

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Pisang Kepok

Di Indonesia terdapat buah pisang dengan beragam jenis. Kurang lebih ada 200 jenis pisang yang dapat tumbuh di Indonesia. Hal tersebut disebabkan oleh beberapa faktor, yaitu cocoknya semua jenis tanah yang ada di Indonesia untuk ditanami pisang serta Indonesia termasuk ke dalam salah satu sentra primer keragaman pisang (Setiawan dkk., 2019).

Buah pisang dapat digolongkan menjadi empat kelompok, yaitu pisang yang bisa langsung dimakan tanpa diolah buahnya, pisang yang diambil seratnya, pisang yang dapat dimakan setelah buahnya diolah, dan pisang berbiji yang dapat dimakan saat masih mentah. Pisang juga bisa dikelompokkan lagi berdasarkan cara konsumsinya, yaitu kelompok pisang yang dikonsumsi secara langsung (*banana*) dan pisang yang dikonsumsi setelah diolah (*plantain*). Adapun contoh dari kelompok *banana* adalah pisang ambon, pisang muli, dan pisang raja sedangkan untuk contoh dari kelompok *plantain* adalah pisang tandung, pisang janten, dan pisang kepok (Musita, 2012).



Gambar 2. 1. Pisang Kepok
Sumber: Dokumentasi Pribadi

Salah satu jenis buah pisang yang paling disukai dan paling banyak dikonsumsi oleh masyarakat adalah pisang kepok (Nurmin dkk., 2018). Daging buah dari pisang ini berbentuk agak pipih dengan kulit yang tebal. Warna kulit dari pisang kepok akan berubah menjadi kuning seiring dengan matangnya buah tersebut. Maka dari itu, pisang jenis ini termasuk ke dalam buah klimaterik karena kematangan buahnya bisa diamati dari perubahan warna kulit. Ada dua jenis pisang kepok yang dikenal oleh masyarakat, yaitu pisang kepok kuning dan pisang kepok putih (Nurmin dkk., 2018).

Buah pisang mempunyai kandungan karbohidrat yang tinggi terutama pada pati yang terdapat dalam daging buahnya. Nantinya, karbohidrat akan diubah bentuknya menjadi sukrosa, glukosa serta fruktosa ketika pisang matang (Setiawan dkk., 2019). Tingginya kandungan pati dalam pisang mampu memberikan efek kenyang jika dikonsumsi. Selain tinggi karbohidrat, pisang juga mengandung kalium yang tinggi serta kaya akan vitamin A, B, C tetapi rendah natrium dan kandungan besi (Suloi, 2019).

2.2. Pati (*Starch*)

Pati adalah sumber energi utama dalam makanan manusia. Pati tersusun atas dua jenis molekul, yaitu amilosa berstruktur lurus dengan ikatan α , 1-4 glikosidik serta amilopektin berstruktur lurus dengan ikatan α , 1-4 glikosidik dan berstruktur cabang dengan α , 1-6 glikosidik (Rozali dkk., 2018).

Pada umumnya, pati akan dihidrolisis (dicerna) oleh enzim pencernaan yang ada di dalam usus halus, contohnya seperti enzim α -amilase, sukraseisomaltase, dan glucoamilase. Nantinya enzim tersebut akan menghasilkan glukosa yang bisa diserap ke dalam darah dan diubah menjadi energi dalam sel – sel tubuh (Rozali dkk., 2018). Berdasarkan daya cernanya pati dibedakan menjadi tiga, yaitu pati yang cepat dicerna (*rapidly digestible starch*), pati yang lambat dicerna (*slowly digestible starch*), dan pati resisten (*resistant starch*) (Setiarto dkk., 2015). Kelompok pati cepat dan lambat dicerna merupakan fraksi pati yang terhidrolisis menjadi dekstrin karena adanya enzim α -amilase selama 20 – 120 menit setelah dicerna di dalam sistem pencernaan. Sedangkan kelompok pati resisten merupakan pati yang tidak bisa dihidrolisis oleh enzim pencernaan dalam

usus halus setelah 120 menit dicerna sehingga akan masuk ke usus besar untuk difermentasi oleh mikroflora usus (Suloi, 2019).

2.2.1. Pati Resisten

Dahulu, pati yang ada di dalam makanan dianggap bisa dicerna secara sempurna. Akan tetapi pada awal tahun 1980-an, didapati fraksi pati yang lolos pada saat berada di proses pencernaan serta absorpsi dalam usus halus manusia. Pati yang tidak bisa dicerna atau diproses oleh usus manusia disebut sebagai pati resisten (Rosida, 2013).

Resistant starch merupakan jenis pati yang tahan terhadap asam lambung serta tidak bisa dicerna di dalam usus halus yang menyebabkan pati ini masuk ke dalam kolon. Di dalam kolon pati resisten berfungsi sebagai substrat bagi pertumbuhan mikroorganisme prebiotik. Kolon adalah bagian terpanjang dari usus besar (Winarti dkk., 2019). Sedangkan prebiotik diartikan sebagai bahan makanan yang tidak bisa dicerna sehingga mampu digunakan sebagai substrat bagi pertumbuhan sejumlah bakteri menguntungkan yang tumbuh dalam usus (Musita, 2012).

Pati resisten terbagi menjadi lima fraksi yang bersumber pada asal serta proses pembuatannya, diantaranya adalah pati resisten tipe 1, 2, 3, 4, dan 5 (Setiarto dkk., 2015).

a) Pati resisten tipe 1 (RS 1)

Pati yang terperangkap dalam endosperm biji – bijian maupun kacang – kacangan. Pati resisten tipe 1 tidak bisa dicerna oleh enzim pencernaan karena pati ini dilindungi oleh matriks protein serta materi penyusun dinding sel (Rozali dkk., 2018). Oleh sebab itu, pati resisten tipe 1 merupakan pati yang tahan terhadap proses hidrolisis serta bersifat stabil terhadap pemanasan selama pengolahan (Suloi, 2019).

b) Pati resisten tipe 2 (RS 2)

Pati yang granulanya berbentuk kristalin serta sangat resisten terhadap pencernaan yang dilakukan oleh enzim α -amilase. Contoh bahan pangan yang mengandung RS 2 antara lain kentang dan pisang yang masih mentah serta jenis pati jagung yang kadar amilosanya tinggi (Setiarto dkk., 2015).

c) Pati resisten tipe 3 (RS 3)

Pati yang teretrogradasi baik dari bentuk yang belum termodifikasi (pati alami) maupun dari hasil pengolahan (Suloi, 2019). Retrogradasi merupakan proses bersatunya molekul – molekul amilosa yang keluar dari granula pati yang telah mengalami gelatinisasi. Gelatinisasi adalah proses membesarnya granula pati akibat penyerapan air selama pemanasan. Suhu saat proses gelatinisasi mencapai 170°C sedangkan suhu proses retrogradasi mencapai $\pm 4^\circ\text{C}$ (Rozali dkk., 2018).

d) Pati resisten tipe 4 (RS 4)

Pati yang dimodifikasi secara kimia sehingga mengakibatkan pati ini tidak dicerna. Hal ini disebabkan karena struktur molekul pati yang sudah mengalami perubahan akibat ikatan melalui reaksi substitusi (Suloi, 2019).

e) Pati resisten tipe 5 (RS 5)

Pati yang berasal dari interaksi pati dengan lipid sehingga amilosa membentuk kompleks heliks tunggal dengan asam lemak dan lemak alkohol (Setiarto dkk., 2015). Kompleks antara amilosa dengan asam lemak mampu menghambat kinerja enzim pencernaan (Rozali dkk., 2018).

2.2.2. Manfaat Pati Resistan

Dikarenakan pati resisten tahan terhadap proses pencernaan pada usus halus yang kemudian digunakan oleh mikrobiota dalam usus besar untuk merangsang pertumbuhan bakteri baik, seperti *Lactobacilli* dan *bifidobacteria*. Selain itu, juga dapat mempengaruhi kesehatan inangnya atau yang sering disebut sebagai efek prebiotik (Suloi, 2019).

Pada penyakit diabetes, pati resisten mampu menurunkan penyerapan gula darah atau respon insulin. Pada remaja atau orang dewasa penderita kolera yang sedang mengalami diare, durasi diarenya mampu diperpendek dengan pati resisten. Pati resisten mampu mereduksi kehilangan cairan fekal, mempercepat pemulihan diare, serta mereduksi penyebab kolera (pertumbuhan *Vibrio cholera* (Suloi, 2019).

Pati resisten mampu memberikan efek kenyang karena dicerna dengan lambat pada usus. Selain itu, pati resisten juga dapat menurunkan amonia yang

bersifat toksik melalui fermentasi yang terjadi pada kolon proksimal (Suloi, 2019).

2.3. Metode Analisis Pati Resisten

Pengukuran pati resisten dilakukan dengan menambahkan enzim α -amilase yang nantinya akan menghidrolisis pati menjadi D-glukosa. Penelitian awal dilakukan pada tahun 1982 oleh Englyst, Wiggins, dan Cummins. Para peneliti tersebut menemukan adanya fraksi pati yang resisten terhadap hidrolisis enzimatik. Setelah itu, penelitian tersebut diperluas oleh Berry dimana ia mengembangkan metode pengukuran pati resisten terdahulu. Ia menggabungkan perlakuan α -amilase atau pullulanase dari penelitian terdahulu tetapi menghilangkan langkah saat pemanasan di awal bersuhu 100°C. Hal ini bertujuan supaya lebih menyerupai keadaan fisiologis dan saat ada di kondisi ini, kandungan pati resisten dalam sampel akan jauh lebih tinggi (*Resistant Starch Assay Procedure (Rapid Format)*, 2019).

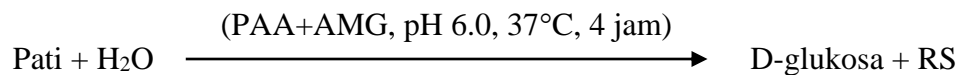
Di tahun 2002, peneliti McCleary mengembangkan prosedur tentang pengukuran pati resisten. Metode ini dapat digunakan untuk mengukur pati terlarut, pati resisten, serta kandungan total pati dalam sampel. Selain itu, metode yang dikembangkan oleh McCleary ini sukses menjadi metode AOAC 2002.02 serta metode AACC 32-40.01 (*Resistant Starch Assay Procedure (Rapid Format)*, 2019).

Dari metode terdahulu, sekarang telah dilakukan penelitian terbaru terkait dengan hidrolisis bahan pati resisten. Guna memperoleh nilai pati resisten yang relevan secara fisiologis maka waktu inkubasi dengan α -amilase/amiloglukosidase pankreas (PAA/AMG) harus diperhitungkan. Maka dari itu untuk mendapatkan nilai pati resisten yang sesuai, waktu inkubasi dilaksanakan selama 4 jam karena mengikuti waktu tinggal makanan saat berada di usus halus. Dikarenakan pada penelitian terdahulu masa inkubasi dilakukan selama 16 jam dan pada penelitian terbaru ini dilakukan pemotongan waktu sehingga konsentrasi dari PAA/AMG pun harus ditingkatkan juga. Metode ini dikenal dengan metode *Rapid Integrated TDF* yang telah berhasil menjadi metode

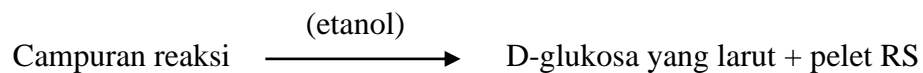
AOAC 2017.16 dan metode ICC 185 (*Resistant Starch Assay Procedure (Rapid Format)*, 2019).

Metode pengujian pati resisten dilakukan dengan menggunakan metode kuantitatif. Metode kuantitatif dipakai untuk mengetahui kadar pati resisten dalam pisang kepok. Langkah pengujian pada penelitian ini mengacu pada prosedur yang telah ditulis Megazyme mengenai *resistant starch*. Pengukuran pati resisten dilakukan dengan menambahkan enzim α -amilase yang nantinya akan terhidrolisis menjadi D-glukosa dan diukur absorbansinya.

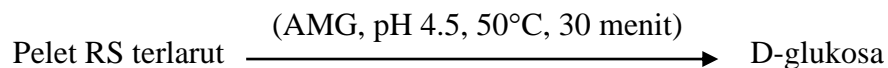
2.3.1. Prinsip Metode Analisis



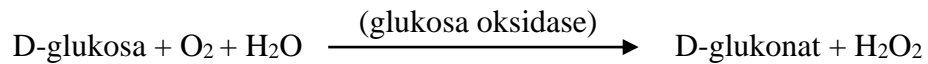
Sampel ditambahkan dengan *pancreatic α -amylase* (PAA) dan *amyloglucosidase* (AMG) lalu diinkubasi pada *shaking waterbath* dengan gerakan linier pada suhu 37°C selama 4 jam. Pada perlakuan ini, pati non-resisten dilarutkan dan dihidrolisis menjadi D-glukosa oleh kedua enzim yang telah ditambahkan.



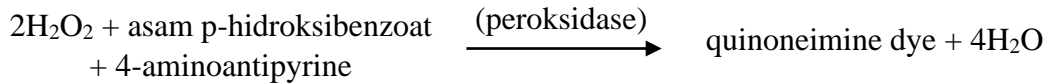
Reaksi ini diakhiri dengan penambahan etanol dengan jumlah volume yang sama. Diperoleh pati resisten dalam bentuk pelet pada sentrifugasi.



Pelet pati resisten dibilas dua kali menggunakan etanol 50% lalu disentrifugasi. Fasa cair yang diperoleh dihilangkan dengan cara dekantasi. Kemudian pelet pati resisten dilarutkan dengan NaOH 1,7 M yang dimasukkan dalam penangas air es di atas *magnetic stirrer*. Selanjutnya larutan ini dinetralkan dengan buffer asetat dan pati yang diperoleh dihidrolisis menjadi D-glukosa dengan AMG.



D-glukosa diukur dengan reagen glukosa oksidase/proksidase (GOPOD) dan ini merupakan ukuran kandungan *resistant starch* (RS) dalam sampel.



Pati yang larut (non-resisten) ditetapkan dengan mengumpulkan supernatant lalu disesuaikan volumenya sampai 100 mL dan dilakukan pengukuran kadar D-glukosa menggunakan reagen GOPOD.

2.4. Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri adalah pengukuran besarnya penyerapan sinar pada panjang gelombang tertentu. Terjadinya penyerapan sinar adalah ketika elektron menerima energi untuk berpindah dari keadaan dasar (*ground state*) ke keadaan tereksitasi karena adanya pancaran radiasi dari sumber sinar dengan panjang gelombang tertentu (Afandi & Purwanto, 2018).

Jika metode yang dipakai untuk mengoperasikan instrumen disebut dengan spektrofotometri maka instrumen atau alatnya disebut dengan spektrofotometer. Spektrofotometer terdiri atas spektrometer dan fotometer, Spektrometer memproduksi spektrum sinar pada panjang gelombang tertentu sedangkan fotometer berfungsi untuk mengukur intensitas cahaya yang melewati sampel. Instrumen ini dipakai untuk menentukan panjang gelombang serapan maksimum (λ_{maks}), konsentrasi, serta nilai absorbansi maupun transmitansi sinar pada sampel. Dalam instrumen ini, terdapat beberapa komponen penyusun antara lain:

- 1) Sumber cahaya atau lampu yang terdiri atas tungsten, deuterium, dan wolfram;
- 2) Kolimator, berfungsi untuk memotong sinar yang menyebar;
- 3) Prisma, berfungsi untuk menyeleksi spektrum cahaya;
- 4) Kuvet, berguna sebagai wadah sampel dan blanko;
- 5) Detektor cahaya (fotometer), berfungsi untuk menangkap cahaya yang ditransmisikan oleh sampel.



Gambar 2. 2. Spektrofotometer UV-Vis Shimadzu

Sumber: Dokumentasi Pribadi

Spektrofotometri UV-Vis merupakan metode analisis yang menggabungkan dua interaksi, yaitu interaksi antara radiasi elektromagnetik *ultraviolet* (UV) dengan sinar tampak (*visible*) (Octaviani dkk., 2014). Metode ini mempunyai prinsip, yaitu penyerapan sinar tampak (*visible*) untuk sinar *ultraviolet* (UV) menggunakan suatu molekul sehingga mengakibatkan terjadinya eksitasi molekul dari tingkat energi rendah ke tingkat energi yang lebih tinggi (Abriyani dkk., 2023).

Spektrofotometri UV-Vis dipakai untuk mengukur serapan atau absorbansi pada daerah *ultra violet* (UV) dengan rentang panjang gelombang 200 – 400 nm serta pada daerah sinar tampak (*visible*) dengan rentang panjang gelombang 400 – 800 nm (Leo & Daulay, 2022). Adapun kelebihan dari penggunaan metode ini adalah analisisnya lebih sederhana, cepat, ekonomis, serta sensitif (Abriyani dkk., 2023). Selain itu, metode spektrofotometri UV-Vis memiliki ketelitian hasil yang tinggi dengan persen kesalahannya relative sebesar 1 – 3% dan hasil yang didapat pun akurat karena langsung dicatat oleh detektor dan terbentuk dalam angka digital (Putri & Wahyudiani, 2021).