

LAPORAN PRAKTIK KERJA LAPANGAN

PENENTUAN KADAR *RESISTANT STARCH* (RS) PATI TACCA (*Tacca leontopetaloides*) HASIL MODIFIKASI FISIK DI BPTBA LIPI YOGYAKARTA

**Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh derajat Ahli
Madya (A.Md) Analis Kimia Program D III Analis Kimia**



**PROGRAM STUDI DIPLOMA III ANALIS KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
2016**

LAPORAN PRAKTIK KERJA LAPANGAN

**PENENTUAN KADAR *RESISTANT STARCH* (RS) PATI
TACCA (*Tacca leontopetaloides*) HASIL MODIFIKASI FISIK DI
BPTBA LIPI YOGYAKARTA**

**DETERMINATION OF RESISTANT STARCH (RS) CONTENT
OF TACCA (*Tacca leontopetaloides*) FROM PHYSICAL
MODIFICATION IN BPTBA LIPI YOGYAKARTA**



**PROGRAM STUDI DIPLOMA III ANALIS KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
2016**

**HALAMAN PENGESAHAN
LAPORAN PRAKTIK KERJA LAPANGAN**

**PENENTUAN KADAR KADAR *RESISTANT STARCH* (RS)
PATI TACCA (*Tacca leontopetaloides*) HASIL MODIFIKASI
FISIK DI BPTBA LIPI YOGYAKARTA**

Dipersiapkan dan disusun oleh:

**Siti Syah Dhahni Tirta
NIM: 13231022**

Telah disetujui oleh Dosen Pembimbing Praktik Kerja Lapangan
Program Studi D III Analis Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia
pada tanggal 23 September 2016

Menyetujui,

Ketua Program Studi

Pembimbing



**Thorikul Huda, S.Si, M.Sc.
NIK. 052316003**



**Puji Kurniawati, S.Pd.Si.,M.Sc.
NIK. 132311103**

HALAMAN PENGESAHAN

**LAPORAN PRAKTIK KERJA LAPANGAN
PENENTUAN KADAR *RESISTANT STARCH* (RS) PATI
TACCA (*Tacca leontopetaloides*) HASIL MODIFIKASI FISIK
DI BPTBA LIPI YOGYAKARTA**


Dipersiapkan dan disusun oleh:

**Siti Syah Dhahni Tirta
NIM: 13231022**

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji pada tanggal 23 September 2016

Susunan Tim Penguji

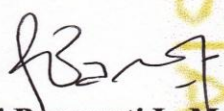
Pembimbing/Penguji


**Puji Kurniawati, S.Pd.Si.,M.Sc
NIK. 132311103**

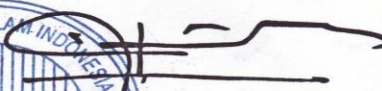
Penguji I

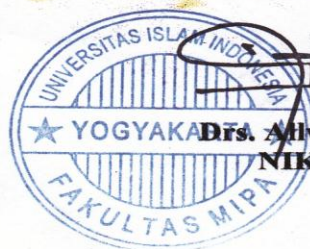

**Tri Esti Purbaningtias, M.Si
NIK.132311102**

Penguji II


**Reni Banowati I., M.Sc
NIK. 052316002**

**Mengetahui,
Dekan Fakultas MIPA UII**


**Drs. Aliwar, M.Sc.,Ph.D.
NIK. 966120101**



PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa Laporan Praktik Kerja Lapangan ini tidak terdapat bagian yang pernah digunakan untuk memperoleh gelar Ahli Madya Atau gelar lainnya di suatu Perguruan Tinggi dan sepengetahuan saya tidak terdapat bagian yang pernah ditulis dan diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Yogyakarta, 23 September 2016



METERAI
TEMPEL
TGL 20
3C23AAEF093933780
6000
ENAM RIBURUPIAH

(Siti Syah Dhahni Tirta)

HALAMAN PERSEMBAHAN

Laporan penelitian ini saya persembahkan kepada :

- Kedua orang tua saya yang telah membesarkan, mendidik dan selalu memberi semangat kepada saya hingga sekarang.
- Kakak saya yang selalu membantu saya .
- Saudara – saudara saya yang memberi semangat dalam menyelesaikan laporan ini.
- Teman – teman yang senantiasa menemani dan membantu saya.
- Semua pihak yang telah memberikan semangat dan mensupport saya dalam pembuatan laporan ini.



KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya sehingga Laporan Praktik Kerja Lapangan dengan judul “Penentuan Kadar *Resistant Starch* (RS) Pati *Tacca* (*Tacca leontopetaloides*) Hasil Modifikasi Fisik di BPTBA LIPI Yogyakarta” dapat terselesaikan. Shalawat serta salam saya haturkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW, beserta keluarga dan para sahabatnya.

Laporan ini disusun berdasarkan pelaksanaan Praktik Kerja Lapangan di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia Provinsi Daerah Istimewa Yogyakarta. Penulis menyadari sepenuhnya bahwa dalam penyusunan laporan ini masih banyak mendapatkan bimbingan. Laporan Kerja Lapangan ini disusun guna melengkapi sebagian persyaratan dalam mencapai gelar Ahli Madya Program Studi Diploma III Analis Kimia Universitas Islam Indonesia. Melalui Laporan Tugas Akhir ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak Drs. Allwar, M.Sc., Ph.D selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
2. Bapak Thorikul Huda, M.Sc selaku Ketua Program Studi D III Analis Kimia
3. Ibu Puji Kurniawati, M.Sc selaku Dosen Pembimbing yang membimbing penulis dalam menyusun laporan.
4. Ibu Miftakhussolikah, S.T.P selaku Pembimbing yang telah memberikan bimbingan dan arahan selama Praktik Kerja Lapangan di BPTBA LIPI
5. Keluarga tercinta, Bapak, Ibu dan Kakak atas doa, cinta, kasih sayang, nasehat, dan motivasi tiada henti
6. Seluruh pihak yang membantu dalam penulisan laporan ini

Penulis mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun dari para pembaca mengingat dalam penyusunan Laporan Praktik Kerja Lapangan ini masih jauh dari kata sempurna. Jika ada saran dan kritik yang bersifat membangun untuk laporan ini maka penulis akan menerima dengan senang hati. Akhir kata, penulis

berharap semoga Laporan Praktik Kerja Lapangan ini dapat bermanfaat bagi para pembaca dan penulis.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb

Yogyakarta, 23 September 2016

Penulis,



DAFTAR ISI

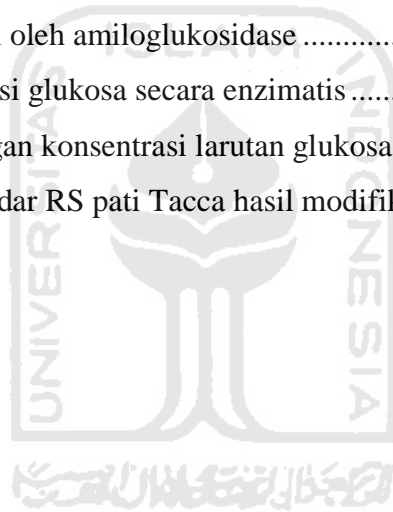
PENDAHULUAN.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan.....	3
1.4 Manfaat.....	3
BAB II DASAR TEORI	
2.1 Tinjauan Instansi	4
2.2 <i>Tacca (Tacca leontopetaloides)</i>	5
2.3 Pati.....	6
2.4 Amilosa dan Amilopektin	7
2.5 <i>Resistant Starch (RS)</i>	8
2.8 Metode GOD-PAP	11
2.7 Spektrofotometer UV-Visibel	12
BAB III METODOLOGI	
3.1 Alat dan Bahan	
3.1.1 Alat.....	16
3.1.2 Bahan.....	16
3.2 Cara Kerja	
3.2.1 Perlakuan fisik pati <i>Tacca</i>	17

3.2.2 Penentuan kadar air	17
3.2.3 Pembuatan larutan induk glukosa	17
3.2.4 Pembuatan larutan deret standar glukosa.....	17
3.2.5 Hidrolisis Pati.....	18
3.2.6 Analisis RS pati Tacca	18
3.2.7 Validasi Metode	19
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	20
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	38
5.2 Saran.....	39
DAFTAR PUSTAKA	40



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Umbi Tacca (<i>Tacca leontopetaloides</i>)	5
Gambar 2.2 Strukur amilosa	8
Gambar 2.3 Struktur amilopektin.....	8
Gambar 2.4 Rangkaian alat Spektrofotometer UV-Visibel	14
Gambar 4.1 Proses gelatinisasi dan getrogradasi.....	21
Gambar 4.2 Tahapan hidrolisis pati	23
Gambar 4.3 Mekanisme hidrolisis emzimatik substrat peptida	24
Gambar 4.4 Hidrolisis amilosa oleh α -amylase tahap I	25
Gambar 4.5 Hidrolisis amilosa oleh α -amylase tahap II.....	25
Gambar 4.5 Hidrolisis pati oleh amiloglukosidase	27
Gambar 4.7 Reaksi oksidasi glukosa secara enzimatis	29
Gambar 4.8 Kurva hubungan konsentrasi larutan glukosa dan absorbansi	30
Gambar 4.9 Kenaikkan kadar RS pati Tacca hasil modifikasi fisik	31



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Komposisi pati Tacca.....	6
Tabel 2.2 Klasifikasi <i>Resistant Starch</i> (RS).....	9
Tabel 4.1 Modifikasi fisik terhadap pati Tacca.....	20
Tabel 4.2 Pengelompokkan kandungan <i>Resistant Starch</i> (RS).....	30
Tabel 4.3 Hasil analisis kadar <i>Resistant Strach</i> (RS).....	31
Tabel 4.4 Penentuan LOD dan LOQ.....	36
Tabel 4.5 Nilai presisi dari pengukuran sampel pati modifikasi.....	37



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Modifikasi pati Tacca	43
Lampiran 2. Perhitungan kadar air pati tacca.....	44
Lampiran 3. Linieritas.....	48
Lampiran 4. Penentuan kadar <i>Resistant Starch</i> (RS).....	49
Lampiran 5. Penentuan LOD dan LOQ	51
Lampiran 6. Penentuan Presisi.....	52



**PENENTUAN KADAR *RESISTANT STARCH* (RS) PATI *TACCA* (*Tacca leontopetaloides*) HASIL MODIFIKASI FISIK DI BPTBA LIPI
YOGYAKARTA**

Siti Syah Dhahni Tirta
Program Studi D III Analis Kimia FMIPA Universitas Islam Indonesia
Jl. Kaliurang Km 14,5 Yogyakarta
Email: syahdhahni44@gmail.com

INTISARI

Telah dilakukan penentuan kadar *Resistant Starch* (RS) pati *Tacca* (*Tacca leontopetaloides*) hasil modifikasi fisik di BPTBA LIPI Yogyakarta. Tujuan dilakukan pengujian ini adalah untuk mengetahui kadar RS pati *Tacca* hasil modifikasi fisik serta menentukan Limit Deteksi (LOD) dan Limit Kuantitasi (LOQ) dari spektrofotometer UV-Visibel. Modifikasi fisik mencakup pengukusan, pengukusan dan pendinginan, pengukusan dan perebusan, pengukusan dan penggorengan, pengukusan dan pemanggangan, perebusan, perebusan dan pendinginan, perebusan dan pengukusan, perebusan dan penggorengan, perebusan dan pemanggangan. Prinsip analisis RS berdasarkan hasil hidrolisis pati oleh enzim hidrolase yang menghasilkan glukosa. Glukosa direaksikan dengan GOD-PAP, kemudian diukur hasil reaksi oksidasi glukosa melalui proses enzimatik secara *colourimetric*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa modifikasi pati *Tacca* secara fisik berpengaruh terhadap kadar RS yang dihasilkan. Pati *Tacca* kontrol termasuk golongan dengan kadar RS tinggi yaitu 6,8547%. Kenaikkan signifikan kadar RS hasil modifikasi terjadi pada proses pengolahan kombinasi perebusan dan pengukusan yaitu dengan kadar RS sebesar 23,7833%. Hampir semua modifikasi pati secara fisik menaikkan kadar RS, namun hasil pengolahan pengukusan, perebusan, dan kombinasi perebusan dengan penggorengan mengalami sedikit penurunan kadar RS. Nilai Limit Deteksi (LOD) yang diperoleh dari spektrofotometer UV-Visibel sebesar 4,1129 mg/L dan nilai Limit Kuantitasi (LOQ) sebesar 13,7096 mg/L.

Kata kunci: *Tacca*, *Resistant Starch* (RS), Spektrofotometer UV-Visibel

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Masalah yang timbul sebagai akibat meningkatnya jumlah penduduk adalah bertambahnya kebutuhan akan bahan pangan. Seiring dengan perkembangan jaman, fungsi pangan semakin berkembang tidak hanya untuk memenuhi kebutuhan gizi saja. Akan tetapi, dapat juga bersifat fungsional karena berfungsi menjaga kesehatan dan kebugaran tubuh, memperbaiki fungsi fisiologis, atau menyembuhkan penyakit (Pratiwi, 2008). Pangan fungsional adalah golongan makanan atau minuman yang mengandung bahan-bahan yang diperkirakan dapat meningkatkan status kesehatan dan mencegah penyakit tertentu (Wahyono *et al.*, 2015).

Makanan kaya serat dan *Resistant Starch* (RS) kini banyak diteliti sebagai pangan fungsional. *Resistant Starch* (RS) didefinisikan sebagai jumlah pati dari hasil degradasi pati yang tidak dapat diserap oleh usus halus manusia dan dikelompokkan ke dalam serat pangan (*dietary fiber*) (AACC, 2001). *Resistant Starch* (RS), selain memiliki manfaat yang mirip dengan serat pangan, juga mempunyai kelebihan untuk mencegah kanker kolon dan diare, serta dapat meningkatkan mikroflora usus, sehubungan dengan tingginya kadar asam lemak rantai pendek yang merupakan produk akhir utama dari degradasi serat pangan dan resistant starch (RS) oleh bakteri anaerob pada usus besar (Cummings, 1989).

Resistant starch (RS) adalah pati atau produk degradasi pati yang tidak dapat dicerna oleh usus manusia yang sehat (Asp dan Bjorck, 1992). *Resistant starch* (RS) merupakan senyawa yang unik, karena walaupun termasuk dalam kategori pati, namun dianalisa sebagai serat pangan. RS memiliki karakteristik yang hampir sama dengan dengan serat pangan, yaitu sifatnya yang tahan terhadap hidrolisis enzim pencernaan dan tidak dapat dicerna dalam usus halus tapi terfermentasi dalam kolon yang membuatnya diklasifikasikan ke dalam serat pangan (Nugent, 2005).

Jumlah RS pada kebanyakan produk mentah jumlahnya sangat rendah, tetapi melalui pengolahan dan penyimpanan dapat meningkatkan jumlah RS

(Marsono, 1993). Di Indonesia penelitian mendalam mengenai *Resistant Starch* (RS) belum banyak dilakukan, padahal terdapat banyak sumber RS di negara ini, misalnya umbi-umbian. Pati dari umbi-umbian di Indonesia sangat berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan baku dan bahan pembantu untuk industri pangan maupun non pangan.

Tanaman umbi-umbian mengandung karbohidrat yang memiliki potensi sebagai bahan pangan fungsional di Indonesia. *Tacca* (*Tacca leontopetaloides*) merupakan tumbuhan liar yang mudah dijumpai di sekitar pesisir di berbagai wilayah Indonesia. Salah satu cara untuk meningkatkan kegunaan pati *Tacca* adalah dengan membuat modifikasi pati menjadi produk modifikasi agar diperoleh sifat-sifat yang cocok untuk aplikasi tertentu. Modifikasi secara fisik untuk meningkatkan kandungan RS dalam bahan pangan di rasa paling aman karena tidak meninggalkan residu bahan kimia.

Resistant Starch (RS) dalam bahan pangan penting untuk dianalisis karena sehubungan dengan keberadaan *Resistant Starch* (RS) dalam pangan dapat meningkatkan efek fisiologis dari makanan tersebut. Penentuan kadar *Resistant Starch* (RS) pada penelitian ini menggunakan spektrofotometer UV-Visibel yang merupakan salah satu metode dalam kimia analisis yang digunakan untuk menentukan komposisi suatu sampel baik secara kualitatif dan kuantitatif yang didasarkan pada interaksi antara materi dengan cahaya. Penentuan kadar RS dalam penelitian ini menggunakan metode yang digunakan oleh Goni *et al.* (1996). Prinsip analisis RS berdasarkan glukosa hasil hidrolisis pati oleh enzim hydrolase direaksikan dengan reagen GOD-PAP. Kemudian diukur hasil reaksi oksidasi glukosa melalui proses enzimatik secara *colourimetric*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, rumusan masalah yang dapat diambil yaitu:

1. Berapa kadar RS pati *Tacca* (*Tacca leontopetaloides*) hasil modifikasi fisik ?
2. Berapa nilai LOD dan LOQ dari metode penentuan kadar *Resistant Starch* (RS) dengan Spektrofotometer UV-Visibel?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penulisan laporan praktik kerja lapangan ini yaitu:

1. Mengetahui kadar *Resistant starch* (RS) pati *Tacca* (*Tacca leontopetaloides*) hasil modifikasi fisik.
2. Mengetahui nilai LOD dan LOQ dari metode penentuan *Resistant Starch* (RS) dengan spektrofotometer UV-Visibel.

1.4 Manfaat

Manfaat dari penulisan laporan praktik kerja lapangan ini adalah sebagai berikut:

1. Dapat mengetahui kadar *Resistant starch* (RS) pati *Tacca* (*Tacca leontopetaloides*) hasil modifikasi fisik.
2. Dapat mengetahui nilai LOD dan LOQ dari metode penentuan *Resistant Starch* (RS) dengan spektrofotometer UV-Visibel.



BAB II

DASAR TEORI

2.1 Profil Instansi

Balai Penelitian Teknologi Bahan Alam Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (BPTBA LIPI) berlokasi di Desa Gading, Kecamatan Playen, Kabupaten Gunung Kidul, Provinsi Daerah Istimewa Yogyakarta. BPTBA LIPI Yogyakarta, sebelumnya bernama Balai Pengembangan Proses dan Teknologi Kimia (BPPTK). Perubahan nama tersebut ditujukan memperluas bidang penelitian sehingga cakupan kegiatan menjadi lebih komprehensif, tidak terbatas pada pengembangan (*developing*) tapi juga menasar pada penelitian dasar (*basic research*). Perubahan nama BPPTK menjadi BPTBA efektif sejak 16 Februari 2016.

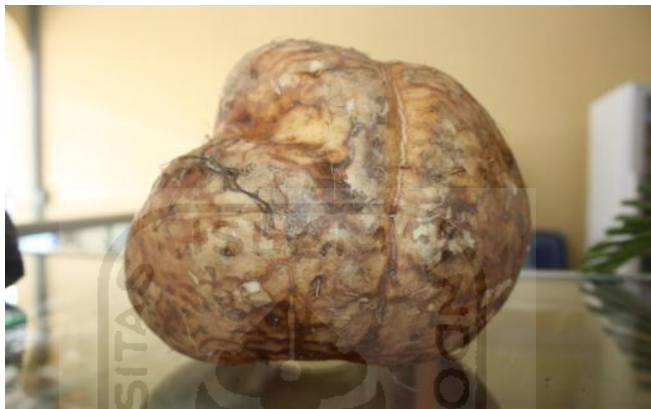
Tugas pokok BPTBA mengacu pada LIPI yang memiliki tanggung jawab, yaitu bertanggung jawab kepada dunia ilmu pengetahuan, kepada masyarakat dan bertanggung jawab kepada pemegang kepentingan (*stakeholders*). Adapun visi BPTBA LIPI yaitu menjadi lembaga ilmu pengetahuan nasional berkelas dunia yang dapat mendorong terwujudnya kehidupan bangsa yang adil, cerdas, kreatif, integratif dan dinamis yang di dukung oleh ilmu pengetahuan teknologi yang humanis. Oleh karena itu BPTBA LIPI memiliki arah dan tujuan yang mengacu pada visi diatas yaitu menjadi satuan kerja yang unggul, professional dan humanis dalam pengembangan dan implementasi ilmu pengetahuan dan teknologi (IPTEK) di bidang teknologi kimia, pangan dan pakan, farmasi dan teknologi lingkungan.

Misi LIPI adalah :

1. Menciptakan *great science* dan invensi yang dapat mendorong inovasi dalam rangka meningkatkan daya saing perekonomian nasional.
2. Mendorong (meningkatkan) pemanfaatan pengetahuan dalam proses penciptaan *good governance* yang dapat yang dapat memantapkan NKRI.
3. Turut serta dalam proses pencerahan kehidupan masyarakat dan kebudayaan berdasarkan prinsip-prinsip ilmu pengetahuan dan kaidah etika keilmuan.

2.2 Tacca (*Tacca leontopetaloides*)

Tacca (*Tacca leontopetaloides*) merupakan salah satu jenis tumbuhan berbunga yang masih termasuk kedalam keluarga talas-talasan. Menurut Drenth (1976), marga Tacca dari suku *Taccaceae* terdiri dari 8 jenis diantaranya adalah *Tacca leontopetaloides* (L.) O. K., sinonim dari *Tacca pinnatifolia* Gaertn. Jenis Tacca ini berupa terpa berumbi, tingginya mencapai 2 meter.



Gambar 2.1 Umbi tacca (*Tacca leontopetaloides*)

(<http://www.menlh.go.id/penyu-sisik-dan-umbi-takka-maskot-hcpsn-2014/>)

Tacca secara alami tersebar dari bagian barat benua Afrika, melewati Asia Tenggara hingga Kepulauan Pasifik (Manek *et al.*, 2005). Rentang persebaran yang luas mengakibatkan tacca mampu beradaptasi pada semua tipe tanah dan menghasilkan umbi. Berikut ini adalah taksonominya (Kuntze, 1891) :

Kingdom	: Plantae
Filum	: Tracheophyta
Kelas	: Liliopsidae
Family	: Dioscoreaceae
Genus	: <i>Tacca</i>
Spesies	: <i>T. leontopetaloides</i> (L.) Kuntze

Tacca merupakan tumbuhan berumbi, yang banyak dijumpai di hampir sepanjang garis pantai pulau Jawa serta pulau-pulau lain di wilayah Indonesia. Di Indonesia sendiri ada beberapa sebutan yang diberikan pada tumbuhan ini. Secara umum nama Indonesia dari *Tacca leontopetaloides* adalah umbi Tacca.

Kepulauan Karimun Jawa mengenal tanaman ini dengan sebutan kecondang, sedangkan di kabupaten Gunung Kidul Yogyakarta tanaman ini dikenal dengan nama mure. Komposisi dari pati Tacca dapat dilihat pada tabel 2.1.

Tabel 2.1 Komposisi pati Tacca/100 gram (Aatjin, 2012)

Parameter	Hasil
Protein	6,52 %
Lemak	0,35 %
Air	16,96 %
Abu	1,37 %
Karbohidrat	74,8 %
Pati	66,65 %
Amilosa	22,77 %
Amilopektin	43,88 %

2.3 Pati

Pati merupakan sumber utama karbohidrat dalam pangan. Pati adalah salah satu dari jenis polisakarida yang di simpan sebagai cadangan makanan tumbuh-tumbuhan yang terdapat dalam biji-bijian, batang maupun umbi-umbian. Pati juga terdapat pada buah yang masih mentah, misalnya pisang dan sukun. Namun semakin matang buah, kandungan patinya semakin menurun yang disebabkan adanya hidrolisis pati menjadi gula-gula sederhana yang memberikan rasa manis (Andarwulan *et al.*, 2011).

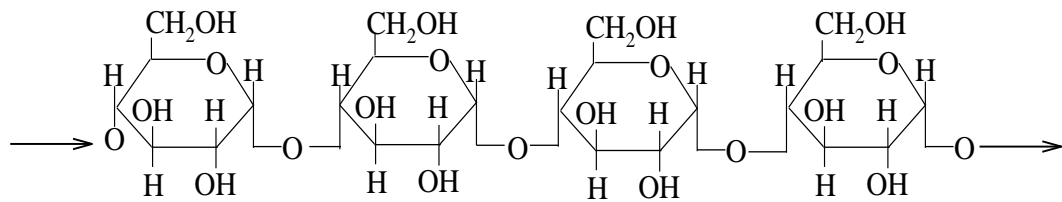
Pati merupakan homopolimer glukosa dengan ikatan α -glikosidik. Sifat-sifat umum dari pati adalah tidak larut air, memiliki sifat yang berbeda tergantung pada panjang rantai karbonnya, dan terdiri dari granula-granula yang berukuran mikroskopik (Andarwulan *et al.*, 2011). Pati dalam bahan pangan terdapat dalam bentuk granula, yaitu tempat dimana amilosa dan amilopektin berada. Granula pati memiliki sifat *birefringence*, yaitu sifat yang mampu merefleksikan cahaya terpolarisasi sehingga terlihat kontras gelap terang yang tampak sebagai warna biru-kuning. Sifat ini akan terlihat bila granula pati diamati di bawah mikroskop polarisasi. Sifat *birefringence* ini akan hilang apabila granula pati mengalami gelatinisasi (Andarwulan *et al.*, 2011).

Gelatinisasi adalah peristiwa hilangnya sifat *birefringence* granula pati akibat penambahan air secara berlebih dan pemanasan pada waktu dan suhu tertentu sehingga granula pati membengkak dan tidak dapat kembali pada kondisi semula (*irreversible*) (Belitz dan Grosch, 1999). Menurut Pomeranz (1991), menyatakan bahwa gelatinisasi merupakan proses pembekakan granula pati ketika dipanaskan dalam media air. Granula pati tidak larut dalam air dingin, tetapi granula pati dapat mengembang dalam air panas. Naiknya suhu pemanasan akan meningkatkan pembengkakan granula pati.

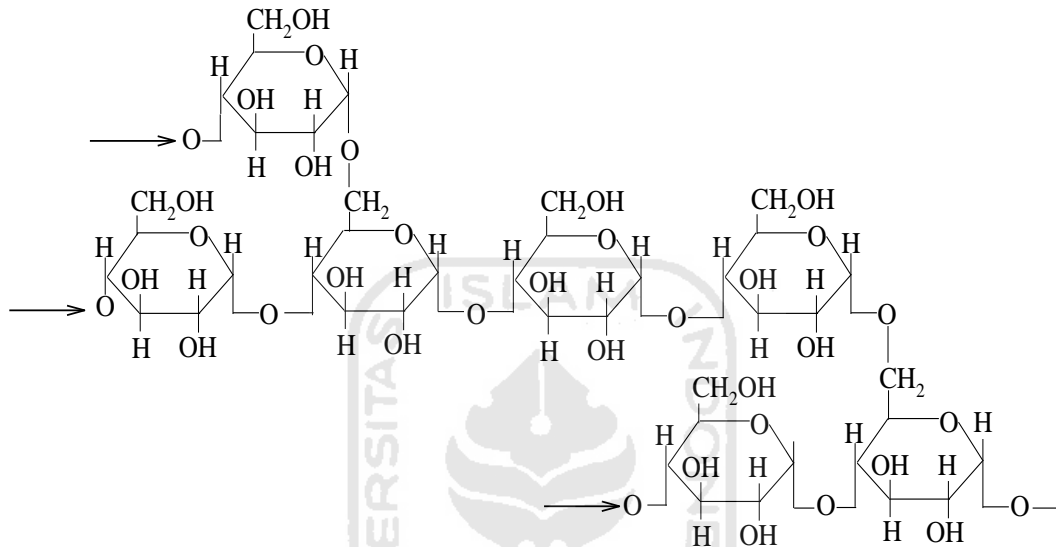
Pembengkakan granula pati menyebabkan terjadinya penekanan antara granula pati dengan lainnya. Mula-mula pembengkakan granula pati bersifat *reversible* (dapat kembali ke bentuk awal), tetapi ketika suhu tertentu sudah terlewati, pembengkakan granula pati menjadi *irreversible* (tidak dapat kembali) (Pomeranz, 1991). Kondisi pembekakan granula pati yang bersifat *irreversible* ini disebut dengan gelatinisasi, sedangkan suhu terjadinya peristiwa ini disebut suhu gelatinisasi. Sifat pati yang telah tergelatinisasi inilah yang diaplikasikan pada berbagai produk pangan (Winarno, 2004).

2.4 Amilosa dan Amilopektin

Pati terdiri dari dua fraksi yang dapat dipisahkan dengan air panas. Fraksi terlarut disebut amilosa dan fraksi tidak larut disebut amilopektin. Amilosa merupakan polimer rantai lurus yang dibangun oleh ikatan α -(1,4)-glikosidik dan pada setiap rantai terdapat 500-2000 unit D-glukosa. Sifat amilosa dapat larut dalam air. Apabila kadar amilosa tinggi maka pati akan bersifat kering, kurang lekat, dan cenderung meresap air lebih banyak (higrokopis). Pada hidrolisis amilosa menghasilkan maltosa disamping glukosa dan oligosakarisa lainnya (Soebijanto, 1986). Sedangkan amilopektin terdiri dari rantai-rantai amilosa (ikatan α -(1,4)) yang saling terikat membentuk cabang dengan ikatan glikosida α -(1,6).



Gambar 2.2 Struktur Amilosa (Rowe, *et al.*, 2009)



Gambar 2.3 Struktur Amilopektin (Rowe, *et al.*, 2009)

2.5 Resistant Starch (RS)

Pati dapat diklasifikasikan menjadi 2 jenis berdasarkan daya cerna dari pati, yaitu *Disgestible Starch* (DS) dan *Resistant Starch* (RS) (Sajilata, 2006). *Disgestible Starch* (DS) adalah pati yang dapat dicerna, yaitu mencakup *Slowly Digestible Starch* (SDS) dan *Rapidly Disgestible Starch* (RDS). *Slowly Digestible Starch* (SDS) adalah jenis pati yang dihidrolisis secara lambat oleh enzim amilase, sedangkan *Disgestible Starch* (RDS) dihidrolisis secara sempurna oleh enzim amilase.

Resistant Starch (RS) adalah pati yang tidak tercerna dalam usus halus tapi terfermentasi pada usus besar oleh mikroflora (Brigewater, 1998). *Resistant Starch* (RS) mempunyai kelebihan dibandingkan serat pangan yaitu untuk mencegah kanker kolon dan diare, serta dapat meningkatkan mikroflora usus, sehubungan dengan tingginya kadar asam lemak rantai pendek (*Short-Chain Fatty Acid/SCFA*) yang merupakan produk akhir utama dari degradasi serat pangan dan

pati resisten oleh bakteri anaerob pada usus besar (Cummings, 1989). *Resistant Starch* (RS) dibagi menjadi empat golongan yaitu RS₁, RS₂, RS₃, RS₄. Klasifikasi RS dapat dilihat pada tabel 2.1.

Tabel 2.2 Klasifikasi *Resistant Starch* (RS) (Nugent, 2005)

Tipe RS	Proses	Sumber bahan baku	Proses produksi
RS1	Perlakuan fisik	Seluruh atau hasil penghancuran biji	Penggilingan, pengunyahan
RS2	Granula resisten, kristal tipe B, dihidrolisis dengan amilase	Kentang, nanas, leguminosa, jagung kaya amilosa	Pemasakkan
RS3	Retrogradasi pati	Kentang masak, roti, emping jagung, pangan dengan pemasakan ulang	Pengaturan kondisi proses
RS4	Modifikasi kimia	Roti, cake	Modifikasi fisik dan kimia

Dari semua jenis RS, RS tipe 3 adalah yang paling menarik perhatian karena RS tipe ini dapat mempertahankan karakteristik organoleptik ketika ditambahkan pada makanan (Lehmann *et al.*, 2002). RS tipe ini relatif tahan panas dibandingkan RS tipe lainnya sehingga RS tipe 3 stabil selama proses pengolahan pangan (Zaragoza *et al.* 2010). Faktor-faktor yang mempengaruhi keberadaan RS:

1. Proses pengolahan

Proses pengolahan dapat meningkatkan kandungan RS pada makanan berpati, antara lain karena adanya pemanasan dan pendinginan berulang, pengeringan dan pembekuan, suhu dan lama pemanasan pada bahan berpati (Marsono,1998). Perbedaan dalam proses pengolahan pati tersebut dapat mengakibatkan perbedaan derajat rekristalisasi pati sehingga menghasilkan perbedaan kandungan RS. Jumlah RS kebanyakan produk mentah pada umumnya sangat rendah, tetapi pengolahan dan penyimpanan dapat mengakibatkan kenaikan jumlah RS (Marsono,1998).

2. Jenis Pati

Kandungan pati pada setiap tumbuhan berbeda, tergantung pada masing-masing spesiesnya, bahkan kandungan pati dapat bervariasi pada bagian yang berbeda dari tumbuhan yang sama (Lehninger, 1982).

3. Ukuran partikel

Semakin kecil ukuran partikel semakin tinggi rasio antara permukaan dan volume yang berarti akan semakin membesar kemungkinan kontak dan menaikkan serangan enzim sehingga menghasilkan pencernaan yang lebih besar.

4. Pengaruh adanya senyawa lain

Dalam jaringan tumbuh-tumbuhan biasanya granula pati diselubungi oleh bahan-bahan lain, misalnya serat pangan, lipid dan protein. Adanya gula (sukrosa, glukosa, ribose dan manosa) dalam gel pati gandum akan menurunkan RS, yang disebabkan kenaikan mobilitas larutan (Marsono, 1998). Studi pencernaan *in vitro* terhadap kompleks amilosa-lipid dan pati murni menunjukkan bahkan adanya lipid dapat menurunkan pencernaan pembatasan kontak antara pati dengan enzim (Marsono, 1998).

Kandungan RS dalam bahan pangan pada umumnya rendah. Oleh karena itu kandungan RS dalam bahan pangan dapat ditingkatkan melalui modifikasi pati. Untuk mendapatkan pati yang sesuai dengan karakteristik produk pangan dan meningkatkan sifat fungsionalnya maka pati tersebut perlu dimodifikasi (Elliason, 2004).

Pati modifikasi adalah pati yang diberi perlakuan tertentu supaya dihasilkan sifat yang lebih baik untuk memperbaiki sifat sebelumnya, terutama sifat fisik-kimia dan fungsionalnya atau mengubah beberapa sifat lainnya (Saguilan *et al.*, 2005). Modifikasi pati dapat dilakukan dengan berbagai cara baik secara fisik, kimia, maupun enzimatis diantaranya melalui pemanasan bertekanan-pendinginan (*autoclaving-cooling*) beberapa siklus, hidrolisis asam di bawah suhu gelatinisasi, dan pemutusan rantai cabang amilopektin (*debranching*) dengan enzim pullulanase yang dikombinasikan dengan *autoclaving-cooling* (Zaragoza *et al.*, 2010).

Prinsip modifikasi secara fisik secara umum adalah dengan pemanasan. Modifikasi fisik cenderung lebih aman karena tidak menggunakan berbagai bahan kimia (Pratiwi, 2008). Adapun perlakuan modifikasi fisik meliputi: ekstruksi, praboiling, *steam-cooking*, iradiasi *microwave*, pemanggangan, *hydrothermal treatment* dan *autoclaving* (Sajilata *et al* 2006; Bao dan Bergman 2004). Sebagian besar metode modifikasi fisik yang telah disebutkan dapat meningkatkan kadar *Resistant Starch* (RS) (Sajilata *et al.*, 2006).

Selain perlakuan fisik, pati juga dapat dimodifikasi secara kimia dan enzimatis (Chung-wai dan Soralek, 2009). Modifikasi pati secara kimia dapat dilakukan dengan penambahan bahan asam, oksidasi, *cross-linking*, esterifikasi, eterifikasi, dan kationik. Modifikasi pati secara kimia dapat menyebabkan terjadinya *cross linking* sehingga memperkuat ikatan hidrogen dalam molekul pati (Yavus *et al.*, 2003). Pada modifikasi secara enzimatis dilakukan dengan cara menambahkan enzim atau mikroba penghasil enzim. Enzim yang digunakan untuk modifikasi secara enzimatis berfungsi memecah rantai panjang sehingga menjadi rantai yang lebih pendek. Semakin sedikit rantai yang berukuran panjang, maka daya tahan cerna pati akan meningkat (Herawati, 2010). Beberapa enzim yang dapat digunakan yaitu isoamilase dan pullulanase.

2.6 Metode GOD-PAP

Metode enzimatis GOD-PAP lebih spesifik dalam menentukan kadar glukosa darah karena hanya bereaksi dengan β -D-glukosa (Bishop *et al.*, 2005). Glukosa oksidase (GOD) mengkatalisis oksidase glukosa. Pada reaksi ini terbentuk hidrogen peroksida dengan adanya peroksidase (POD) akan bereaksi dengan 2,4-dikloro fenol dan 4-amino antipirin. Oksidasi ini menimbulkan zat warna merah antipirikuinonimin yang intensitasnya sebanding dengan kadar glukosa.

Senyawa kuinonimin terbentuk dari substrat awal glukosa melalui reaksi oksidasi yang dikatalisis oleh enzim glukosa oksidase (GOD) membentuk asam-O-glukonat dan H_2O_2 . Hidrogen peroksida dengan senyawa-senyawa dalam reagen GOD-PAP yang terdiri dari 4-aminoantipirin dan fenol dan dikatalisis

enzim peroksidase membentuk kromofor kuinonimin (merah) yang intensif dan diukur pada λ 505 nm (Chaplin, 1996; Nugroho, 2001).

GOD-PAP merupakan enzim yang memerlukan waktu untuk bereaksi optimum, sehingga dibutuhkan waktu inkubasi. Jika waktu inkubasi kurang dari waktu optimum atau *operating time*-nya, maka enzim tidak akan bereaksi secara sempurna. Sedangkan apabila waktu inkubasi lebih dari waktu inkubasi maka senyawa yang terbentuk akan terdegradasi.

2.7 Spektrofotometer UV-Visibel

Prinsip spektrofotometer UV-Visibel didasarkan adanya interaksi dari energi radiasi elektromagnetik dengan zat kimia. Dalam analisis kimia peristiwa absorbsi merupakan dasar dari cara spektroskopi karena absorpsi bersifat spesifik untuk setiap zat kimia. Disamping itu banyaknya absorpsi berbanding lurus dengan adanya zat kimia (Sudarmadji, *et al.*, 1989). Spektrometer menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau diabsorpsi (Harjadi, 1990).

Spektrum UV-Vis mempunyai bentuk yang lebar dan hanya sedikit informasi tentang struktur yang bisa didapatkan dari spektrum ini. Tetapi spektrum ini sangat berguna untuk pengukuran secara kuantitatif. Konsentrasi dari analit di dalam larutan bisa ditentukan dengan mengukur absorban pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan hukum Lambert-Beer (Dachriyanus, 2004).

Sinar ultraviolet mempunyai panjang gelombang antara 200-400 nm, sementara sinar tampak mempunyai panjang gelombang 400-800 nm (Dachriyanus, 2004). Untuk menentukan konsentrasi suatu analit dengan teknik spektrofotometri UV-Visibel, diperlukan standar yang telah diketahui konsentrasinya. Larutan standar terdiri dari beberapa tingkat konsentrasi mulai yang rendah sampai yang tinggi (Khopkar, 2003). Prinsip penentuan spektrofotometer UV-Vis adalah aplikasi dari Hukum Lambert-Beer, yaitu:

$$A = -\log T = -\log I_t/I_0 = \epsilon \cdot b \cdot c$$

Keterangan :

A = absorbansi dari sampel yang akan diukur ; T = transmitansi ; I_0 = intensitas sinar masuk ; I_t = intensitas sinar yang diteruskan ; ϵ = serapan molar ; b = tebal kuvet yang digunakan ; c = konsentrasi sampel.

Komponen spektrofotometer UV-Visibel yaitu :

1. Sumber sinar

Sumber radiasi yang ideal untuk pengukuran serapan harus menghasilkan spektrum kontinu dengan intensitas yang seragam pada keseluruhan kisaran panjang gelombang yang sedang dipelajari. Sumber-sumber radiasi ultra violet yang kebanyakan digunakan adalah lampu hidrogen dan lampu deuterium. Lampu tersebut terdiri dari sepasang elektroda yang terselubung dalam tabung gelas dan diisi dengan gas hidrogen atau deuterium pada tekanan yang rendah. Selain itu dapat pula digunakan lampu xenon dan lampu *filament tungsten* (Mulja dan Suharman, 1995).

2. Monokromator

Monokromator berfungsi untuk mendapatkan radiasi monokromatis dari sumber yang memancarkan radiasi polikromatis. Monokromator terdiri dari tiga bagian yaitu celah (slit) masuk – filter - prisma - kisi (*grating*) – celah keluar (Mulja dan Suharman, 1995).

Celah monokromator adalah bagian yang pertama dan terakhir dari suatu sistem optik monokromator pada spektrofotometer UV-Vis. Celah dibuat dari logam yang kedua ujungnya diasah dengan cermat sehingga sama. (Mulja dan Suharman, 1995).

Filter optik berfungsi menyerap warna komplementer sehingga cahaya tampak yang diteruskan merupakan cahaya yang berwarna sesuai dengan warna filter optik yang dipakai. Filter optik yang sederhana dan banyak dipakai terdiri dari kaca yang berwarna. Dengan adanya filter optik sebagai bagian dari monokromator akan dihasilkan pita cahaya yang sangat sempit sehingga kepekaan analisisnya lebih tinggi (Mulja dan Suharman, 1995).

Prisma dan kisi (*grating*) merupakan salah satu bagian monokromator yang terpenting. Prisma dan kisi pada prinsipnya mendispersi radiasi elektromagnetik

sebesar mungkin supaya didapatkan resolusi yang baik dari radiasi polikromatis (Mulja dan Suharman, 1995).

3. Kuvet

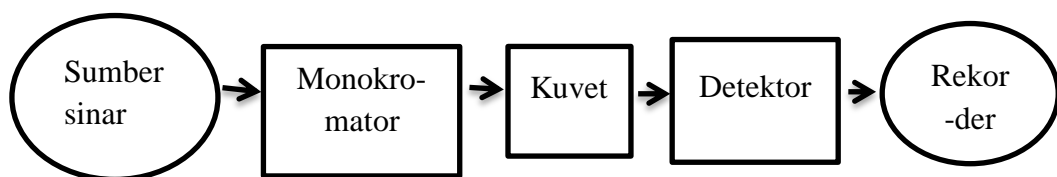
Cuplikan yang akan dipelajari pada daerah ultraviolet biasanya ditempatkan dalam sel atau kuvet. Ditinjau dari pemakaiannya kuvet terdiri dari kuvet permanen dari bahan gelas atau leburan silika dan kuvet *disposable* terbuat dari teflon atau plastik. Berdasarkan bahan dasar pembuatnya kuvet dibedakan menjadi kuvet dari leburan silika dan kuvet dari gelas (Mulja dan Suharman, 1995). Sebelum digunakan sel atau kuvet harus dibersihkan dengan air, atau jika dikehendaki dapat dicuci dengan larutan detergen atau asam nitrat panas. Syarat pelarut yang digunakan dalam spektrofotometri yaitu harus dapat melarutkan cuplikan dan dapat meneruskan radiasi dalam daerah panjang gelombang yang sedang dipelajari.

4. Detektor

Detektor merupakan salah satu bagian spektrofotometer UV-Vis yang penting. Oleh sebab itu kualitas detektor akan menentukan kualitas spektrofotometer UV-Vis. Fungsi detektor di dalam spektrofotometer adalah mengubah sinyal radiasi yang diterima menjadi sinyal elektronik (Mulja dan Suharman, 1995).

5. Rekorder

Fungsi rekorder mengubah panjang gelombang hasil deteksi dari detektor yang diperkuat oleh amplifier menjadi radiasi yang ditangkap detektor kemudian diubah menjadi sinyal-sinyal listrik dalam bentuk spektrum. Spektrum tersebut selanjutnya dibawa ke monitor sehingga dapat dibaca dalam bentuk transmittan maupun absorbansi (Day dan Underwood, 2002).



Gambar 2.3 Rangkaian alat spektrofotometer UV-Visibel (Monica dan Avriana, 2013)

Hal-hal yang perlu diperhatikan dalam analisis spektrofotometri ultraviolet dan sinar tampak sebagai berikut (Skoog dan West,1971) :

1. Kestabilan warna untuk beberapa lama.
2. Sebaiknya dipakai reaksi warna yang spesifik untuk unsur tertentu,sehingga adanya unsur-unsur lain yang tidak mengganggu dan pemisahan tidak perlu dilakukan.
3. Sifat zat warna, kalau zat warna yang terbentuk berada dalam keadaan tertutup dan segera diperiksa karena penguapan akan menyebabkan pemekatan larutan.
4. Sensitif, yaitu dengan perubahan konsentrasi yang kecil akan menyebabkan pemekatan larutan dan larutan homogen akan mengabsorpsi cahaya di setiap bagian sama.



BAB III

METODOLOGI

3.1 Alat dan Bahan

3.1.1 Alat

1. Spektrofotometer UV-Visibel (Dynammica)
2. Peralatan gelas (pyrex)
3. Neraca analitik (Kern ABJ)
4. Mikropipet
5. *Shaker incubator (Orbital incubator SI 500)*
6. Inkubator
7. *Vortex mixer (VM-300)*

3.1.2 Bahan

1. larutan buffer KCl- HCl pH 1,5
2. larutan buffer 0,1 M Tris-maleate pH 6,9
3. Larutan buffer asetat 0,4 M dengan pH 4,75
4. Larutan KOH 4 M
5. Larutan HCl 2 M
6. Pepsin
7. α -amylase (*Porcine pancreas*)
8. Amyloglucosidase (*Aspergillus niger*)
9. Reagen Glukosa oksidase- peroksidase (GOD-PAP) (DiaSys)
 - 9.1 Buffer fosfat pH 7,4
 - 9.2 Fenol
 - 9.3 4-aminoantipirin
 - 9.4 Glukosa oksidase
 - 9.5 Peroksidase
10. Akuades
11. Pati Tacca

3.2 Cara kerja

3.2.1 Perlakuan fisik pati tacca

Bahan dasar penelitian ini adalah pati tacca, untuk pembuatan sampel mula-mula pati tacca disuspensikan dengan air. Pati Tacca disuspensikan dengan air dengan perbandingan 60:40 (b/v). Selanjutnya sampel ditimbang sebanyak 5 g dan kemudian dilakukan modifikasi secara fisik. Adapun modifikasi fisik pati meliputi perebusan, pengukusan, pemanggangan, penggorengan dan pendinginan.

3.2.2 Penentuan Kadar Air (AOAC,1990)

Pengukuran kadar air menggunakan metode gravimetri. Sampel pati Tacca murni dan sampel yang telah dimodifikasi dengan perlakuan fisik ditimbang dalam krus yang telah dikeringkan dalam oven sebelumnya. Kemudian sampel yang telah dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 3 jam. Setelah itu sampel didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Pengeringan ini diulangi sampai sampel mencapai berat konstan.

$$\% \text{ Kadar Air} = \frac{\text{sampel awal (g)} - \text{sampel akhir (g)}}{\text{sampel awal (g)}} \times 100\%$$

3.3.3 Pembuatan larutan induk glukosa 100 mg/L

Glukosa sebanyak 10 mg dilarutkan dengan akuades dalam labu ukur 100 mL, seka dan tera kemudian dihomogenkan larutan tersebut.

3.3.4 Pembuatan larutan deret standar glukosa

Larutan induk glukosa 100 mg/L dipipet sebesar 0 mL, 1 mL, 2 mL, 3 mL, 4 mL dan 5 mL ke dalam labu ukur 10 mL. Larutan tersebut diencerkan menggunakan akuades sampai tanda batas, seka dan tera kemudian dihomogenkan.

3.2.5 Hidrolisis Pati

Sampel sebanyak \pm 50 mg dimasukkan ke dalam *centrifuge tube*, kemudian ditambahkan dengan 5 mL buffer KCl-HCl pH 1,5 dan dihomogenkan. Enzim pepsin ditambahkan sebanyak 0,1 mL kemudian divortex dan diinkubasi pada suhu 40°C selama 60 menit dengan diaduk konstan. Sampel yang telah diinkubasi diangkat dan didinginkan pada suhu ruang.

Setelah didinginkan, sampel ditambahkan larutan buffer 0,1 M Tris-maleate pH 6,9 sebanyak 4,5 mL dan α -amilase 0,5 mL lalu dihomogenkan. Selanjutnya sampel diinkubasi pada suhu 37°C selama 16 jam dengan pengadukkan konstan. Sampel disentrifuse (20 menit, 2445 g) dan dipisahkan supernatan. Sampel yang telah dipisahkan dicuci menggunakan 5 mL akuades dan disentrifuse kembali dan dipisahkan supernatan.

Residu yang terdapat dalam *centrifuge tube* ditambahkan dengan 1,5 mL akuades dan 1,5 mL KOH 4 M, kemudian homogenkan dan ditinggalkan selama 30 menit pada suhu ruangan dengan pengadukkan konstan. Setelah itu ditambahkan 2,75 mL HCl 2M dan 1,5 mL buffer natrium asetat pH 4,75. Enzim amyloglukosidase ditambahkan sebanyak 40 μ L kemudian dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu 60°C selama 45 menit dengan pengadukkan konstan.

Hasil dari inkubasi kemudian disentrifuse (20 menit, 2445 g), dikumpulkan supernatan pada labu ukur. Residu dicuci dengan 5 mL akuades, disentrifuse kembali dan campurkan supernatan yang dengan hasil sebelumnya. Supernatan yang dimasukkan ke dalam labu 25 mL.

3.2.6 Analisis *Resistant Starch* (RS)

Pipet 1 mL akuades, larutan standar dan sampel hasil hidrolisis kemudian ditambahkan 2 mL larutan GOD-PAP. Campurkan larutan tersebut dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Selanjutnya diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 500 nm. Kurva standar yang diperoleh digunakan untuk menentukan konsentrasi glukosa dan untuk menentukan kadar RS konsentrasi glukosa \times 0,9. Nilai 0,9 merupakan faktor konversi pembentukkan glukosa dari proses hidrolisis pati.

$$\% \text{ Kadar RS} = \frac{\text{konsentrasi sampel (mg)}}{\text{massa sampel kering (mg)}} \times 0,9 \times 100\%$$

3.2.7 Validasi Metode

1. Penentuan Linieritas

Larutan standar glukosa 0, 10, 20, 30, 40, 50 mg/L diukur absorbansinya pada λ 500 nm. Kemudian nilai absorbansi dari masing-masing standar dibuat kurva linieritas hubungan absorbansi (A) dengan konsentrasi (C) sehingga didapat persamaan garis linier.

2. Penentuan Limit Deteksi (LOD) dan Limit Kuantitasi (LOQ)

Data perhitungan Limit Deteksi (LOD) dan Limit Kuantitasi (LOQ) diambil dari hasil pengukuran larutan deret standar glukosa. Nilai Limit Deteksi (LOD) dan Limit Kuantitasi (LOQ) dapat dihitung dengan persamaan sebagai berikut:

Penentuan LOD

$$\text{LOD} = \frac{3\text{Sd}}{\text{slope}}$$

$$\text{Sd} = \sqrt{\frac{\sum(Y_i - Y_c)^2}{n - 2}}$$

Penentuan LOQ

$$\text{LOQ} = \frac{10\text{Sd}}{\text{Slope}}$$

Keterangan: LOQ = (*Limit of Quantification*)

Sd = Standar deviasi



BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

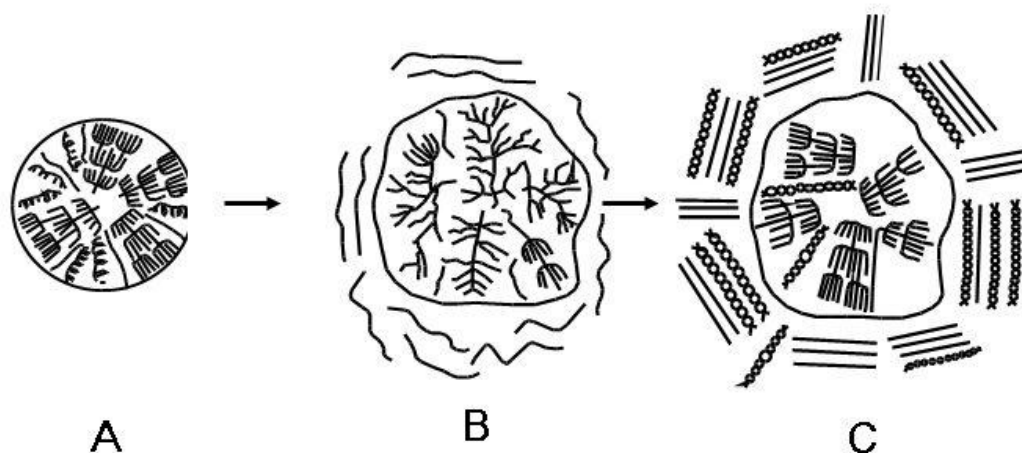
4.1 Modifikasi Fisik pati *Tacca (Tacca leontopetaloides)*

Modifikasi pati bertujuan mengubah sifat kimia atau fisik pati secara alami, yaitu dengan cara memotong struktur molekul, menyusun kembali struktur molekul, oksidasi atau substitusi gugus kimia pada molekul pati (Wurzberg, 1989). Pada penelitian ini dilakukan modifikasi pati secara fisik karena dirasa paling aman dan tidak meninggalkan residu bahan kimia (Pratiwi, 2008). Adapun modifikasi fisik pati *Tacca* dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Perlakuan modifikasi fisik terhadap pati *tacca*

Perlakuan	Kode
Pengkukusan (105°C, 15 menit)	K
Pendinginan (4°C, 24 jam)	KD
Perebusan (100°C, 15 menit)	KR
Penggorengan (10 menit)	KG
Pemanggangan (175°C, 15 menit)	KP
Perebusan (100°C, 15 menit)	R
Pendinginan (4°C, 24 jam)	RD
Pengkukusan (105°C, 15 menit)	RK
Penggorengan (10 menit)	RG
Pemanggangan (175°C, 15 menit)	RP

Pengolahan pati pada tahap pemanasan, ini akan menyebabkan pati mengalami proses gelatinisasi sehingga menyebabkan granula pati rusak dan membengkak. Berdasarkan penelitian, pada perlakuan pertama yaitu perebusan menyebabkan pati membengkak lebih baik jika dibandingkan dengan perlakuan pertama pada pengukusan. Hal ini disebabkan karena proses perebusan menggunakan air yang berlebih, sedangkan pada proses pengukusan menggunakan uap air sehingga menyebabkan gelatinisasi pada proses pengukusan kurang optimal dibandingkan proses perebusan. Proses Gelatinisasi dapat dilihat pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Proses Gelatinisasi dan Retrogradasi Pati (<http://www.food-info.net/uk/carbs/starch.htm>)

Gambar 4.1 diatas yang ditunjukkan oleh huruf A adalah granula pati, dalam granula pati tersebut terdapat amilosa dan amilopektin. Ketika pati ditambahkan air dan dilakukan pemanasan pada suhu dan waktu tertentu maka energi panas akan menyebabkan ikatan hidrogen terputus, dan air masuk ke dalam granula pati. Meresapnya air ke dalam granula menyebabkan terjadinya pembengkakan granula pati yang disebut gelatinisasi. Gelatinisasi ditunjukkan oleh gambar diatas oleh huruf B. Gelatinisasi adalah pembengkakan granula pati ketika dipanaskan dalam media air (Pomeranz, 1991).

Proses lanjutan seperti pendinginan pati yang telah mengalami gelatinisasi dapat mengubah struktur pati yang mengarah terbentuknya kristal baru yang tidak larut berupa pati teretrogradasi. Retrogradasi adalah proses kristalisasi kembali pati yang telah mengalami gelatinisasi. Ketika proses retrogradasi, molekul-molekul amilosa berikatan kembali satu sama lain serta berikatan dengan cabang amilopektin pada pinggir-pinggir luar granula, dengan demikian mereka menggabungkan butir-butir pati yang bengkak tersebut menjadi semacam jaring-jaring membentuk mikrokristal dan mengendap (Winarno, 2002). Proses retrogradasi pada gambar diatas ditunjukkan oleh huruf C.

Gelatinisasi dan retrogradasi yang sering terjadi pada pengolahan bahan berpati mempengaruhi pencernaan pati di dalam usus halus (Marsono, 1998). Pati teretrogradasi merupakan jenis pati yang paling resisten terhadap serangan enzim

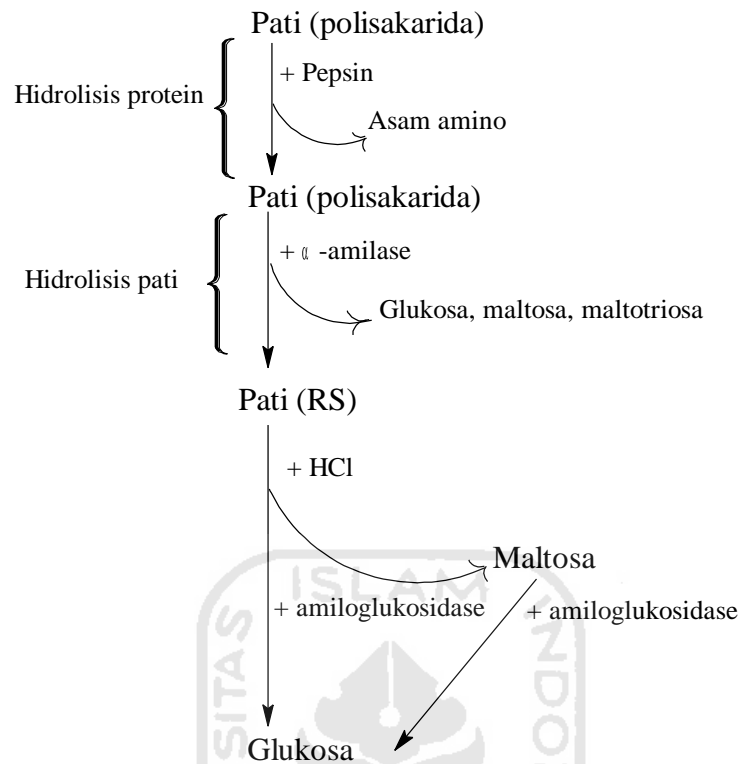
pencernaan, sehingga semakin banyak jumlah pati teretrogradasi maka semakin tinggi kadar RS.

Resistant Starch (RS) dalam bahan pangan penting untuk dianalisis karena sehubungan dengan keberadaan *Resistant Starch (RS)* dalam pangan dapat meningkatkan efek fisiologis dari makanan tersebut. Efek fisiologis dari *Resistant Starch (RS)* salah satunya yaitu dapat menghambat peningkatan gula darah dengan mengurangi kecepatan dan jumlah karbohidrat yang dicerna, dengan demikian diharapkan dapat menurunkan respon insulin, sehingga makanan yang mengandung RS baik dikonsumsi untuk penderita diabetes.

4.2 Hidrolisis Pati

Menurut Englyst (1992), *Resistant Starch (RS)* merupakan pati yang tidak tergelatinisasi dalam air mendidih tapi tergelatinisasi dalam larutan KOH dan dapat dicerna oleh enzim amilase, amiloglukosidase dan pullulanase. Berdasarkan pengertian tersebut maka untuk analisis kadar *Resistant Starch (RS)* perlu dilakukan hidrolisis secara enzimatik terlebih dahulu.

Setelah melakukan modifikasi fisik pati *Tacca*, sampel pati yang akan dianalisis harus dihidrolisis terlebih dahulu menggunakan enzim hidrolase yang dapat mencerna pati. Tahapan hidrolisis pada penelitian ini meliputi hidrolisis protein oleh enzim pepsin, hidrolisis pati oleh enzim α -amilase dan hidrolisis pati sebagai *Resistant Starch (RS)* oleh enzim amiloglukosidase, tahapan tersebut dapat dilihat pada Gambar 4.2.

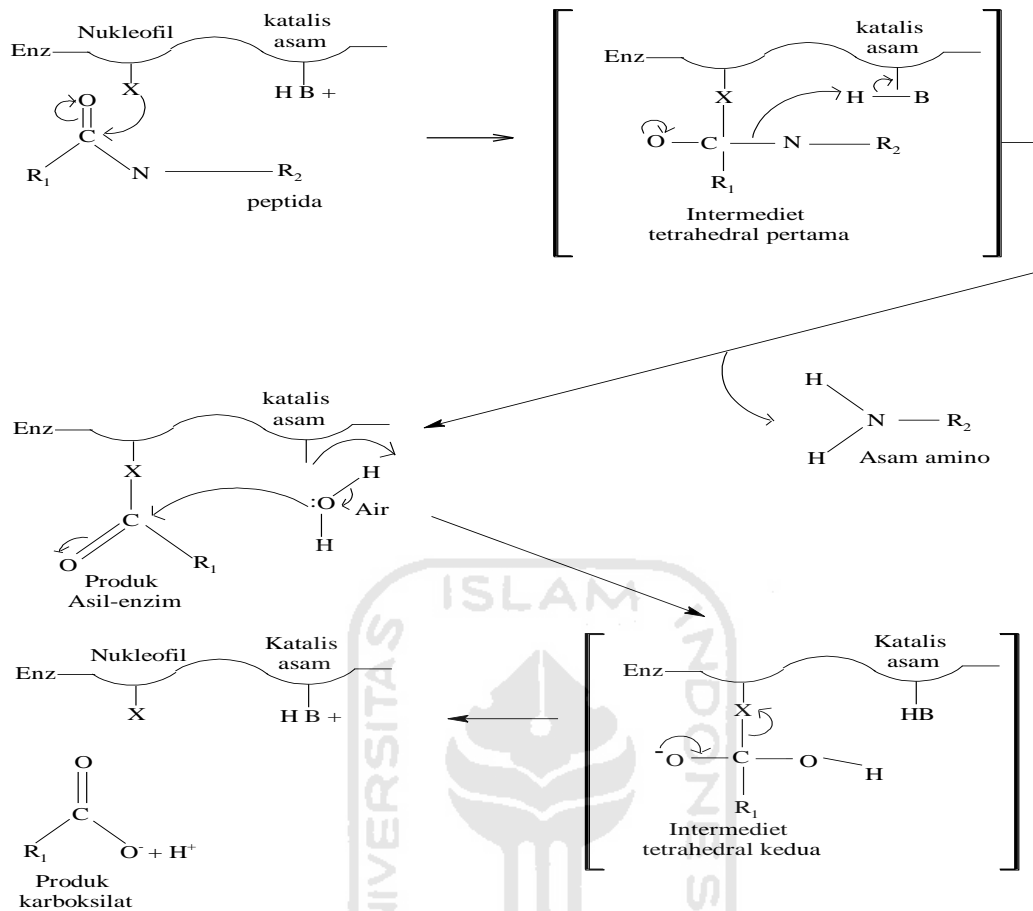


Gambar 4.2 Tahap hidrolisis pati

4.2.1 Hidrolisis Pati Menggunakan Enzim Pepsin

Sampel pati hasil modifikasi ditambahkan dengan buffer KCl-HCl pH 1,5 dan enzim pepsin. Penggunaan buffer KCl-HCl berfungsi untuk mengaktifkan enzim pepsin, selain itu larutan buffer berguna untuk menahan perubahan pH larutan. Larutan buffer KCl-HCl pH 1,5 berguna untuk membuat pH yang baik pada proses pemecahan molekul protein oleh enzim pepsin dengan cara hidrolisis.

Enzim pepsin termasuk dalam kategori enzim protease, enzim pepsin ini bekerja sebagai katalis pada reaksi pemecahan molekul protein. Sehingga pada tahap ini protein yang terkandung dalam sampel dihilangkan melalui proses hidrolisis. Hidrolisis protein oleh enzim pepsin ini, berfungsi untuk menghilangkan interferensi protein agar tidak mempengaruhi pengukuran *Resistant Starch* (RS). Interaksi antara protein dan pati dapat mengurangi pembentukan RS (Sajilata *et al.*, 2006). Hidrolisis ikatan peptida dapat dilihat pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3 Mekanisme umum hidrolisis enzimatik substrat peptida (Moran *et al.*, 1994)

Sampel kemudian dihomogenkan menggunakan vortex dan selanjutnya diinkubasi pada suhu $40^{\circ}C$ selama 60 menit dengan pengadukan konstan untuk mengoptimalkan hasil hidrolisis. Penggunaan suhu inkubasi $40^{\circ}C$ dikarenakan pada suhu tersebut menunjukkan suhu optimum, yaitu suhu yang dapat menyebabkan terjadinya reaksi kimia dengan kecepatan paling besar.

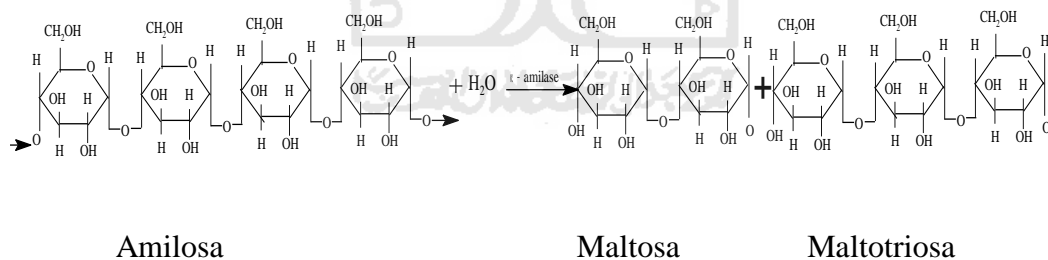
Suhu inkubasi tidak hanya mempengaruhi kinerja enzim, namun juga mempengaruhi proses hidrolisis pati secara keseluruhan. Proses pengadukan juga mempengaruhi keberhasilan hidrolisis pati. Apabila pengaduk tidak berfungsi dengan baik maka bisa jadi akan mengganggu proses hidrolisis pati, karena akan membentuk gumpalan yang sulit dihidrolisis oleh enzim. Oleh sebab itu kecepatan pengadukan harus diusahakan konstan pada kecepatan tertentu supaya tidak mengakibatkan pati menggumpal.

4.2.2 Hidrolisis Pati Menggunakan Enzim α -amilase

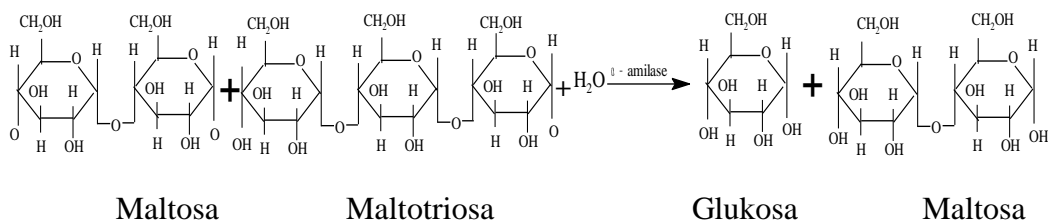
Proses hidrolisis pati selanjutnya menggunakan enzim α -amilase, untuk mengaktifkan enzim tersebut dibutuhkan larutan buffer Tris-maleate pH 6,9. Selain untuk mengaktifkan enzim α -amilase, larutan buffer Tris-maleate pH 6,9 berguna untuk mempertahankan pH larutan sehingga mengoptimalkan kerja enzim ini. Enzim α -amilase dapat bekerja pada range pH 5,6-7,9. Sampel diinkubasi pada suhu 37°C selama 16 jam dengan pengadukan konstan untuk mengoptimalkan proses hidrolisis.

Enzim α -amilase berfungsi untuk memecah ikatan α -(1,4) yang terdapat dalam pati. Enzim ini disebut enzim endo amilase sebab enzim ini memecah bagian dalam atau bagian tengah molekul amilum. Kerja α -amilase adalah memecah ikatan α -1,4-glikosidik secara cepat dan acak yang menghasilkan maltosa, glukosa dan maltotriosa dan menyebabkan polimer-polimer pati yang telah terkonversi menjadi molekul-molekul yang lebih pendek (Winarno, 1995).

Hidrolisis amilosa oleh α -amilase terjadi melalui dua tahap. Tahapan hidrolisis pertama dapat dilihat pada Gambar 4.4 dan tahapan kedua dapat dilihat pada Gambar 4.5.



Gambar 4.4 Hidrolisis oleh α -amilase tahap I



Gambar 4.5 Hidrolisis oleh α -amilase tahap II

Tahap pertama adalah degradasi amilosa menjadi maltosa dan maltotriosa yang terjadi secara acak, sangat cepat dan diikuti dengan penurunan viskositas.

Tahap kedua merupakan proses degradasi yang relatif lebih lambat yaitu pembentukan glukosa dan maltosa sebagai hasil akhir dimulai dari ujung pereduksi secara teratur (Winarno, 1983).

Hasil hidrolisis pati oleh enzim α -amilase kemudian disentrifuse, yaitu proses pemisahan yang berdasarkan perbedaan massa jenis dengan menggunakan gaya putaran atau gaya sentrifugal. Proses sentrifuse ini dilakukan selama 20 menit dengan kecepatan 2445 g. Selanjutnya hasil sentrifuse akan terbagi menjadi dua fase yaitu supernatan yang berupa cairan dan *pellet* atau organel yang mengendap. Supernatan yang diperoleh tersebut dipisahkan untuk dibuang. *Pellet* (residu) yang dihasilkan ditambahkan akuades kemudian disentrifuse dan dipisahkan kembali supernatan yang diperoleh.

Pellet (residu) dari hasil hidrolisis pati oleh enzim α -amilase ini dianggap sebagai *Resistant Starch* (RS)/pati resisten. *Resistant Starch* (RS) pada penelitian ini, dianalisis menggunakan metode GOD-PAP. Sehingga untuk memudahkan analisis, *Resistant Starch* (RS) dihidrolisis oleh enzim amiloglukosidase menjadi glukosa dan selanjutnya dianalisis menggunakan metode GOD-PAP.

4.2.3 Hidrolisis Pati Menggunakan Enzim Amiloglukosidase

Pellet (residu) hasil hidrolisis pati oleh enzim α -amilase ditambahkan dengan akuades dan KOH 4 M, kemudian dihomogenkan dan dilakukan pengadukkan pada suhu ruang selama 30 menit. Penambahan KOH berfungsi supaya pati mengalami gelatinisasi. Selanjutnya pati yang telah tergelatinisasi tersebut dihidrolisis dengan cara penambahan HCl 2 M.

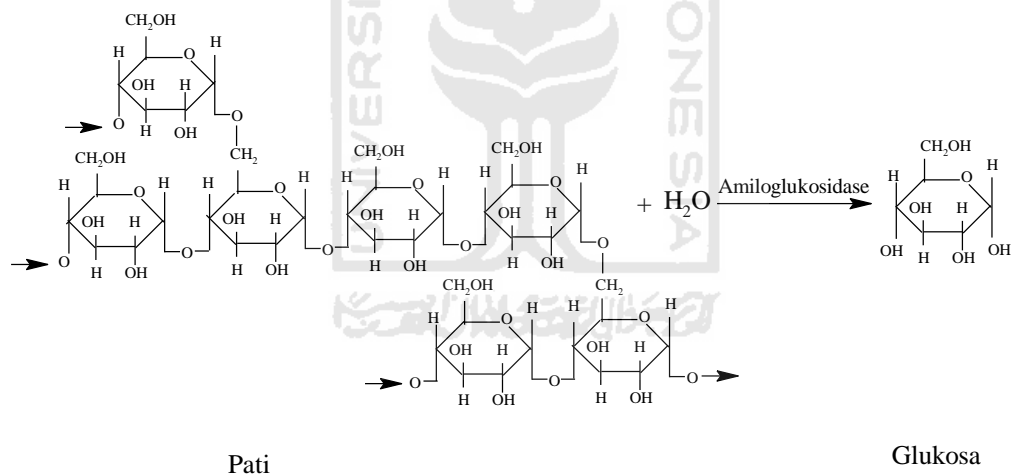
Proses hidrolisis pati selanjutnya yaitu menggunakan enzim amyloglukosidase. Enzim amyloglukosidase ini diaktifkan menggunakan larutan buffer asetat pH 4,75. Larutan buffer ini selain mengaktifkan enzim, juga berfungsi untuk menahan perubahan pH secara signifikan.

Enzim amyloglukosidase bersifat eksoamilase yaitu memotong ikatan α -(1,4) pada pati. Selain itu, enzim ini berfungsi memutuskan rantai cabang (α -1,6) yang tidak terputus oleh enzim α -amilase menjadi glukosa (monosakarida) yang didukung dengan keadaan pH larutan 4,75 dan suhu 60°C yang merupakan

keadaan terbaik bagi aktivitas enzim amyloglukosidase untuk merubah karbohidrat menjadi glukosa. Enzim ini dapat bekerja pada suhu 50°C – 60°C dengan pH 4,0 – 5,0.

Hasil hidrolisis pati oleh enzim amyloglukosidase berupa glukosa, hasil tersebut kemudian disentrifuse (20 menit, 2445 g) dan supernatan yang diperoleh dikumpulkan pada labu ukur. Supernatan tersebut yang diukur sebagai *Resistant Starch (RS)*.

Pellet (residu) hasil sentrifuse dicuci dengan akuades kemudian disentrifuse dan dikumpulkan kembali supernatan yang diperoleh dengan hasil sebelumnya. Pencucian *pellet* (residu) ini bertujuan untuk meminimalkan hasil yang masih tertinggal dalam *pellet* (residu). Adapun reaksi hidrolisis pati oleh glukoamilase secara sederhana berlangsung menurut persamaan (Tjokroadikoesoemo,1993), dan dapat dilihat pada Gambar 4.6.



Gambar 4.6 Hidrolisis pati oleh enzim amiloglukosidase

4.3 Analisis Kadar *Resistant Starch (RS)* pati *Tacca (Tacca leontopetaloides)*

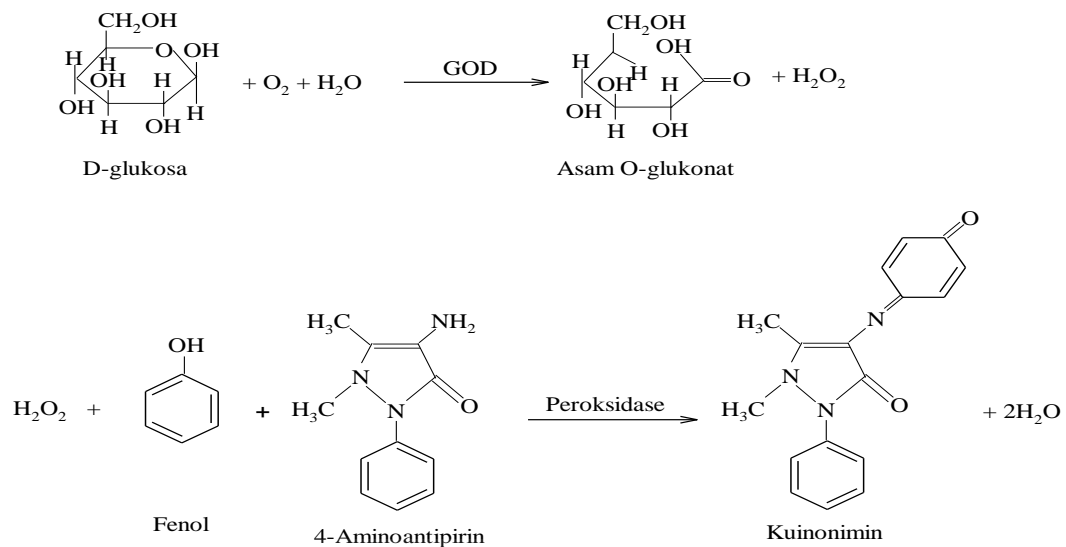
Pati dalam makanan dulu dianggap dapat dicerna secara sempurna. Namun dari beberapa penelitian, ditemukan pati yang lolos pada proses pencernaan dalam usus halus, masuk ke dalam usus besar dan mengalami fermentasi oleh mikroflora dalam usus besar sehingga dikenal sebagai pati resisten/*resistant starch (RS)*.

Resistant Starch (RS) secara kimiawi didefinisikan sebagai pati yang tidak tergelatinisasi dalam air mendidih tapi tergelatinisasi dalam larutan KOH dan dapat dicerna oleh enzim amilase, amiloglukosidase dan pullulanase (Englyst, 1992). *Resistant Starch* (RS)/pati resisten dapat dimanfaatkan sebagai *food ingredient*, terutama sebagai bahan makanan fungsional untuk kesehatan pencernaan, disamping dapat menurunkan kolesterol dalam darah (Herawati, 2011).

Penentuan kadar *Resistant Starch* (RS) pada penelitian ini, menggunakan metode yang digunakan oleh Goni *et al* (1996). Prinsip analisis *Resistant Starch* (RS) pada penelitian ini, berdasarkan pada glukosa hasil hidrolisis pati oleh enzim amiloglukosidase direaksikan dengan reagen GOD-PAP. Kemudian diukur hasil reaksi oksidasi glukosa melalui proses enzimatik secara *colourimetric*.

Dengan adanya oksigen, glukosa dioksidasi oleh glukosa oksidase (GOD) menjadi asam glukonat dan hidrogen peroksida (H_2O_2). Hidrogen peroksida akan bereaksi dengan katalis peroksidase (POD) sehingga membentuk senyawa yang berwarna merah. Intensitas zat warna yang terbentuk memiliki proporsi yang sama dengan konsentrasi glukosa dan dapat diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Pengukuran *Resistant Starch* (RS) pada penelitian ini menggunakan panjang gelombang 500 nm.

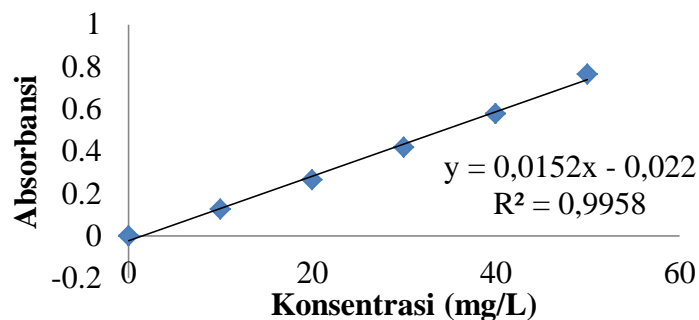
Larutan standar glukosa, akuades dan sampel (diperoleh dari hasil hidrolisis pati oleh enzim hidrolase) masing-masing ditambahkan dengan reagen GOD-PAP yang di dalam reagen tersebut mengandung senyawa fenol dan 4-aminoantipirin. Campuran larutan tersebut kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu $37^{\circ}C$ untuk mengoptimalkan hasil pengukuran RS yang diperoleh. Adapun reaksi yang terjadi pada penentuan RS Tacca sebagai berikut :



Gambar 4.7 Reaksi Oksidasi Glukosa dengan metode GOD-PAP

4.4 Hasil Analisis

Hasil pengukuran larutan standar glukosa kemudian dibuat kurva hubungan antara konsentrasi larutan glukosa dengan nilai absorbansi larutan sehingga diperoleh persamaan garis linier. Linieritas merupakan kemampuan metode analisis yang memberikan respon secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematik yang baik, proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Rentang metode yaitu pernyataan batas terendah dan tertinggi analit yang sudah ditunjukkan dapat ditetapkan dengan kecermatan, keseksamaan dan linieritas yang dapat diterima (Rohman, 2007). Kurva hubungan antara konsentrasi larutan standar glukosa dengan absorbansi dapat dilihat pada Gambar 4.8.



Gambar 4.8 Kurva hubungan antara konsentrasi larutan standar glukosa dengan absorbansi

Berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi maka semakin besar pula nilai absorbansinya. Persamaan garis regresi yang diperoleh yaitu $y = 0,0152x - 0,022$ dengan nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,9958. Nilai koefisien tersebut menunjukkan hubungan konsentrasi larutan standar dan absorbansinya sudah linier karena mendekati satu. Menurut Shargel (1985), kriteria penerimaan untuk korelasi adalah $r \geq 0,995$, sehingga dapat disimpulkan rentang konsentrasi uji pada penelitian ini memberikan respon linier dan rentang konsentrasi uji tersebut bisa digunakan untuk analisis berikutnya.

Selanjutnya kurva standar yang diperoleh digunakan untuk menentukan kandungan RS pati *Tacca* hasil modifikasi fisik. Goni *et al.* (1996) mengelompokkan bahan pangan berdasarkan kandungan *Resistant Starch* (RS) dalam berat kering. Pengelompokkan bahan pangan berdasarkan kandungan *Resistant Starch* (RS) dapat dilihat pada Tabel 4.2 dan hasil analisis kadar RS pati *Tacca* (*Tacca leontopetaloides*) hasil modifikasi fisik dapat dilihat pada Tabel 4.3.

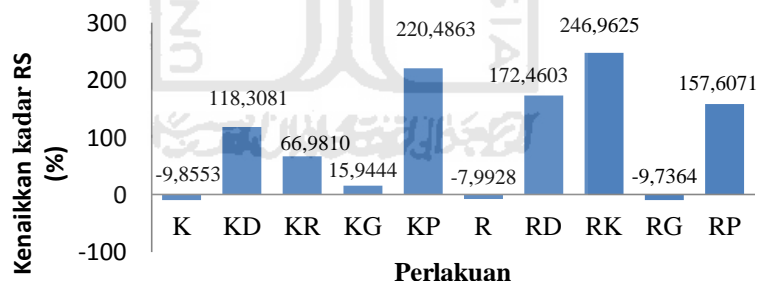
Tabel 4.2 Pengelompokkan kandungan *Resistant Starch* (RS)

Kadar RS	Golongan
< 1%	RS sangat rendah
1-2,5%	RS sedang
5-15%	RS tinggi
>15%	RS sangat tinggi

Tabel 4.3 Hasil analisis kadar RS pati Tacca (*Tacca leontopetaloides*)

Kode	Rata-rata Kadar RS (%)	Perlakuan	Keterangan
M	6,8081	Pati mentah / control	RS tinggi
K	6,1797	Kukus	RS tinggi
KD	14,9766	Kukus-dingin	RS tinggi
KR	11,4468	Kukus-rebus	RS tinggi
KG	7,9492	Kukus-goreng	RS tinggi
KP	21,9871	Kukus-panggang	RS sangat tinggi
R	6,3086	Rebus	RS tinggi
RD	18,6764	Rebus-dingin	RS sangat tinggi
RK	23,7833	Rebus-kukus	RS sangat tinggi
RG	6,2068	Rebus-goreng	RS tinggi
RP	17,2841	Rebus-panggang	RS sangat tinggi

Menurut data hasil analisis diatas, pati Tacca murni termasuk dalam golongan dengan kandungan RS tinggi yaitu sebesar 6,8081 %. Data diatas menyatakan bahwa pengolahan pati secara fisik berpengaruh terhadap kadar RS pati Tacca. Hasil kenaikan kadar RS pati Tacca dapat dilihat pada Gambar 4.9.



Gambar 4.9 Kenaikkan Kadar RS (%) Pati Tacca Hasil Modifikasi

Pengolahan pati pada perlakuan awal pengukusan dan perebusan, mengakibatkan pati mengalami gelatinisasi. Gelatinisasi adalah pembengkakan granula pati ketika dipanaskan dalam media air (Pomeranz, 1991). Pengolahan pati dengan perlakuan awal perebusan mengalami pembengkakan yang lebih baik daripada perlakuan awal pengukusan. Hal tersebut terjadi karena pati yang direbus, secara langsung kontak dengan air berlebih sehingga pembengkakan granula pati lebih baik. Sedangkan perlakuan pengukusan menggunakan uap air,

yang menyebabkan pembengkakan granula pati tidak sebaik perlakuan perebusan. Hal tersebut berakibat pada hasil gelatinisasi perlakuan perebusan lebih baik dibandingkan perlakuan pengukusan.

Pati yang telah mengalami gelatinisasi akibat perlakuan pemasakan (pengukusan dan perebusan) pada penelitian ini, selanjutnya akan mengalami retrogradasi. Retrogradasi merupakan proses kristalisasi kembali pati yang telah mengalami gelatinisasi akibat pengaruh suhu. Proses retrogradasi terbentuk dari pati yang telah mengalami gelatinisasi dan didiamkan beberapa lama sehingga akan terjadi perluasan daerah kristal yang mengakibatkan pengerutan struktur gel (BeMiller dan Whistles, 1996). Fenomena ini biasanya diikuti dengan keluarnya air dari gel dan pengkristalan kembali (BeMiller dan Whistler, 1996).

Berdasarkan hasil penelitian, pengolahan pati yang ditunjukkan kode K (dikukus) dan kode R (direbus) mengalami penurunan kadar RS. Pati yang telah dikukus dan direbus tersebut langsung dianalisis melalui proses hidrolisis secara enzimatis. Rendahnya kadar RS pada pengolahan tanpa kombinasi ini diduga karena terbentuknya pati teretrograsi relatif rendah, hal tersebut terjadi karena setelah pengolahan langsung dilakukan analisis.

Menurut Marsono (2002), proses lanjutan setelah pati tergelatinisasi misalnya pendinginan, pemanggangan atau penggorengan akan mengakibatkan terjadinya retrogradasi pati. Pati yang teretrogradasi ini merupakan pati yang tahan terhadap hidrolisis enzim pencernaan. Semakin banyak pati teretrogradasi maka semakin banyak RS yang terbentuk.

Hasil penelitian secara garis besar menunjukkan bahwa, kombinasi pengolahan dengan perlakuan awal perebusan lebih baik menghasilkan RS dengan kadar yang lebih tinggi. Hal tersebut dikarenakan perlakuan awal perebusan menghasilkan pati tergelatinisasi lebih sempurna dengan adanya air berlebih saat pengolahan. Sehingga ketika dilakukan proses pengolahan lanjutan menghasilkan pati teretrogradasi lebih banyak. Sedangkan perlakuan awal pengukusan belum dihasilkan pati tergelatinisasi sempurna karena keterbatasan penggunaan air (hanya menggunakan uap air).

Pengolahan lanjutan pati dengan cara pendinginan yang ditunjukkan kode KD dan RD, pada penelitian ini meningkatkan kadar RS pati *Tacca*. Kecepatan retrogradasi akan bertambah dengan semakin rendahnya suhu (BeMiller, 1998). Semakin rendah suhu, maka semakin cepat proses retrogradasi dan semakin banyak RS yang terbentuk. Apabila pati didinginkan energi kinetik tidak cukup tinggi untuk mencegah kecenderungan molekul-molekul amilosa untuk berikatan satu sama lain, dengan demikian terjadi semacam jarring-jaring yang membentuk mikrokristal yang mengendap (Winarno, 2004).

Kenaikan kadar RS secara signifikan juga ditunjukkan oleh pengolahan pati kode KR (pengukusan-perebusan) dan RK (perebusan-pengukusan). Pengolahan pati kode KR (pengukusan-perebusan) dan RK (perebusan-pengukusan) memiliki persamaan yaitu sama-sama dilakukan perebusan dan juga pengukusan, yang membedakan hanya proses awal pengolahannya. Namun proses tersebut menghasilkan kadar RS yang berbeda. Pengolahan awal perebusan menghasilkan pati tergelatinisasi lebih baik karena pati secara langsung kontak dengan air berlebih. Sedangkan pengolahan awal pengukusan hanya menggunakan uap air yang mengakibatkan pati belum tergelatinisasi secara sempurna. Tahap lanjutan yang dilakukan pada kode KR (pengukusan-perebusan) dan RK (perebusan-pengukusan) tidak banyak mempengaruhi terbentuknya gelatinisasi, hal ini disebabkan penyerapan pati mentah pada tahap perlakuan awal berbeda dengan penyerapan air pada pati yang telah mengalami gelatinisasi. Sehingga pengolahan awal perebusan akan menghasilkan pati teretrogradasi lebih banyak dibandingkan dengan pengukusan. Semakin banyak pati teretrogradasi, maka semakin tinggi RS.

Pengolahan pati yang dilakukan dengan kombinasi penggorengan yang ditunjukkan kode KG (pengukusan-penggorengan) juga menaikkan kadar RS. Ketika pati tergelatinisasi kemudian dilakukan proses lanjutan seperti penggorengan, menyebabkan pati tergelatinisasi mengalami retrogradasi. Retrogradasi biasanya diikuti dengan keluarnya air dari gel dan pengkristalan kembali. Penggunaan suhu tinggi pada penggorengan menyebabkan keluarnya air

dari pati yang tergelatinisasi dan menyebabkan terbentuknya struktur atau kristal baru yang tidak larut berupa pati teretrogradasi.

Hal lain yang dapat menaikkan kadar RS pada pengolahan lanjutan seperti penggorengan ini yaitu karena terjadinya kompleks amilosa-lipid yang sulit dicerna (Czuchajowska *et al.*, 1991). Pati yang sulit dicerna oleh enzim pencernaan menyebabkan meningkatnya kadar RS. Namun pengolahan pati yang ditunjukkan oleh kode RG (perebusan-penggorengan) mengalami penurunan kadar RS. Penurunan kadar RS bisa terjadi karena adanya penurunan kadar pati dalam sampel yang diduga disebabkan pengembangan granula yang semakin besar akibat bertambahnya waktu dan naiknya suhu penggorengan. Kondisi ini menyebabkan molekul amilosa lepas keluar dan keluar dari granula, sehingga semakin berkurang kadar pati dalam padatan/sampel (Jamaluddin *et al.*, 2009). Penurunan kadar pati dalam sampel dapat menurunkan kadar RS yang terbentuk.

Proses pengolahan lanjutan yaitu pemanggangan meningkatkan kadar RS, hal tersebut sesuai yang dilaporkan oleh Marsono (2002) bahwa proses lanjutan seperti pemanggangan akan mengakibatkan terjadinya retrogradasi. Pati yang teretrogradasi berubah struktur kristal pati yang mengarah terbentuknya kristal baru yang tidak larut.

Proses pemanggangan menggunakan suhu tinggi (175°C) melebihi suhu pengolahan lainnya pada penelitian ini. Semakin tinggi suhu maka semakin banyak pati yang tergelatinisasi, hal tersebut sesuai dengan yang dilaporkan Zanoni *et al* (1995). Pemanasan suspensi pati di atas suhu gelatinisasi dapat menyebabkan terjadinya pemutusan (disosiasi) ikatan hidrogen dari struktur helix amilopektin, pelelehan (melting) bagian kristalit, dan pelepasan amilosa dari granula (*amylose leaching*) (Sajilata *et al.*, 2006; Zabar *et al.*, 2008; Zaragoza *et al.*, 2010 dalam Setiarto *et al.*, 2015).

Semakin tinggi suhu maka semakin banyak molekul pati yang akan keluar dari granula pati. Selama pemanasan akan terjadi pemecahan granula pati, sehingga pati dengan kadar amilosa lebih tinggi, granulanya akan lebih banyak mengeluarkan amilosa (Fleche, 2985 dalam Rahman, 2007). Apabila jumlah fraksi amilosa rantai pendek meningkat, maka semakin banyak fraksi amilosa

yang teretrogradasi, sehingga proses pembentukan RS3 semakin tinggi dan berdampak pada penurunan daya cerna pati (Ozturk *et al.*, 2009 dalam Setiarto *et al.*, 2015). Daya cerna pati yang lebih rendah mengindikasikan kadar RS yang meningkat. Setelah proses pemanggangan sampel pati yang tergelatinisasi tersebut akan mengalami retrogradasi karena akibat dari penurunan suhu.

Hal lain yang dapat mempengaruhi pengukuran kadar RS pada penelitian ini adalah proses analisis. Proses analisis RS meliputi hidrolisis pati secara enzimatik dan juga pemisahan supernatan, diduga pada proses tersebut kurang optimal sehingga mempengaruhi penentuan kadar *Resistant Starch* (RS).

Hasil modifikasi pati Tacca dengan perlakuan fisik ini menghasilkan *Resistant Starch* (RS) tipe III. *Resistant Starch* (RS) tipe III merupakan molekul pati yang terbentuk selama pemanasan lalu pendinginan pati. *Resistant Starch* (RS) tipe III ini jika dikonsumsi mempunyai efek positif bagi kesehatan dan berpotensi untuk dikembangkan sebagai pangan fungsional. *Resistant Starch* (RS) tipe III mempunyai sifat yang sangat menarik karena RS tipe ini stabil terhadap panas dan juga stabil pada proses pengolahan pangan yang biasa dilakukan, sehingga RS tipe ini memungkinkan digunakan sebagai bahan utama ataupun campuran pada berbagai macam makanan.

4.5 Penentuan Limit Deteksi (LOD) dan Limit Kuantitasi (LOQ)

Limit Deteksi (LOD) merupakan jumlah analit terkecil dalam sampel yang dapat ditentukan secara kuantitatif pada tingkat ketelitian dan ketepatan yang baik. Limit Kuantitasi (LOQ) merupakan parameter pengujian kuantitatif untuk konsentrasi yang rendah dalam matriks yang kompleks dan digunakan untuk menentukan adanya pengotor atau degradasi produk (ICH, 1995). Penentuan nilai

LOD dilakukan dengan rumus $\frac{3 \times \text{Standar deviasi}}{\text{slope}}$ sedangkan nilai LOQ ditentukan

dengan rumus $\frac{10 \times \text{Standar deviasi}}{\text{slope}}$, data yang digunakan dalam penentuan nilai

LOD dan LOQ dapat dilihat pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Penentuan LOD dan LOQ

Konsentrasi (mg/L)	Absorbansi (Yi)	Sy/x	LOD (mg/L)	LOQ (mg/L)
0	0			
10	0,126			
20	0,266	0,02084	4,1129	13,7096
30	0,418			
40	0,579			
50	0,764			

Nilai LOD dari pengukuran menggunakan spektrofotometer UV-Vis sebesar 4,1129 mg/L artinya alat spektrofotometer UV-Vis yang digunakan ini mampu memberikan respon/data/hasil untuk analisis dengan jumlah analit terkecil yang mampu untuk dianalisis sebesar 4,1129 mg/L. Data hasil pengukuran konsentrasi sampel menunjukkan bahwa semua konsentrasi sampel berada diatas nilai LOD. Sedangkan nilai LOQ sebesar 13,7096 mg/L, artinya pada konsentrasi tersebut alat spektrofotometer UV-Vis apabila digunakan untuk analisis RS mampu memberikan respon/data/hasil dengan nilai akurasi dan presisi yang dapat diterima atau yang diharapkan dalam analisis RS. Perhitungan selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 5.

4.6 Penentuan Presisi

Presisi adalah ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual, diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata jika prosedur diterapkan secara berulang pada sampel-sampel yang diambil dari campuran yang homogen (Riyadi, 2009). Presisi dinyatakan sebagai *Standar Deviation* (SD) atau *Relative Standard Deviation* (RSD) atau *Coefficient of Variation* (CV).

Tingkat presisi dapat diperoleh dari nilai RSD (*relative standard deviation*) hasil pengukuran sampel pada beberapa seri pengulangan. Semakin tinggi tingkat presisi dari suatu metode maka semakin rendah nilai RSD-nya. Pada penelitian ini dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali, sehingga berdasarkan data pengujian yang diperoleh, nilai presisi dari hasil pengukuran kadar RS pati Tacca dapat dilihat pada Tabel 4.5.

Tabel 4.5 Nilai presisi dari pengukuran sampel pati modifikasi

Kode	% RSD	Acuan
M	7,1	
K	3,9	
KD	12	
KR	12	
KG	44	
KP	40	RSD \leq 2 %
R	1	
RD	24	
RK	5,9	
RG	73	
RP	37	

Berdasarkan data Tabel 4.5 di atas menunjukkan bahwa presisi dari hasil pengujian mempunyai presisi yang kurang baik, presisi yang baik ditunjukkan apabila $1\% < \text{RSD} \leq 2\%$ (Sumardi, 2005). Besarnya nilai RSD bisa jadi dikarenakan kesalahan yang terjadi pada proses pengolahan pati yang belum optimal. Selain itu, dapat pula dikarenakan kurang optimalnya proses analisis yang melibatkan hidrolisis pati secara enzimatis dan dapat pula disebabkan pemisahan supernatan dengan *pellet* (residu) yang kurang optimal.

Hidrolisis pati secara enzimatis yang belum optimal bisa disebabkan karena ketidakstabilan reaksi enzimatis. Reaksi hidrolisis enzimatis dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu konsentrasi substrat, konsentrasi enzim, temperatur operasi, pH larutan dan kecepatan pengadukan. Perhitungan selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 6.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa :

1. Kadar RS pati Tacca kontrol sebesar 6,8081%, kadar RS pati Tacca hasil modifikasi fisik sebagian besar mengalami kenaikan seperti yang ditunjukkan oleh kode KD= 14,9766%, KR= 11,4468%, KG= 7,9492%, KP= 21,9871%, RD= 18,6764%, RK= 23,7833%, RP= 17,2841%.
2. Nilai LOD yang diperoleh dari spektrofotometer UV-Vis sebesar 4,1129 mg/L dan nilai LOQ sebesar 13,7096 mg/L.

6.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian mengenai pengaruh pengolahan secara fisik terhadap kadar *resistant starch* (RS) pati tacca (*Tacca leontopetaloides*), sebaiknya dilakukan :

1. Pengujian dengan metode lain untuk mengetahui metode yang paling baik dalam penelitian kandungan *Resistant starch* (RS).
2. Validasi metode untuk mengevaluasi kinerja suatu metode analisis.
3. Kalibrasi alat-alat pengujian secara berkala.

DAFTAR PUSTAKA

- Asp, N-G., dan Bjorck, I., 1992, *Resistant Starch In Trends in Food Science and Technology 3*, Elsevier, London.
- Belitz, H.D., dan Grosh, W., 1999, *Food Chemistry*, Springer Verlag, Berlin.
- Chung-wai Chiu and Soralek, D., 2009, *Modification of starches*, J. BeMiller & R. Whistler *Starch chemistry and technology* (3rd ed), New York: Academic Press, Elsevier Inc.629-656.
- Czuchajowska, Z., Sievert, D., Pomeranz, Y., 1991, *Enzyme-Resistant Starch IV*, *J. Cereal Science*, 18: 159-170.
- Day, R.A., dan Underwood, A.L., 2002, *Analisa Ilmu Kuantitatif*, Edisi Keempat, Diterjemahkan oleh Iis Sopyan, Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Demam, J.M., 1997, *Kimia Makanan*, Bandung : Penerbit ITB.
- Englyst, H.N., Kingman, S.M., dan Cummings, J.H., 1992, *Classification and Measurement Of Nutritionally Important Starch Fraction*, *J. Clin. Nutri.* 46: S33-S50.
- Gandjar, I.G., dan Rohman, A., 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Goni, I., G-Diz, L., Manas, E., dan Calixto, F.S., 1996, *Analysis of RS : A method for Foods and Food Products*. *J. Food Chem.* 56(4) : 445-449.
- Habila J.D., Bello, L.A., Dzikwe, A.A., Ladan, dan Sabiu, M., 2011, *Comparative Evaluation of Phytochemicals, Antioxidant, and Antimicrobial Activity of Four Medicinal Plants Native to Northren Nigeria*, *Australian Journal Basic and Applies Science*.
- Harjadi, 1990, *Ilmu Kimia Analitik Dasar*, Jakarta: PT. Gramedia.
- Herawati, H., 2011, *Potensi Pengembangan Produk Pati Tahan Cerna Sebagai Pangan Fungsional*. *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian*, 30(1): 31-39
- ICH, 1995, *Validation of Analytical Prosedure: Text and Methodology*. International Conference on Harmonization. (<http://www.ich.org>) diakses pada tanggal 11 Maret 2016.
- Jamaluddin, Raharjo, B., Hastuti, P., Rochmadi, 2009, *Rekayasa Pemekaran dan Tekstur Keripik Buah Nangka Selama Penggorengan Vakum*, *Jurnal Keteknikan Pertanian*, Vol. 23, No.2.

- Khopkar, S. M., 2003, *Konsep Dasar Kimia Analitik*, Diterjemahkan oleh A. Saptorahardjo, Jakarta: UI-Press.
- Lehmann, U., Jacobasch, G., Schmiedl, D., 2002, Characterization of resistant Starch Type III from Banana (*Musa acuminata*), *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(180 5236-5240, <http://doi.org/Cw89dg>).
- LIPI, 2011, Tumbuhan liar sumber pangan Alternatif prospektif nasional dari kabupaten garut. http://www.garutkab.go.id/pub_news/detail/7553-jalawuretumbuhan-liar-sumberpangan-alternatif.html. Diakses pada tanggal 24 Mei 2016.
- Marsono, Y. dan Topping, D.L., 1993, Complex Carbohydrates in Australian Rice Products, *J. Food Science and Technology*, 26,364-370.
- Marsono, Y., 1998, Resistant Starch (RS): pembentukan metabolisme dan aspek gizinya (Review), *J. Agritech*: 18(4): 29-35.
- Marsono, Y., 1998, Perubahan Kadar Resistant Starch dan Komposisi Kimia Beberapa Bahan Pangan Kaya Karbohidrat Dalam Pengolahan, *J. Agritech* Vol. 19 No. 3, 124-127.
- Marsono, Y., 2002, Pengaruh Pengolahan Terhadap Pati Resisten Pisang Kepok (*Musa paradisiaca*, *Typical*) dan Pisang Tanduk (*Musa paradisiaca* *fa. corniculata*), *J. Agritech* Vol. 22 No. 2, 56-59.
- Mega, A.K.S., 2012, Pengaruh Pemanggangan dan Ukuran Tebal Tempe Terhadap Komposisi Proksimat Tempe Kedelai, *Jurnal Publikasi*.
- Monica, S., dan Avrihana., D.A., 2013, *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri*, Volume 2, No.2, 91-96.
- Mulja, H.M., dan Suharman, 1995, *Analisis Instrumental*, Surabaya: Airlangga University Press.
- Poedjadi, A., 1994, *Dasar-Dasar Biokimia*. Jakarta : Penerbit Universitas Indonesia.
- Poedjadi, A., 2005, *Dasar-dasar Biokimia*, Jakarta : Penerbit Universitas Indonesia.
- Pomeranz, Y., 1991, *Functional Properties of Food Components*, San Diego: Academic Press Inc.
- Rahman, A.M, 2007, Mempelajari Karakteristik Kimia dan Fisik Tepung Tapioka dan Mocal (*Modified Cassava Flour*) sebagai Penyalut Kacang pada Produk Kacang Salut, *Skripsi*, IPB, Bogor.

- Riyanto, 2014, *Validasi dan Verifikasi Metode*, Yogyakarta: Deepublish.
- Rowe, R.C., Sheskey, P.J., dan Owen, S.C., 2006, *Handbook of pharmaceutical excipients* (5th ed.), London: Pharmaceutical Press. 124-127, 725-733.
- Rosida, 2002, Pembuatan Tepung Pati Resisten Dari Beras, Pisang dan Maizena dan Pengaruhnya Terhadap Tikus Percobaan yang mengkonsumsinya. *J. Penelitian Ilmu-ilmu Teknik* Vol.2 No.2.
- Sajilata, M.G., Dinghal, R.S., dan Kulkarni, P.R., 2006, Resistant Starch-A review. *Comprehensive Reviews In Food Science and Food Safety* 5:1-17, <http://doi.org/fnkkfw>., diakses pada 20 April 2016.
- Sastrohamidjodjo, H., 2001, *Spektroskopi*, Yogyakarta: Liberty.
- Setiarto, R.H.B., Jenie, B.S.L., Faridah, D.N., Saskiwan, I., 2015, Kajian Peningkatan Pati Resisten yang Terkandung dalam Bahan Pangan Sebagai Sumber Prebiotik, *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, Vol. 20(3): 191-200.
- Shamai, K., Peled, H.B., Shimon, E., 2003, Polymorphism of resistant starch type III, *J. Carbohydrate Polymer* 54:363-369.
- Sudarmadji, S.B., Haryono S., 1996, *Analisa Bahan Makanan Pertanian*, Yogyakarta: Liberty.
- Sudarmadji, S.B., Haryono. S., 2010, *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta : Liberty Yogyakarta.
- Sugiyono., Pratiwi, R., Faridah, D.N., 2009, Modifikasi Pati Garut dengan Perlakuan Siklus Pemanasan Suhu Tinggi-Pendinginan Untuk Menghasilkan Pati resisten Tipe III, *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 20(1): 17-24.
- Tjokrodiakusoemo, Soebijianto, 1986, *HFS dan Industri Ubi Kayu Lainnya*, Jakarta: PT Gramedia
- Winarno, F.G., 1992, *Kimia Pangan dan Gizi*, Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Winarno, F.G., 1997, *Kimia Pangan dan Gizi*, Bogor: Mbrilio Press.
- Zabar, S., Shimoni, E., Peled, H.B., 2008, Development of nanostructure in Resistant Starch Type III During Thermal Treatments and Cycling, *Journal of Macromolecule Bioscience*, 8(2): 163-170.

Zanoni, B., Peri, C., Bruno, D., 1995, Modelling of Starch Gelatinization Kinetics of Bread Crumb during Baking, *Journal of Food Engineering*, 28: 314-318.

Zaragoya, E.F., Riquelme-Navarrete, M.J., Sanches-Zapata, E., Perez-Alvarez, J.A., 2010, Resistant Starch as Functional Ingredient: A review, *J. Research International*, 43(4): 931-942

Zeleznak, K.J., and Hosoney. R.C., 1986, The Role of Water in the Retrogradation of wheat Starch Gels and Bread Crumb, *J. Cereal Chem*, 63(5):407-411.



LAMPIRAN



Lampiran 1

Tabel modifikasi fisik pati tacca (*Tacca leontopetaloides*)

Kode	Keterangan perlakuan
M	Pati mentah / Kontrol
K	Pengkukan (105° C, 15 menit)
KD	Pengkukan (105° C, 15 menit) & pendinginan (4° C, 24 jam)
KR	Pengkukan (105° C, 15 menit) & perebusan (100° C, 15 menit)
KG	Pengkukan (105° C, 15 menit) & penggorengan (± 10 menit)
KP	Pengkukan (105° C, 15 menit) & pemanggangan (175° C, 15 menit)
R	Perebusan (100° C, 15 menit)
RD	Perebusan (100° C, 15 menit) & pendinginan (4° C, 24 jam)
RK	Perebusan (100° C, 15 menit) & pengkukan (105° C, 15 menit)
RG	Perebusan (105° C, 15 menit) & penggorengan (± 10 menit)
RP	Perebusan (100° C, 15 menit) & pemanggangan (175° C, 15 menit)



Lampiran 2. Penentuan kadar air pati tacca (*Tacca leontopetloides*)

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{W_0 - W_1}{W_0} \times 100\%$$

Keterangan :

- B_0 = massa krus (g)
 B_1 = massa krus + sampel sebelum pemanasan (g)
 B_2 = massa krus + sampel setelah pemanasan (g)
 W_0 = massa sampel sebelum pemanasan ($B_1 - B_0$) (g)
 W_1 = massa sampel setelah pemanasan ($B_2 - B_0$) (g)



Tabel pengukuran kadar air

Kode	B ₀ (g)	B ₁ (g)	B ₂ (g)					
			I	II	III	IV	V	VI
M	13,3568	14,0166	13,9427	13,9421	13,9453	13,9453	13,9434	13,9453
	14,0496	14,798	14,716	14,7128	14,7140	14,7160	14,7133	14,7158
	15,7508	16,3979	16,3262	16,3237	16,3284	16,3284	16,3253	16,3276
K	16,8811	18,0817	17,5112	17,5083	17,5077	17,5076	17,5061	17,5062
	17,7718	19,1573	18,5145	18,5094	18,5042	18,5037	18,5002	18,500
	15,7566	17,4480	16,6965	16,6941	16,6929	16,6927	16,6921	16,6920
KD	16,9255	18,8446	18,0432	18,0431	18,0429	18,0412	18,0412	18,0402
	13,3360	15,0655	14,3338	14,3338	14,3335	14,3326	14,3303	14,3326
	14,0704	15,0137	14,6015	14,6015	14,6013	14,5991	14,6002	14,6002
KR	15,7529	17,1539	16,4424	16,3681	16,3220	16,3175	16,3124	16,3124
	13,3635	15,4547	14,4376	14,3196	14,2322	14,2284	14,2210	14,2214
	15,2771	16,6299	15,9007	15,8406	15,7979	15,7939	15,7892	15,7891
KG	13,3591	14,1254	14,0389	14,0358	14,0357	14,0319	14,0274	14,0283
	17,7781	18,6583	18,4305	18,4168	18,4162	18,4129	18,4094	18,4098
	14,4846	15,1770	15,0181	15,0098	15,0092	15,0050	15,0052	15,0037
KP	16,9257	18,8791	18,2385	18,1277	18,1164	18,1149	18,1151	18,1109
	13,3358	15,1627	14,6399	14,5182	14,5063	14,5053	14,5061	14,5032
	14,0708	15,7561	15,2661	15,1450	15,1240	15,1222	15,1225	15,1193
R	16,2462	18,4746	17,2407	17,2375	17,2349	17,2348	17,2330	17,2338
	15,2647	18,5453	16,7555	16,7508	16,7432	16,7420	16,7371	16,7373
	14,4894	16,7567	15,5198	15,5167	15,5146	15,515	15,5138	15,5145
RD	7,1753	8,1760	7,7448	7,7450	7,7440	7,7420	7,7424	7,7422
	8,2549	9,1952	8,6395	8,6398	8,6387	8,6374	8,6380	8,6378
	13,7176	15,4675	14,4744	14,4759	14,4744	14,4705	14,4711	14,4712
RK	16,8954	18,1233	17,4475	17,4065	17,3725	17,3699	17,3664	17,3664
	17,7803	19,2114	18,4871	18,4267	18,3804	18,3777	18,3691	18,3693
	14,4858	15,7464	15,0774	15,0297	14,9919	14,9902	14,9855	14,9851
RG	16,8796	17,4496	17,358	17,3531	17,3531	17,3482	17,3435	17,3443
	15,7535	16,3506	16,216	16,2198	16,2106	16,2100	16,2076	16,2078
	15,2595	15,6385	15,5581	15,5563	15,5563	15,5551	15,5538	15,5544
RP	7,1774	9,0884	8,1992	8,1223	8,1151	8,1133	8,1147	8,1114
	8,2545	10,5508	9,5346	9,4177	9,4081	9,4054	9,4055	9,3969
	13,7173	15,6117	14,7189	14,6165	14,6115	14,6098	14,6118	14,6088

Tabel massa sampel sebelum dan sesudah pemanasan

Kode	W ₀ (g)	W ₁ (g)	Kadar air (%)	
				Rata-rata
M	0,6598	0,5853	11,2913	11,3807
	0,7484	0,6632	11,3843	
	0,6471	0,5729	11,4665	
K	1,2006	0,625	47,9427	46,6936
	1,3855	0,7282	47,4414	
	1,6914	0,9354	44,6967	
KD	1,9191	1,1147	41,9155	42,7923
	1,7295	0,9943	42,5094	
	0,9433	0,5287	43,9521	
KR	1,401	0,5595	60,0642	60,4039
	2,0912	0,8575	58,9948	
	1,3528	0,512	62,1526	
KG	0,7663	0,6683	12,7887	22,0318
	0,8802	0,6313	28,2777	
	0,6924	0,5191	25,0289	
KP	1,9534	1,1852	39,3263	37,7371
	1,8269	1,1674	36,0994	
	1,6853	1,0485	37,7856	
R	2,2284	0,9868	55,7171	55,1681
	3,2806	1,4773	54,9686	
	2,2673	1,0244	54,8185	
RD	1,0007	0,5667	43,3696	53,2219
	0,9403	0,3825	59,3215	
	1,7499	0,7529	56,9747	
RK	1,2279	0,471	61,6418	60,2968
	1,4311	0,5888	58,8568	
	1,2606	0,4993	60,3919	
RG	0,57	0,4639	18,614	21,6371
	0,5971	0,4541	23,9491	
	0,379	0,2943	22,3483	
RP	1,911	0,934	51,1251	51,4386
	2,2963	1,1424	50,2504	
	1,8944	0,8915	52,9402	

Penentuan massa sampel pati dalam berat kering

$$\text{Massa sampel kering} = \frac{100 - \bar{x} \text{ kadar air}}{100} \times \text{massa sampel awal (mg)}$$

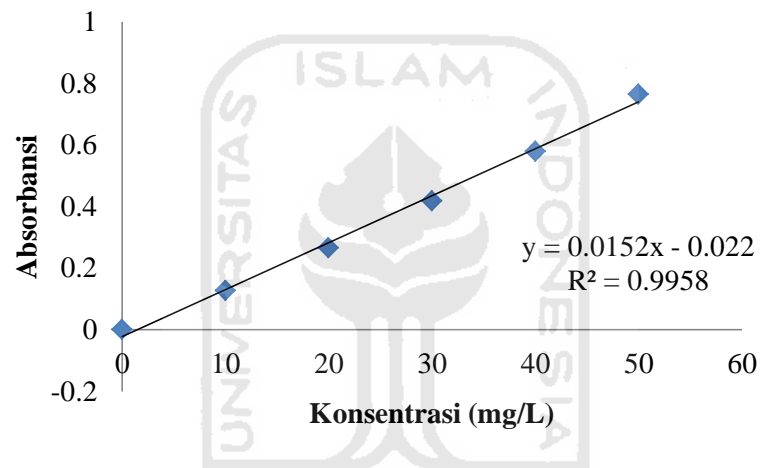
Kode	Sampel awal (mg)	Sampel kering (mg)
M	51	45,1958
	51	45,1958
	51	45,1958
K	51	27,1863
	51	27,1897
	51	27,1897
KD	51	29,1759
	51	29,2470
	51	29,2470
KR	51	20,1940
	51	20,1953
	51	20,1953
KG	51	39,7638
	51	39,7957
	51	39,7957
KP	51	31,7541
	51	31,8377
	51	31,8377
R	51	22,8643
	51	22,8840
	51	22,8840
RD	51	23,8568
	51	23,8568
	51	23,8568
RK	51	20,2486
	51	20,2486
	51	20,2486
RG	51	39,9651
	51	40,4318
	51	40,4318
RP	51	24,7663
	51	24,8551
	51	24,8551

Lampiran 3. Linearitas

Tabel Absorbansi larutan standar glukosa

Konsentrasi (mg/L)	Absorbansi
0	0
10	0,126
20	0,266
30	0,418
40	0,579
50	0,764

Grafik hubungan absorbansi larutan standar glukosa vs konsentrasi



Lampiran 4. Penentuan kadar RS

Perhitungan kadar RS pati Tacca kontrol dan hasil modifikasi fisik :

Konsentrasi awal (x) diperoleh dari perhitungan menggunakan persamaan regresi linear $y = 0,0152x - 0,022$

$$\text{Konsentrasi akhir} = \text{konsentrasi awal} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) \times \text{volume sampel (L)} \times F_p$$

$$\text{Kadar RS} = \frac{\text{konsentrasi sampel akhir (mg)}}{\text{sampel dalam berat kering (mg)}} \times 0,9 \times 100\%$$

Keterangan :

Volume sampel = Volume sampel yang dibuat (L)

F_p = Faktor pengenceran

0,9 = Faktor konversi



Tabel penentuan kadar RS pati Tacca hasil modifikasi fisik

Kode	Absorbansi	FP	Konsentrasi awal	Konsentrasi akhir	Kadar RS (%)	
			(mg/L)	(mg)		\bar{x}
M	0,475	4	32,6974	3,2697	6,5111	6,8081
	0,478	4	32,8947	3,2895	6,5504	
	0,540	4	36,9737	3,6974	7,3627	
K	0,195	5	14,2763	1,7845	5,9077	6,1797
	0,208	5	15,1316	1,8914	6,2616	
	0,212	5	15,3947	1,9243	6,3697	
KD	0,569	5	38,8816	4,8602	14,9924	14,9766
	0,638	5	43,4210	5,4276	16,7021	
	0,501	5	34,4079	4,3010	13,2351	
KR	0,333	5	23,3553	2,9194	13,0111	11,4469
	0,273	5	19,4079	2,4260	10,8114	
	0,265	5	18,8816	2,3602	10,5182	
KG	0,285	5	20,1974	2,5247	5,7142	7,9492
	0,622	5	42,3684	5,2960	11,9773	
	0,309	5	21,7763	2,7220	6,1560	
KP	0,436	10	30,1316	7,5329	21,3503	21,9871
	0,347	5	24,2763	3,0345	8,5781	
	0,753	10	50,9868	12,7467	36,0329	
R	0,171	5	12,6974	1,5872	6,2475	6,3086
	0,175	5	12,9605	1,6201	6,3715	
	0,173	5	12,8289	1,6036	6,3068	
RD	0,489	5	33,6184	4,2023	15,8532	18,6764
	0,507	5	34,8026	4,3503	16,4116	
	0,744	5	50,3947	6,2993	23,7643	
RK	0,604	5	41,1842	5,1480	22,8817	23,7833
	0,609	5	41,5132	5,1891	23,0644	
	0,673	5	45,7237	5,7155	25,4038	
RG	0,252	5	18,0263	2,2533	5,0743	6,2068
	0,588	5	40,1316	5,0164	11,1665	
	0,108	5	8,5526	1,0691	2,3797	
RP	0,620	5	42,2368	5,2796	19,1859	17,2841
	0,720	5	48,8158	6,1019	22,0951	
	0,333	5	23,3553	2,9194	10,5711	

Lampiran 5. Penentuan LOD dan LOQ

Konsentrasi	Absorbansi (Yi)	Yc	(Yi-Yc) ²	Sy/x	LOD	LOQ
0	0	-0,022	0,000484	0,020839	4,11289	13,7096
10	0,126	0,13	0,000016			
20	0,266	0,282	0,000256			
30	0,418	0,434	0,000256			
40	0,579	0,586	4,9E-05			
50	0,764	0,738	0,000676			
			Σ=0,001737			

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum(Y_i - Y_c)^2}{n - 2}} = \sqrt{\frac{0,001737}{6 - 2}} = 0,020839$$

$$LOD = \frac{3 S_{y/x}}{\text{Slope}} = \frac{3 \times 0,020839}{0,0152} = 4,11289$$

Nilai LOD sebesar 4,11289 mg/L

$$LOQ = \frac{10 S_{y/x}}{\text{Slope}} = \frac{10 \times 0,020839}{0,0152} = 13,7096$$

Nilai LOQ sebesar 13,7096 mg/L

Lampiran 6. Penentuan Presisi

$$\text{Konsentrasi (C) sampel} = \frac{\text{absoransi sampel (y)} + \text{intersep (a)}}{\text{slope (b)}}$$

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (C - \bar{C})^2}{n - 1}}$$

$$\% \text{ RSD} = \frac{SD}{c \text{ rerata}} \times 100\%$$

(% RSD > 2%, sehingga menggunakan persamaan CV Horwitz)

$$CV \text{ Horwitz} = 2^{1 - (0,5 \log C)}$$



Tabel hasil penentuan presisi

Kode	Konsentrasi (C) (mg/L)	\bar{C}	$C - \bar{C}$	$(C - \bar{C})^2$	$\Sigma(C - \bar{C})^2$	%RSD	CV Horwitz
M	32,6974	34,19	-1,4912	2,2238	11,65	7,1	1,18
	32,8947		-1,2939	1,6741			
	36,9737		2,78509	7,7567			
K	14,2763	14,93	-0,6579	0,4328	0,684	3,9	1,33
	15,1316		0,19737	0,039			
	15,3947		0,46053	0,2121			
KD	38,8816	38,9	-0,0219	0,0005	40,62	12	1,15
	43,4210		4,51754	20,408			
	34,4079		-4,4956	20,211			
KR	23,3553	20,55	2,80702	7,8793	11,96	12	1,27
	19,4079		-1,1404	1,3004			
	18,8816		-1,6667	2,7778			
KG	20,1974	28,11	-7,9167	62,674	306	44	1,21
	42,3684		14,2544	203,19			
	21,7763		-6,3377	40,167			
KP	30,1316	35,13	-5	25	394,2	40	1,17
	24,2763		-10,855	117,84			
	50,9868		15,8553	251,39			
R	12,6974	12,83	-0,1316	0,0173	0,035	1	1,36
	12,96053		0,13158	0,0173			
	12,8289		0	0			
RD	33,6184	39,61	-5,9868	35,842	175,3	24	1,15
	34,8026		-4,8026	23,065			
	50,3947		10,7895	116,41			
RK	41,1842	42,81	-1,6228	2,6335	12,81	5,9	1,14
	41,5132		-1,2939	1,6741			
	45,7237		2,91667	8,5069			
RG	18,0263	22,24	-4,2105	17,729	525,2	73	1,25
	40,1316		17,8947	320,22			
	8,5526		-13,684	187,26			
RP	42,2368	39,01	3,22368	10,392	410,2	37	1,15
	51,4474		12,4342	154,61			
	23,3553		-15,658	245,17			

