

**LAPORAN PENELITIAN
TERAPAN UNGGULAN PERGURUAN TINGGI**



**POTENSI EKTRAK PATI PISANG KEPOK TERHADAP
PERTUMBUHAN BAKTERI LACTOBACILLUS SECARA INVITRO**

Peneliti :

Dra.Sulistiastutik., M.Kes
I.Komang Suwita.,SST.,M.Kes
Retno Ikayanti.,S.Farm. Apt., M.Farm

**KEMENTERIAN KESEHATAN R.I.
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES MALANG
2020**

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	ii
DAFTAR LAMPIRAN	iii
BAB I PENDAHULUAN	4
A. Latar Belakang Masalah	4
B. Rumusan Masalah	5
C. Tujuan Penelitian	5
D. Manfaat Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
A. Pisang	7
1. Tanaman Pisang	7
2. Klasifikasi Pisang	7
3. Buah Pisang	7
4. Pati	8
5. Pati resisten	14
6. Metode Analisis Pati	
B. Bakteri Probiotik	16
1. Jenis Bakteri Probiotik	17
2. Prebiotik sebagai Pangan Fungsional	18
3. Mikrobiota Usus	20
4. Media Pertumbuhan bakteri	20
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	21
A. Desain dan Metode Penelitian	21
B. Alat dan Bahan	22
C. Variabel Penelitian	22
D. Definisi Operasional Variabel	22
E. Prosedur Penelitian	22
F. Pengolahan dan Analisis Data	23
G. Metode Penyajian Data	
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	27
A. Pembuatan Ekstrak Pisang	27
B. Penentuan Kadar Pati Resisten	27

C. Uji Kuantitatif Lactobacillus Dengan Metode Total Plate Count	29
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	31

BAB I

PENDAHULUAN

1. Latar Belakang Masalah

Kesehatan adalah aset terbesar dan paling berharga bagi manusia, karena dengan kesehatan kita dapat menikmati hidup lebih lama. Menurut teori Blum faktor yang mempengaruhi kesehatan adalah lingkungan, genetik, pelayanan kesehatan dan perilaku (gaya hidup). Gaya hidup sangat berhubungan dengan kebiasaan individu seperti konsumsi makan, aktifitas fisik kebiasaan merokok, minum-minuman beralkohol, dan (Noorkasiani, 2009). Untuk menjaga agar tubuh tetap sehat, diperlukan makan makanan yang sehat, syarat makanan yang sehat selain makanan itu bergizi, makanan harus aman dan makanan harus bisa menguatkan daya tahan tubuh kita. Salah satu makanan yang dapat meningkatkan daya tahan tubuh adalah makanan yang mempunyai potensi sebagai prebiotik. Prebiotik merupakan jenis makanan yang dapat dimanfaatkan oleh bakteri probiotik yang ada didalam usus diantaranya adalah bakteri lactobacillus dan Bifidium.

Tanaman pisang banyak terdapat dan tumbuh di daerah tropis. Hampir seluruh wilayah Indonesia merupakan daerah penghasil pisang, karena Indonesia beriklim tropis yang cocok untuk pertumbuhan tanaman pisang. Pisang dapat digolongkan menjadi dua, yaitu pisang yang dapat dikonsumsi secara langsung, misalnya pisang kepok, pisang susu, pisang hijau, pisang mas, pisang raja, dan pisang ambon dan ada pula buah pisang yang harus diolah terlebih dahulu sebelum dikonsumsi, misalnya pisang tanduk, pisang oli, pisang kapas, dan pisang bangkahulu. Pisang kepok merupakan salah satu jenis pisang yang buahnya memiliki kandungan padatan cukup tinggi, mempunyai kandungan karbohidrat 20.53% (wibowo dkk,2008) Buah pisang dapat pula dimanfaatkan dengan melalui proses lebih lanjut untuk diambil kandungan patinya.

Pati adalah karbohidrat kompleks utama yang tidak larut dalam air, berasal dari tanaman atau buah-buahan, bersifat tawar dan tidak berbau. Pati merupakan bahan utama yang dihasilkan oleh tumbuhan untuk menyimpan kelebihan glukosa (sebagai produk fotosintesis) dalam jangka panjang. Hewan dan manusia juga menjadikan pati sebagai sumber energi yang sangat penting dalam melakukan aktifitas. Dahulu diyakini bahwa pati yang kita konsumsi dapat tercerna secara sempurna di dalam usus halus. Pemahaman tersebut berubah setelah ditemukan bahwa adanya pati dalam usus besar. Fraksi pati yang sampai di usus besar dikenal sebagai pati resisten (*resistant starch*). Pati resisten (*resistant starch*) didefinisikan sebagai sejumlah pati dari hasil degradasi pati yang tidak dapat diserap oleh

usus halus manusia atau lolos dari proses pencernaan di usus halus dan masuk kolon (Sajilata *et.al.*, 2006) dan dikelompokkan ke dalam serat pangan (*dietary fiber*) (AACC, 2001).

Keberadaan pati resisten dalam bahan makanan dapat meningkatkan efek fisiologis dari makanan tersebut. Salah satu sifat fisiologis dari pati resisten adalah kemampuannya untuk dapat difermentasi oleh bakteri-bakteri usus yang menguntungkan. Di dalam usus kecil pati resisten tidak diserap sehingga tetap utuh sampai di dalam usus dan akan difermentasi oleh bakteri-bakteri menguntungkan seperti *Bifidobacteria* dan *Lactobacilli*, sehingga pati resisten juga berpotensi sebagai prebiotik (Haralampu, 2000). Menurut Gibson and Roberfroid (1995), prebiotik didefinisikan sebagai bahan makanan yang tidak dapat dicerna yang mampu berfungsi sebagai substrat bagi pertumbuhan atau penyeleksian sejumlah bakteri yang menguntungkan yang tumbuh dalam usus manusia sehingga sangat menguntungkan bagi kesehatan manusia. Untuk mendapatkan pati dalam makanan dapat dilakukan dengan isolasi pati dengan menggunakan metode ekstraksi dengan bahan alkalin dan aquadest.

Probiotik merupakan organisme hidup yang mampu memberikan efek yang menguntungkan terhadap kesehatan hostnya. dengan memperbaiki keseimbangan mikroflora intestinal pada saat masuk dalam saluran pencernaan. Keseimbangan mikroflora tersebut dapat dilakukan dengan memberikan makanan yang dibutuhkan oleh bakteri probiotik. Bakteri probiotik meliputi berbagai spesies dari genera *Bifidobacterium* dan *Lactobacillus* seperti: *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus GGLactobacillus* adalah genus bakteri gram-positif, dapat ditemukan di dalam vagina dan sistem pencernaan, di mana mereka bersimbiosis dan merupakan sebagian kecil dari flora usus. *Lactobacillus* tergolong bakteri.

Berdasarkan uraian tersebut diatas, peneliti ingin mempelajari apakah pati yang diekstrac dari buah pisang kepok dapat dimanfaatkan bakteri *lactobacillus* secara invitro.

2. Rumusan Masalah

1. Bagaimanakah preparasi sampel yang efektif menentukan kadar pati resisten dalam buah pisang secara enzimatik?
2. Bagaimanakah potensi ekstrak pati pisang kepok terhadap pertumbuhan bakteri *laktobasillus* secara invitro

3. Tujuan Penelitian

A. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

- a. Untuk mengetahui metode preparasi sampel buah pisang yang paling efektif pada analisis pati resisten secara enzimatis.
- b. Untuk mengetahui potensi ekstrak pati pisang kepok terhadap pertumbuhan bakteri lactobacillus secara invitro.

2. Tujuan Khusus

- a. Menghitung total bakteri lactobasillus pada medium MRSA
- b. Menghitung total bakteri lactobacillus pada medium MRSA dengan penambahan ekstrak pati pisang kepok 10%, 20%, 30%
- c. Menganalisis pertumbuhan laktobasillus pada media MRSA dan pada media yang MRSA yang ditambah ekstrak pati pisang kepok.

B. Manfaat penelitian

1. Manfaat Keilmuan

Menambah pengetahuan dan wawasan tentang potensi ekstrak pati pisang kepok terhadap pertumbuhan mikroflora normal dalam usus khususnya lactobacillus yang mempunyai dampak terhadap kesehatan usus.

2. Manfaat Praktis

Dapat memberikan informasi kepada masyarakat bagaimana cara memanfaatkan pati pisang kepok dan dapat digunakan sebagai peluang bisnis pada masyarakat sehingga dapat meningkatkan nilai ekonomi dan kesehatan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Pisang

1. Tanaman Pisang

Tanaman pisang banyak terdapat dan tumbuh di daerah tropis. Hampir seluruh wilayah Indonesia merupakan daerah penghasil pisang, karena Indonesia beriklim tropis yang cocok untuk pertumbuhan tanaman pisang. Tanaman pisang mampu hidup di musim kering, karena batangnya banyak mengandung air berkisar 80-90%. Sedangkan di daerah rawan banjir, tanaman pisang akan sulit untuk tumbuh dengan subur. Tanah yang mengandung kapur dengan pH berkisar 4,5-7,5 tergolong tanah yang baik untuk tanaman pisang, misalnya di daerah Bojonegoro dan di daerah Madura yang berbukit kapur.

2. Klasifikasi Tanaman Pisang

Kedudukan tanaman pisang dalam sistematika (taksonomi) tumbuhan adalah sebagai berikut.

Divisi	: Spermatophyta
Sub Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledonae
Famili	: Musaceae
Genus	: Musa
Spesies	: Musa paradisiaca L. (Tjitrosoepomo, 2000)

3. Buah Pisang

Buah pisang termasuk dalam empat sumber makanan utama di dunia yang mengandung sumber karbohidrat yang sangat penting bagi tubuh setelah beras, gandum, dan jagung. Selain karbohidrat sebagai penyusun utama, pada pisang juga terdapat banyak kandungan nutrisi yang sangat bermanfaat bagi tubuh, seperti: protein, kalsium, magnesium, dan vitamin. Pisang dapat digolongkan menjadi dua, yaitu pisang yang dapat dikonsumsi secara langsung, contoh: pisang kepok, pisang susu, pisang hijau, pisang mas, pisang raja, dan pisang ambon dan ada pula buah pisang yang harus diolah terlebih dahulu sebelum dikonsumsi, contoh: pisang tanduk, pisang oli, pisang kapas, dan pisang bangkahulu

Buah pisang dapat pula dimanfaatkan dengan melalui proses lebih lanjut untuk diambil kandungan patinya dengan cara isolasi pati/pati yang kemudian dapat dibuat tepung pisang.

Tepung dari pati pisang ini dapat dimanfaatkan sebagai bahan makanan, campuran dalam pembuatan kue kering maupun basah, es krim, dan sebagainya karena jenis tepung ini memiliki kandungan karbohidrat yang cukup tinggi. Tabel 1 adalah kandungan karbohidrat pada berbagai pisang

Tabel 1 Kandungan karbohidrat/ pati pisang

Jenis Pisang	Kadar Karbohidrat (%)
Kapas	29,74
Raja	28,95
Tanduk	27,94
Lempeng	25,68
Mas	24,38
Susu	23,97
Siam	23,66
Ambon	22,05
Palembang	21,86
Kepok	20,53
Ampyang	20,29
Gembor	18,56

Munadjim, 1988

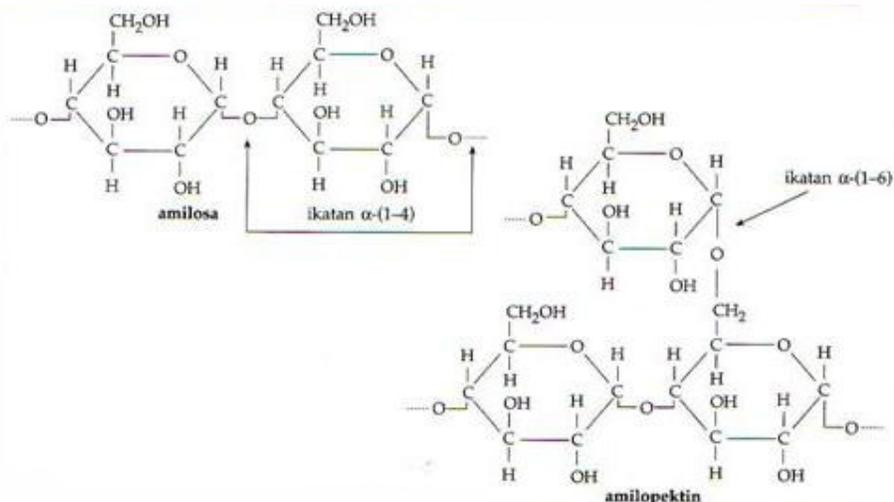
4. Pati

Pati adalah karbohidrat kompleks utama yang tidak larut dalam air, yang berasal dari tanaman atau buah-buahan, bersifat tawar dan tidak berbau memiliki berat molekul tinggi yang terdiri atas polimer glukosa yang bercabang-cabang yang diikat dengan ikatan glukosidik,. Pati termasuk salah satu jenis polisakarida, merupakan bahan utama yang dihasilkan oleh tumbuhan untuk menyimpan kelebihan glukosa (sebagai produk fotosintesis) seperti sereal (beras, gandum, jagung), umbi-umbian (ketela pohon, ubi jalar, kentang), dan empulur batang palma (sagu, aren, sagu baruk). Hewan dan manusia juga menjadikan pati sebagai sumber energi yang sangat penting dalam melakukan aktifitas. Pati yang terdapat pada sebagian besar tanaman ini terdiri atas tiga fraksi penyusun, yaitu amilosa, amilopektin, dan bahan antara seperti protein dan lemak Pati tersusun dari dua macam karbohidrat, amilosa dan amilopektin, dalam komposisi yang berbeda-beda. Amilosa memberikan sifat

keras, dan lengket, dan memberikan warna ungu pekat ketika dilakukan tes iodine. Gambar 1 adalah amylose dan amilopektin

Amilosa merupakan rantai lurus yang terdiri atas molekul-molekul glukosa yang berikatan dengan α -1,4-D-glukosidik. Jumlah molekul glukosa pada rantai amilosa berkisar antara 250-350 unit. Panjang rantai polimer akan mempengaruhi berat molekul amilosa dan panjang rantai polimer ini sangat dipengaruhi oleh sumber pati. Derajat polimerisasi amilosa berkisar antara 500-6000 unit glukosa tergantung sumber pati. Struktur kimia amilopektin pada dasarnya sama seperti amilosa terdiri atas rantai pendek α - (1,4)-D-glukosidik. Perbedaannya adalah amilopektin memiliki tingkat percabangan yang tinggi dan memiliki bobot molekul yang lebih besar dengan adanya ikatan α -1,6-D-glukosidik dimana setiap cabang mengandung 20-25 unit glukosa. Derajat polimerisasi amilopektin juga lebih tinggi dibandingkan amilosa, yaitu antara 105 sampai 3×10^6 unit glukosa (Hustiany 2006). Amilopektin mempunyai ukuran yang lebih besar daripada amilosa, tetapi tingkat kekentalannya lebih rendah. Hal ini menunjukkan bahwa struktur molekul amilopektin lebih kompak apabila terdapat dalam larutan. Begitu juga dengan kemampuan untuk membentuk kompleks lebih terbatas. Struktur kimia amilosa dan amilopektin. Fraksi amilosa dan amilopektin berada dalam granula pati. Kedua fraksi tersebut dapat dipisahkan dalam air panas. Fraksi terlarut disebut amilosa karena banyak mengandung gugus hidroksil dan membentuk lapisan transparan apabila dipanaskan dalam air sedangkan fraksi tidak larut dan cenderung tidak terjadi retrogradasi disebut amilopektin. Pati alami biasanya mengandung amilopektin lebih banyak daripada amilosa. Perbandingan amilosa dan amilopektin pada pati dapat mempengaruhi sifat pati. Rasio antara amilosa dan amilopektin berpengaruh terhadap sifat kelarutan dan derajat gelatinisasi pati. Semakin rendah amilosa yang terkandung dalam pati, maka pati akan semakin kental, begitu pula sebaliknya. Kandungan amilopektin yang tinggi menyebabkan tekstur sumber pati lebih lunak dengan rasa yang enak. Berdasarkan kandungan amilosa dan amilopektin, pati digolongkan menjadi tiga tipe, yaitu high-amilose maize starch, waxy maize starch, dan normal starch. Menurut Stoddard (1999), pati normal mengandung amilosa berkisar antara 17-21% sedangkan amilopektin berkisar antara 79-83%. Untuk pati tipe waxy-maize memiliki kandungan amilopektin yang melebihi 99% hingga 100% sedangkan pati tipe high-amilose memiliki kandungan amilosa yang lebih tinggi sekitar 70% (Kearsley 1995). Pati terdiri atas butiran-butiran kecil yang disebut granula. Granula pati memiliki bentuk dan ukuran yang berbeda tergantung sumbernya. Amilosa dan amilopektin merupakan fraksi yang terdapat dalam tiap granula pati. Granula pati menentukan karakteristik fisik pati dan pengaplikasian yang cocok dalam produk pangan. Ukuran granula

juga menjadi salah satu faktor yang menentukan suhu gelatinisasi. Suhu gelatinisasi adalah suhu dimana suspensi pati dipanaskan hingga mengembang dan membentuk gel. Ukuran granula berpengaruh pada mutu pati yang dihasilkan dalam skala industri. Ukuran granula pati juga mempengaruhi proses produksi modifikasi pati saat dihidrolisis. Ukuran granula pati yang kecil menyebabkan proses hidrolisis secara asam maupun enzimatis lebih efektif dan memiliki kecepatan reaksi yang lebih baik dibandingkan ukuran granula yang besar.



Gambar 1 : Amilosa dan Amilopektein

Pati dapat diaplikasikan dalam berbagai macam produk seperti makanan, kertas, tekstil, bahan perekat, farmasi, dan bahan bangunan. Amilosa merupakan polisakarida, polimer yang tersusun dari glukosa sebagai monomernya, di mana tiap-tiap monomer terhubung dengan ikatan 1,4-glikosidik seperti. Bentuk polimer linier panjang dan tidak bercabang yang dimiliki oleh amilosa merupakan penyusun utama pati. Berat molekul amilosa lebih rendah jika dibandingkan dengan amilopektin memberikan sifat lembab pada makanan. berat molekul amilopektin. Viskositas/tingkat kekentalan yang dimiliki oleh amilosa cukup tinggi, dan tingkat kelarutannya (solubility) dalam pelarut sangat rendah. Pada suatu makanan atau produk kue amilosa memberi: efek bentuk, penampilan, dan rasa. Kandungan amilosa dapat diketahui dengan melakukan tes iodometri. Iodine akan memberikan efek warna biru tua pada pati.

Amilopektin merupakan polisakarida yang tersusun dari monomer α -glukosa, merupakan molekul yang sangat besar dan terkandung dalam pati. Walaupun tersusun dari

monomer yang sama, amilopektin berbeda dari amilosa, yang terlihat dari karakteristik fisiknya. Secara struktural, amilopektin terbentuk dari rantai glukosa yang terikat dengan ikatan 1,4- glikosidik. Namun demikian, pada amilopektin terbentuk cabang-cabang (sekitar tiap 20 mata rantai glukosa) dengan ikatan 1,6-glikosidik sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 2, sehingga struktur molekulnya sangat besar. Amilopektin meningkatkan karakteristik lembab pada makanan, seperti kue.

Hidrolisis pati

Sebagian besar pati yang diperoleh langsung dari tanaman penghasilnya merupakan pati alami. Namun sebagian besar penggunaan pati di industri berupa hidrolisat pati karena memiliki karakteristik dan sifat yang mudah dikontrol dalam pembuatan produk-produk tertentu dengan kualitas yang baik. Salah satu alasannya karena hidrolisat pati merupakan pati alami yang telah mengalami modifikasi seperti penghilangan komponen-komponen minor pada pati sehingga hanya tersisa kandungan amilosa dan amilopektin yang lebih mudah diolah menjadi beberapa produk turunan pati yang dapat diaplikasikan di industri. Prinsip hidrolisis pati adalah pemutusan rantai polimer pati menjadi unit-unit dekstrosa. Pada umumnya hidrolisat pati dikarakterisasi berdasarkan tingkat derajat hidrolisisnya yang dinyatakan dengan nilai DE (dextrose equivalent) yang menunjukkan persentase kandungan dekstrosa murni dalam basis bobot kering pada produk hidrolisis (Kearsley 1995). Dextrose Equivalent (DE) merupakan parameter kemurnian sirup glukosa atau maltosa yang didefinisikan sebagai persentase perbandingan antar gula pereduksi dengan bobot kering sirup glukosa atau maltosa. Jika nilai DE sebesar 100%, maka dapat diartikan seluruh bahan kering pada sirup glukosa merupakan gula pereduksi. Gula pereduksi merupakan golongan gula yang dapat mereduksi senyawa-senyawa penerima elektron. Pada umumnya gula pereduksi mengandung gugus aldehida atau keton bebas. Contoh dari gula pereduksi, antara lain semua monosakarida (glukosa, fruktosa, dan galaktosa) dan disakarida (laktosa dan maltosa). Tinggi rendahnya gula pereduksi suatu produk dipengaruhi oleh sumber pati dan aktivitas enzim pada tiap komoditas sumbernya. Hubungan antara aktivitas enzim dan gula pereduksi yang dihasilkan menunjukkan bahwa semakin tinggi aktivitas enzim, maka semakin tinggi juga gula pereduksi yang dihasilkan (Lehninger 1982). Nilai DE berhubungan dengan derajat polimerisasi (DP). Nilai DP menyatakan jumlah unit monomer dalam satu molekul.

Enzim

Enzim adalah suatu protein yang bertindak sebagai katalisator reaksi biologis atau disebut biokatalisator. Enzim berfungsi mengatur kecepatan dan kekhususan reaksi kimia yang berlangsung di dalam sel. Walaupun enzim dibuat di dalam sel, tetapi untuk bertindak sebagai katalis tidak harus berada di dalam sel. Reaksi yang dikendalikan oleh enzim, antara lain respirasi, pertumbuhan dan perkembangan, serta fotosintesis. Enzim sebagai katalis memiliki nilai ekonomis tinggi karena sangat diperlukan untuk menunjang berbagai proses industri, misalnya industri pangan. Degradasi pati membutuhkan enzim amilase yang akan memecah atau menghidrolisis menjadi polisakarida yang lebih pendek (dekstrin) lalu menjadi maltosa. Hidrolisis akhir maltosa menghasilkan glukosa terlarut yang dapat ditransport masuk ke dalam sel. Amilase merupakan enzim pendegradasi pati yang dapat dikelompokkan menjadi tiga golongan enzim, yaitu α -amilase, β -amilase, dan glucoamilase. β -amilase (E.C 3.2.1.2) merupakan enzim golongan hidrolase yang digunakan dalam proses sakarifikasi pati (sejenis karbohidrat). Sakarifikasi banyak berperan dalam pemecahan makromolekul karbohidrat. Pemecahan makromolekul karbohidrat ini akan menghasilkan molekul karbohidrat rantai pendek (sederhana). Enzim β -amilase disebut juga α -1,4-glukan maltohidrolase E.C. 3.2.1.2. karena bekerja pada ikatan α -1,4-glikosidik dengan menginversi konfigurasi posisi atom C nomor 1 molekul glukosa dari α menjadi β . Enzim ini memutus ikatan amilosa maupun amilopektin dari luar molekul dan menghasilkan maltosa dari ujung non-pereduksi pada rantai polisakarida. Pada ikatan α -1,6 glikosidik aktivitas enzim ini akan berhenti (Sadikin 2002).

Enzim β -amilase banyak ditemukan pada tanaman tingkat tinggi, seperti gandum, barley, kentang, ubi, dan kacang kedelai. Di samping itu, β -amilase juga dapat ditemui pada beberapa mikroorganisme, antara lain *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Streptococcus*, dan *Clostridium thermosulfurigenes*. Enzim yang berasal dari *C. thermosulfurigenes* umumnya lebih disukai karena memiliki toleransi suhu dan pH yang lebih tinggi. Mekanisme kerja dari enzim β -amilase akan memotong ikatan glikosidik pada gugus amilosa, amilopektin, dan glikogen. Amilosa merupakan struktur rantai lurus dari pati, sedangkan amilopektin merupakan struktur percabangan dari pati. Hasil pemotongan oleh enzim ini akan didominasi oleh molekul maltosa dan β -limit dekstrin seperti terlihat pada Gambar 4. Dalam industri pangan, pembentukan senyawa β -limit dekstrin seringkali dihindari karena membentuk viskositas atau kekentalan yang terlalu pekat. Produk samping ini tetap dapat digunakan sebagai bahan pengental dan tambahan pada produk-produk diet rendah kalori. Menurut Tester (2011), β -limit dekstrin merupakan produk samping yang dihasilkan dari hidrolisis pati

yang tidak sempurna oleh β -amilase yang memiliki sifat bioadesif yang cocok digunakan sebagai perekat alami. Ukuran dan bentuk β -limit dektrin tiap pati berbeda dimana senyawa ini dihasilkan dari 40—60% berat molekul amilopektin. Pada pati waxy maize berat molekul β -limit dektrin mencapai $3,4 \times 10^6$ dan $3,0 \times 10^6$ pada normal waxy maize. Meskipun memiliki bobot molekul yang cukup tinggi β -limit dektrin memiliki tekanan osmosis yang rendah, viskositas yang tinggi, dan kemampuan dispersi kelarutan yang tinggi pada larutan. β -limit dektrin juga merupakan produk yang free sugar sehingga cocok untuk diaplikasikan pada berbagai produk diet dan pengontrol diabetes. Amilosa merupakan komponen linier pada pati sehingga dapat terhidrolisis secara sempurna, tetapi hanya 55% dari amilopektin yang merupakan percabangan yang dapat dikonversi menjadi β maltosa sedangkan 45% lainnya adalah limit dektrin dengan bobot molekul yang tinggi yang keseluruhannya termasuk bagian percabangan dari amilopektin awal. β -amilase merupakan enzim yang memiliki pemecahan tipe ganda. Enzim tersebut memecah secara berulang pada rantai substrat yang tersedia beberapa kali. Untuk amilosa dengan berat molekul rendah memiliki jumlah rata-rata pemecahan sebanyak 4 sedangkan amilosa dengan berat molekul tinggi memiliki jumlah pemecahan yang lebih banyak. Enzim ini digunakan untuk memproduksi maltosa dengan tingkat kemurnian yang tinggi dari pati (Kainuma 1995).

Menurut Hii (2012), enzim perombak pullulan sebagai enzim debranching terdiri atas lima kelompok yang dikelompokkan berdasarkan spesifikasi substrat dan produknya, yaitu :

1. Pullulan hidrolase tipe I (EC 3.2.1.135), yaitu enzim yang menyerang ikatan α -1,4 glukosidik dalam pullulan membentuk panosa.
2. Pullulan hidrolase tipe II (EC 3.2.1.57), yaitu enzim yang menyerang ikatan α -1,4 glukosidik dalam pullulan membentuk isopanosa.
3. Pullulanase tipe I (EC 3.2.1.41), yaitu enzim yang spesifik menghidrolisis ikatan α -1,6 glukosidik dalam pullulan membentuk maltotriosa. Enzim ini juga menyerang ikatan α -1,6 glukosidik pada amilopektin membentuk pati tinggi amilosa atau Short-Chain Amylose (SCA).
4. Pullulanase tipe II, yaitu enzim yang menyerang ikatan α -1,6 dan α -1,4 glukosidik pada polisakarida. Enzim ini disebut juga amilopullulanase.
5. Glukoamilase (EC 3.2.1.3), yaitu enzim yang menghidrolisis pullulan dan secara berurutan dari ujung gugus non-pereduksi sehingga menghasilkan glukosa. Enzim pullulanase (EC 3.2.1.41) merupakan salah satu jenis enzim yang tergolong kelompok enzim debranching yang memiliki aktivitas pada titik percabangan pati pada amilopektin dengan memecah ikatan α -1,6 glikosidik dengan spesifitas substratnya. Gambar 5 menunjukkan titik percabangan pemutusan yang dilakukan oleh enzim ini. Pullulanase (EC 3.2.1.41, pullulan 6- glucanohydrolase) merupakan enzim yang dapat digunakan pada hidrolisis pati agar dapat stabil. Pullulanase dapat memecahkan

molekul pullulan dan memiliki aktivitas pada amilopektin dan limit dekstrin, tetapi terdapat kesulitan untuk memecahkan glikogen. Hal ini yang membedakan pullulanase dengan enzim debranching lainnya, seperti isoamilase. Enzim pullulanase dapat menghidrolisis pati menjadi SCA atau maltooligosakarida pada proses hidrolisis enzimatis. Pullulan termasuk polisakarida ekstraseluler yang diproduksi oleh *Aureobasidium pullulans* atau *Pullularia pullulans*. Pullulanase dapat dihasilkan dari *Klebsiella pneumoniae* atau *Aerobacter 11 aerogenes*, *Escherichia intermedia*, dan *Streptococcus mitis*. Pullulanase yang berasal dari *Klebsiella pneumoniae* merupakan enzim yang sangat bermanfaat untuk mempelajari struktur pati dan glikogen yang terdiri atas ikatan α -1,4 dan α -1,6 glikosidik. Polisakarida yang dipecah oleh enzim ini akan menghasilkan rantai-rantai lurus dan lebih pendek.

Hidrolisis pati dapat dilakukan dengan menggunakan asam ataupun enzim. Proses ini akan menghasilkan glukosa sebagai produk akhir. Hidrolisis secara parsial dapat dilakukan dengan menggunakan enzim tertentu yang dapat memotong rantai karbon pada pati. Beberapa contoh produk hidrolisat pati yang dapat dihasilkan antara lain sirup glukosa, maltosa, maltodekstrin, dan maltooligosakarida. Enzim yang digunakan adalah enzim-enzim hidrolase yang termasuk kelompok enzim yang sangat penting dalam pengolahan pangan. Gula yang dihasilkan melalui pemecahan oleh enzim hidrolase ini disebut “gula pati”.

5. Pati Resisten

Dahulu diyakini bahwa pati yang kita konsumsi dapat tercerna secara sempurna di dalam usus halus. Pemahaman tersebut berubah setelah banyak peneliti mengungkapkan dan menemukan bahwa adanya pati dalam usus besar. Fraksi pati yang sampai di usus besar dikenal sebagai pati resisten (*resistant starch*). Pati resisten (*resistant starch*) didefinisikan sebagai sejumlah pati dari hasil degradasi pati yang tidak dapat diserap oleh usus halus manusia dan dikelompokkan ke dalam serat pangan (*dietary fiber*) (AACC, 2001).

Kenyataan menunjukkan bahwa daya tahan pati terhadap serangan enzim alfa amilase berbedabeda. Beberapa peneliti juga melaporkan bahwa beberapa jenis pati mengalami retrogradasi selama penyimpanan setelah tergelatinisasi (Kalichevsky *et al.*, 1990; rederikson *et al.*, 1998; dan Jayakody *et al.*, 2005). Hal ini menunjukkan bahwa pati-pati tersebut mengandung bagian yang tidak dapat tergelatinisasi dengan baik dan diduga bahwa bagian ini merupakan pati resisten. Keberadaan pati resisten dalam bahan makanan dapat meningkatkan efek fisiologis dari makanan tersebut. Salah satu sifat fisiologis dari pati resisten adalah kemampuannya untuk dapat difermentasi oleh bakteri-bakteri usus yang menguntungkan (Johnson and Southgate, 1994). Di dalam usus kecil pati resisten tidak diserap sehingga tetap

utuh sampai di dalam usus dan akan difermentasi oleh bakteri-bakteri menguntungkan seperti *Bifidobacteria* dan *Lactobacilli*, sehingga pati resisten juga berpotensi sebagai prebiotik (Haralampu, 2000). Menurut Gibson and Roberfroid (1995) prebiotik didefinisikan sebagai bahan makanan yang tidak dapat dicerna yang mampu berfungsi sebagai substrat bagi pertumbuhan atau penyeleksian sejumlah bakteri yang menguntungkan yang tumbuh dalam usus manusia.

Tipe-tipe Pati Resistan

Menurut Engelyst, pati resisten digolongkan berdasarkan kecepatan dari patinya dicerna oleh tubuh, dan dibagi menjadi 5 tipe sebagai berikut:

- a.) TIPE I Pati disintesis di endosperma dari biji sereal, dan granul dari patiny diselubungi matriks protein dan juga material dinding sel. Struktur fisik tersebut menurunkan kecepatan dicerna oleh tubuh. Ketika dimasak dalam bentuk sereal utuh atau ditumbuk kasar, maka keberadaan dari matriks protein dan material dinding sel yang tebal akan menghambat penetrasi air ke dalam pati. Oleh karena itu pati kurang terbasahi dan sulit tergelatinisasi sehingga tidak mudah terhidrolisis secara enzimatis. Selain menghambat proses gelatinisasi tersebut, protein dan dinding sel juga menghalangi masuknya enzim ke dalam pati. Beberapa contoh dari pati ini adalah yang terkandung dalam makanan yang terbuat dari gandum utuh dan pasta yang terbuat dari tepung durum. Tepung durum mengandung protein tinggi dan tekstur yang keras.
- b.) TIPE II Contoh dari pati ini yang menunjukkan polimorfisme tipe B dan tipe C, diantaranya adalah tepung kentang mentah, tepung pisang hijau, pati ginseng, tepung jagung tinggi amilosa. Akan tetapi setelah dimasak, sebagian besar patinya akan menjadi mudah dicerna oleh tubuh karena telah tergelatinisasi dan kehilangan Kristal tipe B dan tipe C, misalnya pada kentang panggang dan pisang yang dimasak.
- c.) TIPE III Contohnya adalah amilosa teretrograsi dan patinya. karena molekul amylase strukturnya linear, maka memiliki kecenderungan membentuk untai ganda, terutama pada suhu refrigerator sekitar 4-5 C dan kelembaban yang memadai. Amilosa ini memiliki suhu gelatinisasi yang tinggi hingga 170 C dan tidak bisa diuraikan dengan proses pemanasan/memasak. Suhu gelatinisasi tersebut akan berkurang seiring dengan semakin pendeknya rantai amilosanya. Setelah makanan mengandung pati disimpan dalam refrigerator, molekul amilosa dan amilopektin rantai panjang akan membentuk untai ganda dan kehilangan kemampuannya dalam mengikat air. Molekul pati dalam

bentuk untaian ganda tersebut tidak sesuai lagi untuk menjadi sisi ikatan enzimatis amylase, sehingga tidak bisa dihidrolisis.

- d.) TIPE IV contohnya adalah pati termodifikasi kimiawi, terbentuk karena adanya cross-link atau pada penambahan turunan kimia. Pati dengan tingkat tautan silang yang tinggi kehilangan kemampuan membentuk gel selama proses memasak berlangsung. Sehingga pati ini akan tetap berada dalam bentuk granulnya setelah dimasak, dan kepekaannya terhadap enzim sangat kecil, dan tidak dapat dihidrolisis oleh amylase ataupun difermentasi oleh bakteri. Dengan menambahkan turunan kimia seperti golongan oktenil suksinat atau golongan asil pada pati, akan mengubah susunan pati dan membatasi hidrolisis enzimatis sehingga menjadi pati resisten. Sedangkan area yang tidak dimodifikasi dapat dihidrolisis oleh amylase bakteri dan difermentasi untuk menghasilkan asam lemak rantai pendek.
- e.) TIPE V Ketika bereaksi dengan lemak, amilosa dan amilopektin rantai panjang akan membentuk kompleks untaian tunggal dengan lemak alcohol. Ketika rantai lurus pati berada dalam struktur kompleks dengan kompleks asam lemak dalam rongga dari untaian tersebut, proses pengikatan dan pembelahan pati oleh amylase akan dihambat. Selain itu, kompleks amilosa-lemak juga melibatkan molekul amilopektin, mencegah granula dari pati membentuk gel dan juga tidak dapat terhidrolisis enzimatis. Dikarenakan pembentukan kompleks amilosa-lemak adalah reaksi yang cepat dan kompleks dapat terbentuk kembali setelah dimasak, pati resisten tipe V ini dapat dikatakan stabil pada pemanasan.

Sangat penting untuk mengetahui bahwa pencernaan dari pati dipengaruhi oleh keberadaan komponen non-pati dalam saluran pencernaan, struktur pati, dan proses pengolahan pati sebelum dikonsumsi. Oleh karena itu kemampuan pati untuk tercerna berdasarkan klasifikasi tersebut hanya merupakan salah satu faktor saja, masih ada faktor lain yang dapat mempengaruhi proses pencernaan pati dalam tubuh.

B. Bakteri Probiotik

Probiotik merupakan organisme hidup yang mampu memberikan efek yang menguntungkan kesehatan hostnya apabila dikonsumsi dalam jumlah yang cukup (FAO/WHO, 2002; ISAPP, 2009) dengan memperbaiki keseimbangan mikroflora intestinal pada saat masuk dalam saluran pencernaan (Shitandi et al., 2007; Dommels et al., 2009; Weichselbaum, 2009).

Definisi umum probiotik, yang biasa digunakan, adalah preparat yang terdiri dari mikroba hidup yang dimasukkan ke dalam tubuh manusia atau hewan secara oral. Mikroba hidup itu diharapkan mampu memberikan pengaruh positif terhadap kesehatan manusia atau hewan dengan cara memperbaiki sifat-sifat yang dimiliki mikroba alami yang tinggal di dalam tubuh manusia atau hewan tersebut. Brady et al (2000) mensitasi definisi probiotik dari Gibson and Robertfroid (1995) sebagai pangan/suplemen. pangan yang berisi mikroba hidup yang memberi efek yang menguntungkan (kesehatan) saluran pencernaan. Ditambahkan oleh Guarner dan Schaafsma (1998) bahwa mikroorganisme hidup tersebut dapat memberikan efek kesehatan jika dikonsumsi dalam jumlah cukup. Konsep probiotik dikembangkan dari sebuah teori autointoksikasi yang dikemukakan oleh seorang ilmuwan Rusia penerima Nobel Biologi tahun 1908 yaitu Elie Metchnikoff. Menurutnya, secara perlahan pembusukan (putrefeksi) oleh bakteri dalam usus besar menghasilkan senyawa-senyawa beracun yang memasuki peredaran darah, yang disebut sebagai proses "autointoksikasi". Proses inilah yang menyebabkan penuaan dan beberapa penyakit-penyakit degeneratif. Dia meyakini bahwa tingginya usia hidup warga suku-suku pegunungan di Bulgaria merupakan hasil dari konsumsi produk susu fermentasi. Bakteri yang ikut dikonsumsi bersama produk tersebut dan kemudian mampu tinggal di usus berpengaruh positif terhadap mikroflora di kolon dengan cara menurunkan efek toksik dari mikroorganisme yang merugikan di kolon.

Probiotik merupakan organisme hidup yang mampu memberikan efek yang menguntungkan kesehatan hostnya apabila dikonsumsi dalam jumlah yang cukup (FAO/WHO, 2002; ISAPP, 2009) dengan memperbaiki keseimbangan mikroflora intestinal pada saat masuk dalam saluran pencernaan (Shitandi *et al.*, 2007; Dommels *et al.*, 2009; Weichselbaum, 2009).

1. Jenis Bakteri Probiotik

Beberapa probiotik umum meliputi berbagai spesies dari genera *Bifidobacterium* dan *Lactobacillus* seperti: *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus GG*. Ada pula satu spesies ragi yang digunakan sebagai probiotik: *Saccharomyces boulardii*. Beberapa bakteri yang umum dipakai dalam produk tapi tanpa efek probiotik (bakteri yoghurt): *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, Beberapa bakteri lain disebutkan dalam produk probiotik: *Bacillus coagulans*, *Lactobacillus bifidus*, *Lactobacillus caucasicus*. Beberapa produk fermentasi mengandung asam laktat bakteri yang mirip

walaupun sering belum dibuktikan memiliki efek probiotik atau kesehatan termasuk: Kefir, Yogurt, Sauerkraut, Kimchi, Kombucha Agar suatu mikroorganisme menjadi probiotik yang efektif dalam memberi efek kesehatan maka disyaratkan: berasal dari manusia (*human origin*), stabil terhadap asam maupun cairan empedu, dapat menempel pada sel intestine manusia, dapat berkolonisasi di saluran pencernaan manusia, memproduksi senyawa antimikroba, dapat melawan bakteri patogenik dan kariogenik, telah teruji secara klinis aman dikonsumsi, serta tetap hidup selama pengolahan dan penyimpanan. Selain itu konsumsi harus dilakukan secara teratur sebanyak 100-150 ml produk (berisi 10^6 /ml bakteri hidup) setiap 2 atau 3 kali seminggu. Saat ini terus dikembangkan penelitian-penelitian yang menggunakan mikroorganisme yang diisolasi dari usus manusia untuk digunakan dalam pembuatan probiotik. Bentuk produk probiotik bervariasi tidak lagi hanya dalam bentuk makanan atau minuman, tetapi juga tablet atau kapsul. *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Bifidobacterium* dan *Propionibacterium* merupakan genera BAL dalam saluran pencernaan (Savodago dkk., 2006). Bakteri asam laktat (BAL) merupakan bakteri Gram positif, tidak berspora, berbentuk basil atau kokus, fakultatif anaerob dan mampu memfermentasi karbohidrat dengan asam laktat sebagai hasil utamanya (Widyadnyana dkk., 2015). BAL menghasilkan antibakteri berupa asam organik, bakteriosin, metabolit primer, hidrogen peroksida, diasetil, karbondioksida, dan asetaldehid (Tambekar and Bhutada, 2010).

BAL dapat berperan sebagai probiotik dengan beberapa persyaratan diantaranya adalah tidak patogen, mempunyai viabilitas yang tinggi, tumbuh, dan aktif dalam sistem pencernaan, tahan terhadap asam dan garam empedu (bile salt), bersifat anaerob, mampu tumbuh dengan cepat dan menempel (melakukan kolonisasi) pada dinding saluran pencernaan, mampu menghambat atau membunuh bakteri patogen (Pundir dkk., 2013). Drasar dan Hill, 1974 dalam Suardana dkk., 2007 menyatakan bahwa sebagian besar flora normal di dalam saluran cerna hewan merupakan bakteri asam laktat (BAL). Pada kolon sapi ditemukan 10^4 - 10^9 BAL per gram isi kolon (Lambert and Hull, 1996).

2. Prebiotik sebagai pangan fungsional

Sampai saat ini belum ada definisi pangan fungsional yang disepakati secara universal. *The International Food Information (IFIC)* mendefinisikan pangan fungsional sebagai pangan yang memberikan manfaat kesehatan di luar zat-zat dasar. Menurut konsensus pada *The First International Conference on East-West Perspective on Functional Foods* tahun 1996, pangan fungsional adalah pangan yang karena kandungan komponen

aktifnya dapat memberikan manfaat bagi kesehatan, di luar manfaat yang diberikan oleh zat-zat gizi yang terkandung di dalamnya. Definisi pangan fungsional menurut Badan POM adalah pangan yang secara alamiah maupun telah melalui proses, mengandung satu atau lebih senyawa yang berdasarkan kajian-kajian ilmiah dianggap mempunyai fungsi-fungsi fisiologis tertentu yang bermanfaat bagi kesehatan. Serta dikonsumsi sebagaimana layaknya makanan atau minuman, mempunyai karakteristik sensori berupa penampakan, warna, tekstur dan cita rasa yang dapat diterima oleh konsumen. Selain tidak memberikan kontraindikasi dan tidak memberi efek samping pada jumlah penggunaan yang dianjurkan terhadap metabolisme zat gizi lainnya. Secara mudah dapat dikatakan bahwa pangan fungsional adalah bahan pangan yang berpengaruh positif terhadap kesehatan seseorang, penampilan jasmani dan rohani selain kandungan gizi dan cita-rasa yang dimilikinya. Meskipun mengandung senyawa yang bermanfaat bagi kesehatan, pangan fungsional tidak berbentuk kapsul, tablet, atau bubuk yang berasal dari senyawa alami (Badan POM, 2001). Pangan fungsional dibedakan dari suplemen makanan dan obat berdasarkan penampakan dan pengaruhnya terhadap kesehatan. Kalau obat fungsinya terhadap penyakit bersifat kuratif, maka pangan fungsional hanya bersifat membantu pencegahan suatu penyakit. Pangan fungsional dapat berupa makanan dan minuman yang berasal dari hewani atau nabati. Pada kelompok ini kita jumpai juga kelompok raksasa minuman dan makanan probiotik (diperkaya dengan mikroflora yang membantu pencernaan). Salah satu produk probiotik Jepang dengan kultur hidup *Lactobacillus casei* var. *shirota* yang sangat sukses.

3. Mikrobiota Usus

Mikrobiota adalah komunitas mikroorganisme pada suatu ekosistem. Mikrobiota usus diperkirakan jumlahnya 10^{10} - 10^{11} sel/g kandungan usus, terdiri dari lebih dari 1000 spesies. Sebagian besar dari spesies mikrobiota usus belum dapat dikultur, sehingga untuk mengidentifikasinya dilakukan dengan analisis genetik.

Bakteri utama penghuni usus adalah Bacteroidetes (*Porphyromonas*, *Prevotella*), Firmicutes (*Ruminococcus*, *Clostridium*, dan *Eubacteria*), dan Actinobacteria (*Bifidobacterium*). Bakteri *Lactobacilli*, *Streptococci*, and *Escherichia coli* berada dalam jumlah lebih sedikit dalam usus, akan tetapi perubahan komposisinya memegang peran penting/berpengaruh terhadap kesehatan.

Lactobacillus merupakan bagian dari kelompok bakteri asam laktat, yaitu bakteri Gram positif, berbentuk bulat atau batang, tidak berspora, tidak melakukan respirasi, tidak memiliki katalase, dan menghasilkan asam laktat dari fermentasinya. Beberapa

penelitian tentang penggunaan *Lactobacillus* sebagai probiotik menunjukkan peningkatan mikrobiota usus, meningkatkan sensitivitas insulin, menghalangi pertumbuhan bakteri patogen, mencegah kanker dan mencegah inflamasi usus.

4. Media Pemupukan Bakteri

Media Pemupukan merupakan media tempat tumbuhnya mikroorganisme, MRSA merupakan media selektif yang digunakan untuk mengisolasi bakteri asam laktat (Judoamidjojo dan Darwis., 1990). Penggunaan media selektif untuk isolasi bakteri adalah untuk mempermudah pertumbuhan suatu galur mikroba tertentu dan menghalangi tumbuhnya galur mikroba lainnya. Media MRSA mengandung polysorbat, asetat, magnesium dan mangan yang merupakan faktor dalam pertumbuhan *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus* dan *Leuconostoc* (Putra, 2015). media MRSA juga mengandung sodium asetat yang berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri lain. Dengan sifat selektifnya tersebut, secara keseluruhan koloni bakteri asam laktat dari beberapa strain dapat tumbuh pada media ini.

MRSA (deMann Rogosa Sharpe Agar)

MRSA merupakan media yang diperkenalkan oleh De Mann, Rogosa, dan Shape (1960) untuk memperkaya, menumbuhkan, dan mengisolasi jenis *Lactobacillus* dari seluruh jenis bahan. MRS agar mengandung polysorbat, asetat, magnesium, dan mangan yang diketahui untuk beraksi/bertindak sebagai faktor pertumbuhan bagi *Lactobacillus*, sebaik nutrisi diperkaya MRS agar tidak sangat selektif, sehingga ada kemungkinan *Pediococcus* dan jenis *Leuconostoc* serta jenis bakteri lain dapat tumbuh. MRS agar mengandung:

1. Protein dari kasein 10 g/L
2. Ekstrak daging 8,0 g/L
3. Ekstrak ragi 4,0 g/L
4. D (+) glukosa 20 g/L
5. Magnesium sulfat 0,2 g/L
6. Agar-agar 14 g/L
7. dipotassium hidrogen phosphate 2 g/L
8. Tween 80 1,0 g/L
9. Diamonium hidrogen sitrat 2 g/L
10. Natrium asetat 5 g/L
11. Mangan sulfat 0,04 g/L

BAB III METODE PENELITIAN

A. Desain dan Metode Penelitian

a. Jenis dan Desain Penelitian.

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimen

Desain penelitian : Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 (empat taraf perlakuan) yaitu penambahan ekstrak pati pisang kepok sebanyak 2%, 4% dan 6% pada media MRSA untuk pertumbuhan bakteri lactobasillus secara invitro.

Dalam penelitian ini, jenis pisang yang yang digunakan adalah pisang kepok merah yang mengkal. Proses isolasi pati dilakukan perendaman dengan aquades, larutan NaOH 0,1%, larutan KOH 0,1%, dan larutan Ca(OH)₂ 0,1%.

Tahapan Penelitian :

1. Penelitian pendahuluan dengan melakukan analisis proksimat, amilosa, amilopektin dan pati resisten terhadap ekstrak pati
2. Penelitian utama dilakukan dengan membiakkan bakteri lactobacillus pada media yang di substitusi dengan ekstrak pati.

b. Lokasi dan Waktu penelitian

Lokasi :

1. Laboratorium Kimia Poltekkes Kemenkes Malang untuk pembuatan ekstrak pati dan analisis pati resisten
2. Laboratorium Mikrobiologi Poltekkes Kemenkes Malang untuk Pembiakan bakteri lactobacillua

Waktu : Juli - Agustus 2019

B. Alat dan Bahan

1. Alat dan Bahan Pembuatan Ekstrak Pati Pisang Kepok

Alat : *Beaker Glass*, Pengaduk, Blender, Corong *Buchner*, *Filtering Flask*, *Erlenmeyer*, Oven Pengering, *Timbangan*

Bahan : Pisang Kepok mengkal, Aquadest, NaOH, KOH, Ca(OH)₂

2. Alat dan Bahan Analisis Pati Resisten

Alat : Shaking water bath, Sentrifus, Water bath, Magnetic stirrer, Pipet volume 2 ml, Mikropipet 1 ml, Labu takar 50 ml, Labu takar 100 ml, Labu takar 1000 ml, Tabung polipropilen tutup ulir

Bahan : Analisis Kit K-RAPRS Megazyme, etanol 95%, NaOH p.a., asam maleat p.a. , asam asetat, kalsium klorida p.a.

3. Alat dan Bahan Analisis total Lactobacillus

Alat: Cawan petri, tabung reaksi, mikro pipet 1ml, pembakaran Bunsen, penghitung koloni (colony counter), timbangan, incubator, Erlenmeyer, jarum ose, beaker glass, Obyek gelas

Bahan : Biakan murni lactobacillus, Ekstrak pati, Aquades, Media MRSA, alkohol 95%, Pewarna Gram.

C. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas
Ekstrak pati pisang kepok merah
2. Variabel terikat
Jumlah Lactobacillus
Kadar pati resisten

D. Definisi Operasional Variabel

Ekstrak pati pisang : merupakan ekstrak pati yang diperoleh dengan cara merendam buah pisang kepok mengkal dengan aquadest, NaOH, KOH, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ selama 6-16 jam

Lactobacillus : merupakan bakteri gram positif anaerobe, bersifat menguntungkan kesehatan manusia, habitat normal di colon disebut juga sebagai bakteri probiotik.

Jumlah Lactobacillus : merupakan banyaknya laktobasillus yang dibiakkan pada medium MRSA selama 24-48 jam dan dihitung jumlah koloni yang tumbuh dengan menggunakan colony counter.

E. Prosedur Penelitian

1. Pembuatan Ekstrak Pati Pisang Kepok

- a. Disiapkan pisang kepok mengkal
- b. Diblancing kukus selama 5 menit
- c. Dikupas dan dipotong dengan ketebalan sekitar 0,5 cm

- d. Timbang 500 gram
- e. Diblender dengan 1 liter aquadest 10 menit
- f. Dilakukan perendaman selama 6 jam
- g. Dilakukan penyaringan
- h. Padatan dilarutkan dengan NaOH 0.1 %
- i. Disentrifuge 20 menit
- j. Cairannya kemudian dipisahkan dari padatannya
- k. Pati yang diperoleh kemudian dicuci dengan aquades
- l. disentrifugasi lagi dengan 3000 rpm 10 menit
- m. Padatan kemudian dicuci dengan HCl 1 M lalu disentrifugasi.
- n. kemudian dicuci dengan aquades sehingga diperoleh pH yang netral.
- o. dikeringkan pada suhu 45°C

2. Penetapan Kadar Pati Resisten

a). PERSIAPAN LARUTAN REAGEN:

1). Buffer natrium maleat (50 mM, pH 6,0) + 2 mM kalsium klorida dihidrat.

Melarutkan 11,6 g asam maleat dalam 1600 mL air suling dan sesuaikan pH menjadi 6,0 dengan 4 M (160 g/L) natrium hidroksida. Ditambahkan 0,6 g kalsium klorida dihidrat ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) dan larutkan, ad volume menjadi 2 L.

2). Buffer natrium asetat, 1,0 M, pH 3,8 + kalsium klorida (5 mM)

Ditambahkan 57,0 mL asam asetat glasial (1,05 g/mL) ke 800 mL air suling dan sesuaikan dengan pH 3,8 menggunakan 4 M natrium hidroksida. Setelah itu ditambahkan 0,74 g kalsium klorida dihidrat dan dilarutkan. Volume disesuaikan hingga 1 L dengan air suling dan disimpan dalam botol Duran®.

3). Buffer natrium asetat, 100 mM, pH 4,5

Ditambahkan 5,7 mL asam asetat glasial (1,05 g / mL) ke 800 mL air suling dan disesuaikan dengan pH 4,5 menggunakan natrium hidroksida 1 M. Volume disesuaikan hingga 1 L dengan air suling dan disimpan dalam botol Duran®.

4) Stok larutan PAA/AMG (PAA (4 KU/5 mL) ditambah AMG (1,7 KU/5 mL)

Ditambahkan 0,1 g campuran bubuk PAA/AMG (Botol 1) pada 5 mL buffer natrium maleat dan diaduk dengan pengaduk magnetik selama 5 menit. Disimpan di atas es saat digunakan.

5) AMG encer.

Ditambahkan 1 mL isi botol 2 pada 30 mL 100 mM buffer asetat natrium (pH 4,5). Dicampur dengan baik dan dibagi menjadi ~ 10 mL aliquot dalam 13 mL tabung polipropilen dan disimpan di bawah -10°C antara penggunaan (AMG ~ 100 U / mL).

6). Reagen GOPOD.

Dibuat dengan mengencerkan isi botol 3 (Buffer Reagen GOPOD) hingga 1 L dengan air suling. Melarutkan isi botol 4 dalam 20 mL larutan 3 dan secara kuantitatif transfer ini ke botol yang mengandung sisa larutan 3. Tutup botol ini dengan aluminium foil untuk melindungi reagen dari cahaya.

3. Uji Kuantitatif Lactobacillus dengan metode Total Plate Count

a). Persiapan Media Pertumbuhan:

- a. Menyiapkan Media MRSA (A)
- b. Menyiapkan media MRSA dengan Penambahan 2% ekstrak Pati (B)
- c. Menyiapkan media MRSA dengan Penambahan 4% ekstrak Pati (C)
- d. Menyiapkan media MRSA dengan Penambahan 6% ekstrak Pati (D)

b). Persiapan Larutan Pengencer

Menyiapkan larutan pengencer berupa aquadest steril dalam tabung reaksi masing masing diisi 9 ml.

c). Persiapan Pengenceran Biakan Murni Lactobacillus

Dibuat pengenceran lactobacillus dengan menggunakan larutan Pengencer Aquadest Steril dengan pengenceran 10^{-1} sampai dengan 10^{-6} .

d). Pembiakan bakteri dengan metode tuang

- a. Diambil 3 (tiga) pengenceran lactobacillus tertinggi yaitu pengenceran 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7}
- b. Disiapkan media A, B, C, D masing masing 9 tabung
- c. Masing masing tingkat pengenceran dipipet 1 ml dibiakkan pada media A, B, C D dibuat replikasi 3 kali (triplo).
- d. Diinkubasi selama 24 – 48 jam dalam suasana anaerobe pada suhu 36°C
- e. Dihitung jumlah koloni yang tumbuh dengan menggunakan colony counter
- f. Total lactobacillus dihitung dengan menggunakan rumus :
Jumlah bakteri = jumlah koloni x 1/faktor pengenceran

e). Cara Perhitungan Koloni Bakteri

Menurut Fardiaz (1992) untuk melaporkan hasil analisis mikrobiologi dengan cara hitungan cawan digunakan suatu standar yang disebut Standar Plate Counts (SPC) sebagai berikut:

1. Cawan yang dipilih dan dihitung adalah yang mengandung jumlah koloni antara 30 dan 300.
2. Beberapa koloni yang bergabung menjadi satu merupakan satu kumpulan koloni yang besar dimana jumlah koloninya diragukan dapat dihitung sebagai satu koloni.
3. Satu deretan rantai koloni yang terlihat sebagai suatu garis tebal dihitung sebagai satu koloni.

f). Cara Pelaporan Hasil

Dalam SPC ditentukan cara pelaporan dan perhitungan koloni sebagai berikut:

1. Hasil yang dilaporkan hanya terdiri dari dua angka yaitu angka pertama (satuan) dan angka kedua (desimal). Jika angka yang ketiga sama dengan atau lebih besar dari 5, harus dibulatkan satu angka lebih tinggi pada angka kedua.
2. Jika pada semua pengenceran dihasilkan kurang dari 30 koloni pada cawan petri, berarti pengenceran yang dilakukan terlalu tinggi. Oleh karena itu, jumlah koloni pada pengenceran yang terendah yang dihitung. Hasilnya dilaporkan sebagai kurang dari 30 dikalikan dengan besarnya pengenceran, tetapi jumlah yang sebenarnya harus dicantumkan di dalam tanda kurung.
3. Jika pada semua pengenceran dihasilkan lebih dari 300 koloni pada cawan petri, berarti pengenceran yang dilakukan terlalu rendah. Oleh karena itu, jumlah koloni pada pengenceran yang tertinggi yang dihitung. Hasilnya dilaporkan sebagai lebih dari 300 dikalikan dengan faktor pengenceran, tetapi jumlah yang sebenarnya harus dicantumkan di dalam tanda kurung.
4. Jika pada cawan dari dua tingkat pengenceran dihasilkan koloni dengan jumlah antara 30 dan 300, dan perbandingan antara hasil tertinggi dan terendah dari kedua pengenceran tersebut lebih kecil atau sama dengan dua, dilaporkan rata-rata dari kedua nilai tersebut dengan memperhitungkan faktor pengencerannya. Jika perbandingan antara hasil tertinggi dan terendah lebih besar dari 2, yang dilaporkan hanya hasil yang terkecil.
5. Jika digunakan dua cawan petri (duplo/ triplo) per pengenceran, data yang diambil harus dari kedua cawan tersebut, tidak boleh diambil salah satu. Oleh karena itu, harus dipilih tingkat pengenceran yang menghasilkan kedua cawan duplo dengan koloni diantara 30 dan 300.

7). Uji Morfologi Bakteri

Uji morfologi dilakukan secara mikroskopis, praeparat diberi pewarnaan Gram bertujuan untuk memastikan bentuk bakteri dan sifat bakteri, apakah bakteri tersebut termasuk ke dalam kelompok bakteri Gram positif atau Gram negatif.

3. Langkah awal yang dilakukan adalah membersihkan gelas objek dengan menggunakan alkohol.
4. Mengambil 1 tetes aquadest dan diletakkan di atas gelas objek. Selanjutnya, dengan ose steril diambil koloni bakteri yang tumbuh secara dominan pada media MRSA dan dihomogenkan dibuat sediaan dengan diameter dan dikering anginkan. Setelah kering sediaan difiksasi dengan cara melewatkan 3-5 kali di atas lampu spiritus.
5. Preparat yang sudah difiksasi lalu diberi pewarnaan kristal violet selama 3 menit. Kemudian preparat dicuci dengan air mengalir.
6. Setelah dicuci, preparat digenangi lugol selama 1 menit, lalu preparat dicuci kemudian digenangi lagi dengan alkohol 96% selama 10-20 detik dan selanjutnya dicuci kembali dengan air mengalir.
7. Preparat yang sudah dicuci dengan air mengalir kemudian digenangi dengan safranin dan dibiarkan selama 1 menit. Selanjutnya, preparat dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Setelah kering, preparat ditetesi dengan minyak emersi dan diperiksa di bawah mikroskop dengan pembesaran 10x100 (Waluyo, 2007).

F. Pengolahan dan Analisis Data

Data yang diperoleh dilakukan uji statistic untuk mengetahui pengaruh penambahan ekstrak pati pisang kepok terhadap pertumbuhan lactobasillus secara in vitro.

G. Metode Penyajian Data

Data disajikan dalam bentuk diagram batang.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. PEMBUATAN EKSTRAK PISANG

Ekstraksi pisang merupakan tahap pertama yang dilakukan pada penelitian ini. Ekstraksi dilakukan sebagai preparasi sampel baik untuk analisis kandungan pati resisten, maupun untuk analisis kuantitatif mikrobiologi dengan *Lactobacillus*. Pembuatan ekstrak pisang dilakukan pada pisang kepok yang mengkal, karena diperkirakan mengandung pati resisten yang lebih tinggi dibandingkan dengan pisang kepok matang. Pemilihan pisang adalah pisang yang sudah tua dan belum menguning.

Tabel 4.1. Hasil Ekstraksi Buah Pisang

HASIL EKSTRAKSI	RENDEMEN (%)
Ekstrak akuades	9,99
Ekstrak NaOH 0,1%	10,25
Ekstrak KOH 0,1%	9,47
Ekstrak Ca(OH) ₂ 0,1%	10,20

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut akuades sebagai pelarut yang lazim digunakan dalam memroses makanan, sedangkan pelarut basa digunakan karena pati resisten mudah larut dalam basa. Hasil ekstraksi menunjukkan rendemen yang hamper sama antara ekstrak akuades dengan ekstrak basa yaitu 9,98%. Pada proses pemisahan hasil maserasi terdapat sebagian pati yang bercampur dengan getah pisang, dan sulit dipisahkan sehingga ada sebagian pati yang tidak dapat dipisahkan. Selain ekstraksi dengan pelarut basa NaOH 0,1 %, KOH 0,1%, dan Ca(OH)₂ 0,1%, pisang juga dibuat tepung pisang. Ekstrak pisang dan juga tepung pisang yang diperoleh kemudian dianalisis kandungan pati resistennya dengan metode analisis enzimatik.

B. PENENTUAN KADAR PATI RESISTEN

Sebelum dilakukan analisis kadar pati resisten perlu dilakukan percobaan pendahuluan agar larutan analit yang dianalisis masuk dalam kisaran analisis

spektrofotometri yaitu absorbansinya antara 0,2 sampai 0,8. Sampel yang digunakan pada uji pendahuluan ini adalah menggunakan sampel pisang segar yang dihaluskan dan kemudian dianalisis kadar pati resistennya, dan juga kadar pati non resisten. Berdasarkan Tabel 4.2 diperoleh hasil bahwa absorbansi sampel terlalu kecil, sehingga harus dibuat sampel yang lebih pekat. Oleh karena itu penimbangan sampel ditambah dan prosedur pengenceran yang semula menggunakan labu takar 100 ml disesuaikan menggunakan labu takar 50 ml agar absorbansinya berada pada 0,2-0,8.

Tabel 4.2. Hasil Analisis Spektrofotometer untuk Percobaan Pendahuluan

SAMPEL	ABSORBANSI
Standar 1	0,939
Standar 2	0,770
Standar 3	0,580
Standar 4	0,799
A (RS)	0,156
B (RS)	0,124
C (RS)	0,008
D (RS)	-0,012
E (non RS)	-0,012
A (non RS)	0,126
B (non RS)	0,161
C (non RS)	0,139
D (non RS)	0,123
E (non RS)	0,078

RS : pati resisten

Penetapan kadar pati resisten dilakukan pada pisang segar, tepung pisang, dan ekstrak pisang dengan pelarut basa NaOH 0,1%, KOH 0,1%, dan Ca(OH)₂ 0,1% untuk mengetahui kadar pati resisten tertinggi yang dapat ditentukan dengan metode K-RAPRS Megazyme. Setiap sampel direplikasi 3 kali dan untuk pembacaan absorbansi pada spektrofotometri direplikasi 2 kali. Hasil analisis menunjukkan hasil tertinggi kadar pati resisten adalah pada ekstrak akuades yaitu 26,07%.

Tabel 4.3. Hasil Analisis Kadar PAti Ressten

SAMPEL	PENIMBANGAN (g)	ABS 1	ABS 2	RATA-RATA ABS	KADAR (%)
akuadest 1	100,7	0,63	0,852	0,7410	32,1176
akuadest 2	100,7	0,126	0,159	0,1425	6,1765
akuadest 3	101	0,486	0,441	0,4635	20,0301
NaOH 1	100,5	0,399	0,378	0,3885	16,8725
NaOH 2	100,5	0,605	0,545	0,5750	24,9721
NaOH 3	100,2	0,432	0,406	0,4190	18,2516
KOH 1	100,5	0,06	0,062	0,0610	2,6492
KOH 2	100,5	0,013	0,022	0,0175	0,7600
KOH 3	100,8	0,258	0,292	0,2750	11,9076
CaOH 1	100,4	0,563	0,585	0,5740	24,9535
CaOH 2	100,1	0,383	0,433	0,4080	17,7902
CaOH 3	100,7	0,376	0,398	0,3870	16,7739
pisang segar 1	497	0,896	0,935	0,9155	8,0400
pisang segar 2	499,9	0,832	0,854	0,8430	7,3603
pisang segar 3	493,3	0,426	0,437	0,4315	3,8179
tepung 1	100,1	0,411	0,371	0,3910	17,0489
tepung 2	100,1	0,335	0,36	0,3475	15,1522
tepung 3	100,1	0,015	0,005	0,0100	0,4360

C. UJI KUANTITATIF LACTOBACILLUS DENGAN METODE TOTAL PLATE COUNT

Berikut merupakan hasil uji total bakteri kultur murni *Lactobacillus acidophilus* FNC 0051 yang ditumbuhkan pada media MRSA dengan inkubasi 72 jam pada suhu 31°C

Tabel 4. 4 Hasil Uji Total *Lactobacillus acidophilus*

Perlakuan	Jumlah Bakteri (CFU)
Kontrol tanpa penambahan ekstrak pati pada media	2.3 x 10 ⁸
Penambahan 2% ekstrak pati pada media	9.5 x 10 ⁸
Penambahan 4% ekstrak pati pada media	1.2 x 10 ⁸
Penambahan 6% ekstrak pati pada media	7.3 x 10 ⁷

Pada table 4.4 menunjukkan bahwa penambahan ekstrak pati pisang kapok sebanyak 2% pada media MRSA dapat meningkatkan bakteri sebanyak 7,2 x 10⁸ (303 %). Adapun penambahan ekstrak pati 4 dan 6% cenderung menurunkan jumlah bakteri.

Ekstrak pati pisang kepok yang digunakan mengandung pati resisten sebanyak 26,07%. Penambahan 2% ekstrak pati pada 68,2 gram MRSA dan dilarutkan dalam 1000 ml aquadest, dapat diartikan bahwa dalam 1000 ml MRSA terdapat sebanyak 1,364 gram ekstrak pati 0,36 gram pati resisten .

Pati Resisten/ Resisten Starch merupakan bagian dari pati yang tidak dicerna usus halus manusia sehingga memasuki usus besar yang sebagian atau seluruhnya difermentasi oleh bakteri dalam usus besar. *Lactobacillus* merupakan bakteri baik yang habitatnya dalam usus besar, bakteri tersebut merupakan salah satu yang memanfaatkan pati resisten sebagai substrat dalam fermentasi di usus. Pati Resisten dengan konsentrasi 0,35/1000 ml MRSA mampu merangsang pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus* dengan optimal.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

1. Metode analisis kadar pati resisten lebih baik dipreparasi dengan metode ekstraksi dengan pelarut air
2. Penambahan Ekstrak Pati yang Optimal untuk menumbuhkan bakteri *Lactobacillus acidophilus* pada media MRSA sebesar 2%

B. SARAN

1. Perlu dilakukan uji lanjutan dengan menggunakan bakteri probiotik yang berbeda
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang pembuatan produk suplemen dengan bahan dasar ekstrak pati untuk memperkuat kesehatan usus
3. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk membuktikan bahwa bakteri probiotik mampu menolak kehadiran bakteri usus patogen.

BIAYA DAN JADWAL PENELITIAN

A. Biaya Penelitian

Anggaran biaya pada penelitian ini disajikan pada tabel 4.1

Tabel 4.1. Anggaran Biaya Penelitian

No	Jenis Pengeluaran	Biaya yang Diusulkan (Rp)
1	Honorarium pembantu peneliti utk pembuatan ekstrak pati (2 orang x 5jam x 12hari) x Rp. 25.000)	2.800.000
2	Belanja Bahan	19.033.000
3	Ethical clearance	0.300.000
	Jasa Lahan tempat penelitian (termasuk peminjaman alat alat laboratorium untuk ekstraksi dan uji laboratorium)	2.800. 000
4	Lain-lain (administrasi, publikasi, dll)	5.000.000
	Jasa Analisis	4.320.000
	haki	400.000
Jumlah		29.653.000

B. Jadwal Kegiatan

Tabel 4.2. Jadwal Penelitian

No	Kegiatan	Semester pertama						Semester kedua					
		Jan	Feb	Mar	Apr	Mei	Juni	Jul	Ags	Sept	Okt	Nov	Des
1	Penyusunan usulan penelitian (proposal)												
2	Uji instrumen penelitian												
3	Persiapan bahan penelitian												
4	Pengambilan data												
5	Analisis data												
6	Penulisan laporan												
7	Penulisan hasil penelitian												

DAFTAR PUSTAKA

- American Association of Cereal Chemist (AACC). 2001. *The Definition of Dietary Fiber*. Cereal Foods. World. Ari Yuniastuti. PROBIOTIK (Dalam Perspektif Kesehatan).2014
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan I*. Gramedia Pustaka, Jakarta. (halaman 123 – 127).
- Gibson, G.R. and M.B. Roberfroid. 1995. Dietary Modulation of Human Clonic Microbiota: Introduction The Concept of Prebiotic. *J. Nutr.* 125: 1401-1412.
- Haralampu, S.G. 2000. Resistant Starch- A Review of The Physical Properties and Biological Impact of RS. *J. Carbohydr. Polym.* 41 : 285-292.
- Anonim <http://eprints.uny.ac.id/8171/3/bab%20%20-%2007308141022.pdf>.
- Judoamidjojo, M. dan A.A. Darwis. 1990. *Teknologi Fermentasi*. Institut Pertanian Bogor Press, Bogor
- Munadjim, Teknologi Pengolahan Pisang, Gramedia, Jakarta, 1988
- Prastyaharasti ., Zubaidah E., EVALUASI PERTUMBUHAN *Lactobacillus casei* DALAM MEDIUM SUSU SKIM YANG DISUBSTITUSI TEPUNG BERAS MERAH., *Jurnal Pangan dan Agroindustri Vol. 2 No 4 p.285-296, Oktober 2014*
- Musita, 2009, Kajian Kandungan Dan Karakteristik Pati Resisten Dari Berbagai Varietas Pisang, *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian Volume 14, No. 1 hal 68 – 79*
- Prastyaharasti ., Zubaidah E., EVALUASI PERTUMBUHAN *Lactobacillus casei* DALAM MEDIUM SUSU SKIM YANG DISUBSTITUSI TEPUNG BERAS MERAH., *Jurnal Pangan dan Agroindustri Vol. 2 No 4 p.285-296, Oktober 2014*
- Putra, Y.S. 2015. Isolasi bakteri asam laktat (BAL) pada feses orangutan sumatra (*Pongo abelli*) di Kebun Binatang Bukittinggi Sumatra Barat. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh
- Tambekar, D. H. and Bhutada, S. A. 2010. Studies on antimicrobial activity and characteristics of bacteriocins produced by *Lactobacillus* strains isolated from milk of domestic animals. *The Internet J Microbiol.* 8:1-6.
- Waluyo. 2007. *Mikrobiologi Umum*. UMM Press, Malang.
- Wibowo, P Isolasi Pati Dari Pisang Kepok Dengan Menggunakan Metode *Alkaline*. *Widya Teknik Vol. 7, No. 2, 2008 (113-123)*
- Widyadnyana, D.G.A., I.D.M. Sukrama dan I.W. Suardana. 2015. Identifikasi bakteri asam laktat isolat 9A dari kolon sapi bali sebagai probiotik melalui analisis gen 16S rRNA. *JSV.* 33(2): 228-233.
- Davari-Davari, D., et. al., 2019, Prebiotics: Definition, Types, Sources, Mechanism, and Clinical Applications, *Foods*, Mar; 8(3): 92

- Musita, N., 2012, Kajian Kandungan dan Karakteristiknya Pati Resisten dari berbagai Varietas Pisang, *Jurnal Dinamika Penelitian Industri*, Vol. 23, No. 1: 57-65
- Hardisari, R., Amaliawati, N., 2016, Manfaat Prebiotik Tepung Pisang Kepok (*Musa paradisiaca formatypica*) terhadap Pertumbuhan Probiotik *Lactobacillus Casei* secara In Vitro, *Jurnal Teknologi Laboratorium*, Vol. 5, No. 2: 64-67

LAMPIRAN

Pembuatan Tepung Pisang Kepok



Sampel Pisang kepok



Proses Grinding



Hasil tepung pisang

Pembuatan Ekstrak tepung pisang



Proses maserasi



Proses maserasi



Proses maserasi



Proses pemisahan ekstrak



Proses pemisahan ekstrak



Hasil ekstrak akuades



Hasil Ekstrak CaOH



Hasil Ekstraksi KOH



Hasil Ekstrak NaOH

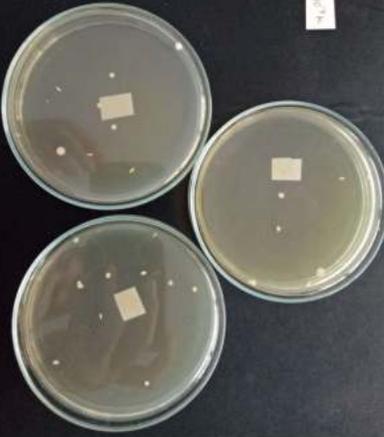
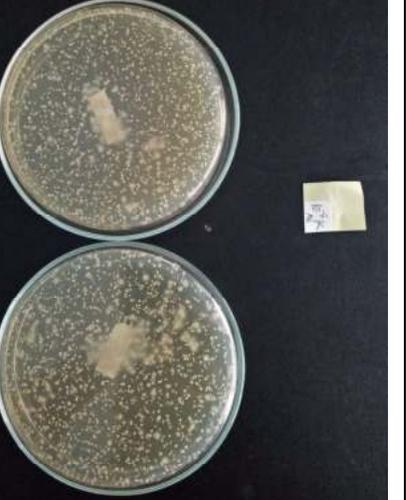
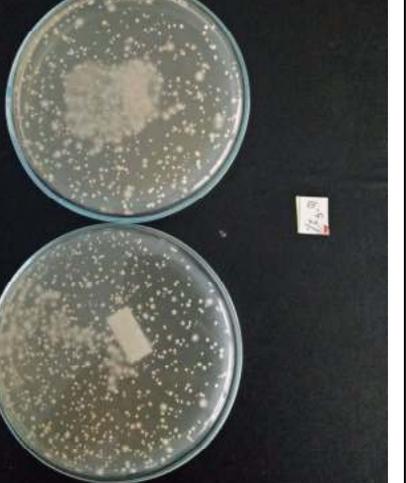
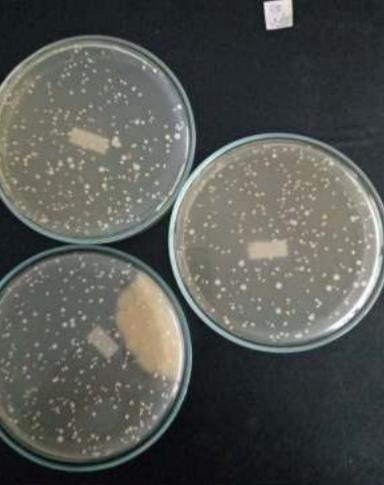
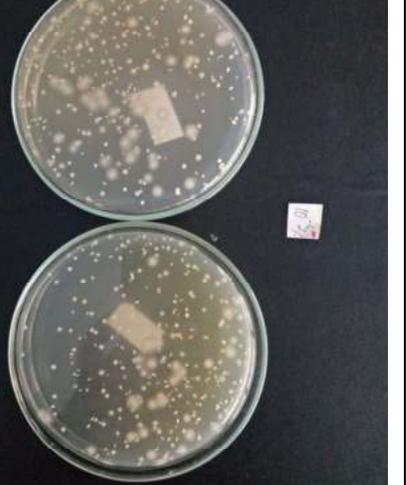
Analisis Pati Resisten

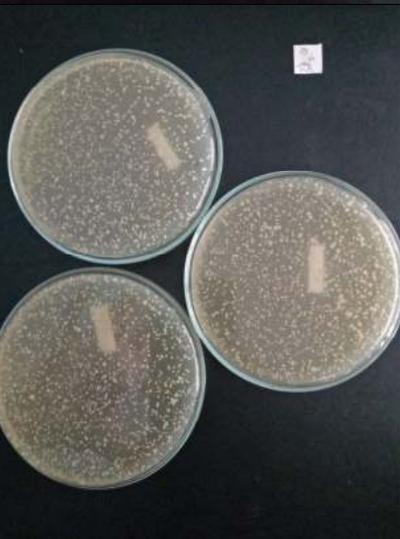
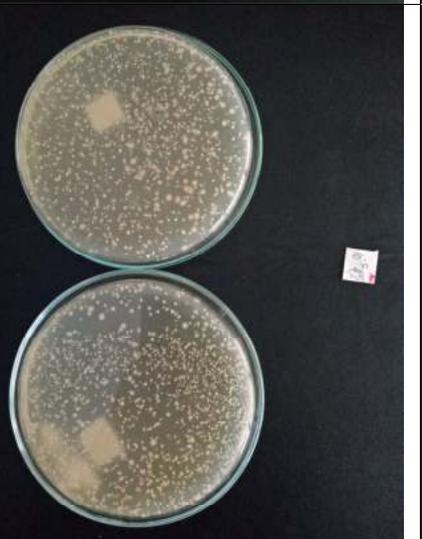


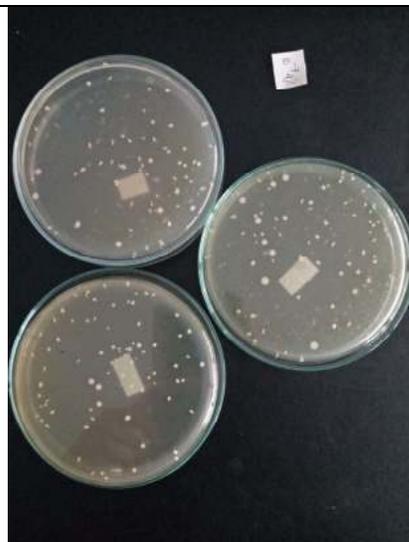
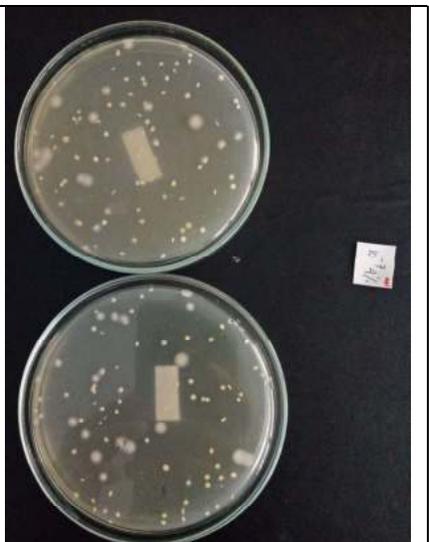
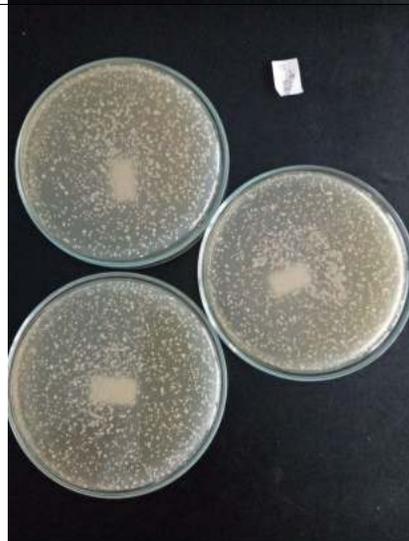
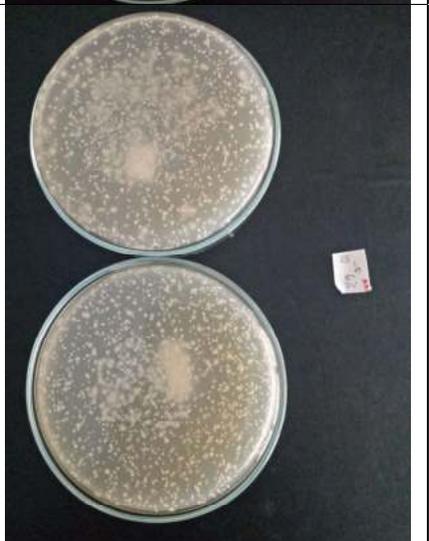


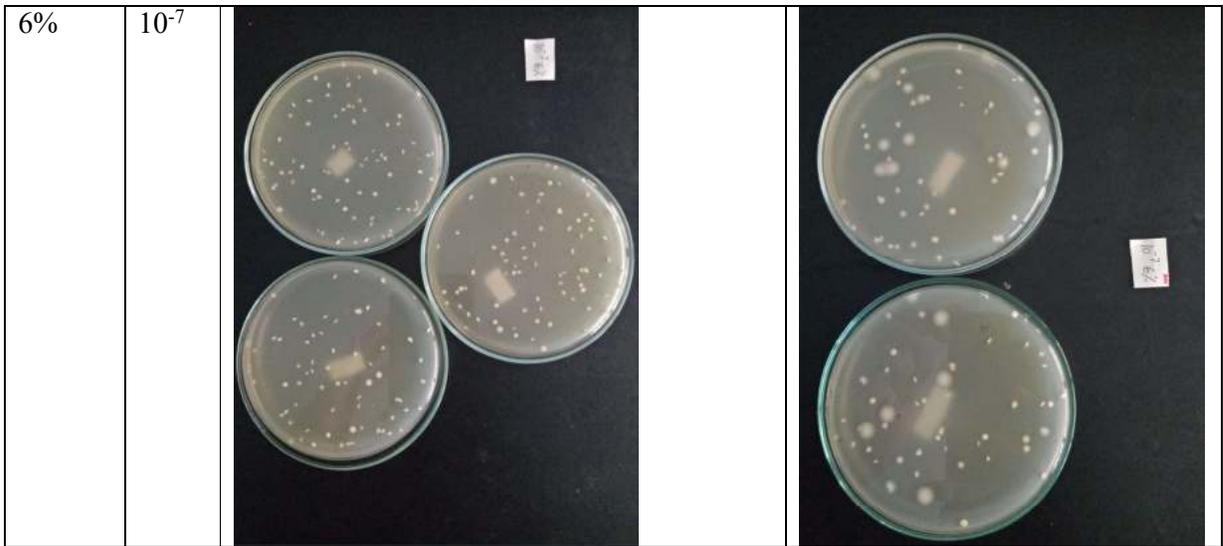
Uji Pertumbuhan Bakteri

Media	Pengenceran	Inkubasi Aerob	Inkubasi Anaerob
Kontrol	10^{-5}		
Kontrol	10^{-6}		

Kontrol	10^{-7}			
2%	10^{-5}			
2%	10^{-6}			

2%	10^{-7}			
4%	10^{-5}			
4%	10^{-6}			

4%	10^{-7}			
6%	10^{-5}			
6%	10^{-6}			



Pembuatan Media



Pembuatan Media



Sterilisasi Media



Inokulasi peremajaan kultur



Inkubasi permajaan kultur



Hasil peremajaan kultur



Inkubasi kondisi aerob



Inkubasi kondisi anaerob