

PEMBUATAN RESISTANT STARCH PATI BERAS DENGAN METODE ENZIMATIS DAN FISIK

Tanwirul Millati¹, Nurhayati^{2*}

¹Program studi Teknologi Industri pertanian, Univertas Lambung Mangkurat, Indonesia

²Program studi Teknologi hasil pertanian, Universitas Muhammadiyah Mataram, Indonesia

*Co-author: nurhayati.faperta.ummat@gmail.com

Paper Information

History:

Received : 06-08- 2020

Accepted: 30-10-2020

Key words:

Resistant Starch
 Rice starch
 Enzymatic treatment
 Physical treatment

ABSTRACT

Abstrak: Beras merupakan makanan pokok dan sumber karbohidrat bagi sebagian besar penduduk dunia dan Indonesia, namun sebagian besar beras cenderung memiliki indeks glikemik (IG) tinggi. Sebuah produk dengan IG rendah adalah lebih baik, tidak hanya bagi penderita diabetes, tetapi juga bagi orang sehat. *Resistant starch* (RS) berfungsi sebagai bahan makanan baru yang memiliki indeks glikemik rendah. RS merupakan bagian pati atau produk pati yang resisten terhadap pencernaan ketika melalui *gastrointestinal tract*. RS mempunyai efek fisiologis yang sama dengan serat pangan, dapat mempengaruhi berat badan dan keseimbangan energy, dapat meningkatkan ekskresi lipid sehingga dapat mengurangi asupan kalori dan menurunkan tingkat lipid serum, kandungan kalornya nol sehingga bisa digunakan sebagai food additive rendah kalori yang dapat mengendalikan berat badan secara efektif. RS dapat dibuat melalui modifikasi pati dengan perlakuan fisik (perlakuan panas), perlakuan kimia, perlakuan enzimatik dan kombinasi panas dan enzimatik. Faktor yang mempengaruhi pembentukan RS diantaranya sifat pati, interaksi pati dengan komponen lain, kondisi prosesing, proses panas, perlakuan lain dan kondisi penyimpanan. Oleh karena itu, modifikasi pati beras yang banyak mengandung RS perlu untuk diketahui. Hidrolisis pati beras dengan enzim ganda α -amilase dan pululanase (DMT) dapat meningkatkan kadar RS tertinggi (51,0%) karena meningkatnya derajat kristalinitas pati. RS yang tinggi mengakibatkan peningkatan suhu gelatinisasi, ΔH dan suhu fase transisi dan penurunan kecepatan hidrolisis pati dan kehilangan berat.

Abstract: Rice is the leading food and a carbohydrate source for most of the world's and Indonesia population, but most rice tends to have a high glycemic index (IG). A product with a low IG is better, not only for people with diabetes but also for healthy people. Resistant starch (RS) functions as a new food ingredient that has a low glycemic index. RS is a part of starch or starch products resistant to digestion when through a gastrointestinal tract. RS has the same physiological effects as dietary fiber, can affect body weight and energy balance, increase lipid excretion to reduce calorie intake and reduce serum lipid levels, zero caloric content so that it can be used as a low-calorie food additive that can control body weight effectively. RS can be made through starch modification by physical treatment (heat treatment), chemical treatment, enzymatic treatment, and a combination of heat and enzymatic. Factors that influence RS's formation include starch properties, starch interactions with other components, processing conditions, heat processes, other treatments, and storage conditions. Therefore, the rice starch modification that contains a lot of RS needs to be known. Rice starch Hydrolysis with the dual enzyme α -amylase and pullulanase (DMT) can increase the highest RS level (51.0%) due to the increased degree of starch crystallinity. High RS results in an increase in gelatinization temperature, ΔH and phase transition temperatures, and a decrease in the speed of starch hydrolysis and weight loss.

A. LATAR BELAKANG

Peningkatan permintaan konsumen terhadap produk makanan berkualitas tinggi telah menyebabkan pertumbuhan dalam penggunaan bahan-bahan dan teknologi baru. Beberapa faktor yang mempengaruhi perubahan permintaan konsumen adalah : masalah kesehatan (kolesterol, kanker, obesitas), perubahan karakteristik demografi (etnis, populasi yang menua, dll), kebutuhan untuk kenyamanan, perubahan dalam sistem distribusi dan harga (Fuentes-Zaragoza, M. J. Riquelme-Navarrete, *et al.*, 2010).

Semakin besar kesadaran konsumen tentang hubungan antara makanan bergizi dan kesehatan telah menjadi salah satu alasan untuk peningkatan popularitas makanan dengan sifat gizi yang baik ('Los alimentos del bienestar la alimentación del siglo XXI - IAlimentos', no date; Sanz, Salvador and Fiszman, 2008) dalam (Fuentes-Zaragoza, M.J. Riquelme-Navarrete, *et al.*, 2010). Hal tersebut sebenarnya dapat diperoleh dari pangan fungsional, yaitu pangan yang dapat memberikan nutrisi dasar juga menyediakan keuntungan fisiologis dan atau dapat mengurangi resiko penyakit kronis. Pangan fungsional yang sudah ada dalam makanan atau yang ditambahkan dari luar dapat memberikan efek kesehatan yang positif atau menghilangkan komponen negatif. Salah satu pangan fungsional yang sekarang banyak diteliti adalah *resistant starch* (Mikulíková, Masár and Kraic, 2008). Menurut (Zhou *et al.*, 2014) *resistant starch* (RS) berfungsi sebagai bahan makanan baru yang memiliki indeks glikemik rendah. RS disebut sebagai pati anti pencernaan, yaitu sebagian kecil dari pati yang tidak dapat dicerna dalam usus kecil dan difermentasi dalam usus besar untuk menghasilkan asam lemak rantai pendek dan produk lainnya. RS ditandai dengan struktur molekul yang lebih kecil dengan panjang 20-25 residu glukosa (polisakarida linear yang dihubungkan oleh ikatan hidrogen).

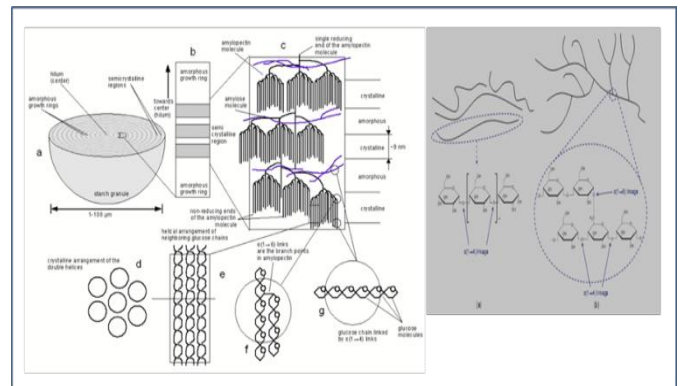
Beras merupakan makanan pokok dan sumber karbohidrat bagi sebagian besar penduduk dunia dan Indonesia. Sejumlah produk makanan tradisional banyak yang dibuat dengan menggunakan bahan baku beras. Namun, sebagian besar beras cenderung memiliki indeks glikemik (IG) tinggi. Sebuah produk dengan IG rendah adalah lebih baik, tidak hanya bagi penderita diabetes, tetapi juga bagi orang sehat. Oleh karena itu modifikasi pati beras yang banyak mengandung RS mempunyai nilai kesehatan yang nyata bagi masyarakat (Sha *et al.*, 2012).

B. PEMBAHASAN

1. RESISTANT STARCH (RS)

Pati adalah polisakarida yang disusun oleh unit-unit D-glukosa merupakan homoglukan atau glukopiranosida yang terdiri atas dua biomakromolekul utama, yaitu amilosa dan amilopektin. Amilosa merupakan glukosa rantai lurus dengan ikatan α -(1-4) dengan berat molekul 105-106 dan derajat polimerisasi sampai 600. Sedang

amilopektin merupakan polimer yang banyak mempunyai rantai cabang dengan berat molekul tinggi 107-109, dengan ikatan α -(1-4) (sekitar 95%) dan ikatan rantai cabang α -(1-6) (sekitar 5 %), dengan titik percabangan terjadi setiap 22-70 unit glukosa (Xie *et al.*, 2013). Struktur pati, amilosa dan amilopektin dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Ilustrasi struktur granula pati (Waigh *et al.*, 1997; Xie *et al.*, 2013)

Ada dua struktur kristalin yang telah diidentifikasi (tipe A dan tipe B) yang mengandung proporsi amilopektin yang berbeda. Pati tipe A ditemukan pada biji-bijian (serealia), sedang pati tipe B pada umbi-umbian dan pati dengan kadar amilosa tinggi. Tipe ketiga yang disebut tipe C merupakan campuran kedua tipe A dan B ditemukan dalam kacang-kacangan (legume). Pada umumnya, pati dicerna (hidrolisis) oleh enzim α -amilase, glucoamilase dan sucrase-isomaltase di dalam usus halus menghasilkan glukosa yang kemudian diserap. Namun tidak semua pati makanan dicerna dan diserap dalam usus halus (Nugent, 2005; Ratnayake and Jackson, 2008).

Resistant starch (RS) merupakan bagian pati atau produk pati yang resisten terhadap pencernaan ketika melalui *gastrointestinal tract*. RS adalah fraksi pati yang tidak dihidrolisis menjadi D- glukosa di usus halus dalam waktu 120 menit setelah dikonsumsi, tetapi difermentasi dalam usus besar (kolon). Banyak penelitian telah menunjukkan bahwa RS adalah molekul linear dari 1,4 α -D-glukan yang berasal dari fraksi amilosa yang mengalami retrogradasi, dan memiliki berat molekul yang relatif rendah ($1,2 \times 10^5$ Da). Karena sifatnya yang tahan terhadap enzim mamalia, RS dapat diklasifikasikan sebagai komponen serat berdasar definisi serat pangan yang diberikan oleh the American Association of Cereal Chemists tahun 2000 dan the National Academic of Science tahun 2002 (Fuentes-Zaragoza, M.J. Riquelme-Navarrete, *et al.*, 2010).

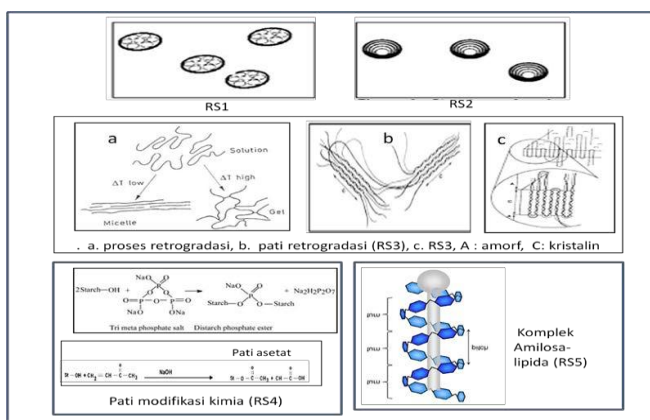
RS adalah molekul kecil yang terdiri atas 20-25 residu glukosa yang dihubungkan dengan ikatan hydrogen. RS mempunyai efek fisiologis yang sama dengan serat pangan, dapat mempengaruhi berat badan dan keseimbangan energy, dapat meningkatkan ekskresi lipid sehingga dapat mengurangi asupan kalori dan menurunkan tingkat lipid serum, kandungan kalorinya

nol sehingga bisa digunakan sebagai food additive rendah kalori yang dapat mengendalikan berat badan secara efektif (Zhou *et al.*, 2014).

Beberapa pendapat menyatakan bahwa RS tidak dapat dicerna karena empat alasan, yaitu :

1. Struktur molekul pati sangat kompak sehingga membatasi aksesibilitas berbagai enzim-enzim pencernaan, seperti dalam biji-bijian atau umbi-umbian.
2. Struktur molekular granula pati mencegah enzim pencernaan untuk menghidrolisis pati, misalnya kentang mentah, pisang mentah dan pati jagung tinggi amilosa.
3. Granula pati mengalami gelatinisasi karena pemanasan dengan sejumlah air. yang membuat molekul mudah diakses oleh enzim pencernaan. Namun, jika gel pati kemudian didinginkan, mereka membentuk kristal pati yang resisten terhadap enzim pencernaan (bentukpati teretrogradasi)
4. Pati yang telah dimodifikasi secara kimia dengan eterisasi, esterisasi atau ikatan silang sehingga tidak bisa dipecah oleh enzim pencernaan.

Menurut (Fuentes - Zaragoza *et al.*, 2011) RS dapat diklasifikasikan menjadi lima (5) tipe, yaitu RS1, RS2, RS3, RS4 dan RS5. RS1 adalah pati yang secara fisik terlindung oleh dinding sel dan matriks sehingga tidak bisa dicerna, RS2 adalah granula pati alami yang tidak tergelatinisasi dan dihidrolisis dengan lambat oleh amylase, RS3 adalah pati retrogradasi atau pembentukan kristalin setelah pemasakan, RS4 adalah pati yang dimodifikasi secara kimia atau pati re-polimerisasi dan RS5 adalah pati yang amilosanya membentuk kompleks amilosa- lipida. Pada Gambar 2 dapat dilihat gambar skematik RS1-RS5, sedang deskripsi, perbedaan resistensi RS1-RS4 terhadap proses pencernaan di usus halus dan sumber dari masing-masing tipe RS dapat dilihat pada Tabel 1.



Gambar 2. Skematik RS1- RS5 (Sumber : (Sajilata, Singhal and Kulkarni, 2006; Putseys, Lamberts and Delcour, 2010)

Nilai cerna RS tergantung pada kategori dan sumber RS yang dikonsumsi. Dari total RS3 yang ada dalam jagung terdegradasi oleh fermentasi bakteri di usus

besar sekitar 84 %, sedang pada gandum sekitar 65 %. Untuk tipe RS2 dalam kentang mentah yang terdegradasi oleh fermentasi bakteri di usus besar sebesar 89 % dan pada pisang hijau 96 %. Degradasi RS juga dipengaruhi oleh berbagai kondisi pengolahan makanan dimana RS dihasilkan. Daya cerna RS juga ditemukan bervariasi per individu. Variabilitas ini kemungkinan disebabkan perbedaan tanggapan individu terhadap aktivitas enzim (Sharma and Yadav, 2008).

Tabel 1.
Tipe Pati Resistan, Resistensi Terhadap Proses Pencernaan Dan Sumbernya

Tipe RS	Deskripsi	Kecernaan di usus halus	Resistensi direduksi oleh	Sumber pangan
RS1	Secara fisik tidak dicerna karena terperangkap di dalam matriks yang tidak bisa dicerna	Kecepatan lambat, dicerna parsial; dicerna sempurna jika digiling secara sempurna	Penggilingan dan pengunyahan	Biji dan sereal utuh atau yang digiling parsial, pasta
RS2	Granula yang resisten dalam bentuk tidak digelatinisasi, memiliki kristalinitas tipe B, terhidrolisis secara lambat oleh α-amilase	Kecepatan sangat lambat, dicerna dalam jumlah sangat sedikit, dicerna sempurna jika pati dimasak	Pemasakan dan pengolahan pangan	Kentang mentah, pisang mengkal, beberapa kacang-kacangan, pati amilosa tinggi
RS3	Pati retrogradasi, terbentuk ketika pangan yang mengandung pati dimasak dan didinginkan	Kecepatan lambat, dicerna parsial, ketercernaan meningkat jika dipanaskan ulang	Kondisi proses pengolahan	Kentang yang dimasak dan didinginkan, roti, flake jagung, produk pangan dengan <i>moist heat treatment</i> yang panjang dan berulang
RS4	Pati resisten hasil modifikasi kimia	Tahan terhadap hidrolisis	Kurang rentan terhadap kecernaan <i>in vitro</i>	Dalam minuman atau makanan yang telah ditambahkan pati resisten tipe 4

Sumber : (Fuentes-Zaragoza, M.J. Riquelme-Navarrete, *et al.*, 2010)

a. Sifat Fungsional RS

RS memiliki ukuran partikel kecil, berwarna putih, flavor hambar, *water holding capacity* (WHC) rendah, mempunyai sifat fisikokimia yang dikehendaki seperti peningkatan pengembangan dan viskositas, pembentukan gel dan *water binding capacity* (WBC) sehingga dapat digunakan dalam bermacam-macam makanan. Sifat-sifat ini memungkinkan penggunaan

RS untuk menggantikan tepung satu banding satu tanpa mempengaruhi penanganan atau rheologi adonan. RS tidak hanya memperkaya serat tetapi juga memberi karakteristik khusus yang tidak diberikan makanan tinggi serat. RS memiliki suhu gelatinisasi tinggi, ekstrusi yang baik dan pembentuk film yang berkualitas, dan kapasitas pengikatan air yang lebih rendah dari pada produk serat tradisional. Dapat digunakan meningkatkan tekstur, penampilan, dan kualitas organoleptik yang lebih baik dibandingkan dengan produk-serat tinggi tradisional, menurunkan nilai kalor makanan dan sebagai pencahar dan terapi rehidrasi oral (Sajilata, Singhal and Kulkarni, 2006). Sifat-sifat fungsional dari RS2 dan RS3 dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2.
Sifat fungsional dan keuntungan komersial RS2/ RS3

No	Sifat fungsional dan Keuntungan Komersial
1	Sumber alami
2	Flavor hambar
3	Warna putih
4	Suhu gelatinisasi tinggi
5	Ukuran partikel halus (tidak terlalu mempengaruhi tekstur)
6	Berguna sebagai pencahar massal dan produk untuk terapi rehidrasi oral
7	Memungkinkan untuk pengembangan produk-serat tinggi dengan penampilan dan rasa dimulut lebih baik (kualitas organoleptik yang lebih baik) dibandingkan dengan produk serat tinggi tradisional
8	Meningkatkan kerenyahan
9	Meningkatkan rasa kenyang
10	Functional food ingredients
11	Nilai kalori makanan rendah
12	Sifat air yang lebih rendah dari pada produk serat
13	Ekstrusi yang baik dan kualitas pembentuk film

Sumber: (Fuentes-Zaragoza, M.J. Riquelme-Navarrete, et al., 2010)

b. Efek Fisiologis RS Yang Menguntungkan

RS telah banyak mendapat perhatian karena dua hal, yaitu manfaat bagi kesehatan dan sifat fungsional (Sajilata, Singhal and Kulkarni, 2006). RS adalah salah satu sumber karbohidrat yang tidak dapat dicerna dalam makanan yang paling berlimpah dan bisa sama pentingnya dengan NSP (*Non Starch Polysaccharide*) dalam mendukung kesehatan usus besar, mencegah penyakit radang usus (*IBD-inflammatory bowel disease*), kanker kolorektal (*CRC-colorectal cancer*) (Topping, Fukushima and Bird, 2003; Nugent, 2005).

Sejumlah efek fisiologis menguntungkan yang berasal dari RS dan telah terbukti bermanfaat bagi kesehatan dapat dilihat pada Tabel 3. Sifat fisiologis RS dapat sangat bervariasi tergantung pada desain studi, perbedaan sumber RS, jenis dan dosis RS dikonsumsi. Ada kemungkinan bahwa pengolahan modern dan praktek konsumsi pangan telah menyebabkan RS yang dikonsumsi rendah, yang dapat berkontribusi terhadap kenaikan penyakit

usus besar yang serius di negara-negara makmur. Hal ini membuka kesempatan untuk pengembangan kultivar baru sereal dan bahan berbasis pati untuk produk-produk makanan yang dapat meningkatkan kesehatan masyarakat (Topping, Fukushima and Bird, 2003; Sharma and Yadav, 2008).

Tabel 3.
Efek fisiologis RS

Protective effect	Potential physiological effects
Diabetes	Control of glycemic, insulinemic responses
Colorectal cancer, ulcerative colitis, inflammatory bowel disease, diverticulitis and constipation	Improved bowel health
Cardiovascular disease, lipid metabolism syndrome, cholesterol and triglycerides	Improved blood lipid profile
Colonic health	Prebiotic, culture protagonist
Obesity	Increased satiety, reduced energy intake
Osteoporosis, enhanced calcium absorption	Increased micronutrient absorption

Sumber : (Fuentes-Zaragoza, M.J. Riquelme-Navarrete, et al., 2010)

c. Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Pembentukan RS

(i) Sifat-sifat pati Kristalinitas.

Salah satu yang menyebabkan resisten terhadap enzim adalah kristalinitas tipe B pada pati jagung alami dan pati yang berada dalam struktur sel dan jaringan tanaman. Beberapa perlakuan yang dapat menghilangkan kristalinitas pati adalah gelatinisasi atau penggilingan dapat meningkatkan pencernaan terhadap enzim dan menurunkan kadar RS. Rekrystalisasi atau modifikasi kimia cenderung meningkatkan RS. Disamping struktur seluler, pencernaan pati dalam usus halus dipengaruhi bentuk fisik partikel pati (Sajilata, Singhal and Kulkarni, 2006).

Struktur granula.

Kecernaan granula pati terhadap amilase bervariasi dan hal ini mempengaruhi pembentukan RS. Pati kentang dan pati jagung tinggi amilosa sangat resisten terhadap enzim secara *invitro* dan secara *invivo* tidak diserap sempurna, sedang sebagian pati sereal lambat dicerna tetapi secara *invivo* dicerna dan diserap sempurna. Rasio luas permukaan dengan volume berperan penting, luas permukaan granula menentukan penyerapan komponen lain yang secara efektif menghalangi enzim (Holm J, Asp NG, Bjorck I, no date; Ring et al., 1988) dalam (Sajilata, Singhal and Kulkarni, 2006).

Rasio amilosa-amilopektin.

Kadar amilosa yang tinggi tingkat pencernaan pati rendah, karena korelasi positif antara kadar amilosa dan pembentukan RS (Berry, 1986; Sievert and Pomeranz, 1989) dalam (Sajilata, Singhal and Kulkarni, 2006).

Retrogradasi amilosa.

Pati yang dipanaskan sampai terjadi gelatinisasi menyebabkan pati sangat mudah dicerna, apabila pati yang tergelatinisasi ini didinginkan atau dikeringkan rekristalisasi (retrogradasi) terjadi. Retrogradasi terjadi sangat cepat pada bagian amilosa yang strukturnya linier dengan pembentukan ikatan silang berupa ikatan hidrogen, sedang pada bagian amilopektin retrogradasi terjadi setelah beberapa hari. Kecepatan dan banyaknya pati yang mengalami retrogradasi setelah gelatinisasi sangat tergantung jumlah amilosa (Ring *et al.*, 1988) dalam (Sajilata, Singhal and Kulkarni, 2006).

Panjang rantai amilosa.

Derajat Polimerisasi (DP) RS bervariasi antara 19-26 dan tergantung dari panjang rantai amilosa (DP 40-610). RS bisa dibentuk dengan agregasi heliks amilosa dan struktur kristalin tipe B khususnya pada bagian rantai yang terdiri atas 24 unit glukosa.

Linieritas amilopektin.

Linierisasi amilopektin terjadi selama proses pemanggangan suhu rendah karena memperpanjang aktivitas amilase intrinsik dalam adonan dan ini sangat terlihat dengan adanya asam organik, dalam produk roti biasanya ditambah asam laktat. Peningkatan RS juga terjadi selama pemanasan basah (*wet-autoclaving*) (Berry, 1986; Liljeberg, Åkerberg and Björck, 1996) dalam (Sajilata, Singhal and Kulkarni, 2006).

(ii) Panas dan kadar air

Kadar air merupakan faktor penting yang mempengaruhi pembentukan RS. Perlakuan panas/ kelembaban berulang-ulang terkait dengan penurunan hidrolisis oleh α -amilase dan peningkatan pembentukan RS. Hasil RS yang maksimum diperoleh dari perlakuan dengan rasio pati : air = 1 : 3,5 (w/w) dan perlakuan panas pada kadar air 18% meningkatkan derajat ksistalinitas pada pati normal dan *waxy* dan mengurangi pencernaan terhadap enzim. Tetapi pada kadar air 27%, pati mengalami degradasi dan menyebabkan pati lebih mudah diserang enzim. Pada suhu yang lebih tinggi dan air yang lebih rendah menghasilkan konfigurasi tipe A, sedang pada suhu rendah dan kadar air tinggi menghasilkan konfigurasi tipe B (Wu and Sarko, 1978) dalam (Sajilata, Singhal and Kulkarni, 2006)

(iii) Interaksi antara pati dengan komponen

Interaksi antara pati dengan komponen lain yang berbeda diketahui mempengaruhi pembentukan RS (Sajilata, Singhal and Kulkarni, 2006).

Protein. Interaksi pati-protein dipercaya dapat menurunkan kadar RS, yang telah diamati pada pati kentang dan albumin pada saat dipanaskan dan didinginkan pada suhu - 20°C.

Serat pangan. Serat pangan yang tidak larut seperti selulosa dan lignin diketahui mempunyai pengaruh kecil terhadap RS dibandingkan dengan senyawa/ unsur lain seperti potasium, kalsium dan katekin.

Inhibitor enzim. Polifenol, asam fitat dan lektin pada leguminosa dilaporkan menghambat hidrolisis pati secara *in vitro* dan indeks glikemik yang lebih rendah. Asam tanat menghambat aktivitas amilase dan maltase usus halus. Masih ada informasi yang kontradiksi dalam literatur pada aspek ini.

Ion. Hasil RS pada gel pati kentang turun dengan adanya ion kalsium dan potasium dibandingkan dengan tanpa penambahan unsur tersebut, yang dikarenakan pencegahan pembentukan ikatan hidrogen antara rantai amilosa dan amilopektin yang disebabkan oleh penyerapan ion-ion tersebut.

Gula. Penambahan gula yang dapat larut seperti glukosa, maltosa, sukrosa dan ribosa menurunkan derajat kristalisasi sehingga menurunkan hasil RS. Mekanisme retrogradasi dihambat karena interaksi antara molekul gula dan molekul pati yang mengubah matriks pati tergelatinisasi.

Lipid, emulsifier. Amilosa dengan lipid dapat membentuk kompleks amilosa-lipida. Komplek amilosa-lipida merupakan *enzyme-degradable* dan peningkatan kompleks amilosa akan mengurangi hasil RS. Rekristalisasi amilosa dalam pembentukan RS bersaing dengan pembentukan kompleks amilosa. Memang ada perbedaan pendapat diantara peneliti, beberapa peneliti meyakini bahwa kompleks amilosa-lipida menurunkan pembentukan RS, tapi peneliti lain berpendapat bahwa kompleks amilosa-lipida itu sendiri adalah salah bentuk RS. Pengaruh lipid endogen dalam pembentuk RS dari pati gandum menunjukkan *defatting* menurunkan kadar RS, tetapi ketika lipid ditambahkan pada gandum *defatted* atau pati *amylomaize VII* terjadi penurunan RS.

(iv) Kondisi prosesing

Teknik prosesing dapat mempengaruhi proses gelatinisasi dan retrogradasi, yang akhirnya mempengaruhi pembentukan RS. Fakta ini sangat penting untuk industri makanan, karena hal ini memungkinkan meningkatkan kadar RS pada saat makanan atau bahan makanan diproses. Pemanggangan, produksi pasta, ekstrusi, pemanasan dan seterusnya diketahui mempengaruhi hasil RS dalam makanan (Sajilata, Singhal and Kulkarni, 2006).

(v) Proses Panas

Pengukusan. Pengukusan membantu dalam produksi RS. Pati yang diisolasi dari legum yang dikukus kaya akan RS (19% sampai 31%) dan tidak ditemukan pada kacang mentah. Hal yang sama terjadi pada kacang yang dikukus secara konvensional dan pada tekanan tinggi, kadar RS meningkat 3 sampai 5 kali lebih tinggi dari pada kacang mentah, hal ini menunjukkan bahwa retrogradasi yang bertanggung jawab terhadap penurunan nilai pencernaan.

Autoclaving. Pemanasan menghasilkan peningkatan RS. Pemanasan pati jagung mengandung RS 9% dibandingkan dengan jagung yang tidak dimasak kadarnya kurang dari 1%.

Parboiling. Parboiling dapat meningkatkan produksi RS. Dalam penelitian lima varietas beras dengan kadar amilosa yang berbeda, secara *in vitro* dan *in vivo* kadar RS rendah dan berkorelasi positif dengan kadar amilosa. Kadar RS yang lebih tinggi ditemukan pada nasi dan nasi *parboiled* dari pada dalam beras. Kadar RS yang lebih tinggi dilaporkan dalam beras *parboiled* dari pada beras putih, peningkatan juga terjadi karena pendinginan dan pembekuan.

Pemanggangan. Pemanggangan meningkatkan kadar RS. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar RS pada adonan roti paling rendah dan setelah dipanggang kadar paling tinggi terjadi pada bagian dalam roti dibandingkan pada kulit roti.

Ekstrusi. Kadar RS₃ dari tepung barley alami, pada umumnya berkurang dengan ekstrusi, tetapi tidak signifikan. Penyimpanan sampel tepung ekstrudat pada 4°C selama 24 jam sebelum pengeringan terjadi sedikit peningkatan konten RS₃. Pati jagung dengan dan tanpa guar [10% (b/b)] dan 2% (b/b) monogliserida ester asam tartarat diacetyl, sodium stearoil-2- laktilat atau asam sitrat, masing-masing diekstrusi dalam *ekstruder twin-screw* pada kelembaban 18%, 150°C, dan kecepatan putar 180 rpm. Pembentukan RS pada pati jagung yang diekstrusi sangat dipengaruhi oleh penambahan gum dan aditif makanan yang berbeda. Pola Difraksi sinar-X memberikan pola difraksi V, hal ini menunjukkan efek ekstrusi dan adanya kompleks amilosa-lipid (Wu and Sarko, 1978; Faraj, Vasanthan and Hoover, 2004) dalam (Sajilata, Singhal and Kulkarni, 2006).

Pirokonversi. Pirokonversi pati meningkatkan kadar RS. Pati Lima bean (*Phaseolus lunatus*) yang dimodifikasi menggunakan pirokonversi, dengan perlakuan HCl dengan rasio pati/HCl = 160:1, pada suhu 90°C selama 1 jam, menghasilkan pati yang mengandung 49,5% pati tidak tercerna. Pati pirodekstrinisasi menurunkan jumlah pati tersedia bagi enzim melalui pembentukan ikatan glikosidik yang tidak dicerna oleh amilase dan

maltooligosakaridase di usus kecil manusia (Sajilata, Singhal and Kulkarni, 2006).

Irradiasi microwave. Iradiasi Microwave meningkatkan pencernaan pati umbi, disertai dengan perubahan struktur dan fisikokimia. Kadar RS buncis mentah dan kacang-kacangan menurun dari 32,5% (dari total pati) masing-masing menjadi sekitar 10% setelah dimasak, dan tingkat pencernaan pati meningkat dari 35,6% dan 27,5% menjadi sekitar 80%. Studi tentang efek perlakuan yang berbeda panas menunjukkan peningkatan pati dicerna dan penurunan RS setelah perlakuan panas (Sajilata, Singhal and Kulkarni, 2006).

(vi) Perlakuan lain-lain

Penggilingan. Kacang-kacangan, di mana struktur sel setelah dimasak (seperti roti dengan biji utuh); tepung kacang dengan sel utuh; makanan yang mengandung partikel besar seperti roti dengan biji utuh secara fisik sulit diakses oleh amilase, sehingga meningkatkan kadar RS. (Adamu, 2001) dalam (Sajilata, Singhal and Kulkarni, 2006) menemukan bukti bahwa 20 % pati tidak terserap (*malabsorpsi*) dari diet yang mengandung tepung kacang dengan sel utuh. Sekitar setengah dari pati yang tidak terserap tersebut adalah amilosa teretrogradasi.

Perkecambahan. Perkecambahan terbukti menurunkan kandungan RS dalam *bengal gram*, *field bean*, *cow pea*, dan *green gram* (Schweizer *et al.*, 1990) dalam (Sajilata, Singhal and Kulkarni, 2006).

Fermentasi. Fermentasi mengurangi kadar RS Tepung sorghum dicampur dengan air dan difermentasi dengan starter pada suhu 37°C selama 36 jam menunjukkan peningkatan kecernaan pati *in vitro* dan menurunkan kadar RS dan jumlah pati. Pembentukan RS juga telah terbukti menurun dalam produk fermentasi *idlis* dan *dhoklas* (Kavita *et al.*, 1998; Abd-Elmoneim-O-Elkhalifa, Schiffler and Bernhard, 2004) dalam (Sajilata, Singhal and Kulkarni, 2006).

(vii) Kondisi Penyimpanan

Umumnya, RS meningkat pada penyimpanan, terutama penyimpanan pada suhu rendah. Roti jagung utuh dan jagung remah roti, bila disimpan pada suhu berbeda (-20 °C, 4 °C, atau 20 °C) selama 7 hari menunjukkan kadar RS mencapai maksimum antara 2 dan 4 hari pada semua suhu penyimpanan, setelah kadar RS menurun. Kadar RS terendah ditemukan dalam roti jagung utuh setelah penyimpanan pada -20°C (2,18 g/100 g) selama 7 hari. Studi tentang pengaruh penyimpanan dingin pada pencernaan pati tortilla *in vitro* menunjukkan penurunan kadar pati yang dapat dicerna dalam tortilla setelah 48 jam penyimpanan dingin, karena peningkatan jumlah RS. Perubahan ini terutama karena retrogradasi, yang ditunjukkan oleh peningkatan *retrograded resistant starch* (RRS) yang merupakan komponen terbesar kadar RS total [12].

2. PEMBUATAN RS

RS dapat dibuat dengan modifikasi pati dengan perlakuan fisik (perlakuan panas), perlakuan kimia, perlakuan enzimatis dan kombinasi panas dan enzimatis (Sajilata, Singhal and Kulkarni, 2006; Zhou *et al.*, 2014).

(i) Perlakuan Panas

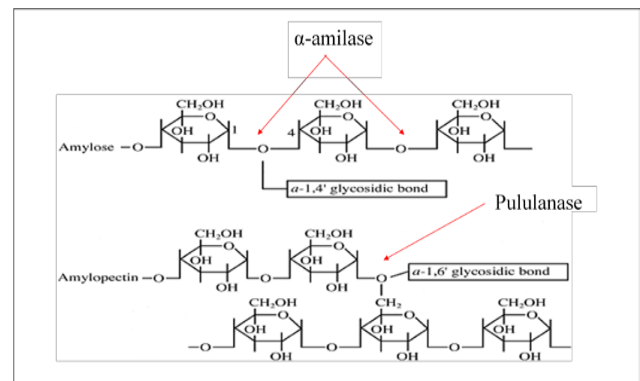
Perlakuan panas untuk pembentukan RS dapat diperoleh dengan memasak pati diatas suhu gelatinisasi yang dilanjutkan dengan pengeringan. Hasil RS yang bagus diperoleh dengan gelatinisasi pati pada suhu 120°C selama 20 menit, dilanjutkan dengan pendinginan pada suhu kamar, kemudian gel pati dibekukan selama satu malam pada suhu -20°C dan dikeringkan pada suhu 60 °C sebelum digiling. Beberapa kombinasi suhu dan waktu telah digunakan untuk membuat RS₃ dari beberapa sumber pati. Pati dengan kadar amilosa normal, untuk meningkatkan hasil RS₃ dilakukan dengan pemasakan suhu diatas 100 °C (Sajilata, Singhal and Kulkarni, 2006).

Perlakuan hidrotermal, yaitu *Heat moisture treatment* (HMT) dan pendinginan merupakan modifikasi fisik yang dapat mengubah sifat-sifat fisikokimia pati tanpa merusak struktur granulanya. HMT adalah modifikasi secara fisik yang dilakukan pada kadar air yang terbatas (10-30%) dan dipanaskan pada suhu tinggi (20-120 °C) selama 15 menit sampai 16 jam. Perubahan struktur dan sifat-sifat fungsional pati bervariasi tergantung pada sumber pati dan kadar amilosa (Zavareze and Dias, 2011). HMT mendorong interaksi rantai polimer dengan memecah struktur kristalin dan memisahkan struktur heliks ganda di wilayah amorf, diikuti dengan penataan ulang kristalin yang pecah (Zavareze and Dias, 2011).

(ii) Perlakuan Enzimatis

Pati alami dihidrolisis menggunakan enzim α -amilase yang tahan panas, pululanase atau kombinasi keduanya. Penggunaan enzim pululanase menghasilkan produk RS yang mempunyai kualitas yang sama dengan pati atau tepung alami ketika dimasak tetapi mempunyai kandungan RS yang lebih tinggi dari pada penggunaan α -amilase (Sajilata, Singhal and Kulkarni, 2006). Enzim α -amilase adalah endo-enzim yang memecah ikatan α -(1-4)-D-glukosida dalam pati., sedang enzim pululanase adalah endo-enzim yang memecah ikatan α -(1-6) seperti dapat dilihat pada Gambar 3.

RS yang dibuat dengan hidrolisis pati jagung dengan pululanase, dengan kondisi optimum untuk hidrolisis adalah suhu 46 °C, pH 5,0, waktu reaksi 24 jam dan pululanase 12 ASPU/g. hasil hidrolisis selanjutnya dimasak dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama satu jam, didinginkan pada suhu kamar dan kemudian disimpan pada suhu 4 °C selama satu malam.



Gambar 3. Hidrolisis ikatan α -(1-4) oleh α -amilase dan ikatan α -(1-6) oleh pululanase

(iii) Perlakuan Panas Dan Enzim

Metode ini merupakan kombinasi antara perlakuan panas dengan enzim, dilakukan dengan membuat pati retrogradasi yang dilanjutkan dengan hidrolisis kimia atau enzimatis untuk mengurangi atau menghilangkan bagian amorfous dari pati retrogradasi. RS dapat dibuat dengan gelatinisasi pati amilosa tinggi kemudian dilakukan pemutusan ikatan cabang dengan enzim pululanase dan selanjutnya produk yang dihasilkan dikeringkan atau diekstrusi (Sajilata, Singhal and Kulkarni, 2006).

Perlakuan pemasakan dan pendinginan diulang sebanyak dua kali, dan selanjutnya dikeringkan dan digiling. Metode ini akan menghasilkan pati dengan kadar RS sebesar 16,55 % (Zhang and Jin, 2011b). Peningkatan kadar RS dalam pati jagung menurut (Zhang and Jin, 2011a) dapat dilakukan dengan penambahan enzim α -amilase yang termotabil sebelum perlakuan dengan enzim pululanase. Kondisi optimum untuk α -amilase dalam produksi RS adalah suhu 90 °C, pH 5,5, waktu reaksi 15 menit dan jumlah α -amilase 4 μ /g dengan hasil RS yang diperoleh 58,87% (w/w). Kondisi optimum (suhu, pH, waktu reaksi dan jumlah enzim) untuk aktivitas α -amilase dan pululanase dalam pembentukan RS dapat dilihat pada Gambar 4.

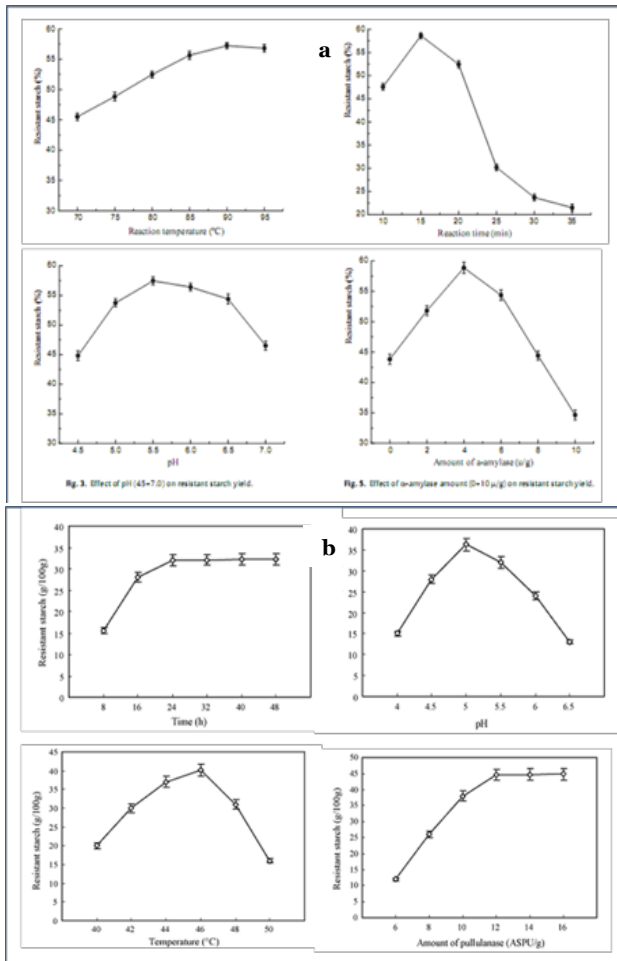
(iv) Pembuatan RS Pati Beras *Indica* Dengan Metode Enzimatis dan Fisik

Dalam pembuatan RS pati beras *Indica* ada dua tahap yang harus dilakukan, yaitu pembuatan/ isolasi pati beras *Indica* (Zavareze *et al.*, 2010) dan pembuatan RS pati beras *Indica* (Zhou *et al.*, 2014).

(a) Pembuatan pati beras indica

Menurut (Zavareze *et al.*, 2010) isolasi pati beras dilakukan dengan metode Wang dan Wang (2004). Tepung beras direndam dalam larutan NaOH 0,1% dengan rasio 1 : 2 (w/v) selama 18 jam. Selanjutnya diaduk dan disaring dengan ayakan 63 μ m dan disentrifus pada 1200 g selama 5 menit. Lapisan paling atas dihilangkan dan lapisan pati dibawahnya di re-slurried. Lapisan pati kemudian dicuci dua kali menggunakan larutan NaOH 0,1% dan disentrifus. Lapisan pati dicuci dengan air distilasi dan disentrifus. Pati kemudian di re-slurried dan dinetralkan dengan larutan HCl 1,0 M sampai pH 6,5 dan disentrifus. Pati netral dicuci tiga kali dengan air

distilasi dan dikeringkan pada suhu 40°C sampai kadar air 11%.



Gambar 4. Kondisi optimum pululanase (a) dan α -amilase (b) Sumber : (Zhang and Jin, 2011b, 2011a)

Pembuatan RS Pati Beras *Indica* Secara Enzimatis Dan Fisik

Pembuatan RS menurut penelitian (Zhou *et al.*, 2014) dengan modifikasi pati secara enzimatis dan secara fisik. Pada modifikasi secara enzimatis dilakukan dengan dua cara, yaitu perlakuan modifikasi ganda menggunakan dua macam enzim, dan perlakuan modifikasi tunggal menggunakan satu macam enzim. Sedang modifikasi secara fisik dilakukan dengan perlakuan panas lembab.

Perlakuan modifikasi ganda (*dual modification-treated/ DMT*)

Pati beras *Indica* (10 g, 25%w/v) digelatinisasi dengan air distilasi selama 30 menit pada suhu 80°C dan pH 6,0. Pati diperlakukan dengan α -amilase pada pH 5,5, suhu 80 °C dengan waktu reaksi 40 menit dan dengan level α -amilase 6 μ /g. Kemudian pululanase ditambahkan sebanyak 4 μ /g pada pH 4,5 dan suhu 46 °C selama 12 jam. Campuran kemudian didinginkan sampai suhu kamar dan selanjutnya disimpan dalam refrigerator pada suhu 4°C selama satu malam. Pati disuspensikan dalam etanol absolut dan digojog selama 15 menit. Etanol dipisahkan dengan

sentrifugasi (8000 rpm, 15 menit, 4°C) dan prosedur ini diulang sebanyak dua kali. Residu dicuci dua kali menggunakan air distilasi. Setelah pati dicuci kemudian diperlakukan dalam *water bath* mendidih selama 90 menit. Pati yang diperoleh dikeringkan pada suhu 60°C selama 24 jam, kemudian digiling dan diayak dengan ayakan 200 mesh untuk selanjutnya dilakukan analisis.

(b) Perlakuan modifikasi tunggal (*single modification-treated/ SMT*)

Pembuatan pati modifikasi dengan SMT caranya sama dengan pati DMT, tetapi tanpa perlakuan enzim α -amilase.

(c) Perlakuan modifikasi panas lembab (*heat-moisture-treated/ HMT*)

Pembuatan pati modifikasi dengan HMT dilakukan tanpa menggunakan enzim. Pati beras *Indica* (10 g, 25% w/v) digelatinisasi dengan air distilasi, diaduk selama 30 menit pada suhu 80°C dan pH 6,0. Setelah gelatinisasi, pati beras *Indica* diperlakukan dalam *water bath* mendidih selama 90 menit, kemudian dikeringkan pada suhu 60°C selama 24 jam, kemudian digiling dan diayak dengan ayakan 200 mesh untuk selanjutnya dilakukan analisis.

3. KARAKTERISTIK PATI BERAS *INDICA* HASIL MODIFIKASI

(i) Kadar RS dan kecepatan hidrolisis pati

Perbandingan kadar RS dan kecepatan hidrolisis pati beras *Indica* hasil ketiga cara modifikasi dan pati alami dapat dilihat pada Tabel 4 (Zhou *et al.*, 2014).

Tabel 4.

Kadar RS dan kecepatan hidrolisis pati (%)

	Kadar RS	2 jam	6 jam	12 jam	24 jam	36 jam
Pati <i>native</i>	2,52 \pm 1,647	25,7 ^a	37,5 ^a	45,3 ^a	51,3 ^a	53,7 ^a
Pati HMT	15,3 \pm 1,256	12,2 \pm 1,54	14,0 \pm 1,78	15,3 \pm 1,79	17,3 \pm 0,770	18,2 \pm 0,615
Pati SMT	35,2 ^a \pm 1,073	6,55 ^a \pm 0,929	7,12 ^a \pm 1,09	7,55 ^a \pm 0,784	8,02 ^a \pm 0,890	8,02 ^a \pm 1,28
Pati DMT	47,0 ^a \pm 1,232	3,17 ^a \pm 1,02	4,53 ^a \pm 0,938	5,17 ^a \pm 0,603	5,19 ^a \pm 1,24	5,19 ^a \pm 1,04

Kadar RS (%) = kadar glukosa x 0,9/berat pati x 100%

Kecepatan pati hidrolisis (ζ) = kadar gula reduksi x 0,9/berat pati x 100%

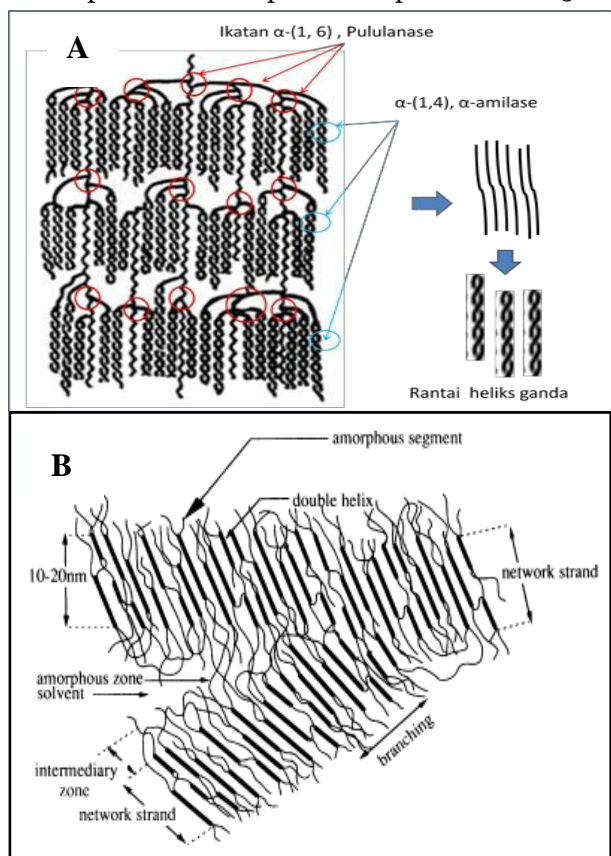
Masing-masing nilai menunjukkan nilai rerata \pm standar deviasi (n= 10)

^a mengindikasikan $\rho < 0,01$ dibandingkan dengan pati HMT

Dari Tabel diketahui bahwa kadar RS pati DMT lebih tinggi dari pada pati alami, SMT dan HMT, yaitu sebesar 47,0%. Semakin lama waktu hidrolisis enzimatis, kecepatan hidrolisis meningkat. Kecepatan hidrolisis pati DMT lebih rendah dari kedua cara modifikasi lainnya, karena setelah perlakuan enzim ganda (α -amilase dan pululanase), molekul pati terhidrolisa menjadi rantai pendek dan lurus. Rantai ini saling berikatan dengan ikatan hidrogen menjadi struktur heliks ganda yang rapat, sehingga terbentuk struktur kristalin baru dan mengurangi sisi pengikatan molekul pati dengan enzim yang membuat

enzim sulit mendegradasi (Zhou *et al.*, 2014). Menurut (Lehmann and Robin, 2007) pemutusan rantai cabang ikatan α -(1-6) menghasilkan rantai amilosa pendek yang dapat membentuk agregasi heliks ganda dan membentuk kristalin selama pendinginan resisten terhadap pencernaan. Sebaliknya rantai amilosa panjang mencegah pembentukan agregat dan membentuk cross-link selama pendinginan menghasilkan bahan tingkat kecernaannya lebih tinggi; Ilustrasi hidrolisis rantai pati oleh enzim α -amilase dan pululanase dan pembentukan heliks ganda dilihat pada Gambar 5A.

Menurut [12] gelatinisasi pati beramilosa tinggi atau linierisasi amilopektin dengan enzim debranching (pululanase) yang dilanjutkan dengan retrogradasi yang terkendali digunakan secara luas untuk membuat RS. Beberapa peneliti juga melaporkan bahwa pati yang diberi perlakuan hidrotermal dan enzimatis dapat mendorong pembentukan SDS (*Slowly Digestible Starch*) [31]. Ilustrasi retrogradasi pati setelah dihidrolisis dengan enzim pululanase dapat dilihat pada Gambar 5B.



Gambar 5. (A) Hidrolisis pati dengan enzim α -amilase dan pululanase dan pembentukan rantai heliks ganda baru; (B) Struktur gel amilosa hasil rekristalisasi sumber : (Lehmann and Robin, 2007)

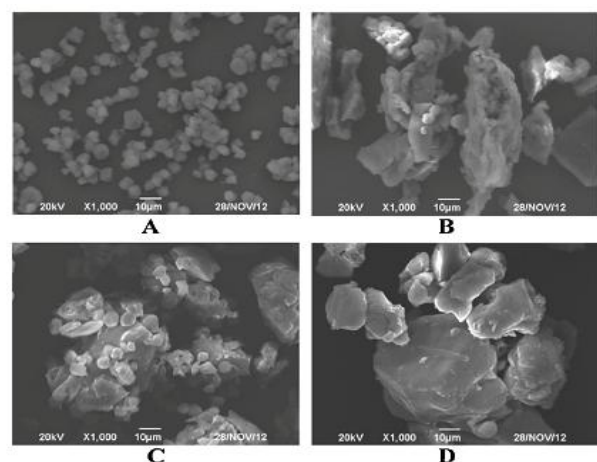
Penurunan kecepatan hidolisis RS dalam pengujian kecernaan pati secara *in vitro* karena adanya amilosa yang lebih pendek dapat menurunkan kemampuan pati untuk dicerna oleh enzim (Zhou *et*

al., 2014). Dengan demikian pati hasil DMT sangat resisten terhadap enzim.

Menurut (Zhang and Jin, 2011a) satu faktor penting dalam pembentukan RS adalah peningkatan rasio amilosa/amilopektin, karena rantai amilosa membentuk heliks ganda yang mereorganisasi struktur pati. Kemungkinan lain karena pengurangan panjang rantai amilosa menjadi mobil sehingga meningkatkan pembentukan kristal. Peningkatan densitas struktur kristal meningkatkan resistensi pati terhadap enzim.

(ii) Scanning electron micrographs (SEM) pati

SEM granula pati alami dan pati modifikasi dapat dilihat pada Gambar 6. Granula pati beras *Indica* nativ memiliki permukaan yang halus dan bentuknya poligonal tidak beraturan dan tidak ditemukan adanya keretakan meskipun setelah modifikasi dengan metode yang berbeda, bentuk granula berubah. Permukaan granula pati HMT terlihat tidak beraturan, kasar, morfologi tidak seragam dan strukturnya relative longgar. Permukaan granula pati SMT nampak mempunyai partikel besar dan struktur tiga dimensi dengan permukaannya halus. Dibandingkan dengan granula pati DMT terlihat padat, kompak dan struktur seperti lembaran yang kurang halus dari pada pati alami, tetapi granula pati DMT masih mempertahankan struktur partikelnya relatif lengkap. Struktur ini menunjukkan rekristalisasi pati tergelatinisasi, molekul amilosa dan amilopektin mengalami pengaturan ulang melalui ikatan hidrogen dan bergerak lebih dekat satu sama yang lain. Hal ini menyebabkan re-komposisi campuran kristal dan integritas pati dapat dipertahankan dan derajat kristalinitas pati resisten meningkat, sehingga aktivitas enzimatis menurun dan meningkatkan ketahanan pati untuk dicerna (Zhou *et al.*, 2014).

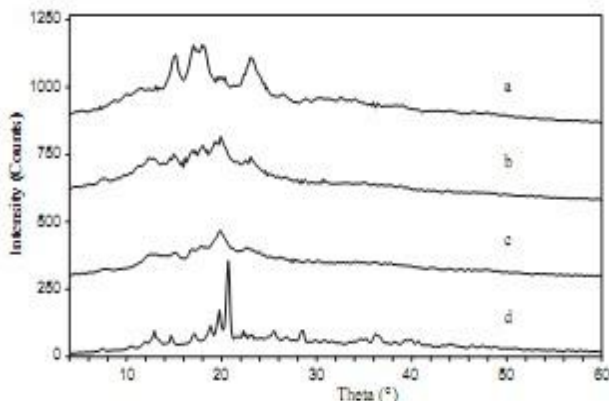


Gambar 6. SEM pati alami dan pati modifikasi : (A) pati alami, (B) pati HMT, (C) pati SMT dan (D) pati DMT Sumber : (Zhou *et al.*, 2014)

Pola difraksi sinar-X dan kristalinitas relatif pati

Pola difraksi sinar X pati yang telah mengalami perlakuan modifikasi dapat dilihat pada Gambar 7. Ada tiga tipe struktur kristal yang berbeda, yaitu kristalinitas pati tipe A, tipe B dan tipe V. Kristalinitas pati tipe A terutama terdapat pati sereal, seperti pati jagung, gandum dan beras, dengan refleksi kuat pada 15°, 17°, 18° dan 23°. Kristalinitas pati tipe B terutama terdapat pati singkong, buah-buahan seperti kentang dan pisang, dengan refleksi kuat pada 5,6°, 17°, 22° dan 24°. Kristalinitas tipe V umumnya berhubungan dengan kompleks amilosa-lipida dengan refleksi pada 14,5° dan 19,5°. Pati beras *Indica* alami menunjukkan tipe pola dengan refleksi kuat pada $2\theta = 15.2, 17.0, 18.0$ dan 23.1 . Pola difraksi sinar X pati HMT karakternya tipe B dan tipe V dengan puncak difraksi pada $2\theta = 7^\circ, 12^\circ, 19^\circ$ dan 22° . Perlakuan hidrotermal mengubah pola dari A menjadi B juga telah dilaporkan sebelumnya (Zhou *et al.*, 2014).

Beberapa peneliti telah melaporkan kenaikan intensitas difraksi sinar-X pada pati jagung dan ubi jalar, yang disebabkan karena pergerakan rantai heliks ganda dalam kristal pati yang menghasilkan matriks kristal yang lebih teratur dari pada pati *nativ*. Meskipun telah diidentifikasi adanya penurunan kristalinitas relatif pada kentang. Penurunan intensitas sinar X dikarenakan perlakuan hidrotermal juga mengurangi kristalinitas dan menaikkan bagian amorfous pada lamela semi kristalin (Zavareze and Dias, 2011).



Gambar 7. Pola difraksi sinar-X : (a) pati alami, (b) pati HMT, (c) Pati SMT dan (d) pati DMT Sumber : (Zhou *et al.*, 2014)

Pola difraksi untuk pati SMT berubah dari tipe A menjadi kombinasi tipe A dan tipe V (refleksi pada $2\theta = 8,03^\circ, 12,6^\circ, 15,1^\circ$ dan $19,9^\circ$). Difraksi sinar X pati DMT dan HMT menunjukkan hilangnya intensitas refleksi pada $2\theta = 15^\circ, 18^\circ$ dan 23° dan penguatan intensitas refleksi pada $2\theta = 7^\circ, 12^\circ, 14^\circ, 19^\circ, 20^\circ$ dan 22° , hal ini menunjukkan penurunan bentuk kristalin tipe A dan peningkatan bentuk kristalin tipe B dan tipe V (Zhou *et al.*, 2014).

Kristalinitas pati alami, HMT, SMT dan DMT berdasarkan difraksi sinar-X adalah 18,1%, 20,2%, 27,0% dan 51,0%. Dibandingkan dengan pati

nativ, kristalinitas pati HMT dan SMT turun tetapi pati DMT meningkat.

Menurut (Zavareze and Dias, 2011) derajat kristalinitas dapat menggambarkan ukuran kristal, jumlah bagian kristalin yang dipengaruhi oleh panjang rantai amilopektin, orientasi heliks ganda dalam kristalin dan tingkat interaksi antara heliks ganda. Jika metode modifikasi ganda digunakan untuk pembuatan RS, dua enzim (α -amilase dan pululanase) menghidrolisa rantai pati menjadi rantai lurus panjang. Rantai lurus ini kemudian membentuk heliks pada proses selanjutnya. Proses *heat-moisture* menyebabkan struktur menjadi lebih rapat dan meningkatkan kristalinitas RS, sehingga resistensi terhadap amilolisis menjadi lebih besar (Zhou *et al.*, 2014).

Analisis karakteristik thermal dan thermogravimetri pati

Parameter termal dan termogravimetri pati nativ, HMT, SMT dan DMT dianalisa menggunakan DSC-TGA dan hasilnya disajikan pada Tabel 5. Dari Tabel 5 diketahui terjadi peningkatan suhu $T_o, T_p, T_c, \Delta H$ yang signifikan pada semua perlakuan bila dibandingkan dengan pati nativ dan peningkatan yang paling besar terjadi pada pati DMT. Peningkatan T_o-T_p menunjukkan perubahan internal yang berbeda pada perlakuan yang berbeda yang menyebabkan terjadinya pembentukan kristalinitas dan jumlah heliks ganda dengan kestabilan yang berbeda. Peningkatan ΔH (energi yang diperlukan untuk proses penghancuran kristal pati) menunjukkan bahwa jumlah heliks ganda pati DMT lebih besar atau interaksi antar rantai pati pada daerah kristalin lebih kuat. Pada suhu $214^\circ C$ pati nativ memiliki puncak eksotermik yang besar yang menunjukkan dekomposisi pati yang besar sehingga kehilangan berat sampai 78,8%. HMT, SMT dan DMT mempunyai puncak eksotermik yang lebih tinggi dibandingkan pati nativ dan kehilangan berat yang lebih rendah.

Tabel 5. Karakteristik thermal dan thermogravimetri pati

	T_o (°C)	T_p (°C)	T_c (°C)	ΔH (J/g)	Phase transition temperature (°C)	TG(%)
Pati native	133 ^a ±1,06	158 ^a ±1,06	194 ^a ±1,41	37,1 ^a ±1,70	214 ^a ±1,714	72,8 ^a ±1,10
Pati HMT	201±1,35	205±1,43	214±1,85	42,3±1,45	255±1,40	50,1±0,914
Pati SMT	203 ^b ±1,40	223 ^b ±1,28	232 ^a ±1,03	51,3 ^a ±0,82	267±0,811	45,7 ^b ±1,43
Pati DMT	207±1,01	226±1,72	235 ^a ±1,41	58,7 ^a ±1,41	295 ±1,23	36,4 ^a ±1,26

Masing-masing nilai menunjukkan nilai rerata ± standar deviasi (n= 10)

^a mengindikasikan $\rho < 0,01$

^b mengindikasikan $\rho < 0,05$ dibandingkan dengan pati HMT

Sumber : (Zhou *et al.*, 2014)

TGA secara luas digunakan untuk mengevaluasi hubungan antara kehilangan berat dan suhu pati. Dibandingkan dengan tiga pati lainnya, pati DMT kehilangan berat lebih sedikit, yang menunjukkan tipe kristal yang berbeda. Penelitian sebelumnya juga

menunjukkan bahwa metode TGA ditemukan bahwa ada perbedaan terhadap ketahanan panas antara amilosa dan amilopektin dalam pati jagung. Hasil ini menunjukkan bahwa pati DMT dapat digunakan untuk mempertahankan struktur kristal dibawah suhu 207°C dan mempunyai stabilitas panas lebih baik dari pada pati yang lain (Zhou *et al.*, 2014).

4. APLIKASI RS

Aplikasi RS dalam produk-produk makanan dapat digunakan sebagai *food ingredient* dan *food additive*. Menurut (Fuentes-Zaragoza, M.J. Riquelme-Navarrete, *et al.*, 2010) digunakan untuk pengembangan produk karena dua hal, yaitu karena potensi fisiologis yang menguntungkan dan sifat-sifat fungsional unik, yang menghasilkan produk dengan kualitas tinggi yang tidak bisa dicapai oleh serat larut tradisional. Penambahan RS dalam produk yang dipanggang, produk pasta dan minuman menghasilkan sifat tekstur lebih baik dan bermanfaat untuk kesehatan (Yue and Waring, 1998; Baixauli *et al.*, 2008; Millati *et al.*, 2019).

Aplikasi RS dalam industri terutama untuk produk makanan dengan kadar air rendah. Produk-produk seperti roti, muffin, dan sereal sarapan dapat dibuat dengan menggunakan RS sebagai sumber serat. Jumlah RS yang digunakan untuk menggantikan tepung tergantung pada pati tertentu yang sedang digunakan, aplikasi tingkat serat yang diinginkan, dan dalam beberapa kasus, struktur-fungsi yang diinginkan. RS3 dengan titik leleh minimal 140°C, dapat digunakan sebagai pengganti tepung rendah kalori untuk produk roti dengan karakteristik yang dihasilkan adalah masak merata, warna coklat keemasan, aroma yang menyenangkan, permukaan merekah. Kue spons yang kualitas sangat baik dapat dibuat dengan mengganti 30% dari tepung dengan RS3 pati jagung, RS 4 (dibuat dengan *cross-linked* pati jagung dan kombinasi pendinginan dan *crosslinked* RS4 pati jagung) sedangkan untuk cake lapis kuning sebesar 12,5 %. Pati jagung amilosa tinggi dengan RS di 20%-24% menunjukkan sifat yang sangat baik sebagai pelapis tablet (Po, Czuchajowska and Pomeranz, 1994; Haynes *et al.*, 2000; Myung-Hee-Kim, Jeong-Ok-Kim, and Mal-Shick Shin, 2001; Dimantov *et al.*, 2004; Nurhayati, 2019).

SIMPULAN

1. Hidrolisis pati beras dengan enzim ganda α -amilase dan pululanase (DMT) dapat meningkatkan kadar RS tertinggi (51,0%) karena meningkatnya derajat kristalinitas pati.
2. RS yang tinggi mengakibatkan peningkatan suhu gelatinisasi, ΔH dan suhu fase transisi dan penurunan kecepatan hidrolisis pati dan kehilangan berat.

3. RS mempunyai sifat fungsional dan efek fisiologis terhadap kesehatan yang menguntungkan.
4. RS dapat diaplikasikan sebagai *food ingredient* dan *food additive* dalam berbagai produk makanan dan minuman.

DAFTAR RUJUKAN

- Abd-Elmoneim-O-Elkhalifa, Schiffler, B. and Bernhard, R. (2004) 'Effect of fermentation on the starch digestibility, resistant starch and some physicochemical properties of sorghum flour', *Nahrung/Food*, 48(2), pp. 91-94.
- Adamu, B. O. A. (2001) 'Resistant starch derived from extruded corn starch and guar gum as affected by acid and surfactants: Structural characterization', *Starch/Stärke*, 53(11), pp. 582-591. doi: 10.1002/1521-379X(200111)53:11<582::AID-STAR582>3.0.CO;2-G.
- Baixauli, R. *et al.* (2008) 'Distinctive sensory features introduced by resistant starch in baked products', *LWT - Food Science and Technology*, 41(10), pp. 1927-1933. doi: 10.1016/j.lwt.2008.01.012.
- Berry, C. S. (1986) 'Resistant starch: Formation and measurement of starch that survives exhaustive digestion with amylolytic enzymes during the determination of dietary fibre', *Journal of Cereal Science*. Academic Press Inc. (London) Limited, 4(4), pp. 301-314. doi: 10.1016/S0733-5210(86)80034-0.
- Dimantov, A. *et al.* (2004) 'Study of high amylose corn starch as food grade enteric coating in a microcapsule model system', *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 5(1), pp. 93-100. doi: 10.1016/j.ifset.2003.11.003.
- Faraj, A., Vasanthan, T. and Hoover, R. (2004) 'The effect of extrusion cooking on resistant starch formation in waxy and regular barley flours', *Food Research International*, 37(5), pp. 517-525. doi: 10.1016/j.foodres.2003.09.015.
- Fuentes-Zaragoza, E., Riquelme-Navarrete, M. J., *et al.* (2010) 'Resistant starch as functional ingredient: A review', *Food Research International*. doi: 10.1016/j.foodres.2010.02.004.
- Fuentes-Zaragoza, E., Riquelme-Navarrete, M.J., *et al.* (2010) 'Resistant starch as functional ingredient: A review', *Food Research International*, 43(4), pp. 931-942. doi: 10.1016/j.foodres.2010.02.004.
- Fuentes- Zaragoza, E. *et al.* (2011) 'Resistant starch as prebiotic: A review', *Starch - Stärke*, 63(7), pp. 406-415. doi: 10.1002/star.201000099.
- Haynes, L. *et al.* (2000) 'Process for making enzyme-resistant starch for reduced-calorie flour replacer. Wilmington, Del.: Nabisco Technology Co. 2000.', *U.S. patent 6,013,299*.
- Holm J, Asp NG, Bjorck I (no date) 'Factors affecting enzymatic degradation of cereal starches in vitro and in vivo', in *Cereal in a European context*.
- Kavita, V. *et al.* (1998) *Effects of processing, storage time and temperature on the resistant starch of foods, undefined*.

- Lehmann, U. and Robin, F. (2007) 'Slowly digestible starch - its structure and health implications: a review', *Trends in Food Science and Technology*, 18(7), pp. 346–355. doi: 10.1016/j.tifs.2007.02.009.
- Liljeberg, H., Åkerberg, A. and Björck, I. (1996) 'Resistant starch formation in bread as influenced by choice of ingredients or baking conditions', *Food Chemistry*, 56(4), pp. 389–394. doi: 10.1016/0308-8146(95)00199-9.
- 'Los alimentos del bienestar la alimentación del siglo XXI - IAlimentos' (no date).
- Mikulíková, D., Masár, Š. and Kraic, J. (2008) 'Biodiversity of Legume Health-promoting Starch', *Starch - Stärke*, 60(8), pp. 426–432. doi: 10.1002/star.200700693.
- Millati, T. *et al.* (2019) 'Physicochemical Properties, In vitro Starch Digestibility and Estimated Glycemic Index Following the Accelerated Aging of Freshly Harvested Rice', *Pakistan Journal of Nutrition*, 18(4), pp. 346–353. doi: 10.3923/pjn.2019.346.353.
- Myung-Hee-Kim, Jeong-Ok-Kim, and Mal-Shick Shin (2001) 'Effects of resistant starches on the characteristics of sponge cakes', *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 30(4), pp. 623–629.
- Nugent, A. P. (2005) 'Health properties of resistant starch', *Nutrition Bulletin*, 30(1), pp. 27–54. doi: 10.1111/j.1467-3010.2005.00481.x.
- Nurhayati, N. (2019) 'MODIFIKASI PATI SECARA ASETILASI DAN APLIKASINYA PADA PEMBENTUKAN FILM', *Jurnal Agrotek Ummat*, 6(2), pp. 100–200.
- Po, Y. ., Czuchajowska, Z. and Pomeranz, Y. (1994) 'Enzyme-resistant starch in yellow layer cake', *Cereal Chem*, 71(1), pp. 69–75.
- Putseys, J. A., Lamberts, L. and Delcour, J. A. (2010) 'Amylose-inclusion complexes: Formation, identity and physico-chemical properties', *Journal of Cereal Science*, 51(3), pp. 238–247. doi: 10.1016/j.jcs.2010.01.011.
- Ratnayake, W. S. and Jackson, D. S. (2008) 'Thermal Behavior of Resistant Starches RS 2, RS 3, and RS 4', *Journal of Food Science*, 73(5), pp. C356–C366. doi: 10.1111/j.1750-3841.2008.00754.x.
- Ring, S. G. *et al.* (1988) 'Resistant starch: Its chemical form in foodstuffs and effect on digestibility in vitro', *Food Chemistry*, 28(2), pp. 97–109. doi: 10.1016/0308-8146(88)90139-2.
- Sajilata, M. G., Singhal, R. S. and Kulkarni, P. R. (2006) 'Resistant Starch—A Review', *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5(1), pp. 1–17. doi: 10.1111/j.1541-4337.2006.tb00076.x.
- Sanz, T., Salvador, A. and Fiszman, S. M. (2008) 'Resistant starch (RS) in battered fried products: Functionality and high-fibre benefit', *Food Hydrocolloids*, 22(4), pp. 543–549. doi: 10.1016/j.foodhyd.2007.01.018.
- Schweizer, T. F. *et al.* (1990) 'Nutrients excreted in ileostomy effluents after consumption of mixed diets with beans or potatoes. II. Starch, dietary fibre and sugars', *European Journal of Clinical Nutrition*, pp. 567–575.
- Sha, X. S. *et al.* (2012) 'Preparation and physical characteristics of resistant starch (type 4) in acetylated indica rice', *Food Chemistry*. Elsevier Ltd, 134(1), pp. 149–154. doi: 10.1016/j.foodchem.2012.02.081.
- Sharma, A. and Yadav, B. S. (2008) 'Resistant starch: Physiological roles and food applications', *Food Reviews International*, 24(2), pp. 193–234. doi: 10.1080/87559120801926237.
- Sievert, D. and Pomeranz, Y. (1989) *Enzyme-Resistant Starch. I. Characterization and Evaluation by Enzymatic, Thermoanalytical, and Microscopic Methods.*, <http://online.cerealsgrains.org/publications/cc/backissues/1989/Documents/CC1989a106.html>.
- Topping, D. L., Fukushima, M. and Bird, A. R. (2003) 'Resistant starch as a prebiotic and synbiotic: state of the art', *Proceedings of the Nutrition Society*, 62(1), pp. 171–176. doi: 10.1079/PNS2002224.
- Waigh, T. A. *et al.* (1997) 'Analysis of the native structure of starch granules with X-ray microfocus diffraction', *Macromolecules*, 30(13), pp. 3813–3820. doi: 10.1021/ma970075w.
- Wu, H. . and Sarko, A. (1978) 'The double helical molecular structure of crystalline Amylose', *Carbohydr Res*, 61(7).
- Xie, F. *et al.* (2013) 'Starch-based nano-biocomposites', *Progress in Polymer Science*. Elsevier Ltd, 38(10–11), pp. 1590–1628. doi: 10.1016/j.progpolymsci.2013.05.002.
- Yue, P. (National S. and C. C. and Waring, S. (1998) 'Resistant starch in food applications', *Cereal foods world (USA)*, 43(9), pp. 690–695.
- Zavareze, E. D. R. and Dias, A. R. G. (2011) 'Impact of heat-moisture treatment and annealing in starches: A review', *Carbohydrate Polymers*. Elsevier Ltd., 83(2), pp. 317–328. doi: 10.1016/j.carbpol.2010.08.064.
- Zavareze, E. da R. *et al.* (2010) 'Effect of heat-moisture treatment on rice starch of varying amylose content', *Food Chemistry*, 121(2), pp. 358–365. doi: 10.1016/j.foodchem.2009.12.036.
- Zhang, H. and Jin, Z. (2011a) 'Preparation of products rich in resistant starch from maize starch by an enzymatic method', *Carbohydrate Polymers*. Elsevier Ltd., 86(4), pp. 1610–1614. doi: 10.1016/j.carbpol.2011.06.070.
- Zhang, H. and Jin, Z. (2011b) 'Preparation of resistant starch by hydrolysis of maize starch with pullulanase', *Carbohydrate Polymers*, 83(2), pp. 865–867. doi: 10.1016/j.carbpol.2010.08.066.
- Zhou, Y. *et al.* (2014) 'Structure characterization and hypoglycemic effects of dual modified resistant starch from indica rice starch', *Carbohydrate Polymers*. Elsevier Ltd., 103(1), pp. 81–86. doi: 10.1016/j.carbpol.2013.12.020.