

## Potensi Prebiotik Tepung Pisang yang Dimodifikasi Menggunakan Pemanasan Autoklaf Dilanjutkan dengan Retrogradasi

### *Potential Prebiotic of Banana Flour Modified Using Autoclave Heating Followed by Retrogradation*

Reski Praja Putra, Program Studi Pendidikan Teknologi Pertanian, Universitas Negeri Makassar, Email : [reski.prajaputra@unm.ac.id](mailto:reski.prajaputra@unm.ac.id)

#### Abstrak

Penelitian ini bertujuan mengkaji potensi prebiotik dari tepung pisang yang telah dimodifikasi menggunakan pemanasan autoklaf yang dilanjutkan proses retrogradasi. Tepung pisang modifikasi dibuat dari *chips* pisang yang telah diberi perlakuan pemanasan bertekanan menggunakan autoklaf (tekanan 0.15 Mpa atau 1.5 atm) pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian didinginkan (retrogradasi) pada suhu ruang ( $\pm 30^\circ\text{C}$ ) selama 24 jam. Tepung pisang yang telah dimodifikasi (TPMo) diuji kemampuannya terhadap viabilitas bakteri asam laktat kandidat probiotik (*Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum sa28k*, dan *L. fermentum 2B4*), efek prebiotik, indeks prebiotik, dan nilai aktivitas prebiotiknya. Hasil penelitian menunjukkan TPMo berpotensi menjadi kandidat prebiotik, TPMo meningkatkan viabilitas ketiga kandidat probiotik hingga mencapai 3.1-3.6 Log CFU/ml. Efek prebiotik TPMo tergolong tinggi dengan indeks prebiotik 0.91-0.94. Namun, selektivitas TPMo masih rendah terhadap *Enteropatogenik Escherichia coli (EPEC)*. Nilai aktivitas prebiotik TPMo yang dihasilkan bernilai negatif menunjukkan viabilitas kandidat probiotik pada media glukosa masih lebih tinggi dibandingkan TPMo, namun nilai aktivitas prebiotik TPMo masih lebih tinggi dibandingkan FOS (prebiotik komersial). Bakteri *L. plantarum sa28k* tumbuh lebih baik dibandingkan *L. acidophilus* maupun *L. fermentum 2B4*, baik pada TPMo maupun FOS

**Kata Kunci:** Tepung pisang modifikasi, viabilitas, bakteri asam laktat, indeks prebiotik, nilai aktivitas prebiotik

#### Abstract

*This study aims to examine the prebiotic potential of modified banana flour using autoclave heating followed by the retrogradation process. Modified banana flour is made from a banana slice ( $\pm 6$  mm) that have been pressurized heating using an autoclave (0.15 MPa or 1.5 atm pressure) at 121 °C for 15 minutes, then cooled (retrogradated) at room temperature ( $\pm 30$  °C) for 24 hours. The modified banana flour (MBFo) was tested for its ability against the viability of lactic acid bacteria, probiotic candidates, (*Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum sa28k*, and *L. fermentum 2B4*), prebiotic effects, prebiotic index, and prebiotic activity values. Research shows that MBFo has the potential to become a prebiotic candidate, MBFo increases the viability of three probiotic candidates to reach 3.1-3.6 Log CFU/ml. The prebiotic effect of MBFo is high with a prebiotic index of 0.91-0.94. However, the selectivity of MBFo is still low against Enteropathogenic *Escherichia coli (EPEC)*. The negative value of MBFo prebiotic activity showed that the viability of probiotic candidates on glucose media was still higher than MBFo, but it was still higher than FOS (commercial prebiotics). *L. plantarum sa28k* bacteria grew better than *L. acidophilus* and *L. fermentum. 2B4*, both on MBFo and FOS.*

**Keywords:** *Modified banana flour, viability, lactic acid bacteria, prebiotic index, prebiotic activity values*

### Latar Belakang

Pisang termasuk kelompok komoditas pangan dengan kadar pati yang tinggi. Kadar pati pisang tua berada pada kisaran 70-80% (Zhang *et al.* 2005). Selain kadar pati yang tinggi, kadar amilosa buah pisang juga tinggi, yaitu 9.1-17.2%, sehingga buah pisang sangat berpotensi dikembangkan sebagai produk tepung dengan kadar pati resisten yang tinggi. Kadar amilosa alami yang tinggi pada suatu komoditas pangan menjadi salah satu pertimbangan utama dalam mengembangkan pati resisten komersial (Sajilata *et al.* 2006).

Pati resisten didefinisikan sebagai jenis pati yang tidak dapat atau lambat diserap dalam saluran pencernaan. Pati resisten dapat diklasifikasikan menjadi 4 tipe (Onyango *et al.* 2006; Okoniewska dan Witwer 2007). Pati resisten tipe I dan tipe II merupakan pati resisten yang terdapat secara alami dalam komoditas pangan, sedangkan pati resisten tipe III dan tipe IV merupakan pati resisten yang diperoleh akibat proses rekayasa pengolahan pangan. Menurut Eerlingan and Delcour (1995), pati resisten tipe III bersifat sangat stabil selama pemanasan, sifat ini menjadi kelebihan pati resisten tipe ini dibandingkan pati resisten tipe lainnya. Pati resisten tipe III sangat layak dikembangkan sebagai ingredien pangan karena sifat fungsionalnya tidak rusak selama pengolahan (Shamai *et al.* 2003; Shamai *et al.* 2004; Wang *et al.* 2007).

Kadar pati resisten pada tepung pisang tanduk, yaitu 6.39%. Namun, setelah irisan pisang (*chips*) dimodifikasi melalui perlakuan pemanasan autoklaf, pada suhu 121°C, selama 15 menit, lalu diretrogradasi (pada suhu ruang,  $\pm 30^\circ\text{C}$ , selama 24 jam), kadar pati resisten (tipe

III) tepung pisang meningkat menjadi 12.99%. Peningkatan kadar pati resisten tipe III ini berkorelasi dengan peningkatan kadar pati lambat cerna dan kadar serat pangan total, sehingga tepung pisang modifikasi ini memiliki nilai estimasi Indeks Glikemik, yaitu 65.06 (nilai IG moderat) dan dapat menjadi alternatif sebagai bahan baku produk rendah kalori (Jenie *et al.* 2012).

Pati resisten tipe III yang tinggi pada tepung pisang tanduk yang telah dimodifikasi menggunakan perlakuan pemanasan autoklaf dan retrogradasi diduga kuat sebagai salah satu kandidat sumber pangan fungsional, khususnya prebiotik. Istilah prebiotik ditujukan pada semua ingredien makanan (karbohidrat) yang tidak dapat diserap dalam saluran cerna, namun mampu menstimulasi secara selektif pertumbuhan dan aktivitas sejumlah bakteri yang menguntungkan dalam kolon, sehingga memperbaiki kesehatan inang (Wells *et al.* 2008).

Jenie *et al.* (2006) melaporkan pati resisten tipe III yang berasal dari umbi garut, singkong, dan kimpul dapat meningkatkan jumlah bakteri *Lactobacillus casei*, *L. plantarum*, dan *Bifidobacterium bifidum* sehingga berpotensi sebagai prebiotik. Pati resisten tipe III juga telah dilaporkan mampu meningkatkan *Lactobacillus* pada fekal dan sekum tikus (Bird *et al.* 2000) dan *Bifidobacteria* (bersifat bifidogenik) pada volunter (Bouhnik *et al.* 2004). Selain itu, pati resisten tipe III juga diketahui mampu menurunkan jumlah bakteri patogen *Escherichia coli* (Crittenden *et al.* 2005), total koliform dan *E. coli* mengalami penurunan pada kolon proksimal, yaitu penurunan jumlah dari 7-8 Log CFU/g menjadi 6 Log CFU/g (Topping *et al.* 2003).

Kajian referensi menunjukkan pati resisten tipe III sangat berpotensi sebagai kandidat prebiotik. Peningkatan kadar pati resisten tipe III tepung pisang tanduk setelah dimodifikasi menggunakan pemanasan autoklaf disertai retrogradasi juga menjadi dasar pertimbangan untuk mengembangkan tepung pisang tanduk modifikasi menjadi kandidat prebiotik. Oleh karena itu, kajian sifat prebiotik tepung pisang yang telah dimodifikasi sangat perlu dilakukan. Penelitian ini bertujuan mengkaji potensi prebiotik dari tepung pisang yang telah dimodifikasi menggunakan pemanasan autoklaf yang dilanjutkan dengan proses retrogradasi.

### Bahan dan Metode

#### Bahan dan Alat

Bahan utama dalam penelitian ini adalah pisang tanduk (*Musa paradisiaca*) yang diperoleh dari Lumajang, Jawa Timur. Media pertumbuhan bakteri yang digunakan adalah MRSA, MRSB, TSA, TSB, mMRSB terdiri dari (pepton, ekstrak daging, ekstrak khamir, ammonium sitrat, sodium asetat, MgSO<sub>4</sub>, MnSO<sub>4</sub>, dan dipotasium fosfat), dan mTSB terdiri dari (pepton, sodium klorida, dipotasium hidrogen fosfat), fruktooligosakarida (FOS), dan akuades. Bakteri yang digunakan terdiri dari *L. fermentum* 2B4, *L. plantarum* sa28k, *L. acidophilus* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Pangan, IPB (ditumbuhkan dalam media MRSB) dan Enteropatogenik *Escherichia coli* (EPEC) diperoleh dari Laboratorium FKH, IPB ditumbuhkan dalam media TSB. Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik, autoklaf model MC-40, *laminar flow*, *disk mill*, *freezer*, lemari pendingin, inkubator, mikropipet, dan alat-alat gelas.

### Pembuatan Tepung Pisang Modifikasi dengan Pemanasan Autoklaf Dilanjutkan Retrogradasi

Pisang tanduk yang digunakan adalah pisang tanduk tua dengan indeks warna pisang berwarna hijau, berat rata-rata 398.70 g, panjang bagian sisi luar pisang 37.48 cm, panjang bagian sisi dalam 29.21 cm, diameter bagian pangkal pisang 3.93 cm, diameter bagian tengah pisang 4.67 cm, dan diameter bagian ujung pisang 4.05 cm. Pisang diiris tipis dengan tebal  $\pm 6$  mm. Irisan pisang diberi perlakuan pemanasan bertekanan tinggi menggunakan autoklaf (tekanan 0.15 Mpa atau 1.5 atm) pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian didinginkan (retrogradasi) pada suhu ruang ( $\pm 30^\circ\text{C}$ ) selama 24 jam, dan selanjutnya irisan pisang dikeringkan menggunakan sinar matahari. Irisan pisang kering dihaluskan menggunakan *disk mill* dan diayak menggunakan saringan ukuran 80 mesh. Tepung pisang tanduk yang telah dimodifikasi (TPMo) diuji kemampuannya terhadap viabilitas bakteri asam laktat (BAL) kandidat probiotik, efek prebiotik, indeks prebiotik, dan nilai aktivitas prebiotiknya.

### Pengujian Sifat Prebiotik Tepung Pisang Modifikasi (TPMo)

Tepung pisang modifikasi (TPMo) terlebih dahulu dicuci dengan etanol 85%, perbandingan TPMo : etanol 85% adalah 1 : 2. Selanjutnya, sampel disaring menggunakan kertas saring dan dikeringkan dengan sinar matahari. Tujuan dari pencucian ini adalah untuk menghilangkan gula-gula sederhana (gula-gula reduksi) yang tersedia dalam TPMo. Dengan demikian, pertumbuhan bakteri uji pada media yang mengandung TPMo diasumsikan hanya menggunakan sumber karbon dari pati termasuk pati resisten bukan dari gula-gula sederhana.

**Uji Viabilitas Bakteri Asam Laktat (BAL) Kandidat Probiotik pada Media TPMo (Jenie *et al.* 2006)**

Media pertumbuhan TPMo disiapkan. Sebanyak 50 ml mMRSB + 2.5% TPMo dan 50 ml akuades + 2.5% TPMo disterilkan. Kultur BAL kandidat probiotik (*L. acidophilus*, *L. plantarum sa28k*, dan *L. fermentum 2B4*) berumur 24 jam, sebanyak 2.5 ml, yang berisi 10<sup>5</sup> CFU/ml dipipet dan dimasukkan ke dalam media pertumbuhan yang berisi TPMo. Selanjutnya, seluruh bakteri uji diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

Setelah inkubasi 24 jam, larutan sebanyak 1 ml dipipet dan dimasukkan ke dalam larutan pengencer NaCl 0.85% 9 ml dan divorteks untuk pengenceran 10<sup>-1</sup>. Pengenceran dilakukan sampai 10<sup>-8</sup> dengan cara yang sama. Pemupukan dilakukan secara duplo pada pengenceran 10<sup>-6</sup>-10<sup>-8</sup> menggunakan MRSA dalam cawan petri. Cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C dalam posisi terbalik. Perhitungan koloni dilakukan setelah 48 jam berdasarkan metode ISO dalam satuan CFU/ml. Prosedur yang sama dilakukan menggunakan prebiotik komersial fruktooligosakarida (FOS) sebagai kontrol.

**Efek Prebiotik dari TPMo (Roberfroid, 2007)**

Efek prebiotik adalah peningkatan populasi *Lactobacillus*, tetapi peningkatan ini tidak dihubungkan dengan konsentrasi prebiotik. Analisis efek prebiotik dilakukan dengan melihat perubahan jumlah BAL kandidat probiotik pada media mMRSB yang mengandung 2.5% TPMo. Setelah waktu inkubasi 24 jam, sampel dienumerasi dalam media MRSA. Prosedur yang sama dilakukan menggunakan prebiotik komersial fruktooligosakarida (FOS) sebagai kontrol.

$$\text{Efek Prebiotik} = \text{Log} \left( \frac{(\text{CFU}/\text{ml})_{T_2}}{(\text{CFU}/\text{ml})_{T_1}} \right)$$

Keterangan :

T<sub>1</sub> = media mMRSB

T<sub>2</sub> = media mMRSB yang mengandung 2.5% TPMo

**Indeks Prebiotik TPMo (Palframan *et al.* 2003)**

Indeks prebiotik adalah rasio pertumbuhan bakteri probiotik dalam prebiotik dengan pertumbuhan bakteri probiotik dalam karbohidrat. Indeks prebiotik di atas nilai 1 menunjukkan bahwa karbohidrat memiliki pengaruh yang positif terhadap pertumbuhan probiotik, sedangkan jika indeks prebiotik mendekati 1, menunjukkan efektivitas yang rendah dari karbohidrat yang diuji. Karbohidrat kontrol yang digunakan pada analisis ini adalah glukosa.

$$\text{Indeks Prebiotik} = \frac{\sum \text{probiotik dalam prebiotik}}{\sum \text{probiotik dalam karbohidrat}}$$

**Nilai Aktivitas Prebiotik TPMo Terhadap Bakteri Penyebab Diare (Huebner *et al.* 2007)**

Aktivitas prebiotik adalah kemampuan prebiotik untuk membantu pertumbuhan organisme yang dihubungkan dengan organisme lain dan dibandingkan dengan glukosa. Oleh karena itu, karbohidrat memiliki aktivitas prebiotik positif jika dimetabolisme oleh *Lactobacillus* dan secara selektif dimetabolisme oleh probiotik tetapi tidak oleh bakteri yang lain.

Pengujian dilakukan dengan menambahkan 5% (v/v) kultur BAL kandidat probiotik (*L. acidophilus*, *L. plantarum sa28k*, dan *L. fermentum 2B4*) dalam tabung berbeda yang mengandung

media mMRSB dengan 2.5% (w/v) glukosa atau 2.5% (w/v) TPMo. Waktu 0 jam (kontrol) dan setelah 24 jam inkubasi, sampel dienumerasi dalam media MRSA.

Pengujian juga dilakukan pada kultur bakteri enterik penyebab diare. Kultur yang digunakan adalah Enteropatogenik *E. coli* (*EPEC*) (5% (v/v)). Kultur kemudian ditambahkan dalam tabung yang berbeda, yaitu media mTSB dengan 2.5% (w/v) glukosa atau 2.5% (w/v) TPMo. Kultur diinkubasi pada suhu 37°C, dan dienumerasi dalam media TSA pada 0 jam dan setelah 24 jam inkubasi.

$$\text{Nilai Aktivitas prebiotik} = \frac{\left\{ \frac{(N \text{ Log CFU/ml TPM } t_1 - N \text{ Log CFU/ml TPM } t_0)}{(N \text{ Log CFU/ml Glukosa } t_1 - N \text{ Log CFU/ml Glukosa } t_0)} \right\} - \left\{ \frac{(E \text{ Log CFU/ml TPM } t_1 - E \text{ Log CFU/ml TPM } t_0)}{(E \text{ Log CFU/ml Glukosa } t_1 - E \text{ Log CFU/ml Glukosa } t_0)} \right\}}$$

Keterangan :

N = Jumlah BAL kandidat probiotik

E = Jumlah bakteri enterik (*EPEC*)

t<sub>0</sub> = Waktu inkubasi awal

t<sub>1</sub> = Waktu inkubasi akhir

### Pengolahan Data

Data dianalisis menggunakan analisis deskriptif. Analisis didasarkan pada karakteristik data yang diperoleh disertai pemaparan atau penggambaran yang jelas serta terperinci.

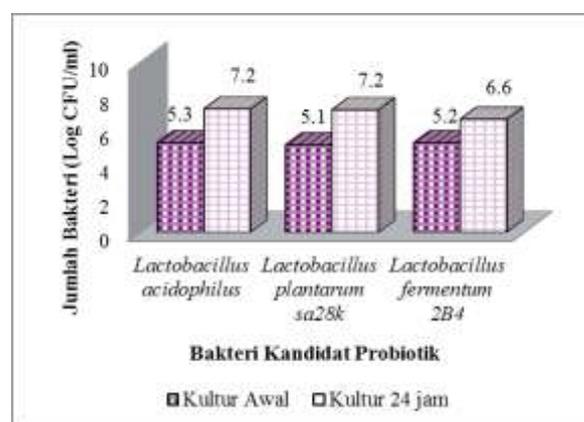
### Hasil dan Pembahasan

Tepung pisang tanduk yang telah dimodifikasi menggunakan pemanasan autoklaf dilanjutkan retrogradasi (TPMo) dianalisis potensi prebiotiknya. Analisis potensi prebiotik meliputi viabilitas BAL kandidat probiotik, efek, serta indeks prebiotik TPMo. Selain itu, nilai aktivitas prebiotik juga diuji, analisis ini tidak hanya melibatkan BAL kandidat probiotik, tetapi juga melibatkan bakteri enterik

*EPEC*, yaitu bakteri penyebab gangguan pencernaan pada manusia (diare).

### Viabilitas BAL Kandidat Probiotik

Kultur awal BAL kandidat probiotik yang digunakan adalah *L. acidophilus* (5.3 Log CFU/ml), *L. plantarum* sa28k (5.1 Log CFU/ml), dan *L. fermentum* 2B4 (5.2 Log CFU/ml). Hasil uji viabilitas BAL kandidat probiotik pada media TPMo dapat dilihat pada Gambar 1.



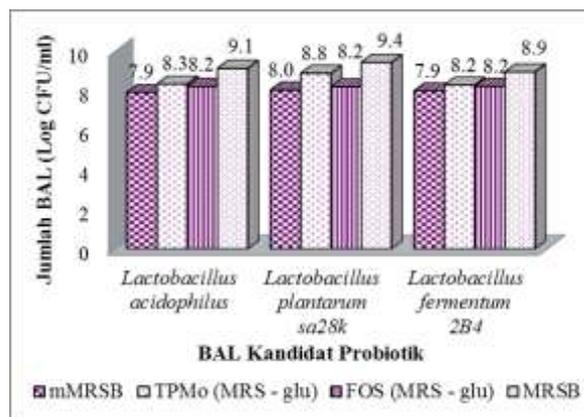
Gambar 1 Viabilitas BAL kandidat probiotik pada media akuades yang mengandung 2.5% TPMo

Ketiga BAL uji (kandidat probiotik) mengalami peningkatan setelah diinkubasi selama 24 jam. Pola pertumbuhan ketiga BAL kandidat probiotik serupa, masing-masing kultur BAL meningkat pada media akuades yang hanya mengandung 2.5% TPMo. Peningkatan pertumbuhan tertinggi dihasilkan oleh *L. plantarum* sa28k, yaitu 2.1 Log CFU/ml. Bakteri *L. acidophilus* dan *L. fermentum* 2B4 juga meningkat, namun peningkatan pertumbuhan bakteri *L. fermentum* 2B4 terendah jika dibandingkan kedua jenis bakteri lainnya, peningkatannya hanya berkisar 1.4 Log CFU/ml. Peningkatan seluruh jenis BAL kandidat probiotik pada pengujian viabilitas menunjukkan bahwa karbohidrat pada TPMo dapat dimanfaatkan oleh ketiga jenis BAL uji. Dengan kata lain,

TPMo dapat dijadikan sebagai salah satu kandidat dalam mengembangkan produk pangan fungsional, khususnya prebiotik.

Sumber karbon utama dari TPMo yang dimanfaatkan oleh ketiga BAL kandidat probiotik pada fase pertumbuhan adaptasi diduga adalah pati resisten tipe III. Telah dilaporkan dalam penelitian sebelumnya, TPMo mengandung pati resisten tipe III, pati lambat cerna, pati cepat cerna, serta komponen polisakarida non pati lainnya, yang tergolong serat pangan larut dan serat pangan tidak larut (Putra, 2010). TPMo yang digunakan pada analisis viabilitas BAL kandidat probiotik bersifat bebas gula, karena sebelum digunakan sebagai media pertumbuhan, TPMo terlebih dahulu dicuci menggunakan alkohol 85%, proses ini menyebabkan ketersediaan gula sederhana menjadi sangat rendah atau bahkan tidak tersedia. Umumnya, pada fase pertumbuhan adaptasi, bakteri cenderung memanfaatkan sumber karbon yang lebih sederhana. Dalam hal ini, ketiga jenis BAL kandidat probiotik akan lebih mudah menggunakan karbohidrat yang tersedia dalam bentuk oligosakarida (pati resisten tipe III) dibandingkan polisakarida (pati dan serat) sebagai sumber karbon utama pada awal pertumbuhan.

Pati resisten tipe III yang terkandung pada TPMo memiliki derajat polimerisasi (DP) yang lebih rendah dibandingkan sifat kompleks dari pati (amilosa dan amilopektin) dan serat pangan. Lehman *et al.* (2002) telah melaporkan derajat polimerisasi pati resisten tipe III pati pisang berada pada kisaran 12 sampai 25 unit sakarida. Kisaran derajat polimerisasi pati resisten tipe III dari pati pisang masih memenuhi persyaratan sebagai pengembangan produk prebiotik. Manning *et al.* (2004) menyatakan prebiotik adalah oligosakarida yang terdiri dari 2 sampai 20 unit sakarida dengan berat molekul rendah.



Gambar 2 Viabilitas BAL kandidat probiotik pada media mMRSB dengan sumber karbohidrat berbeda

Viabilitas BAL kandidat probiotik pada media mMRSB disajikan pada Gambar 2. Media mMRSB adalah media basal yang menyerupai komposisi media selektif pertumbuhan BAL, namun tanpa glukosa. Jumlah kultur BAL kandidat probiotik yang digunakan pada pengujian ini adalah 5.2 Log CFU/ml untuk *L. acidophilus* dan *L. plantarum sa28K*, sedangkan kultur awal *L. fermentum B24*, yaitu 5.1 Log CFU/ml. Pada media mMRSB, dalam waktu 24 jam, ketiga BAL kandidat probiotik dapat tumbuh dengan baik, peningkatan pertumbuhan ketiga BAL berada pada kisaran 2.7-2.8 Log CFU/ml. Walaupun media mMRSB tidak mengandung glukosa, media ini mengandung sumber karbon, nitrogen, dan mineral yang dibutuhkan untuk pertumbuhan ketiga BAL kandidat probiotik. Sehingga, viabilitas BAL pada media mMRSB lebih tinggi jika dibandingkan dengan viabilitas BAL pada media akuades yang mengandung 2.5% TPMo. Media mMRSB tersusun dari senyawa nutrisi yang lebih kompleks untuk pertumbuhan BAL, yaitu ekstrak khamir, pepton sebagai sumber nitrogen, dan mineral (manganese sulfat dan magnesium sulfat), sedangkan media akuades yang mengandung 2.5% TPMo

hanya menyediakan sumber karbon, namun sumber nitrogen dan mineralnya rendah.

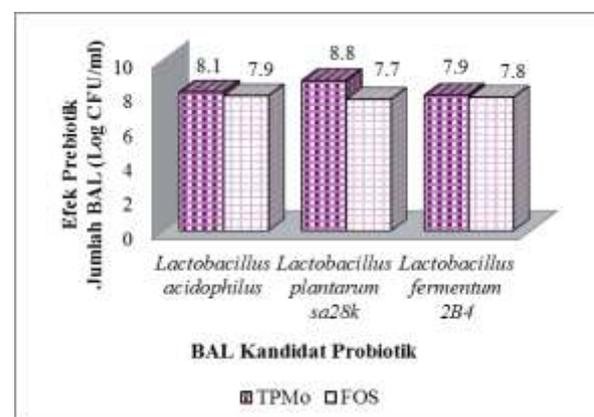
Pertumbuhan ketiga BAL kandidat probiotik mengalami peningkatan yang sangat baik pada media mMRSB yang ditambahkan 2.5% TPMo, pertumbuhannya meningkat hingga mencapai 3 log CFU/ml, yaitu pada kisaran 3.1-3.6 Log CFU/ml. Pertumbuhan tertinggi ditunjukkan oleh bakteri *L. plantarum* sa28k. Pola pertumbuhan ketiga jenis BAL kandidat probiotik pada media mMRSB yang mengandung 2.5% TPMo menyerupai pertumbuhan BAL pada media mMRSB yang mengandung prebiotik komersial, yaitu 2.5% FOS, dengan tingkat pertumbuhan mencapai kisaran 3.0-3.1 Log CFU/ml. Namun, viabilitas ketiga BAL kandidat probiotik pada media mMRSB yang mengandung 2.5% TPMo masih lebih rendah, jika dibandingkan dengan viabilitas BAL pada media yang mengandung glukosa (MRSB), dimana tingkat pertumbuhan BAL pada media ini mencapai kisaran 3.8-4.2 Log CFU/ml. Perbedaan jumlah BAL pada media yang mengandung TPMo maupun FOS dengan glukosa disebabkan glukosa merupakan bentuk karbohidrat yang paling sederhana (monosakarida), sehingga sangat memudahkan bagi BAL untuk memanfaatkannya sebagai sumber karbon utama pada awal pertumbuhan, jika dibandingkan dengan pati resisten tipe III dari TPMo serta FOS yang merupakan oligosakarida.

Viabilitas pertumbuhan yang ditunjukkan oleh ketiga jenis BAL kandidat probiotik, baik pada media akuades yang mengandung 2.5% TPMo maupun media mMRSB dengan 2.5% TPMo, menunjukkan bahwa TPMo mampu bertindak sebagai penyedia sumber karbon bagi pertumbuhan ketiga BAL kandidat probiotik, yaitu

*L. acidophilus*, *L. plantarum* sa28k, dan *L. fermentum* 2B4. Menurut Wells *et al.* (2008) kandidat prebiotik tidak dihidrolisis atau diserap pada bagian atas saluran gastrointestinal dan secara selektif difermentasi oleh satu atau sejumlah bakteri komensal yang menguntungkan pada kolon seperti *Bifidobacteria* dan *Lactobacilli*.

### Efek dan Indeks Prebiotik TPMo

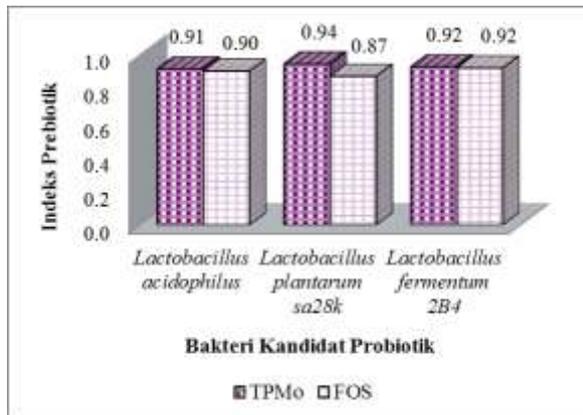
Efek prebiotik adalah peningkatan populasi *Bifidobacteria* atau *Lactobacillus* absolut tanpa mempertimbangkan konsentrasi prebiotik (Roberfroid 2007), sedangkan Indeks prebiotik adalah rasio pertumbuhan bakteri probiotik dalam prebiotik dengan pertumbuhan bakteri probiotik dalam karbohidrat (Palframan *et al.* 2003). Efek prebiotik TPMo disajikan pada Gambar 3, sedangkan indeks prebiotik TPMo dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 3 Efek prebiotik TPMo dan FOS terhadap BAL kandidat probiotik

Media TPMo menunjukkan efek prebiotik yang baik, ketiga BAL kandidat probiotik dapat tumbuh dengan baik pada media yang mengandung TPMo dan FOS (prebiotik komersial). Efek prebiotik TPMo dan FOS berbeda-beda karena dipengaruhi juga oleh ketiga jenis BAL kandidat probiotik. Secara keseluruhan,

terjadi peningkatan pertumbuhan BAL kandidat probiotik, baik pada media yang mengandung TPMo dan FOS, tetapi pertumbuhan BAL kandidat probiotik pada media TPMo lebih tinggi dibandingkan FOS.



Gambar 4 Indeks prebiotik TPMo dan FOS terhadap BAL kandidat probiotik

Perbedaan pertumbuhan *L. acidophilus* dan *L. fermentum* 2B4 pada media TPMo dan FOS hanya berkisar 0.1-0.2 Log CFU/ml, sehingga dapat dikatakan perbedaannya tidak signifikan. Perbedaan signifikan terlihat pada jumlah *L. plantarum* sa28k. Pada media TPMo, tingkat pertumbuhan bakteri *L. plantarum* sa28k tertinggi, yaitu 8.8 Log CFU/ml, sedangkan tingkat pertumbuhan terendah dihasilkan oleh *L. plantarum* sa28k pada media FOS, yaitu 7.7 Log CFU/ml. Perbedaan jumlah pertumbuhan *L. plantarum* sa28k pada kedua media ini mencapai 1.1 Log CFU/ml, perbedaan 1 Log CFU/ml dalam jumlah mikroba bersifat signifikan. Hasil ini mengindikasikan bahwa *L. plantarum* sa28k lebih optimal pertumbuhannya pada media yang mengandung TPMo dibandingkan media yang mengandung FOS.

Nilai indeks prebiotik kedua media, TPMo dan FOS, berkisar antara 0.87-0.94.

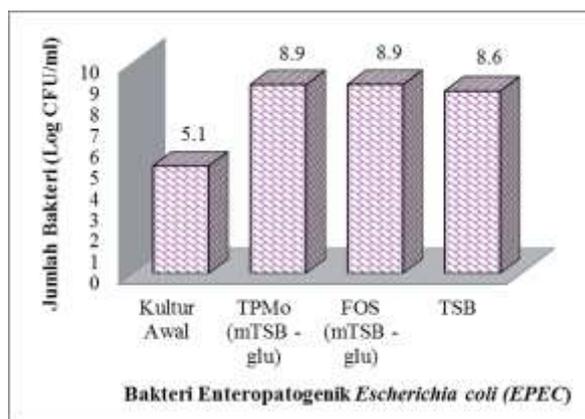
Nilai indeks prebiotik yang diperoleh tidak mencapai angka 1, nilai ini menunjukkan kedua jenis media ini memiliki efektivitas yang lebih rendah jika dibandingkan dengan glukosa dalam menumbuhkan ketiga BAL kandidat probiotik yang digunakan. Namun, hasil ini menunjukkan bahwa TPMo mampu menstimulasi pertumbuhan ketiga BAL, sehingga masih efektif untuk dikembangkan sebagai kandidat prebiotik.

Indeks prebiotik TPMo terhadap ketiga BAL kandidat probiotik, yaitu berada pada kisaran 0.91-0.94, dengan indeks prebiotik tertinggi dihasilkan dari *L. plantarum* sa28k, yaitu 0.94. Nilai efek prebiotik dan indeks prebiotik menunjukkan TPMo dapat dikembangkan menjadi produk sinbiotik dengan memanfaatkan *L. plantarum* sebagai probiotik.

### Aktivitas Prebiotik Terhadap Bakteri Penyebab Diare

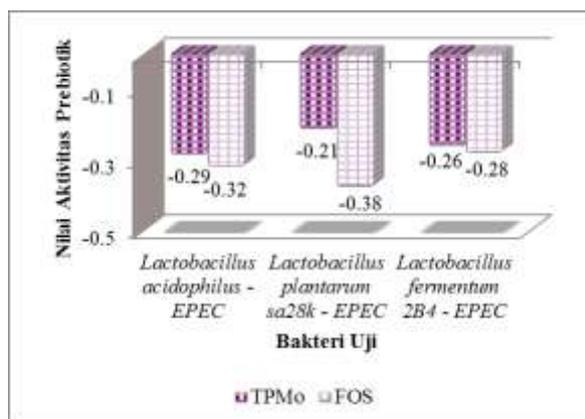
Bakteri enterik yang digunakan pada pengujian ini adalah bakteri Enteropatogenik *E. coli* (*EPEC*), bakteri ini merupakan bakteri yang dapat menyebabkan diare pada manusia. Kultur awal *EPEC* yang digunakan adalah 5.1 Log CFU/ml. Pertumbuhan *EPEC* setelah ditumbuhkan pada media mTSB ditambah 2.5% TPMo, mTSB ditambah 2.5% FOS, dan TSB dapat dilihat pada Gambar 5.

Hasil pengujian menunjukkan bakteri *EPEC* mampu menggunakan sumber karbon dari TPMo dan FOS selama pertumbuhan. Pertumbuhan *EPEC* pada media TPMo dan FOS mencapai 3.8 Log CFU/ml. Nilai ini lebih tinggi dibandingkan nilai pertumbuhan *EPEC* pada media TSB yang hanya mencapai 3.5 Log CFU/ml.



Gambar 5 Pertumbuhan *EPEC* pada media mTSB dengan sumber karbohidrat berbeda

Media TPMo, selain pati resisten tipe III, juga masih mengandung karbohidrat lain seperti pati dan serat pangan, karena pada dasarnya TPMo adalah produk tepung. Bakteri *EPEC* diduga mampu memanfaatkan seluruh komponen karbohidrat yang terkandung pada TPMo sebagai sumber karbon selama pertumbuhan. Oleh karena itu, konfirmasi dan kajian sifat prebiotik pati resisten tipe III dari pati TPMo sangat perlu dilakukan. Konfirmasi dapat dilakukan melalui uji viabilitas BAL kandidat probiotik menggunakan pati resisten tipe III yang telah diisolasi dari pati TPMo.



Gambar 6 Nilai aktivitas prebiotik TPMo dan FOS.

Nilai aktivitas prebiotik TPMo dan FOS dapat dilihat pada Gambar 6. Hasil menunjukkan kedua media memiliki nilai

aktivitas prebiotik yang bernilai negatif untuk ketiga jenis BAL kandidat probiotik. Nilai negatif pada pengujian ini tidak menunjukkan bahwa media tidak efektif sebagai prebiotik, namun menerangkan bahwa BAL kandidat probiotik memiliki pertumbuhan yang lebih baik pada media yang mengandung glukosa dibandingkan media prebiotik (TPMo dan FOS).

Nilai aktivitas prebiotik tertinggi ditunjukkan oleh *L. plantarum* sa28k pada media TPMo dengan nilai, yaitu -0.12, sedangkan nilai aktivitas *L. plantarum* sa28k dan *L. acidophilus* pada media FOS (prebiotik komersial) lebih rendah, yaitu hanya mencapai -0.38 hingga -0.32. Hasil serupa telah dilaporkan oleh Huebner *et al.* (2007) nilai aktivitas beberapa prebiotik komersial seperti nutraflora P-95, raftilose P95, inulin-S, raftilinie HP bernilai negatif terhadap bakteri *L. plantarum* 12006 dan *L. acidophilus* 33200.

Hasil dari analisis nilai aktivitas prebiotik menunjukkan bahwa untuk mengembangkan produk prebiotik atau sinbiotik, selain pertimbangan sifat oligosakarida dari karbohidrat sebagai kandidat prebiotik, sangat perlu juga memperhatikan kesesuaian antara prebiotik dengan probiotik yang diaplikasikan.

Hasil pengujian potensi prebiotik menunjukkan TPMo dapat direkomendasikan untuk dikembangkan menjadi produk fungsional dengan sifat prebiotik ataupun sinbiotik yang memanfaatkan *L. plantarum* sebagai bakteri probiotik, karena dari hasil efek dan indeks prebiotik, serta nilai aktivitas prebiotik, *L. plantarum* sa28k selalu menghasilkan nilai tertinggi dibandingkan *L. acidophilus* dan *L. fermentum* 2B4, baik pada media TPMo maupun FOS. Hasil ini juga mengindikasikan bahwa *L. plantarum* sa28k dapat tumbuh lebih baik pada media

yang mengandung TPMo dibandingkan FOS (prebiotik komersial). Namun, TPMo masih kurang bersifat selektif, karena bakteri *EPEC* masih mampu menggunakan sumber karbon yang terkandung dalam tepung ini, sehingga pengujian lebih lanjut mengenai keefektifan pati resisten tipe III yang diisolasi dari pati TPMo diperlukan.

Kajian nilai aktivitas prebiotik yang melibatkan bakteri enterik (*EPEC*) dalam analisis, sebaiknya tidak hanya dilakukan dengan menumbuhkan bakteri *EPEC* dan BAL kandidat probiotik pada media yang berbeda. Akan tetapi, kajian juga perlu dilakukan terhadap pertumbuhan bakteri *EPEC* dan BAL kandidat probiotik pada media TPMo yang sama dengan menggunakan media pati resisten tipe III yang telah diisolasi dari pati TPMo. Hal ini bertujuan untuk mengetahui keefektifan kompetisi antara BAL kandidat probiotik dan *EPEC* dalam memanfaatkan pati resisten tipe III yang telah diisolasi dari TPMo, serta menginformasikan peranan BAL kandidat probiotik dalam menghambat pertumbuhan bakteri enterik setelah memanfaatkan prebiotik, pati resisten tipe III TPMo, sebagai sumber karbon.

### Kesimpulan

Tepung pisang yang telah dimodifikasi menggunakan pemanasan autoklaf disertai retrogradasi (TPMo) mampu meningkatkan viabilitas ketiga BAL kandidat probiotik, yaitu *L. acidophilus*, *L. plantarum* sa28k, dan *L. fermentum* 2B4. TPMo memiliki efek prebiotik yang tinggi, yaitu meningkatkan pertumbuhan BAL kandidat probiotik hingga mencapai 7.9-8.8 Log CFU/ml dengan indeks prebiotik berada pada kisaran 0.91-0.94.

Nilai aktivitas prebiotik menunjukkan viabilitas BAL kandidat

probiotik uji masih lebih rendah jika dibandingkan dengan glukosa, sifat selektivitasnya juga masih rendah karena masih dapat dimanfaatkan oleh bakteri *EPEC*. Namun, TPMo memiliki nilai aktivitas prebiotik yang lebih unggul dibandingkan FOS (prebiotik komersial), khususnya terhadap ketiga BAL kandidat probiotik yang digunakan, yaitu *L. acidophilus*, *L. plantarum* sa28k, dan *L. fermentum* 2B4. Bakteri *L. plantarum* sa28k memiliki pertumbuhan yang lebih baik dibandingkan *L. acidophilus* maupun *L. fermentum* 2B4 pada media TPMo dan FOS.

### Daftar Pustaka

- Bird AR, Brown IL, Topping DL. 2000. Starches, resistant starches, the gut microflora and human health. *Curr. Issues Intest. Microbiol* 1 : 25-37.
- Bouhnik Y *et al.* 2004. The capacity of nondigestible carbohydrates to stimulate fecal *Bifidobacteria* in healthy humans : a double-blind, randomized, placebo-controlled, parallel group, dose-response relation study. *The American Journal of Clinical Nutrition* 80 : 1658-1664.
- Crittenden R *et al.* 2005. Probiotic research in Australia, New Zealand and the Asia-Pacific region. *Current Pharmaceutical Design* 11 : 37-53.
- Eerlingan RC, Delcour JA. 1995. Formation, analysis, structure and properties of type III enzyme resistant starch. *Journal of Cereal Science* 22 : 129-138.
- Huebner J, Wehling RL, Hutkins RW. 2007. Functional activity of commercial prebiotics. *International Dairy Journal* 17 : 770-775.
- Jenie BSL, Nurwitri CC, Nurjanah S, Firlieyanti AS. 2006. Pengembangan

- produk pangan tinggi serat dan sumber prebiotik dari resistant starch umbi-umbian (laporan *research grant* program hibah kompetisi B). Bogor : Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Jenie BSL, Putra RP, Kusnandar F. 2012. Fermentasi kultur campuran bakteri asam laktat dan pemanasan otoklaf dalam meningkatkan kadar pati resisten dan sifat fungsional tepung pisang tanduk (*Musa paradisiaca formatypica*). *J.Pascapanen* 9 (1) : 18-26
- Lehmann U, Jacobasch G, Schmiedl D. 2002. Characterization of resistant starch type III from banana (*Musa acuminata*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
- Manning TS, Rastall R, Gibson G. 2004. Prebiotics and lactic acid bacteria. Di dalam : Salminen S, Wright AV, Ouwehand A, editor. *Lactic Acid Bacteria Microbiological and Functional Aspects*. New York. Marcel Dekker, INC. hlm 407-418.
- Okoniewska M, Witwer RS. 2007. Natural resistant starch : an overview of health properties a useful replacement for flour, resistant starch may also boost insulin sensitivity and satiety. *Nutritional Outlook*.
- Onyango C, Thomas B, Annette J, Thomas H, Harald R. 2006. Influence of incubation temperature and time on resistant starch type III formation from autoclaved and acid-hydrolysed cassava starch. *Carbohydrate Polymers* 66 : 494-499.
- Palframan R, Gibson GR, Rastall RA. 2003. Development of aquantitative tool for the comparison of the prebiotic effect of dietary oligosaccharides. *Letters in Applied Microbiology* 37 : 281-284
- Putra RP. 2010. Pati resisten dan sifat fungsional tepung pisang tanduk (*Musa paradisiaca Formatypica*) yang dimodifikasi melalui fermentasi bakteri asam laktat dan pemanasan otoklaf. Tesis : Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor
- Roberfroid M. 2007. Prebiotics : The concept revisited. *The Journal of Nutrition* 137 : 830S-837S.
- Sajilata MG, Singhal RS, Kulkarni PR. 2006. Resistant starch-a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, Institute of Food Technologists.
- Shamai K, Peled HV, Shimoni E. 2003. Polymorphism of resistant starch type III. *Carbohydrate Polymers* 54 : 363-369.
- Shamai K, Shimoni E, Peled HV. 2004. Small angle X-ray scattering of resistant starch type III. *Biomacromolecules* 5 : 219-223.
- Topping DL, Fukushima M, Bird AR. 2003. Resistant starch as a prebiotic and synbiotic : state of the art. *Proceedings of the Nutrition Society* 62 : 171-176.
- Wang J, Jin Z, Yuan X. 2007. Preparation of resistant starch from starch-guar gum extrudates and their properties. *Food Chemistry* 101 : 20-25.
- Wells AL, Saulnier DMA, Gibson GR. 2008. Gastrointestinal microflora and interactions with gut mucosa. Di dalam : Gibson GR, Roberfroid MB, editor. *Handbook of Prebiotics*. New York : CRC Press. hlm 13-38.

Zhang P, Whistler RL, BeMiller JN, Hamaker BR. 2005. Banana starch: production, physicochemical properties, and digestibility—a review. *Carbohydrate Polymers* 59 : 443–458.