhibit pathogenic bacteria in the tapioca production at the extraction stage, especially during the settling process since there is possibility of starch slurry to be contaminated by pathogenic bacteria from water. The objectives of this research were to design a solid starter of LAB through encapsulation by using modified starch includes sour cassava starch, lintnerized cassava starch and nanocrystalline starch, utilize the starter for suppressing the growth of pathogenic bacteria in the production process of tapioca and characterize the functional properties of tapioca. The encapsulation of lactic acid bacteria was conducted by freeze drying at a temperature of -50°C for 48 hours. The viability of LAB after freeze drying with sour cassava starch matrix was 92% of the liquid starter, with lintnerized cassava starch matrix was 93%, while that with nanocrystalline matrix was 96%. After application of the LAB culture during settling process for tapioca extraction and the tapioca was stored at room temperature for 6 months, it was shown that *E. coli*, *Salmonella* and *Shigella* were detected in the native tapioca starch (without treatment) while the starch added with lactic acid bacteria starter was not absent for the pathogenic bacteria. The addition of lactic acid bacteria in extraction process can suppress the growth of pathogenic bacteria in tapioca. The results showed that lintnerized cassava starch matrix is the best matrix because after 6 months it still contained lactic acid bacteria as compared to liquid starter and that encapsulated with other matrixes.*

Keywords: *encapsulation, lactic acid bacteria, lintnerized cassava starch, nanocrystalline, sour cassava starch, tapioca*

ABSTRAK

Bakteri asam laktat dapat menghasilkan asam organik yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk/patogen pada pembuatan tapioka. Penambahan bakteri asam laktat dilakukan pada tahap ekstraksi khususnya saat pengendapan karena pada tahap ini kemungkinan kontaminasi bakteri patogen dari air sangat besar. Penelitian ini bertujuan untuk merancang proses produksi starter padat BAL melalui proses enkapsulasi menggunakan matriks berbasis pati termodifikasi yang meliputi *sour cassava starch*, *lintnerized cassava starch* dan pati nanokristalin; dan pemanfaatan starter dalam menekan pertumbuhan bakteri patogen pada proses produksi tapioka serta karakterisasi sifat fungsional tapioka. Enkapsulasi BAL dilakukan dengan cara pengeringan beku (*freeze dryer*) pada suhu -50°C selama 48 jam. Viabilitas populasi BAL setelah pengeringan beku dengan matriks *sour cassava starch* adalah 92%, matriks *lintnerized cassava starch* 93%, matriks nanokristalin 96%. Setelah penyimpanan selama 6 bulan dari tapioka yang dihasilkan, menunjukkan bahwa pada tapioka tanpa penambahan starter BAL terdeteksi pertumbuhan *E. coli*, *Salmonella* dan *Shigella*, sedangkan pada pati yang ditambahkan BAL tidak terdeteksi bakteri tersebut. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan BAL selama proses ekstraksi mampu menekan pertumbuhan bakteri patogen pada tapioka yang dihasilkan. Hasil pengujian menunjukkan bahwa matriks *lintnerized cassava starch* adalah matriks terbaik karena setelah 6 bulan penyimpanan masih terdeteksi pertumbuhan BAL tertinggi dibandingkan dengan starter cair dan matriks lainnya.

Kata kunci: *bakteri asam laktat, enkapsulasi, lintnerized cassava starch, nanokristalin, sour cassava starch, tapioka*

*Penulis Korespondensi:
E-mail: titi-cs@ipb.ac.id

PENDAHULUAN

Tapioka merupakan salah satu produk agro-industri yang potensial dan memiliki prospek untuk dikembangkan. Namun proses pengolahan yang ada saat ini memiliki kelemahan yaitu proses pengolahan tapioka masih dilakukan secara tradisional karena pada umumnya industri tapioka yang ada di Indonesia adalah industri skala kecil dan menengah. Hal ini menyebabkan mutu tapioka yang dihasilkan tidak seragam baik dari bentuk fisik maupun keamanan pangan kurang terjamin. Sanitasi yang buruk dan peralatan yang masih sederhana juga menyebabkan tingginya pencemaran tapioka oleh berbagai mikroorganisme selama pengolahan.

Bakteri asam laktat merupakan kelompok bakteri Gram positif yang tidak membentuk spora. Menurut Abidin (2013), Bakteri Asam Laktat (BAL) adalah bakteri yang menghasilkan komponen antimikroba seperti asam organik, hidrogen peroksida, karbondioksida, dan bakteriosin yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. BAL menghasilkan antibiotik yang disebut bakteriosin dan dapat menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk. Berdasarkan hal tersebut, BAL berpotensi untuk menghambat bakteri patogen pada pembuatan tapioka pada tahap ekstraksi tapioka. Penambahan BAL ditambahkan pada tahap ekstraksi khususnya saat pengendapan karena pada tahap ini kemungkinan terkontaminasi bakteri patogen sangat besar.

Penambahan BAL dapat dilakukan dalam bentuk cair dan padat yaitu dengan cara enkapsulasi. Penambahan dalam bentuk cair memiliki kelemahan yaitu bakteri harus disimpan pada suhu dingin sedangkan dalam bentuk padat dapat disimpan pada suhu kamar. Enkapsulasi seringkali disebut sebagai cara untuk melindungi bakteri terhadap faktor lingkungan yang berat (Anal dan Singh, 2007; Champagne dan Fustier, 2007). Tujuan dari enkapsulasi adalah untuk menciptakan sebuah mikro-lingkungan di mana bakteri akan bertahan selama pengolahan dan penyimpanan dan dilepaskan di lokasi yang tepat (misalnya usus kecil) dalam saluran pencernaan (Weinbreck, 2009). Enkapsulasi dikatakan berhasil jika bahan yang dienkapsulasi memiliki viabilitas sel yang relatif tinggi dan sifat-sifat fisiologis yang relatif sama dengan sebelum dienkapsulasi. Pada penelitian ini pembuatan starter padat dilakukan dengan metode enkapsulasi menggunakan matriks berbasis pati dan turunannya dengan alat *freeze dryer*.

Pada penelitian ini, bahan enkapsulasi untuk bakteri asam laktat menggunakan tiga matriks yaitu *sour cassava starch*, *lintnerized cassava starch* dan nanokristalin. Karbohidrat seperti pati, pati termodifikasi, maltodekstrin, sirup jagung banyak

digunakan sebagai agen pengkapsul. Bahan-bahan tersebut memiliki sifat yang diinginkan sebagai pengkapsulasi yaitu viskositas yang rendah pada konsentrasi padatan yang tinggi serta memiliki kelarutan yang baik (King, 1995). Penelitian ini bertujuan untuk merancang proses produksi starter padat BAL melalui proses enkapsulasi menggunakan matriks berbasis pati termodifikasi yang meliputi *sour cassava starch*, *lintnerized cassava starch* dan pati nanokristalin; dan pemanfaatan starter dalam menekan pertumbuhan bakteri patogen pada proses produksi tapioka serta karakterisasi sifat fungsional tapioka.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat bakteri asam laktat yang telah diidentifikasi sebagai *Pediococcus pentosaceus* dengan kode E1222 (Institut Pertanian Bogor, Indonesia), matriks berbasis pati dan pati basah ubi kayu dengan usia ubi kayu 12 bulan tanpa bahan tambahan dan digunakan sesaat setelah pati basah ubi kayu diproduksi dari industri tapioka di daerah Sentul, Bogor. Bahan lain yang digunakan untuk fermentasi adalah air berstandar air minum dalam kemasan (AMDK) (Institut Pertanian Bogor, Indonesia) yang digunakan sebagai cairan ekstraksi tapioka, serta bahan kimia untuk analisis.

Penyiapan matriks enkapsulasi

Proses pembuatan matriks *sour cassava starch* dilakukan berdasarkan metode Hapsari (2013) dengan tahapan penambahan starter cair BAL pada pati basah. Pati basah sebanyak 1200 g dimasukkan ke dalam wadah plastik bertutup berukuran 1800 mL kemudian ditambahkan dengan 400 mL starter cair BAL 1% (v/v) dari air. Pati basah yang digunakan adalah pati ubi kayu, fermentasi dilakukan selama 15 hari. Tahap selanjutnya adalah proses pemanenan tapioka asam. Endapan pati dipisahkan dari cairan fermentasi menggunakan kain saring. Pati yang diperoleh kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari selama 8 jam kemudian dikeringkan menggunakan oven pengering (Memmert, Germany) pada suhu 50°C selama 24 jam. Pati lintnerisasi diproduksi berdasarkan metode Winarti *et al.* (2014). Pati dibuat suspensi dalam larutan HCl (Merck, Germany) 2,2 N dengan perbandingan 1:2 (b/v). Kemudian suspensi pati diinkubasi dalam *shaker incubator* (Ivymen, Spanyol) pada suhu 35°C selama 6 jam. Suspensi pati yang telah mengalami perlakuan lintnerisasi kemudian dinetralkan dengan NaOH (Merck, Germany) 1 N, kemudian dicuci dengan etanol (Merck, Germany) dan akuades. Pati yang telah dicuci kemudian dikeringkan dalam oven

pada suhu 40°C (Memmert, Germany) selama 24 jam hingga mencapai kadar air 10-12%. Setelah kering, pati digiling dengan *disc mill* dan diayak hingga ukuran 40 mesh, kemudian disimpan dalam *freezer* sampai digunakan.

Pati nanokristalin dihasilkan melalui 3 tahapan, yaitu hidrolisis asam atau enzimatis, regenerasi, dan perlakuan mekanik (Le Corre *et al.*, 2010). Metode presipitasi yang digunakan dalam pembuatan pati nanokristalin adalah presipitasi menggunakan pelarut organik etanol yang diadaptasi dari Winarti *et al.* (2014). Pati dilarutkan dalam akuades dengan perbandingan 1:15 (b/v) dipanaskan pada suhu 70°C sampai tergelatinisasi sempurna. Setelah tergelatinisasi sempurna, ditambahkan etanol dengan cara diteteskan secara perlahan-lahan sambil diaduk cepat dengan *magnetic stirrer* (Labtech, Thailand) selanjutnya didinginkan. Endapan yang terbentuk dipisahkan dengan alat sentrifugasi (Hermle, Germany) pada kecepatan 3000 RPM selama 10 menit dan dicuci dengan etanol dan dihasilkan pati nanokristalin. Pengujian kelarutan bahan dilakukan dengan menimbang sampel bahan kemudian menambahkan akuades yang selanjutnya dilarutkan, disaring dan dipanaskan dalam oven 105°C selama 2 jam, didinginkan dan ditimbang (Perez *et al.*, 1999).

Enkapsulasi bakteri asam laktat

Isolat bakteri asam laktat disegarkan dalam agar miring dari media *de Man-Rogosa-Sharpe* (MRS) (Oxoid, England) kemudian diinkubasi selama 48 jam. Selanjutnya diperbanyak dalam media kaldu MRS yang diinkubasi selama 24 jam. Sebanyak 10% (v/v) kultur bakteri asam laktat dibiakkan dalam kaldu MRS kemudian diinkubasi dalam *shaker incubator* selama 6 jam, yang merupakan waktu fase eksponensial dari bakteri asam laktat. Selanjutnya kultur BAL sebanyak 45 mL ditambahkan pada masing-masing matriks sebanyak 4,5 g yang sudah dilarutkan dalam akuades hingga 450 mL. Sebelum ditambahkan BAL, matriks disterilisasi pada suhu 125°C selama 20 menit. Untuk matriks nanokristalin, sebanyak 4,05 g pati nanokristalin ditambahkan 0,45 g *skim milk powder* kemudian dilarutkan dalam akuades hingga 450 mL. Enkapsulasi bakteri asam laktat dilakukan dalam skala laboratorium dengan alat *freeze dryer* (Kingmech, Taiwan) pada suhu -50°C selama 48 jam. Viabilitas starter BAL diuji sesaat setelah pengeringan beku dengan metode TPC pada cawan agar MRS (AOAC, 1995).

Pengujian kinerja starter

Cairan yang digunakan dalam proses pengendapan tapioka ditambahkan starter padat BAL dan starter cair (pembanding) dimasukkan ke dalam

tapioka basah. Fermentasi dilakukan dengan 4 perlakuan. Perlakuan pertama untuk perlakuan starter padat, pati basah sebanyak 150 g dimasukkan dalam wadah plastik kemudian ditambahkan dengan 50 mL starter yang berasal dari 0,02 g starter padat dalam 50 mL AMDK agar didapat jumlah bakteri minimal 10^7 CFU/mL. Selanjutnya untuk starter cair sebagai pembanding, pati basah sebanyak 150 g dimasukkan ke dalam wadah plastik kemudian ditambahkan dengan 50 mL starter cair BAL sebanyak 1% (v/v) dari volume air. Semua perlakuan dilakukan dengan 3 kali ulangan. Setelah sekitar 3 jam, kemudian endapan pati dipisahkan dari cairan ekstraksi tapioka menggunakan kain saring. Pati yang diperoleh kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari selama 8 jam kemudian dikeringkan di oven pengering bersuhu 50°C selama 24 jam. Pengujian kinerja starter meliputi (1) karakterisasi cairan tapioka, meliputi *Total Soluble Carbohydrate* (TSC) (Dubois *et al.*, 1956), total asam (Moore *et al.*, 2011), populasi mikroorganisme (bakteri asam laktat, *total plate count*, kapang dan khamir) (AOAC, 1995) dan pH (AOAC, 1994); (2) karakterisasi mutu tapioka asam, meliputi kadar air (SNI 3451:2011), total asam (AOAC, 1995), populasi mikroorganisme (bakteri asam laktat, *total plate count*, kapang dan khamir, *E. coli*, *Salmonella shigella*) (AOAC, 1995); (3) karakterisasi sifat fungsional tapioka asam, meliputi kelarutan dan *swelling power* pada suhu 70°C (Perez *et al.*, 1999), kejernihan pasta 1% (Perez *et al.*, 1999), daya cerna pati (Anderson *et al.*, 2002) dan sifat amilografi.

Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah rancangan percobaan acak kelompok dengan faktor yaitu jenis starter, dengan 4 taraf yaitu starter cair, starter padat dengan matriks *sour cassava starch*, *lintnerized cassava starch*, dan nanokristalin. Pada rancangan percobaan ini dilihat pengaruh faktor tersebut terhadap karakteristik cairan tapioka serta karakteristik mutu dan sifat fungsional tapioka yang dihasilkan. Data yang diperoleh dari hasil penelitian dianalisis ragam (ANOVA). Jika pengujian ANOVA menghasilkan penolakan terhadap H_0 maka dilakukan uji lanjut. Uji lanjut yang digunakan adalah *Duncan's Multiple Range Test*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Bakteri asam laktat terenkapsulasi

Hasil enkapsulasi bakteri asam laktat (BAL) dengan menggunakan *freeze dryer* berbentuk serbuk dan berwarna putih. Pada penelitian ini digunakan pati termodifikasi untuk mengenkapsulasi bakteri asam laktat. Pati termodifikasi yang digunakan adalah *lintnerized cassava starch*, *sour cassava starch* dan nanokristalin. Secara visual starter padat

yang dihasilkan dari *lintnerized cassava starch* dan *sour cassava starch* berbentuk serbuk dan tidak terlalu lengket, sedangkan dari matriks nanokristalin terlihat agak lengket, bersifat sangat higroskopis. Menurut Winarti *et al.* (2014), pati nanokristalin merupakan partikel nanoporous dengan ukuran pori berkisar 20-50 nm dan telah mengalami perubahan struktur kristalinitasnya. Sebelum ditambahkan *skim milk powder* pati nanokristalin tidak berbentuk serbuk, kemudian setelah ditambahkan *skim milk powder* pati nanokristalin berbentuk serbuk namun tetap higroskopis. Hasil pengujian menunjukkan setelah pengeringan beku terjadi penurunan jumlah sel terenkapsulasi menjadi sebesar 92-96% (Tabel 1). Enkapsulasi bakteri asam laktat menurunkan viabilitas sel dikarenakan kultur bakteri asam laktat kehilangan air yang cukup banyak di dalam sel sehingga proses metabolisme dan aktivitas seluler berhenti atau sel berada pada masa istirahat (dorman). Namun resistensi bakteri asam laktat terhadap proses pengeringan beku tergantung pada strain bakteri asam laktat dan kondisi kultur sebelum dibekukan, cara pemanenan, formulasi medium pembekuan, kondisi pembekuan dan kondisi pengeringan beku (Fonseca *et al.*, 2006).

Tabel 1. Jumlah sel bakteri asam laktat setelah enkapsulasi

Sampel	Σ BAL (Log CFU/mL)	Σ Sel Terenkapsulasi (%)
Starter cair	9,45	100
Tapioka asam	8,71	92
Pati lintnerisasi	8,86	93
Pati nanokristalin	9,07	96

Enkapsulasi bakteri asam laktat menyebabkan penurunan jumlah sel terenkapsulasi. Pada penelitian ini tiga matriks berbasis pati yaitu *lintnerized cassava starch*, *sour cassava starch* dan nanokristalin mempengaruhi jumlah bakteri asam laktat yang dapat dienkapsulasi. Pati tersusun atas amilosa dan amilopektin yang bersifat semikristalin dengan susunan kristalin yang memungkinkan bakteri asam laktat dapat terperangkap di dalamnya. Pati termodifikasi bisa berfungsi sebagai matriks karena struktur kristalin pati memungkinkan bakteri asam laktat terperangkap di dalamnya. Selain itu modifikasi pati akan memperbaiki karakteristik pati sebagai matriks, diantaranya kemampuan pengembangan atau kemampuan menyerap air, kelarutan, viskositas, reologi, ketahanan terhadap panas, asam atau enzim serta kompatibilitasnya terhadap polimer lain (Winarti *et al.*, 2013). Kelarutan dari matriks *sour cassava starch* adalah sebesar 35%, matriks *lintnerized cassava starch* sebesar 42,5%, sedangkan matriks nanokristalin sebesar 64,07%.

Pada matriks *sour cassava starch*, jumlah sel terenkapsulasi menurun menjadi 92%. Hal ini dapat disebabkan oleh perubahan susunan kristalinitas dari pati selama fermentasi. Tapioka asam merupakan pati termodifikasi yang memutus amilopektin pada struktur amorfnya, amilopektin ini merupakan fraksi rantai pendek yang mudah membentuk kristal sehingga sesuai digunakan sebagai bahan matriks. Dikarenakan amilopektin sudah diputus ikatannya sehingga mengakibatkan berkurangnya bakteri asam laktat yang dapat terperangkap oleh matriks ini. Hal ini dibuktikan oleh Franco *et al.* (2002) bahwa *sour cassava starch* telah mengalami perubahan struktur selama fermentasi, terutama pembentukan area amorf untuk hampir seluruh amilosa yang ada pada tapioka. Modifikasi pada tapioka asam melibatkan hidrolisis oleh enzim dan asam laktat serta penyinaran UV dari sinar matahari yang menyebabkan depolimerisasi parsial pada bagian amorf pati. Enzim, asam laktat dan sinar UV memotong-motong sebagian pati pada bagian amorf sehingga dihasilkan rantai-rantai pati berukuran pendek (Vatanasuchart *et al.*, 2003). Pada matriks *lintnerized cassava starch*, jumlah sel terenkapsulasi menurun menjadi 93%, hal ini dapat dimungkinkan hidrolisis asam telah mendegradasi sebagian daerah kristalin pati. Proses lintnerisasi hanya mengubah struktur kimia dari pati namun tidak mengubah ukuran dan bentuk pati. Perlakuan lintnerisasi dilakukan dengan tujuan mendegradasi fraksi amilosa rantai panjang dan titik percabangan pada amilopektin yang terdapat pada daerah amorf sehingga dihasilkan fraksi amilosa rantai pendek dengan bobot molekul yang lebih rendah. Proses hidrolisis asam (lintnerisasi) dilakukan sebagai preparasi awal untuk proses modifikasi pati dengan tujuan antara lain untuk menurunkan viskositas pati dan meningkatkan kristalinitasnya (Winarti *et al.*, 2013).

Pada matriks nanokristalin jumlah sel terenkapsulasi menurun menjadi 96%, namun jumlah sel terenkapsulasi pada nanokristalin tertinggi dibandingkan dua matriks lainnya. Hal ini dapat disebabkan kristalinitas dari pati nanokristalin tinggi, derajat kristalinitas dari pati nanokristalin sebesar 63,14% (Wulandari, 2013). Pati nanokristalin merupakan pati yang telah mengalami proses modifikasi pada struktur kristalin pati, bentuk serta ukurannya. Selain itu, material ukuran nano memiliki luas area permukaan lebih besar daripada partikel yang lebih besar sehingga partikel berukuran nano lebih aktif. Penyiapan pati nanokristalin pada penelitian ini dilakukan dengan 2 tahapan proses, yaitu lintnerisasi (hidrolisis asam secara lambat) dan presipitasi. Ma *et al.* (2008) mengemukakan bahwa pati nanopartikel dapat disintesis dengan presipitasi larutan pati menggunakan pelarut organik, salah

satunya adalah etanol 95%. Terbentuknya pati nanopartikel terjadi ketika pati mendapat perlakuan suhu tinggi saat proses gelatinisasi. Dengan adanya energi termal dan mekanis yang diberikan pada pati selama pemanasan di atas suhu gelatinisasinya, maka terjadi perusakan ikatan kovalen dan hidrogen pada struktur *double helix* amilopektin dan pelelehan bagian kristalit, sehingga terbentuk ukuran partikel pati yang lebih kecil.

Karakteristik cairan ekstraksi tapioka

Cairan ekstraksi tapioka merupakan produk samping dari pembuatan tapioka, yang diperoleh saat pengendapan dan pemisahan pati dan cairannya, serta merupakan media untuk pertumbuhan mikroba. Karakteristik cairan ekstraksi tapioka disajikan pada Tabel 2. *Total soluble carbohydrate* menunjukkan karbohidrat yang terlarut pada cairan ekstraksi tapioka. Jenis starter berpengaruh signifikan terhadap TSC (Tabel 2). TSC cairan ekstraksi tapioka berkisar antara 5,77-6,84 mg/mL. Karbohidrat terlarut pada cairan dihasilkan dari proses pemutusan ikatan pati oleh enzim amilase dan asam laktat yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat. Gula-gula sederhana hasil dari pemutusan ikatan pati oleh enzim amilase merupakan substrat bagi bakteri asam laktat dan digunakan untuk menghasilkan asam laktat melalui proses glikolisis. Berdasarkan hasil uji ANOVA dan uji lanjut Duncan, total asam pada semua perlakuan tidak berbeda signifikan pada taraf 5%. Bakteri asam laktat memanfaatkan kandungan pati sebagai substrat untuk diubah menjadi glukosa dan kemudian digunakan untuk menghasilkan asam laktat melalui proses glikolisis. Dari hasil uji ANOVA dan uji lanjut Duncan, pH pada semua perlakuan berbeda signifikan pada taraf 5%. Rendahnya nilai pH pada cairan disebabkan asam-asam organik, terutama asam laktat yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat pada cairan yang menggunakan matriks *sour cassava starch* berbeda signifikan pada taraf 5% dan memiliki populasi bakteri asam laktat tertinggi yaitu $7,73 \times 10^8$ CFU/mL. Hal ini berkaitan dengan matriks yang digunakan memiliki jumlah bakteri asam laktat 8×10^2

CFU/g sehingga menginduksi bakteri pada tapioka dengan matriks *sour cassava starch*. Jumlah mikroba tertinggi yaitu pada perlakuan dengan penambahan starter cair yaitu $7,1 \times 10^8$ CFU/mL. Hasil ini juga dibuktikan Meryandini *et al.* (2011) bahwa hasil perhitungan jumlah mikroorganisme dengan metode *Total Plate Count* (TPC) menunjukkan seluruh mikroorganisme yang digunakan mampu hidup dalam substrat ubi kayu, terlihat dari tingginya jumlah koloni masing-masing mikroorganisme setelah 24 jam dan 48 jam waktu inkubasi dibandingkan dengan jumlah koloni awal yang dimasukkan sebagai starter cair, sedangkan jumlah kapang dan khamir tidak terdeteksi kecuali pada perlakuan starter cair sebesar $2,0 \times 10^5$ CFU/mL. Menurut Oyewole (2001), khamir memiliki kemampuan amilolitik yang mampu menghasilkan enzim amilase yang bekerja pada pati alami sehingga pati dimanfaatkan oleh khamir untuk pertumbuhannya.

Karakteristik mutu tapioka setelah pengeringan

Jenis starter tidak berpengaruh signifikan terhadap kadar air tapioka pada taraf uji 5%. Kadar air tapioka yang ditambahkan starter berkisar antara 2,31-3,38% (Tabel 3). Penggunaan sinar matahari dan oven menghasilkan kadar air yang lebih rendah sehingga kualitas tapioka menjadi lebih baik. Proses pengeringan diperlukan untuk mengurangi kadar air tapioka sampai batas tersebut agar pertumbuhan mikroorganisme patogen dapat terhambat. Kandungan asam laktat yang dihasilkan pada tapioka akan menurun sekitar 30% selama pengeringan dengan sinar matahari. Mestres dan Rouau (1997) menjelaskan bahwa degradasi oksidatif tapioka dapat terjadi akibat paparan radiasi sinar matahari.

Total asam menunjukkan kadar asam yang terkandung dalam suatu bahan. Total asam tertinggi yaitu pada perlakuan matriks *sour cassava starch* sebesar 1 mL NaOH 1 N/100 g bahan yang dikarenakan matriks *sour cassava starch* masih mengandung sejumlah asam sehingga meningkatkan jumlah total asam pada tapioka. Total asam ini masih memenuhi SNI untuk mutu tapioka yaitu maksimal 4 mL NaOH 1 N/100 g bahan.

Tabel 2. Pengaruh jenis starter terhadap karakteristik cairan tapioka

Parameter	SC	Matriks Enkapsulasi		
		SCS	LCS	NSM
Total soluble carbohydrate (mg/mL)	42,4±9,7 ^b	41,3±8,1 ^b	33,7±7,2 ^c	46,7±8,4 ^a
Total asam (mg/mL)	1,5±0,2 ^a	1,2±0,2 ^a	0,9±0,1 ^a	0,9±0,1 ^a
Bakteri asam laktat (Log CFU/mL)	8,6±0,3 ^{ab}	8,9±0,2 ^a	8,8±0,2 ^{ab}	8,5±0,2 ^b
Total plate count (Log CFU/mL)	8,9±0,3 ^a	8,7±0,4 ^{ab}	8,6±0,3 ^b	8,7±0,2 ^b
Kapang khamir (Log CFU/mL)	4,3±0,0	tt	tt	tt
pH	5,1±0,0 ^a	4,7±0,1 ^b	4,8±0,1 ^{ab}	4,8±0,0 ^{ab}

Keterangan: SC= starter cair; SCS= *sour cassava starch*; LCS= *lintnerized cassava starch*; NSM= nanokristalin superskrip berbeda pada baris yang sama menunjukkan signifikansi nyata ($P \leq 0,05$); tt= tidak terdeteksi

Analisa mikroorganisme pada mutu tapioka meliputi bakteri asam laktat, kapang dan khamir serta TPC. Dari hasil uji ANOVA dan uji lanjut Duncan, populasi jumlah bakteri asam laktat dan TPC pada starter cair berbeda signifikan pada taraf 5% yaitu $8,6 \times 10^4$ CFU/g dan $6,06 \times 10^4$ CFU/g. Kapang dan khamir pada perlakuan starter cair juga menunjukkan angka tertinggi yaitu 6×10^4 CFU/g. Hal ini dimungkinkan bakteri asam laktat pada starter cair langsung terfermentasi pada tapioka, sedangkan bakteri asam laktat yang dienkapsulasi matriks sudah menurun populasinya dikarenakan pengeringan beku. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Meryandini *et al.* (2011) bahwa jumlah mikroorganisme dengan metode TPC meningkat pada tepung kasava terfermentasi setelah ditambahkan starter cair. Hal ini juga sesuai dengan hasil penelitian Rosyidah *et al.* (2013) bahwa penggunaan starter cair bakteri asam laktat dan semakin lama waktu fermentasi meningkatkan populasi bakteri asam laktat sehingga dapat digunakan sebagai starter cair pada proses perendaman grits jagung untuk meningkatkan rendemen tepung, dan memperbaiki sifat kimia tepung jagung.

Karakteristik mutu tapioka setelah penyimpanan

Penyimpanan produk selama 6 bulan pada suhu kamar menyebabkan perubahan kualitas produk. Analisa mikroorganisme pada mutu tapioka meliputi bakteri asam laktat, kapang khamir, TPC, *E. coli* serta *Salmonella shigella* (Tabel 4). Dari hasil ANOVA dan uji lanjut Duncan, jumlah bakteri asam

laktat pada matriks *lintnerized cassava starch* berbeda signifikan dengan perlakuan lainnya, sedangkan pada pati alami (dihasilkan oleh industri kecil tanpa penambahan starter) tidak terdeteksi pertumbuhan bakteri asam laktat. Pada matriks *lintnerized cassava starch*, jumlah bakteri asam laktat tertinggi, hal ini dimungkinkan pati lintnerisasi dapat memerangkap bakteri asam laktat serta mempertahankan viabilitas sel bakteri selama penyimpanan berlangsung. Jumlah TPC dan kapang khamir tertinggi setelah penyimpanan ditemukan pada tapioka alami, hal ini dapat disebabkan oleh tidak adanya bakteri asam laktat pada pati alami, sehingga tidak ada yang menekan pertumbuhan mikroorganisme patogen, ini terkait dengan adanya sifat bakteriostatik yang menghasilkan bakteriosin pada asam laktat. Berdasarkan hasil analisa pada Tabel 4, pertumbuhan *E. coli*, *Salmonella* dan *Shigella* terdeteksi pada pati alami, sedangkan pati yang diberi penambahan bakteri asam laktat tidak terdeteksi kedua bakteri tersebut. Data tersebut semakin menguatkan bahwa pada bakteri asam laktat menghasilkan senyawa anti mikroba yang menekan pertumbuhan bakteri patogen, dan juga sesuai dengan pernyataan Karthikeyan dan Santosh (2009) yang mengatakan bahwa bakteri asam laktat mampu menurunkan pH makanan, sehingga pada pH rendah pertumbuhan sebagian besar mikroorganisme yang terdapat di dalam makanan termasuk bakteri patogen dapat terhambat.

Tabel 3. Pengaruh jenis starter terhadap karakteristik mutu tapioka setelah pengeringan

Parameter	NS	SC	Matriks Enkapsulasi			SNI*
			SCS	LCS	NSM	
Kadar air (%)	6,4±1,1 ^a	3,1±0,5 ^b	3,4±0,4 ^b	2,3±0,7 ^b	3,2±0,9 ^b	Maks. 14
Total asam (mL NaOH 1 N/100 g bahan)	0,5±0,0 ^b	0,5±0,0 ^b	1,0±0,0 ^a	0,5±0,0 ^b	0,5±0,0 ^b	Maks. 4
Bakteri asam laktat (Log CFU/g)	tt	4,9±0,2 ^a	2,0±0,0 ^c	4,0±0,0 ^b	4,0±0,0 ^b	-
Total <i>plate count</i> (Log CFU/g)	3,6±0,0 ^c	4,8±0,0 ^a	3,5±0,0 ^c	3,8±0,0 ^{bc}	4,0±0,0 ^b	Maks. 1×10^6
Kapang khamir (Log CFU/g)	3,8±0,0 ^c	3,8±0,0 ^a	2,5±0,0 ^d	3,9±0,0 ^{bc}	4,0±0,0 ^b	Maks. 10

Keterangan: SC= starter cair; SCS= *sour cassava starch*; LCS= *lintnerized cassava starch*; NSM= nanokristalin-skim *milk powder* superskrip berbeda pada baris yang sama menunjukkan signifikansi nyata ($P \leq 0,05$); *SNI 3451:2011 Tapioka

Tabel 4. Pengaruh jenis starter terhadap karakteristik mutu tapioka setelah 6 bulan penyimpanan pada suhu kamar

Parameter	NS	SC	Matriks Enkapsulasi			SNI*
			SCS	LCS	NSM	
Bakteri asam laktat (Log CFU/g)	tt	2,5±0,0 ^c	2,5±0,0 ^c	3,8±0,0 ^a	3,5±0,0 ^b	-
Total <i>plate count</i> (Log CFU/g)	3,5±0,2 ^a	2,9±0,1 ^{bc}	2,7±0,1 ^c	3,1±0,4 ^b	3,2±0,2 ^{bc}	Maks. 1×10^6
Kapang khamir (Log CFU/g)	3,5±0,3 ^a	2,5±0,3 ^d	2,6±0,1 ^d	3,1±0,2 ^b	2,9±0,1 ^c	Maks. 1×10^4
<i>Escherichia coli</i> (Log CFU/g)	2,1±0,0	tt	tt	tt	tt	Maks. 10
<i>Salmonella shigella</i> (Log CFU/g)	2,3±0,2	tt	tt	tt	tt	-

Keterangan: SC= starter cair; SCS= *sour cassava starch*; LCS= *lintnerized cassava starch*; NSM= nanokristalin superskrip berbeda pada baris yang sama menunjukkan signifikansi nyata ($P \leq 0,05$); tt= tidak terdeteksi; *SNI 3451: 2011 Tapioka

Karakteristik sifat fungsional tapioka

Sifat fungsional pati adalah sifat-sifat yang dimiliki pati yang akan sangat mempengaruhi aplikasinya pada produk. Karakteristik sifat fungsional tapioka yang dianalisa meliputi kelarutan, *swelling power*, kejernihan pasta 1%, daya cerna pati serta sifat amilografi (Tabel 5). Berdasarkan hasil analisis sifat fungsional tapioka, jenis starter berpengaruh signifikan terhadap karakteristik fungsional tapioka yang dihasilkan. Berdasarkan hasil analisis *swelling power* pada tapioka, data menunjukkan bahwa jenis starter berpengaruh signifikan terhadap *swelling power*. *Swelling power* didefinisikan sebagai penambahan volume dan berat maksimum yang dialami pati dalam air (Balagopalan *et al.*, 1988). *Swelling power* tapioka yang dihasilkan pada suhu 70°C berkisar antara 55-85% sedangkan tapioka alami 200% (Tabel 5). *Swelling* tertinggi terdapat pada tapioka alami, hal ini berarti makin tinggi kemampuan pati mengembang dalam air. Pada proses pati lintnerisasi, menyebabkan kerusakan daerah amorf dalam granula pati.

Daerah amorf merupakan daerah yang lebih mudah mengalami reaksi kimia dibandingkan daerah kristalin karena ikatan hidrogen pada daerah amorf lebih lemah dibandingkan pada daerah kristalin. Fraksi amorf pada amilopektin akan terpotong sehingga terjadi hidrasi air dengan mudah saat pemanasan. Marcon *et al.* (2006) menyebutkan enzim, asam laktat dan sinar UV mendegradasi pada bagian amorf granula pati sementara bagian kristalin dibiarkan utuh. Selain itu, banyaknya granula pati yang telah pecah juga menyebabkan rendahnya *swelling power*. Hasil analisis kelarutan pada tapioka menunjukkan hasil yang berbeda nyata antara semua perlakuan, kelarutan berkisar antara 52,24-61,09%. Kelarutan tertinggi yaitu pada pati alami, tingginya nilai kelarutan menunjukkan semakin banyaknya pati yang terlarut dalam air. Pecahnya granula pati menyebabkan semakin banyaknya molekul pati yang keluar dan larut dalam air sehingga kelarutan meningkat. Faktor-faktor seperti rasio amilosa-amilopektin, distribusi berat molekul dan panjang rantai, serta derajat percabangan dan

konformasinya menentukan *swelling power* dan kelarutan (Moorthy, 2004).

Hasil analisis kejernihan pasta 1% pada tapioka menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata. Hasil analisis menunjukkan kisaran kejernihan pasta 1% antara 42,46-47,16%. Kejernihan pasta berhubungan dengan kandungan amilosa pada pati. Kejernihan pasta diukur setelah pati dipanaskan pada air mendidih selama 30 menit. Molekul-molekul amilosa yang larut saat pemanasan lebih mudah teretrogradasi dibandingkan amilopektin. Saat retrogradasi, pasta pati akan semakin *opaque* dan membentuk gel. Kejernihan pasta berhubungan dengan aplikasinya pada produk, sebagai bahan baku akan menghasilkan produk dengan warna yang jernih atau transparan. Semakin banyak kandungan amilosa pada pati maka pasta pati yang dihasilkan akan semakin *opaque* dan membentuk gel yang kuat (Thomas dan Atwell, 1999). Sebaliknya, tapioka yang memiliki kandungan amilosa yang lebih rendah akan menghasilkan pasta pati yang lebih transparan. Daya cerna pati adalah kemampuan enzim pemecah pati untuk menghidrolisis pati menjadi unit-unit yang lebih kecil. Nilai daya cerna pati yang rendah menunjukkan bahwa pati tersebut kemungkinan mengandung komponen yang sulit atau tidak dapat dicerna. Hasil analisis menunjukkan daya cerna pati pada tapioka alami dan tapioka dengan perlakuan menunjukkan hasil yang berbeda signifikan. Penambahan starter menurunkan daya cerna pati (Tabel 5) bahwa pati alami berbeda signifikan pada taraf 5% terhadap 4 perlakuan lainnya. Berdasarkan hasil analisis, pati alami memiliki nilai daya cerna tertinggi yaitu 96,29% yang artinya pati alami tanpa penambahan starter langsung dapat terserap oleh tubuh hampir seluruhnya. Daya cerna pati terendah yaitu pada tapioka dengan starter padat dengan matriks *lintnerized cassava starch* sebesar 84,01%. Nilai daya cerna pati yang rendah menunjukkan bahwa pati tersebut kemungkinan mengandung komponen yang sulit atau tidak dapat dicerna, sehingga pati tersebut tergolong pati yang sulit dicerna. Pengukuran daya cerna pati dilakukan menggunakan enzim α -amilase pankreatin yang memiliki kondisi sama dengan kondisi enzim pemecah pati dalam tubuh.

Tabel 5. Pengaruh jenis starter terhadap karakteristik sifat fungsional tapioka

Parameter	NS	SC	Matriks Enkapsulasi		
			SCS	LCS	NSM
Kelarutan (%)	61,0±2,3 ^a	53,2±2,7 ^d	54,3±2,1 ^c	57,3±2,1 ^b	52,2±1,8 ^d
<i>Swelling power</i> 70°C (%)	200,0±4,2 ^a	55,0±3,1 ^d	71,0±4,1 ^{bc}	85,0±4,3 ^b	56,0±2,1 ^d
Kejernihan pasta 1% (%)	47,1±1,2 ^a	47,1±1,7 ^a	42,4±1,3 ^a	46,8±1,1 ^a	44,3±1,2 ^a
Daya cerna pati (%)	96,2±0,1 ^a	93,1±0,3 ^{ab}	89,1±0,3 ^{ab}	84,0±0,3 ^b	93,7±0,1 ^{ab}

Keterangan: NS= *native cassava starch*; SC= starter cair; SCS= *sour cassava starch*; LCS= *lintnerized cassava starch*; NSM= nanokristalin-skim milk powder; superskrip berbeda pada baris yang sama menunjukkan signifikansi nyata ($P \leq 0,05$)

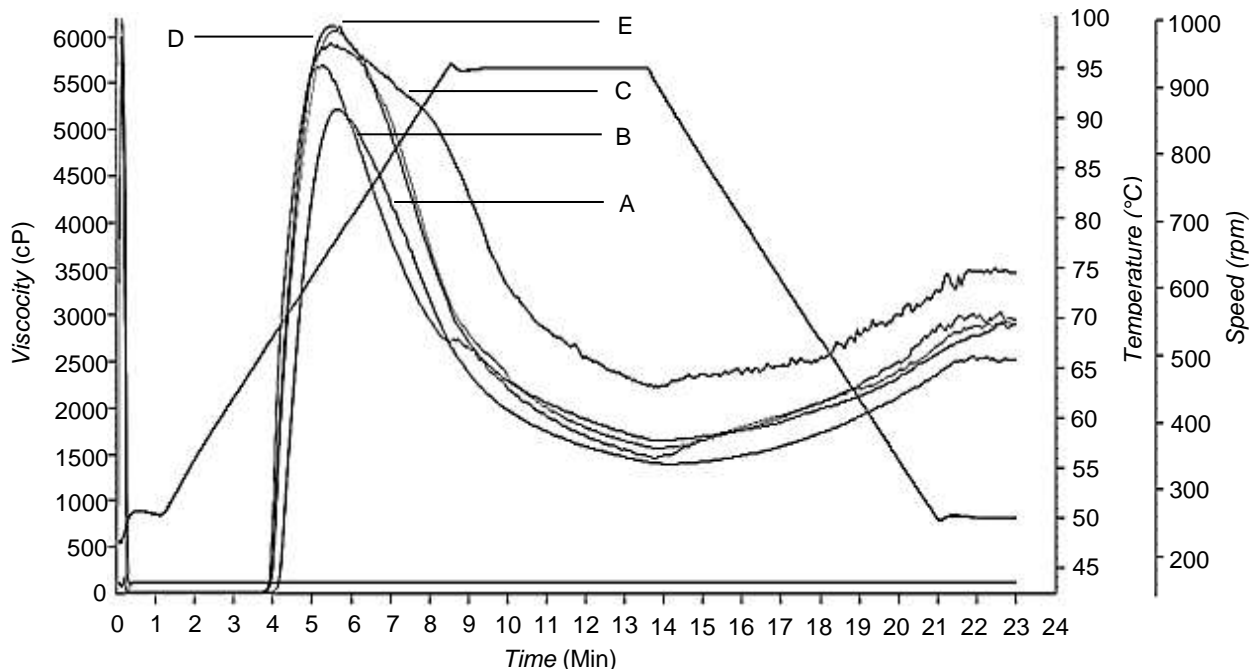
Mekanisme yang terjadi pada matriks lintnerisasi yang daya cernanya paling rendah dikarenakan hidrolisis asam mengubah struktur kimia dari pati dengan memutus amilopektin pada struktur amorfnya, tetapi tidak mengubah ukuran dan bentuk pati, sehingga kristalinitas meningkat, hal ini yang mengakibatkan daya cerna pati rendah. Semakin tinggi kristalinitas maka akan semakin sulit dicerna oleh tubuh. Daya cerna pati yang rendah pada tapioka menyebabkan produk ini sesuai untuk produk makanan diet.

Hasil pengukuran sifat amilografi tapioka disajikan pada Tabel 6, sedangkan pola amilografi tapioka dapat dilihat pada Gambar 1. Pada Gambar 1 terlihat jelas bahwa viskositas maksimum tertinggi dihasilkan dari matriks *lintnerized cassava starch* sebesar 6114 cP sedangkan viskositas maksimum

terendah dihasilkan dari pati tapioka alami yaitu 5214 cP. Viskositas maksimum merupakan titik puncak viskositas adonan pada proses pemanasan yang merupakan indikator kemudahan jika dimasak dan juga menunjukkan kekuatan adonan yang terbentuk dari gelatinisasi selama pengolahan dan aplikasi makanan. Pada tapioka yang kandungan amilosa telah menurun maka *setback viscosity* dan *final viscosity* juga menurun. *Final viscosity* yang rendah pada tapioka memberikan tekstur yang lebih baik pada produk, misalnya aplikasi tapioka pada produk *cookies* menghasilkan produk dengan tekstur yang lebih lembut. *Final viscosity* terendah pada perlakuan starter padat yaitu pada matriks *lintnerized cassava starch* sebesar 2899 cP (Tabel 6).

Tabel 6. Pengaruh jenis starter terhadap sifat amilografi tapioka dengan RVA

Matriks	Pasting Temperature (°C)	Peak Viscosity (cP)	Hot paste Viscosity (cP)	Breakdown Viscosity (cP)	Setback Viscosity (cP)	Final Viscosity (cP)
<i>Native cassava starch</i>	68,5	5214	1395	3819	1126	2521
Starter cair	67,4	5693	1461	4232	1492	2953
<i>Sour cassava starch</i>	66,8	5930	2221	3709	1228	3499
<i>Lintnerized cassava starch</i>	67,3	6114	1643	4471	1256	2899
Nanokristalin	67,3	6066	1567	4499	1333	2900



Gambar 1. Pengaruh jenis starter fermentasi terhadap sifat amilografi tapioka asam yang diukur dengan RVA: A. *Native Cassava Starch*; B. Starter Cair; C. *Sour Cassava Starch*; D. Nanokristalin-Skim Milk Powder; E. *Lintnerized Cassava Starch*

KESIMPULAN

Penambahan bakteri asam laktat yang dienkapsulasi dengan matriks pati termodifikasi yaitu pati tapioka asam, pati lintnerisasi dan pati nanokristalin pada proses ekstraksi tapioka dapat memperbaiki karakteristik tapioka berdasarkan karakter mutu dan fungsionalnya serta dapat menekan pertumbuhan bakteri patogen pada tapioka. *Lintnerized cassava starch* merupakan matriks terbaik untuk mengenkapsulasi bakteri asam laktat dengan kemampuan tumbuh yang baik dalam proses perendaman tapioka serta dapat mempertahankan viabilitas sel selama penyimpanan tapioka. Penambahan starter bakteri asam laktat meningkatkan mutu mikrobiologi tapioka sehingga dapat menjaga keamanan pangan produk tapioka yang dihasilkan dan secara umum karakteristik fungsional tapioka dengan penambahan BAL mirip dengan tapioka alami. Penambahan starter mampu menekan pertumbuhan bakteri patogen, sehingga produk aman untuk dikonsumsi dan dapat memperpanjang umur simpan produk. Untuk meningkatkan potensi aplikasi perlu dilakukan pengujian efikasi starter BAL dalam meningkatkan mutu mikrobiologi tapioka pada skala industri, khususnya jika penggunaan air sebagai bahan baku pada industri tapioka berpotensi menjadi sumber kontaminasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi (Ditjen Tinggi) Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan yang telah mendanai penelitian ini melalui program Penelitian Unggulan Strategis Nasional tahun 2012-2013, No: 69/IT3.41.2/L1/SPK/2013 kepada Titi Candra Sunarti.

DAFTAR PUSTAKA

- Abidin M, Umniyatisup S, Yulianti E. 2013. Uji aktivitas senyawa antimikroba bakteri asam laktat (BAL) yang diisolasi dari proses perendaman tepung dalam pembuatan mie "lethe" terhadap bakteri patogen (*Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923). *J Biologi* 4: 1-8.
- Anal AK, Singh H. 2007. Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. *Trends Food Sci Tech* 18: 240–251. DOI: 10.1016/j.tifs.2007.01.004.
- 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). *Starch-Stärke* 54: 401–409. DOI: 10.1002/1521-379X(200209)54:9<401::AID-STAR401>3.0.CO;2-Z.
- [AOAC] Association of Official Analytical Chemists International. 1994. *Official Methods of Analysis of The Association Official Analytical Chemist*. Washington D.C.
- [AOAC] Association of Official Analytical Chemists International. 1995. *Official Methods of Analysis of The Association of Analytical Chemist*. Washington D.C.
- Balogopalan CG, Padmaja SKN, Moorthy SN. 1988. *Cassava in Food, Feed, and Industry*. Boca Raton Florida: CRC Pr.
- Champagne CP, Fustier P. 2007. Microencapsulation for the improved delivery of bioactive compounds into foods. *Curr Opin Biotech* 18: 184–190. DOI: 10.1016/j.copbio.2007.03.001.
- Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F. 1956. Calorimetric method for determination of sugars and related substance. *Anal Chem* 28: 350-356. DOI: 10.1021/ac60111a017.
- Franco CML, Cabdral RAF, Tavares DQ. 2002. Structure and physicochemical characteristics of lintnerized native starch and sour cassava starch. *Starch-Stärke* 54: 469-475. DOI: 10.1002/1521-379X(200210)54:10<469::AID-STAR469>3.0.CO;2-Z.
- Hapsari RD. 2013. *Pembuatan Tapioka Asam dengan Penambahan Starter Cair Bakteri Asam Laktat Indigenous [Skripsi]*. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Karthikeyan V, Santosh SW. 2009. Isolation and partial characterization of bacteriocin produced from *Lactobacillus plantarum*. *Afr J Microbiol Res* 3: 233-239.
- King AH. 1995. *Encapsulation of Food Ingredients. A Review of Available Technology, Focusing on Hydrocolloids*. Di dalam Risch SJ dan Reineccius. *Encapsulation and Controlled Release of Food Ingredients*. American Chemical Society, Washington, D.C.
- Le Corre D, Bras J, Dufresne A. 2010. Starch nanoparticles: A Review. *Biomacromolecular* 11: 139-1153. DOI: 10.1021/bm901428y.
- Ma X, Jian R, Chang PR, Ju Y. 2008. Fabrication and characterization of citric acid-modified starch nanoparticles/plasticized-starch composites. *Biomacromolecular* 9: 3314-3320. DOI: 10.1021/bm800987c.

- Marcon MJA, Vieira MA, Santos K, De Simas KN, Amboni RDDMC, Amante ER. 2006. The effect of fermentation on cassava starch microstructure. *J Food Process Eng* 29: 362-372. DOI: 10.1111/j.1745-4530.2006.00073.x.
- Meryandini A, Melani V, Sunarti TC. 2011. Addition of cellulolytic bacteria to improved the quality of fermented cassava flour. *Afr J Food Sci Technol* 2: 030-035.
- Moore JW, Stanistski CL, Jurs PC. 2011. *Chemistry: The Molecular Science*. USA: Cengage Learning, Inc.
- Moorthy, SN. 2004. Tropical Sources of Starch. *Di dalam* Ann Charlotte Eliasson (ed). *Starch in Food: Structure, Function, and Application*. Florida: CRC Pr.
- Perez LAB, Acevedo EA, Hernandez LS, Lopez OP. 1999. Isolation and partial characterization of banana starch. *J Agr Food Chem* 47: 854-857. DOI: 10.1021/jf980828t.
- Rosyidah E, Meryandini A, Sunarti TC. 2013. The use of lactic acid bacteria and cellulolytic bacteria to improve the chemical properties of corn flour. *Makara J Sci* 17: 80-75.
- Thomas DJ, Atwell WA. 1999. *Starches*. Minnesota: American Association of Cereal Chemist Inc.
- Vatanasuchart N, Naivikul O, Charoenrein S, Sriroth K. 2005. Molecular properties of cassava starch modified with different UV irradiations to enhance baking expansion. *Carbohydr Polym* 61: 80-87. DOI: 10.1016/j.carbpol.2005.02.012.
- Weinbreck F, Bodnar I, Marco ML. 2009. Can encapsulation lengthen the shelf-life of probiotic bacteria in dry product?. *Int J Food Microbiol* 136: 364-367. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2009.11.004.
- Winarti C, Sunarti TC, Mangunwidjaja D, Richana N. 2013. Potensi dan aplikasi pati termodifikasi sebagai bahan aktif bahan matriks enkapsulasi bahan bioaktif. *Buletin Teknol Pasca-panen Pertanian* 9: 83-94.
- Winarti C, Sunarti TC, Mangunwidjaja D, Richana N. 2014. Preparation of arrowroot starch nanoparticles by butanol-complex precipitation, and its application as bioactive encapsulation matrix. *Int Food Res J, UPM Malaysia* 21: 2207-2213.
- Wulandari K. 2013. *Penyiapan dan Karakterisasi Pati Nanokristalin dari Sagu dan Tapioka* [Skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.