

PATI RESISTEN SAGU HASIL PROSES HIDROLISIS ASAM DAN AUTOCLAVING-COOLING

[Resistant Starch of Sago from Acid Hydrolysis and Autoclaving-Cooling Processes]

Feri Kusnandar^{1)*}, Heru Pitria Hastuti²⁾, dan Elvira Syamsir¹⁾

¹⁾ Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor

²⁾ Program Studi Magister Ilmu Pangan, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor

Diterima 28 Januari 2015 / Disetujui 27 Mei 2015

ABSTRACT

The aim of this study was to produce resistant starch (RS) from a combination of acid hydrolysis and autoclaving-cooling processes of sago starch. This study compared two methods of starch modification to produce RS, i.e. (1) acid hydrolysis treatment followed by autoclaving-cooling cycles (AH-AC), and (2) autoclaving-cooling cycles followed by acid hydrolysis treatment (AC-AH). The acid hydrolysis used 1 and 2% HCl while autoclaving-cooling process consisted of three-cycle of autoclaving at 121°C for 30 min followed by cooling at 4°C for 72 hrs. Both AH-AC and AC-AH modification methods decreased starch content, altered amylose and amylopectin ratio, and increased RS contents. Both modification methods also yielded nearly flat pasting profiles at both heating and cooling phases as compared to that of native sago starch. At the same HCl concentration, the AH-AC process yielded a higher RS content than that of AC-AH. Among all treatments, the acid hydrolysis treatment using 1% HCl followed by three cycles of autoclaving-cooling process yielded the highest RS content (74.28%). The crystallinity of RS was also lower than of native sago starch, but its A crystalline type remained the same.

Keywords: acid hydrolysis, autoclaving-cooling cycles, resistant starch, sago starch

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan memproduksi pati resisten dari sago yang dihidrolisis asam dan diproses *autoclaving-cooling* dengan membandingkan dua pendekatan metode modifikasi pati, yaitu (1) proses hidrolisis asam yang diikuti dengan proses *autoclaving-cooling* (AH-AC), dan (2) proses *autoclaving-cooling* yang diikuti dengan hidrolisis asam (AC-AH). Perlakuan hidrolisis asam menggunakan HCl 1 dan 2%, proses *autoclaving* menerapkan tiga siklus proses pada suhu 121°C selama 30 menit, dan diikuti perlakuan pendinginan pada 4°C selama 72 jam. Kedua metode modifikasi pati sago (AH-AC dan AC-AH) menurunkan kadar pati, mengubah rasio amilosa dan amilopektin, dan meningkatkan kandungan pati resisten. Semua perlakuan menghasilkan profil *pasting* yang hampir tidak terdeteksi pada fase pemanasan dan pendinginan dibandingkan pati sago alami. Pada konsentrasi HCl yang sama, metode AH-AC menghasilkan kadar pati resisten lebih tinggi dibandingkan metode AC-AH. Perlakuan hidrolisis asam dengan HCl 1% yang diikuti dengan tiga siklus *autoclaving-cooling* menghasilkan kadar pati resisten paling tinggi (74,28%). Perlakuan tersebut menurunkan kristalinitas dibandingkan pati sago alaminya, namun tidak mengubah tipe kristalinitasnya (tipe A).

Kata kunci: hidrolisis asam, pati resisten, pati sago, siklus *autoclaving-cooling*

PENDAHULUAN

Pati resisten merupakan fraksi dari pati yang tidak dapat dicerna oleh enzim pencernaan (α -amilase) dalam usus halus manusia tetapi masih dapat difermentasi oleh mikroflora usus untuk menghasilkan asam lemak rantai pendek (Englyst *et al.*, 1992). Sajilata *et al.* (2006) menyatakan bahwa pati

resisten dapat berperan dalam mengurangi risiko timbulnya kanker kolon, mempunyai efek hipoglikemik, berperan sebagai prebiotik, mengurangi risiko pembentukan batu empedu, dan mempunyai efek hipokolesterolemik. Pati resisten juga memiliki nilai kalori yang rendah (Bauer *et al.*, 2005) sehingga dapat dijadikan sebagai ingredien pangan yang rendah kalori (Taggart, 2004).

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

Pati resisten digolongkan ke dalam empat tipe sebagai berikut: RS1 (pati yang secara fisik terperangkap dalam sel-sel tanaman dan matriks dalam bahan pangan, di antaranya pati dari biji-bijian dan sereal yang digiling kasar), RS2 (granula asli atau pati yang tidak digelatinisasi, seperti pati pada kentang dan pisang mentah); RS3 (pati teretrogradasi yang diproses dari pati tergelatinisasi yang disimpan pada suhu dingin); dan RS4 (pati yang dihasilkan dari proses modifikasi kimia) (Thompson, 2000; Haralampu, 2000; Bird *et al.*, 2009). Di antara keempat jenis pati resisten tersebut, pati RS3 merupakan yang banyak dikembangkan dan berpotensi diaplikasikan dalam produk pangan. Pati resisten RS3 dapat diproses dari berbagai sumber pati, di antaranya yaitu pati beras (Shi dan Gao, 2011), pati jagung (Ozturk *et al.*, 2011), pati singkong (Onyango *et al.*, 2006), pati pisang (Nasrin dan Anal, 2014), dan pati barley (Kim *et al.*, 2013).

Kadar amilosa tampaknya merupakan faktor utama yang berperan dalam pembentukan pati resisten RS3. Peningkatan kadar amilosa menyebabkan meningkatnya kadar pati resisten seperti yang dilaporkan oleh Escarpa *et al.*, 1996, karena amilosa lebih mudah mengalami retrogradasi selama pendinginan (Luckett dan Wang, 2012). Oleh karena itu, proses modifikasi pati untuk meningkatkan kadar RS3 biasanya dilakukan dengan meningkatkan kadar amilosa melalui pemotongan amilopektin, sehingga lebih banyak pati yang mudah mengalami retrogradasi. Beberapa penelitian juga menunjukkan bahwa pembentukan pati resisten dipengaruhi oleh suhu dan waktu pemanasan (Onyango *et al.*, 2006).

Hidrolisis parsial atau lintnerisasi (Aparicio-Saguilán *et al.*, 2005), dan atau proses pemanasan bertekanan (*autoclaving*) yang dikombinasikan dengan pendinginan merupakan teknik produksi pati resisten yang banyak diterapkan dalam pembentukan pati resisten (Zhongdong *et al.*, 2005). Ketika dispersi pati dipanaskan, amilosa terlarut dan gel pati terbentuk. Setelah pendinginan, gel mengalami retrogradasi yang mengarah pada pembentukan struktur kristal. Selama retrogradasi ini, amilosa menyatu kembali untuk membentuk kristalin yang kuat (Haralampu, 2000).

Metode produksi pati resisten biasanya dengan proses hidrolisis enzim/asam parsial dan perlakuan hidrotermal, retrogradasi, ekstrusi dan modifikasi kimia (Charalampopoulos *et al.*, 2002). Szczodrak dan Pomeranz (1991); Ozturk *et al.* (2011), melaporkan pemanasan bertekanan pada suhu 121°C yang dilanjutkan dengan pendinginan (*autoclaving-cooling*) dapat digunakan untuk memproduksi pati resisten. Pada pati dengan kadar amilosa rendah, proses *debranching-autoclaving*

diketahui dapat meningkatkan kadar pati resisten (Gonzalez-soto *et al.*, 2006). Dundar dan Gocmen (2013) melaporkan bahwa waktu penyimpanan suhu rendah yang diperpanjang dari 24 menjadi 72 jam menyebabkan kadar pati resisten meningkat. Szczodrak dan Pomeranz (1991) melaporkan bahwa pati gandum yang diproses dengan tiga kali siklus *autoclaving-cooling* menghasilkan kadar pati resisten yang lebih tinggi dibandingkan dengan pati gandum yang diproses dengan satu siklus *autoclaving-cooling*.

Pada proses *autoclaving-cooling*, pembentukan pati resisten terjadi dengan cara retrogradasi pati yang terjadi saat pati yang telah tergelatinisasi disimpan pada suhu dingin. Oleh karena itu, proses pemanasan suhu tinggi (*autoclaving*) dan pendinginan (*cooling*) dilakukan untuk memfasilitasi proses retrogradasi tersebut. Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa proses *autoclaving-cooling* secara berulang menyebabkan pati teretrogradasi lebih banyak terbentuk yang ditunjukkan dari meningkatnya kadar pati resistennya (Shi dan Gao, 2011; Ozturk *et al.*, 2011; Nasrin dan Anal, 2014; Kim *et al.*, 2013). Szczodrak dan Pomeranz (1991) melaporkan bahwa jumlah siklus pemanasan bertekanan-pendinginan juga mempengaruhi kadar pati resisten yang dihasilkan. Pati gandum yang diproses dengan tiga kali siklus pemanasan bertekanan-pendinginan meningkat kadar pati resistennya menjadi 7,8% bila dibandingkan hanya satu kali siklus (6,2%). Demikian juga pati resisten dari biji *barley* meningkat kandungan pati resistennya dari 6% menjadi 26% setelah melewati 20 kali siklus pemanasan bertekanan-pendinginan.

Menurut Zhao dan Lin (2009), amilopektin dapat dihidrolisis oleh asam atau enzim (Pongjanta *et al.*, 2009; Ozturk *et al.*, 2009), untuk membentuk molekul pati linier, seperti amilosa. Pemotongan titik percabangan amilopektin dengan hidrolisis asam terjadi dalam dua tahap penyerangan pada granula pati, yaitu tahap penyerangan secara cepat pada daerah amorf, dan tahap penyerangan yang lebih lambat terhadap fraksi amilopektin di daerah kristalin (Ferrini *et al.*, 2008; Jayakody dan Hoover, 2008). Hidrolisis enzimatis memutuskan ikatan percabangan (*debranching*) oleh pullulanase yang terjadi pada ikatan glikosidik α -1,6 secara acak pada bagian dalam (Sajilata *et al.*, 2006). Hidrolisis asam tidak bekerja secara spesifik seperti halnya hidrolisis enzim, sehingga tidak hanya rantai amilopektin yang dapat diputus tapi juga dapat memutuskan rantai amilosa menjadi amilosa berantai pendek, seperti yang dilaporkan oleh Jacobash *et al.* (2006), bahwa proses hidrolisis pati jagung kaya amilosa menghasilkan fraksi berbobot molekul rendah dengan panjang rantai α -1,4-D-glukan antara 10-40 unit anhidroglukosa sehingga pada saat retrogradasi

dihasilkan RS3 yang cukup tinggi. Pongjanta *et al.* (2009) dan Ozturk *et al.* (2009) juga menyatakan bahwa semakin banyak fraksi amilosa berantai pendek, maka semakin banyak kemungkinan untuk meningkatkan pembentukan RS3 selama proses *autoclaving-cooling*.

Penelitian terdahulu menunjukkan perbedaan dalam tahapan proses pembuatan pati resisten. Kombinasi *autoclaving-cooling* yang dilanjutkan dengan hidrolisis asam dilaporkan oleh Zhao dan Lin (2009), yaitu pati jagung kaya amilosa mengalami peningkatan kandungan pati resisten dari 29,7% menjadi 39%. Penelitian lain yang dilaporkan oleh Ozturk *et al.* (2011) menerapkan proses hidrolisis asam yang diikuti dengan proses *autoclaving-cooling*, dimana pati jagung kadar pati resistennya meningkat dari 0% menjadi 38,7%. Namun, dari beberapa penelitian belum ada yang membandingkan kedua urutan kombinasi modifikasi pati tersebut secara langsung dengan sumber pati yang sama. Sumber pati lokal yang memiliki potensi untuk diproses menjadi pati resisten adalah sagu. Sagu memiliki kadar amilosa 27,45% (Jading *et al.*, 2011). Untuk meningkatkan kadar pati resisten, maka proses hidrolisis asam dan *autoclaving-cooling* dapat diterapkan. Namun, proses mana yang sesuai perlu ditentukan tahapan, apakah proses hidrolisis asam dilanjutkan dengan *autoclaving-cooling*, atau sebaliknya. Diduga pati yang dihidrolisis asam, kemudian diretrogradasi dapat meningkatkan jumlah pati resisten lebih tinggi dibandingkan dengan pati yang diretrogradasi lalu dihidrolisis asam. Namun, karena beberapa penelitian melaporkan bahwa masing-masing dari kedua metode tersebut dapat meningkatkan kadar pati resisten, maka perlu dilakukan penelitian yang membandingkan kedua metode dengan sumber pati yang sama.

Penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan kadar pati resisten dari sagu yang diproses dengan kombinasi metode hidrolisis asam dan *autoclaving-cooling*. Penelitian ini membandingkan antara metode modifikasi yang diawali dengan hidrolisis asam dan dilanjutkan dengan proses *autoclaving-cooling* dengan metode modifikasi yang diawali dengan proses *autoclaving-cooling* yang dilanjutkan dengan hidrolisis asam.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pati sagu yang berasal dari daerah

Masamba-Sulawesi Selatan dan bahan kimia lainnya untuk analisis.

Metode penelitian

Penelitian untuk menghasilkan pati resisten dilakukan dengan dua metode perlakuan, yaitu (1) proses hidrolisis asam yang dilanjutkan dengan *autoclaving-cooling* (HA-AC), dan (2) proses *autoclaving-cooling* yang dilanjutkan dengan hidrolisis asam (AC-HA). Kedua metode modifikasi tersebut menggunakan HCl 1 dan 2% (Merck, Germany) pada suhu 40°C selama 24 jam untuk proses hidrolisis asam, tiga siklus pemanasan (*autoclaving*) pada suhu 121°C selama 30 menit dan tiga siklus pendinginan (*cooling*) pada suhu 4°C selama 72 jam. Sebagai pembanding digunakan pati sagu alami (*native*), pati yang hanya diberi perlakuan HCl 1 dan 2% (HA1 dan HA2%), dan pati yang hanya diberi perlakuan tiga siklus *autoclaving-cooling* (AC).

Pati resisten yang dihasilkan dianalisis kadar pati (AOAC, 1984), kadar amilosa dan amilopektin (AOAC, 1995), kadar pati resisten (Englyst *et al.*, 1992) dan profil *pasting* (AACC, 2009). Kandungan pati resisten digunakan sebagai parameter analisis untuk menentukan metode modifikasi yang terbaik. Parameter lain yang diamati (terutama untuk pati resisten yang terpilih) adalah kristalinitas dengan difraksi sinar X, dan struktur mikroskopis pati dengan SEM.

Perlakuan hidrolisis asam dilanjutkan *autoclaving-cooling* (Ozturk *et al.*, 2011)

Pati sagu (500 g) ditambahkan 2 L HCl (1 dan 2%) (Merck, Germany), kemudian diinkubasi di dalam *waterbath shaker* (GFL D-30938, Germany) 40°C selama 24 jam. Bubur pati yang telah diberi perlakuan asam kemudian dinetralkan dengan NaOH 1 M (Merck, Germany). Suspensi pati kemudian disimpan dalam refrigerator pada suhu 4°C selama 24 jam, dikeringkan oven (Thermolyne, oven series 9000) pada suhu 45°C, digiling dan disaring dengan saringan 100 Mesh. Suspensi pati sagu hasil hidrolisis asam (500 g) kemudian dicampur dengan 2 L air suling (rasio 1:4 b/v), dimasukkan ke dalam kemasan kaleng (UnitedCan, Indonesia), dan diberi perlakuan siklus *autoclaving-cooling* dalam autoklaf (Autoclave VS-1221, Vision Scientific co., Ltd. Korea) pada suhu 121°C selama 30 menit. Pasta dari pati yang diautoklaf dibiarkan dingin sampai suhu kamar, disimpan pada suhu 4°C selama 72 jam. Proses *autoclaving-cooling* diulang tiga kali, kemudian dikeringkan pada oven 45°C, diayak, dan disaring dengan saringan 100 mesh.

Perlakuan *autoclaving-cooling* dilanjutkan hidrolisis asam (Dundar dan Gocmen, 2013)

Pati sagu (500 g) dicampur dengan 2 L air suling (rasio 1:4), dimasukkan ke dalam kemasan kaleng dan diberi perlakuan *autoclaving-cooling* di dalam autoklaf (Autoclave VS-1221, Vision Scientific co., Ltd. Korea) pada suhu 121°C selama 30 menit. Pasta pati hasil proses *autoclaving* dibiarkan dingin hingga mencapai suhu kamar, kemudian disimpan dalam *refrigerator* pada suhu 4°C selama 72 jam. Proses *autoclaving-cooling* diulang tiga kali, kemudian dikeringkan dengan oven (Thermolyne, oven series 9000) pada suhu 45°C dan diayak, disaring melalui saringan 100 Mesh. Selanjutnya pati didispersikan dalam HCl (1 dan 2%) dengan perbandingan 1:4 (b/v) dan diinkubasi dalam *waterbath shaker* (GFL D-30938, Germany) pada suhu 40°C selama 24 jam. Bubur pati yang diberi perlakuan asam dinetralkan menggunakan NaOH 1 M. Sampel disimpan pada suhu 4°C selama 24 jam, kemudian dikeringkan pada oven 45°C, digiling dan disaring dengan saringan 100 mesh.

Analisis kadar pati (AOAC, 1984)

Sebanyak 3 g sampel pati dicuci dengan menggunakan 30 ml etanol 80% secara maserasi selama 15 menit untuk menghilangkan gula-gula sederhana pada suhu kamar. Suspensi disaring dengan kertas saring dan residu dicuci dengan akuades sampai volume filtrat mencapai 250 mL. Residu kertas saring dicuci 5 kali dengan 10 mL eter untuk menghilangkan lemak. Selanjutnya sampel dibiarkan untuk menguapkan eter, kemudian dicuci lagi dengan 150 mL alkohol 10% untuk membebaskan lebih lanjut karbohidrat yang terlarut. Residu pada kertas saring kemudian dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 50°C selama 3-4 jam. Sampel bebas lemak dan gula sederhana ini selanjutnya digunakan dalam analisis kadar total pati dan kadar RS. Sebanyak 1 g sampel dimasukkan ke dalam tabung ulir 50 mL dan ditambahkan 5 mL HCl 25%. Setelah dihidrolisis selama 2 jam dalam penangas air mendidih, sampel didinginkan dan dinetralkan dengan NaOH 40%, lalu ditambahkan 5 mL Pb asetat. Suspensi pati disaring, dilarutkan dalam akuades dan diambahkan natrium oksalat hingga 100 mL. Sebanyak 5 mL filtrat kemudian dipipet ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 5 mL reagen antron, lalu dididihkan selama 10 menit dalam penangas air. Setelah didinginkan pada air mengalir, sampel kemudian diukur absorbansinya dengan UV-VIS spektrofotometer (UV-160, Shimadzu Japan) pada panjang gelombang 630 nm. Absorbansi yang diperoleh diplotkan pada kurva standar, dan kadar pati dihitung berdasarkan hubungan absorbansi contoh dengan kurva standar.

Analisis kadar amilosa (AOAC, 1995)

Sebanyak 1 g sampel pati dimasukkan ke dalam tabung ulir 50 mL. Setelah itu ditambahkan 9 mL NaOH 1 M dan 1 mL etanol lalu divortex. Larutan dipanaskan dalam penangas air mendidih selama 30 menit, kemudian diencerkan hingga 100 mL. Sebanyak 0,25 mL sampel dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL lalu ditambahkan dengan larutan asam asetat dan KI/Iod masing-masing 0,5 mL dan ditambahkan dengan akuades sampai batas tera. Campuran dikocok dan dibiarkan selama 20 menit, kemudian diukur absorbansinya dengan UV-VIS spektrofotometer (UV-160, Shimadzu Japan) pada panjang gelombang 620 nm. Absorbansi yang diperoleh diplotkan pada kurva standar dan kadar amilosa dihitung berdasarkan hubungan absorbansi contoh dengan kurva standar.

Analisis pati resisten (Englyst et al., 1992)

Sebanyak 3 g sampel pati dicuci dengan menggunakan 30 mL etanol 80% secara maserasi selama 15 menit untuk menghilangkan gula-gula sederhana pada suhu kamar. Suspensi disaring dengan kertas saring dan residu dicuci dengan akuades sampai volume filtrat mencapai 250 mL. Residu kertas saring dicuci 5 kali dengan 10 mL eter untuk menghilangkan lemak. Selanjutnya sampel dibiarkan untuk menguapkan eter, kemudian dicuci lagi dengan 150 mL alkohol 10% untuk membebaskan lebih lanjut karbohidrat yang terlarut. Residu pada kertas saring kemudian dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 50°C selama 3-4 jam. Sampel bebas lemak dan gula sederhana ini selanjutnya digunakan dalam analisis kadar total pati dan kadar RS.

Selanjutnya, 100 mg sampel bebas lemak ditambahkan 2,0 mL buffer Na-Asetat 0,1 M (pH 5,2), dipanaskan dalam penangas air mendidih selama 30 menit, kemudian didinginkan sampai suhu 37°C. Sebanyak 0,5 mL enzim campuran (pankreatin (Sigma, Germany) dan amiloglukosidase (Sigma, USA)) ditambahkan ke dalam suspensi tersebut, kemudian diinkubasi pada 37°C. Setelah dibiarkan selama 120 menit, sebanyak 1 mL sampel ditambahkan 2 mL pereaksi DNS. Setelah itu sampel dipanaskan dalam penangas air mendidih selama 10 menit lalu didinginkan pada suhu ruang. Larutan sampel selanjutnya diukur absorbansinya dengan UV-VIS spektrofotometer (UV-160, Shimadzu Japan) pada panjang gelombang 550 nm. Pati yang dapat dicerna dinyatakan sebagai total pati yang dicerna dalam waktu 120 menit. Pati yang dapat dicerna dihitung dengan cara yang sama dengan total pati, hanya absorbansinya diperoleh pada pengukuran pati resisten setelah periode waktu tersebut). Kadar pati resisten diperoleh dari

persentase pengurangan kadar pati dengan pati yang dapat dicerna terhadap kadar pati.

Analisis profil pasting (AACC, 2009)

Profil *pasting* dari sampel diukur menggunakan RVA (Tecmaster, Newport Scientific, Australia) dengan metode AACC 61-02.01. Secara berturut-turut, sebanyak 25 mL air akuades dan 3 g sampel (basis kering) dimasukkan ke dalam RVA *canister*. Kemudian *canister* dimasukkan ke dalam alat dan dilakukan pengadukan sampel dan air dengan kecepatan 960 rpm selama 10 detik. Pada tahap pengukuran awal campuran diaduk dengan kecepatan 160 rpm dan suhu dipertahankan pada 50°C selama 1 menit. Suhu kemudian dinaikkan dari 50 ke 95°C dalam waktu 3,5 menit dan dipertahankan pada kondisi tersebut selama 2,5 menit. Suhu diturunkan kembali ke 50°C dalam waktu 3,5 menit dan kemudian dipertahankan selama 5 menit. Parameter-parameter yang diukur meliputi viskositas puncak/*peak viscosity* (PV), viskositas minimum/*trough* (T), *breakdown* (BD=PV-T), viskositas akhir/*final viscosity* (FV), dan *setback* (SB=FV-PV). Semua nilai viskositas dinyatakan dalam cP dan setiap sampel diukur sebanyak dua kali.

Struktur mikroskopik pati

Sampel pati resisten disiapkan dengan cara ditabur di atas stub, kemudian dilapis dengan alat *ion coater* iB2 selama 5 menit dengan *ion current* 6 mikroampere. Setelah itu diamati dengan SEM JEOL JSM 5310 LV. Pengamatan dilakukan pada pembesaran 1000 kali.

Derajat kristalinitas (Li dan Gao, 2010)

Derajat kristalinitas diukur dengan difraksi X-ray (XRD-7000 Shimadzu). Sampel pati didiamkan dalam kondisi kelembaban relatif jenuh selama 24 jam pada suhu ruang, kemudian diukur dengan difraktometer sinar-X. Sampel diukur pada daerah *scanning* yang berdifraksi 2θ (4-35°) dengan tegangan target 40 kV dan target arus 30 mA dengan kecepatan *scanning* rata-rata sebesar 8° per menit. Kristalinitas relatif dihitung sebagai rasio daerah kristalin dan daerah amorf dari difraktogram sinar-X.

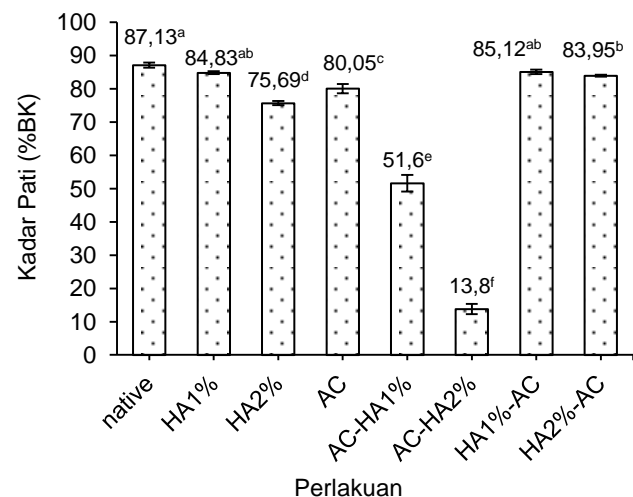
Rancangan percobaan

Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap dengan tiga ulangan. Data diolah analisis ragamnya dengan menggunakan software SPSS 15 dan dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan (DMRT, *Duncan's Multiple Range Test*) untuk mengetahui perbedaan diantara perlakuan tersebut.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar pati

Pati sagu alami memiliki kandungan pati yang cukup tinggi, yaitu 87,13%. Penurunan kadar pati bervariasi pada kisaran 13,8-85,12%. Namun demikian, pati dengan perlakuan HA1%-AC dan HA1% relatif tidak mengalami perubahan (Gambar 1). Penurunan kadar pati sagu yang relative rendah juga ditunjukkan oleh pati yang mengalami hidrolisis asam saja, yaitu HA1% sebesar 83,83% dan HA2% sebesar 75,69%. Kadar pati sagu yang diberi perlakuan *autoclaving-cooling* saja (AC) juga sedikit menurun (80,05%). Penurunan kandungan pati tertinggi terjadi pada pati sagu yang diberi perlakuan *autoclaving-cooling* yang dilanjutkan dengan hidrolisis asam (AC-HA) yaitu menjadi 51,6% dan 13,8%. Penambahan konsentrasi asam meningkatkan penurunan kadar pati dari pati yang dimodifikasi. Hal ini disebabkan pati teretrogradasi menghasilkan kompleks dengan ikatan yang lebih longgar sehingga lebih mudah terhidrolisis oleh asam. Mun dan Shin (2006) menunjukkan bahwa pati tergelatinisasi dan teretrogradasi lebih mudah dihidrolisis oleh asam daripada pati alami. Ketika dispersi pati dipanaskan, amilosa terlarut dan gel pati terbentuk. Setelah pendinginan, gel mengalami retrogradasi yang mengarah pada pembentukan struktur kristal (Haralampu, 2000).

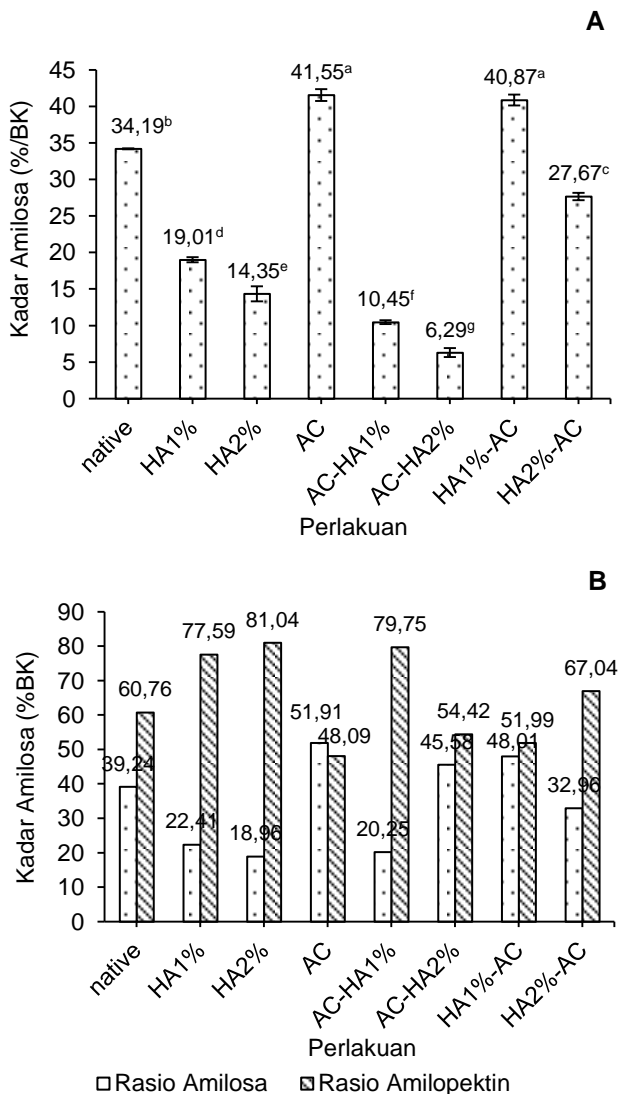


Gambar 1. Kadar pati dari pati sagu *native* dan pati modifikasi (nilai rata-rata dari tiga ulangan)

Kadar dan rasio amilosa-amilopektin

Pati sagu alami mengandung 39,14% amilosa. Pada pati dengan perlakuan hidrolisis asam saja (HA) menunjukkan kadar amilosa sebesar 19,01% (HA1%) dan 14,35% (HA2%), sedangkan

pati yang diautoclaving-cooling saja memiliki kadar amilosa yang lebih tinggi dibanding pati sagu asli, yaitu sebesar 41,55%. Perlakuan *autoclaving* (AC) dan perlakuan HCl 1%-*auto-claving-cooling* (HA1%-AC) secara nyata meningkatkan kadar amilosa, yaitu berturut-turut 41,55% dan 40,87%. Peningkatan kadar amilosa ini diikuti dengan penurunan kadar amilopektin (Gambar 2).



Gambar 2. Kadar Amilosa pati sagu *native* dan sampel pati modifikasi (A) dan rasio amilosa dan amilopektin pati sagu *native* dan sampel pati modifikasi (B). Nilai rata-rata dari tiga ulangan

Peningkatan kadar amilosa ini dapat disebabkan oleh terputusnya ikatan glikosidik α -1,6 dari struktur amilopektin pada saat proses hidrolisis asam. Amilopektin dapat dihidrolisis oleh asam untuk membentuk molekul pati linear seperti amilosa (Zhao dan Lin, 2009). Tester *et al.* (2000) melapor-

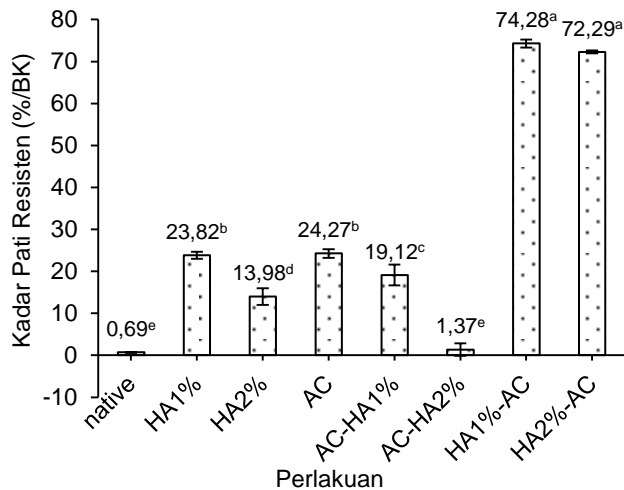
kan bahwa pemanasan suspensi pati di atas suhu gelatinisasinya menyebabkan terjadinya pemutusan (disosiasi) ikatan hidrogen dari struktur *double helix* amilopektin, pelelehan (*melting*) bagian kristalit dan pelepasan amilosa dari granulanya (*amylase leaching*). Kadar amilosa terendah (6,29%) dihasilkan dari perlakuan *autoclaving-cooling* yang dilanjutkan dengan hidrolisis asam (HCl 2%). Penurunan dari kadar amilosa pada perlakuan ini kemungkinan disebabkan oleh pemutusan rantai amilosa menjadi gula sederhana, seperti dekstrin. Menurut Kusnandar (2010), dekstrin merupakan polisakarida yang dihasilkan dari hasil hidrolisis pati (terutama amilosa) yang memiliki struktur linear. Mun and Shin (2006) melaporkan bahwa pati yang telah digelatinisasi dan teretrogradasi lebih mudah dihidrolisis oleh asam dibandingkan dengan pati alami.

Rasio amilosa dan amilopektin ditampilkan karena adanya perbedaan kadar pati yang signifikan antar sampel, sehingga kadar amilosa tidak dapat digunakan sebagai patokan untuk mengetahui proporsinya di dalam pati. Rasio amilosa-amilopektin pada pati sagu *native* yaitu 39,24-60,76%. Pada pati dengan perlakuan HA 1 dan 2%, AC-HA1%, dan HA2%-AC terlihat rasio amilosa lebih rendah dan rasio amilopektin lebih tinggi dibandingkan dengan pati sagu *native*, hal ini kemungkinan disebabkan berkurangnya jumlah amilosa akibat perlakuan, namun tidak disertai oleh pengurangan kadar amilopektin, sehingga bila dirasioakan jumlah amilopektin jauh lebih tinggi dibandingkan dengan jumlah amilosa. Pati dengan perlakuan AC saja dan HA1%-AC menunjukkan rasio amilosa yang lebih tinggi dan amilopektin yang lebih rendah dari pati sagu *native*, hal ini dikarenakan adanya peningkatan kadar amilosa pada kedua perlakuan ini, sehingga bila dirasioakan hasilnya juga berbanding lurus dengan kadar amilosa. Untuk perlakuan AC-HA2%, menunjukkan rasio amilosa yang lebih tinggi dibandingkan dengan pati sagu alami, padahal kadar amilosa untuk perlakuan ini adalah yang terendah. Hal ini disebabkan kadar pati untuk perlakuan AC-HA2% juga yang terendah sehingga bila kadar amilosanya dirasioakan terhadap kadar pati akan dihasilkan rasio amilosa yang tinggi.

Kadar pati resisten

Kadar pati resisten dari pati sagu alami adalah 0,69%, sedangkan kadar pati resisten dari pati yang dihidrolisis asam yaitu HA1% sebesar 23,82% dan HA2% sebesar 13,98%. Pati yang diotoklaf memiliki kadar pati resisten 24,27%. Perlakuan AC-HA menghasilkan kadar pati resisten yang meningkat dibandingkan pati sagu alaminya, yaitu AC-HA1% sebesar 19,12% dan AC-HA2% 1,37%. Namun demikian, perlakuan HA-AC menghasilkan kadar pati resisten yang jauh lebih tinggi,

yaitu HA1%-AC sebesar 74,28% dan HA2%-AC sebesar 72,29% (Gambar 3).



Gambar 3. Kadar Pati resisten pati sugu *native* dan pati modifikasi (nilai rata-rata dari tiga ulangan)

Kedua perlakuan tersebut menghasilkan kadar pati resisten yang tidak berbeda nyata. Hasil ini menunjukkan bahwa pati yang dihidrolisis terlebih dahulu, kemudian diretrogradasi dengan perlakuan pemanasan-pendinginan pada kondisi ekstrim meningkatkan kadar pati resisten yang sangat tinggi. Hasil yang sama dilaporkan oleh Koxsel *et al.* (2008), yaitu modifikasi pati jagung dengan perlakuan hidrolisis asam yang diikuti dengan *autoclaving-cooling* meningkatkan kadar pati resisten dari 0 menjadi 12,4%. Jacobash *et al.* (2006) juga melaporkan bahwa proses hidrolisis pati jagung kaya amilosa menghasilkan fraksi berbobot molekul rendah dengan panjang rantai α -1,4-D-glukan antara 10-40 unit anhidroglukosa sehingga pada saat retrogradasi dihasilkan RS3 yang cukup tinggi. Pongjanta *et al.* (2009) dan Ozturk *et al.* (2009) juga menyatakan bahwa semakin banyak fraksi amilosa berantai pendek, maka semakin banyak kemungkinan untuk

meningkatkan pembentukan RS3 selama proses *autoclaving-cooling*.

Profil pasting

Profil *pasting* dari pati sugu alami menunjukkan pola *pasting* sebagaimana umumnya pati. Pati alami menunjukkan adanya viskositas maksimum, *breakdown*, dan *setback* sebagaimana dapat dilihat pada Gambar 4. Pasta pati sugu alami memiliki viskositas puncak yang tinggi (4806 cP) dengan nilai viskositas *breakdown* yang juga sangat besar yang menandakan bahwa pati sugu tidak stabil dengan proses pemanasan. Pati alami juga memiliki kecenderungan retrogradasi cukup tinggi yang ditunjukkan dari nilai *setback*-nya. Pati yang dihidrolisis asam saja, menunjukkan profil *pasting* yang mirip dengan pati yang diberi perlakuan kombinasi (HA-AC/AC-HA) yaitu hampir mengalami kehilangan profil viskositasnya. Pati yang hanya diautoklaf menunjukkan profil viskositas yang berbeda dari pati modifikasi lainnya. Meskipun memiliki profil viskositas yang sangat rendah, pati yang diotoklaf memiliki kecenderungan retrogradasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan pati modifikasi lainnya sebagaimana ditunjukkan oleh nilai *setback*-nya yang lebih tinggi. Pati yang telah mengalami modifikasi hidrolisis asam dan *autoclaving-cooling* mengalami perubahan profil *pasting* dibanding pati sugu alaminya (Tabel 1). Secara umum, profil viskositas pati yang telah dimodifikasi memiliki nilai viskositas yang lebih rendah dibanding pati alaminya. Penurunan nilai viskositas ini kemungkinan disebabkan oleh rusaknya granula pati dan kelarutan parsial yang disebabkan oleh suhu tinggi dari proses autoklaf (Dundar dan Gocmen, 2013).

Viskositas yang sangat rendah, maka pati modifikasi dengan kadar pati resisten yang tinggi ini hanya dapat digunakan sebagai bahan pengisi atau ingredient dalam produk pangan sebagai sumber pati resisten yang berfungsi seperti serat pangan di dalam tubuh.

Tabel 1. Karakteristik pasta dari pati modifikasi

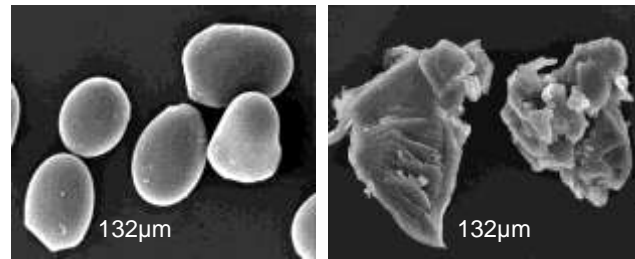
Perlakuan	PV (cP)	T (cP)	BD (cP)	FV (cP)	SB (cP)	Kecenderungan Retrogradasi
Native	4806±6,24 ^a	1312,67±38,28 ^a	3493,33±43,48 ^a	2120±21 ^a	807,33±17,62 ^a	0,62
HA 1%	18±1 ^d	13,67±1,15 ^c	4,33±0,58 ^b	17±2 ^c	3,33±1,15 ^c	0,24
HA 2%	19±1,73 ^d	15±1 ^c	4±1 ^b	18,67±0,58 ^c	3,67±1,15 ^c	0,24
AC	105±20,66 ^b	102,67±19,55 ^b	2,33±1,53 ^b	181,67±35,53 ^b	79±16 ^b	0,77
AC- HA1%	15,67±1,15 ^d	10±0 ^c	5,67±1,15 ^b	14±0 ^c	4±0 ^c	0,40
AC-HA,2%	42,33±14,15 ^c	17±3 ^c	25,33±11,59 ^b	19,33±2,52 ^c	2,33±0,58 ^c	0,14
HA 1%-AC	27,67±2,52 ^{cd}	23,67±1,53 ^c	4±1,73 ^b	35,33±2,31 ^c	11,67±2,52 ^c	0,49
HA 2%-AC	24,33±4,16 ^d	18,67±0,58 ^c	5,67±3,79 ^b	25±1,73 ^c	6,33±1,53 ^c	0,34

Keterangan: Tiap huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan pada taraf 0,05; (PV, viskositas tertinggi selama pemanasan), *trough* (T, viskositas paling rendah), *breakdown* (BD=PV-T), *final viscosity* (FV, viskositas pada akhir pemanasan), dan *setback* (SB=FV-PV)

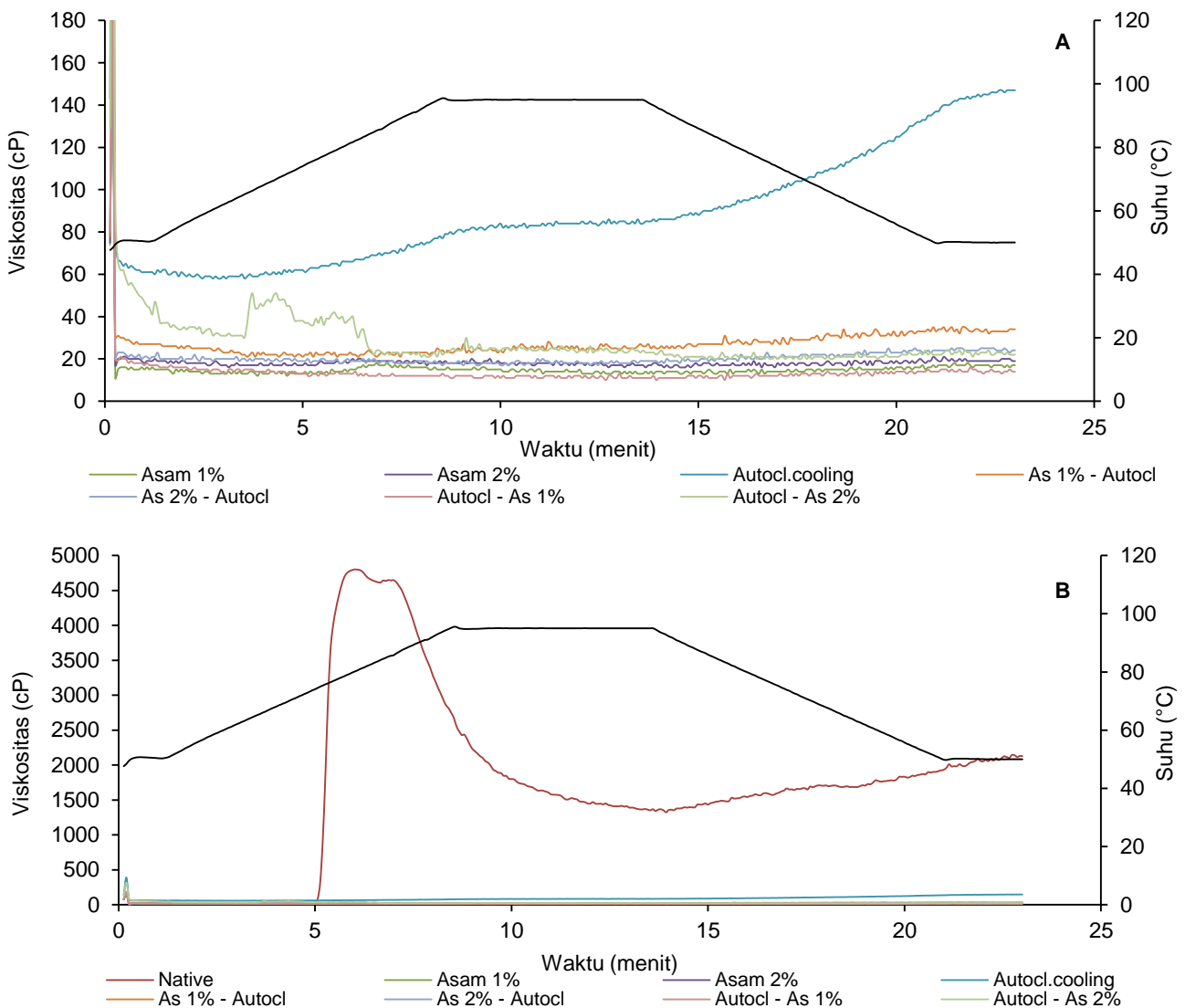
Struktur mikroskopik pati

Perbandingan mikrostruktur pati dengan SEM antara pati sagu alami dan pati yang telah mengalami modifikasi (HA1%-AC) dapat dilihat pada Gambar 5. Pati alami terlihat belum hancur, berbentuk bulat lonjong dan cukup beraturan, sedangkan bentuk pati modifikasi terlihat hancur dan tidak beraturan lagi. Hal ini disebabkan pati yang diberi perlakuan pemanasan dan pendinginan mengalami pemutusan rantai dari struktur amilosa dan amilopektin, yang kemudian terjadi retrogradasi dari rantai amilosa yang keluar akibat pecahnya granula pati. Menurut Escarpa *et al.* (1996) bahwa selama proses gelatinisasi, granula pati secara bertahap hancur dan bersifat *irreversible*. Zhang dan Jin (2011) melaporkan bahwa perubahan morfologi disebabkan oleh retrogradasi rantai amilosa yang

mengakibatkan reorganisasi struktur pati menjadi kompleks heliks.



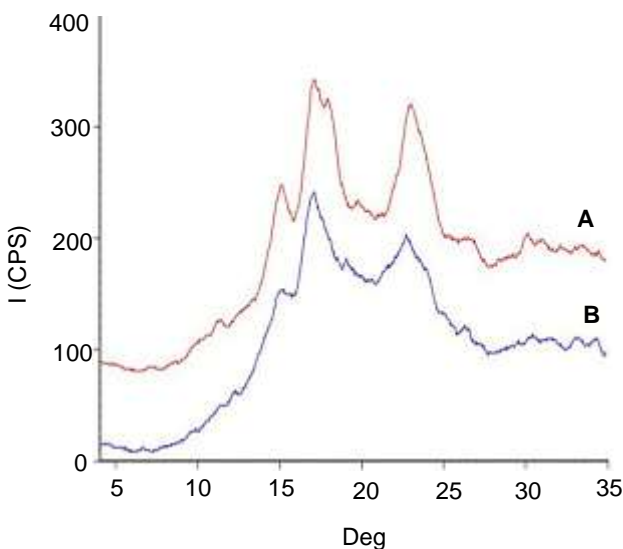
Gambar 5. Granula pati native (kiri) dan pati modifikasi hidrolisis HCl 1% dan *auto-claved-cooled* (kanan) dengan perbesaran 1000x



Gambar 4. Grafik RVA pati modifikasi (A) dan grafik RVA pati sagu *native* dan pati Modifikasi (B)

Derajat kristalinitas

Gambar 6 memperlihatkan perbedaan yang sangat signifikan antara difraktogram pati sagu alami dan HA1%-AC. Derajat kristalinitas dari pati sagu alami adalah 40,74%, sedangkan derajat kristalinitas dari pati HA1%-AC menurun menjadi 26,38%. Namun demikian, tipe kristalin A dari pati HA1%-AC tidak berubah yang ditunjukkan oleh *peak* pada 2θ , yaitu 17,33; 22,77; 14,92. Faridah (2011) juga melaporkan bahwa proses *autoclaving-cooling* 3 siklus (AC) menurunkan derajat kristalinitas dari 20,01% (pada pati garut alami) menjadi 12,83%. Penurunan kristalinitas ini terkait suhu tinggi dan lama waktu pemanasan (Lee *et al.*, 2012).



Gambar 6. Difraktogram pati sagu alami (A) dan modifikasi HCl 1% dan *autoclaved-cooled* (B)

KESIMPULAN

Perlakuan hidrolisis asam, siklus *autoclaving-cooling*, dan kombinasi hidrolisis asam dengan siklus *autoclaving-cooling* mempengaruhi kadar pati, mengubah komposisi amilosa dan amilopektin, dan meningkatkan kadar pati resisten. Perlakuan modifikasi juga mengubah profil viskositas dan struktur mikroskopik dari pati modifikasi juga. Pati modifikasi dengan proses hidrolisis asam 1% yang diikuti *autoclaving-cooling* menunjukkan hasil terbaik dengan kadar pati resisten sebesar 74,28%(bk). Perlakuan ini menurunkan derajat kristalinitas pati sagu dari 40,74% menjadi 26,38% dengan kristalin tipe A. Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi hidrolisis asam yang diikuti proses *autoclaving-cooling* mampu menghasilkan pati modifikasi dengan kadar pati resisten tertinggi. Pati hasil modifikasi yang kaya pati resisten ini nantinya dapat digunakan sebagai

bahan pengisi atau ingredient pada produk pangan sebagai sumber pati resisten yang berfungsi sebagai serat pangan di dalam tubuh.

DAFTAR PUSTAKA

- [AACC] American Association of Cereal Chemist. 2009. AACC International Approved Methods of Analysis (Method 32-40, 61-02) (11th ed., pp.). St. Paul, MN: AACC International.
- [AOAC] Assosiation of Official Analysis Chemist. 1984. Official Methods of Analysis of the Aoac. Gaithersburg, United States: AOAC International.
- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 1995. Official Methods of Analysis of The Association Analytical Chemists. Washington, DC: AOAC.
- Aparicio-Saguilán A, Flores-Huicochea E, Tovar J, García-Suárez F, Gutiérrez-Meraza F, Bello-Pérez LA. 2005. Resistant starch-rich powders prepared by autoclaving of native and lintnerized banana starch: partial characterization. *Starch-Stärke*. 57: 405–412. DOI: 10.1002/star.200400386.
- Bauer BA, Wiehle T, Knorr D. 2005. Impact of high hydrostatic pressure treatment on the resistant starch content of wheat starch. *Starch-Stärke* 57: 124-133. DOI: 10.1002/star.200400334.
- Bird AR, Lopez-Rubio A, Shrestha AK, Gidley MJ. 2009. Resistant starch *in vitro* and *in vivo*: factors determining yield, structure, and physiological relevance. Academic Press, U.K. p. 449-510. DOI: 10.1016/B978-0-12-374195-0.00014-8.
- Charalampopoulos D, Wang R, Pandiella SS, Webb C. 2002. Application of cereals and cereal components in functional foods: a review. *Int J Food Microbiol* 79: 131–141. DOI: 10.1016/S0168-1605(02)00187-3.
- Dundar AN, Gocmen D. 2013. Effects of autoclaving temperature and storing time on resistant starch formation and its functional and physicochemical properties. *Carbohydr Polym* 97: 764-771. DOI: 10.1016/j.carbpol.2013.04.083.
- Englyst HN, Kingman SM, Cummings JH. 1992. Classification and measurement of nutritionally important starch fraction. *Eur J Clin Nutr* 46:3-50.

- Escarpa A, Gonzalez MC, Manas E, Garcia-Diz L, Saura-Calixto F. 1996. Resistant starch formation: Standardization of a high-pressure autoclave process. *J Agr Food Chem* 44: 924-928. DOI: 10.1021/jf950328p.
- Faridah DN. 2011. Perubahan Karakteristik Kristalin Pati Garut (*Maranta arundinaceae* L.) dalam Pengembangan Pati Resisten Tipe III [Disertasi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Ferrini LMK, Rochaa TS, Demiate IM, Franco CLM. 2008. Effect of acid-methanol treatment on the physicochemical and structural characteristics of cassava and maize starches. *Starch-Stärke* 60: 417-425. DOI: 10.1002/star.200700712.
- Gonzalez-Soto RA, Sanchez-Hernandez L, Solorza-Feria J, Nunez-Santiago C, Flores-Huicoghea E, Bello-Perez LA. 2006. Resistant starch production from nonconventional starch sources by extrusion. *Food Sci Technol Int* 12: 5-11. DOI: 10.1177/1082013206060735.
- Haralampu SG. 2000. Resistant starch: A review of the physical properties and biological impact of RS3. *Carbohydr Polym* 41: 285-292. DOI: 10.1016/S0144-8617(99)00147-2.
- Jacobash G, Dongowski G, Schiemidl D, Schmehl KM. 2006. Hydrothermal treatment of novelose 330 results in high yield of resistant starch type 3 with beneficial prebiotic properties and decreased secondary bile acid formation in rats. *Brit J Nutr* 95: 1063-1074. DOI: 10.1079/BJN20061713.
- Jading A, Tethool E, Payung P, Gultom S. 2011. Karakteristik fisikokimia pati sagu hasil pengeringan secara fluidisasi menggunakan alat pengering cross flow fluidized bed bertenaga surya dan biomassa. *J Reaktor* 13: 155-164. DOI: 10.14710/reaktor.13.3.155-164.
- Jayakody L, Hoover R. 2008. Effect of annealing on the molecular structure and physicochemical properties of starches from different botanical origins – a review. *Carbohydr Polym* 74: 691-703. DOI: 10.1016/J.CARBPOL.2008.04.032.
- Kim BS, Kim HS, Hong JS, Huber KC, Shim JH, Yoo SH. 2013. Effects of amylosucrase treatment on molecular structure and digestion resistance of pre-gelatinised rice and barley starches. *Food Chem* 138: 966-975. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.11.028.
- Koksel H, Masatcioglu T, Kahraman K, Ozturk S, Basman A. 2008. Improving effect of lyophilization on functional properties of resistant starch preparations formed by acid hydrolysis and heat treatment. *J Cereal Sci* 47: 275-282. DOI: 10.1016/j.jcs.2007.04.007.
- Kusnandar F. 2010. Kimia pangan Komponen Makro. Jakarta (ID): PT. Dian Rakyat.
- Lee CJ, Kim Y, Choi SJ, Moon TW. 2012. Slowly digestible starch from heat-moisture treated waxy potato starch: Preparation, structural characteristic, and glucose response in mice. *Food Chem* 133: 1222-1229. DOI: 10.1016/J.FOODCHEM.2011.09.098.
- Li S, Gao Q. 2010. Effect of heat-moisture treatment on the formation and properties of resistant starches from mung bean starches. *World Academy of Science, Engineering and Technology* 48: 812-819.
- Luckett CR, Wang YJ. 2012. Effects of beta-amylolysis on the resistant starch formation of debranched corn starches. *J Agr Food Chem* 60: 4751-4757. DOI: 10.1021/jf300854e.
- Mun SH, Shin M. 2006. Mild hydrolysis of resistant starch from maize. *Food Chem* 96: 115-121. DOI: 10.1016/j.foodchem.2005.02.015.
- Nasrin TAA, Anal AK. 2014. Resistant starch III from culled banana and its functional properties in fish oil emulsion. *Food Hydrocolloid* 35: 403-409. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2013.06.019.
- Onyango C, Bley T, Jacob A, Henle T, Rohm T. 2006. Influence of incubation temperature and time on resistant starch type III formation from autoclaved and acid-hydrolysed cassava starch. *Carbohydr Polym* 66: 494-499. DOI: 10.1016/j.carbpol.2006.04.002.
- Ozturk S, Koksel H, Kahraman K, Ng PKW. 2009. Effect of debranching and heat treatments on formation and functional properties of resistant starch from high amylose corn starches. *Eur Food Res Technol* 229: 115-125. DOI: 10.1007/s00217-009-1032-1.
- Ozturk S, Koksel H, Kahraman K, Ng PKW. 2011. Production of resistant starch from acid-modified amylo-type starches with enhanced functional properties. *J Food Eng* 103: 156-164. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2010.10.011.
- Pongjanta J, Utaipattanaceep O, Naivikul, Piyachomkwan K. 2009. Effect of preheated treatments on physicochemical properties of resistant starch type III from pullulanase hydrolysis of high amylose rice starch. *Am J Food Technol* 4: 79-89. DOI: 10.3923/ajft.2009.79.89.

- Sajilata MG, Singhal RS, Kulkarni PR. 2006. Resistant starch: a review. *Comp Rev Food Sci Food F* 5: 1-17. DOI: 10.1111/j.1541-4337.2006.tb00076.x.
- Shi MM, Gao QY. 2011. Physicochemical properties, structure and in vitro digestion of resistant starch from waxy rice starch. *Carbohydr Polym* 84: 1151-1157. DOI: 10.1016/j.carbpol.2011.01.004.
- Szczodrak J, Pomeranz Y. 1991. Starch and enzyme-resistant starch from high-amylose barley. *Cereal Chem* 68: 589-96.
- Taggart P. 2004. Starch as an Ingredient: Manufacture and Applications. *Di dalam* Eliasson A-C (Ed). *Starch In Food: Structure, Function and Applications* (1st ed). Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC. Cambridge.
- Tester RF, Debon SJJ, Sommerville MD. 2000. Annealing of maize starch. *Carbohydr Polym* 42: 287-299. DOI: 10.1016/S0144-8617(99)00170-8.
- Zhang H, Jin Z. 2011. Preparation of products rich in resistant starch from maize starch by an enzymatic method. *Carbohydr Polym* 86: 1610-1614. DOI: 10.1016/j.carbpol.2011.06.070.
- Zhao XH, Lin Y. 2009. The impact of coupled acid or pullulanase debranching on the formation of resistant starch from maize starch with autoclaving-cooling cycles. *Eur Food Res Technol* 230: 179-184. DOI: 10.1007/s00217-009-1151-8.
- Zhongdong L, Peng L, Kennedy JF. 2005. The technology of molecular manipulation and modification. assisted by microwaves as applied to starch Granules. *Carbohydr Polym* 61: 374-378. DOI: 10.1016/j.carbpol.2005.06.004.