

METODE SEDERHANA PENENTUAN JUMLAH UNIT PENGULANGAN GLUKOSA DALAM AMILOSA SEBAGAI MEDIA PEMBELAJARAN MATERI KARBOHIDRAT

Fitri Diana Wulansari

Sekolah Tinggi Agama Islam Negeri Palangkaraya
Kompleks Islamic Centre

ABSTRAK

Amilosa merupakan salah satu komponen terbesar penyusun pati selain amilopektin. Amilosa memiliki monomer D-glukosa yang membentuk rantai lurus dengan ikatan glikosida pada posisi α pada atom C1 dan C4. Penelitian ini bertujuan menentukan jumlah unit pengulangan glukosa dalam amilosa dengan metode sederhana sehingga dapat diaplikasikan sebagai media pembelajaran dalam materi karbohidrat. Amilosa yang digunakan bersumber dari pati talas. Metode penelitian diawali dengan isolasi pati dari umbi talas, isolasi amilosa dari pati talas, serta penentuan jumlah unit pengulangan glukosa dalam amilosa yang dilakukan berdasarkan analisis kestabilan I_2 dalam amilosa. Analisis spektrometer IR digunakan untuk mengidentifikasi gugus-gugus fungsi yang terdapat dalam amilosa sedangkan analisis UV/UV-Vis dilakukan untuk menentukan absorbansi larutan kompleks amilosa- I_2 . Hasil analisis dan perhitungan menunjukkan bahwa satu unit amilosa terdiri dari 5 unit glukosa, atau massa molekul rantai amilosa sebesar 810. Pemanasan amilosa yang tinggi menyebabkan beberapa rantai amilosa terputus sehingga massa molekulnya berkurang.

Kata Kunci: amilosa, glukosa, unit pengulangan.

ABSTRACT

Amylose is one of starch composer compound beside amylopectin. Amylose has a D-glucose monomer in long chain form with glycosides bonds in C1 and C4 atoms. This research's aim is to determine glucose repeating unit in amylose with a simple method so that it can be applied as a learning media in carbohydrate lesson. Amylose source is from taro starch. The research method first is isolation of starch from taro, then isolation of amylose from taro's starch, and determination of glucose repeating unit of amylose which is based on analysis the stability of I_2 in amylose. IR spectrometer analysis is used to identify the functional groups in amylose and UV/UV-Vis analysis is used to determine the amylose- I_2 complex's absorbance. Analysis resulted one amylose unit contains 5 glucose unit, which is the molecular mass of amylose is 810. The heating of amylose in relatively high temperature caused some of amylose's chains broken so that decrease it's molecular mass.

Keywords: amylose, glucose, repeating unit

PENDAHULUAN

Pati, suatu polisakarida cadangan (*reserve polysaccharide*) pada tumbuhan, merupakan sumber karbohidrat pangan yang sangat penting bagi manusia. Granula pati bersifat tidak larut dalam air dingin tetapi akan mengembang secara dramatis ketika air dipanaskan. Sebanyak 15-25% pati akan terlarut dalam bentuk koloid ketika campuran pati dan air dipanaskan. Bagian tersebut

disebut dengan amilosa yaitu pati yang dapat larut (Koolman, 2005).

Amilosa terdiri dari glukosa yang tersusun dalam rantai lurus membentuk suatu heliks. Larutan amilosa akan memberikan warna biru ketika ditambahkan dengan larutan iodin. Semakin pekat larutan amilosa, warna biru yang muncul akan semakin pekat pula. Warna biru paling pekat terdapat pada amilosa non akua (padatan amilosa). Polisakarida bercabang akan memberikan warna coklat

atau merah kecoklatan jika ditambahkan larutan iodin.

Analisis total karbohidrat, salah satunya adalah menentukan jumlah unit pengulangan glukosa, sangat penting dalam mempelajari sifat-sifat karbohidrat maupun dalam analisis pangan. Total karbohidrat yang ada dalam bahan pangan perlu diketahui dengan alasan: *standards of identity* (pangan harus memiliki komposisi yang sesuai dengan regulasi pemerintah); *nutritional labelling* (menginformasi konsumen mengenai kadar nutrisi dalam bahan pangan); *detection of adulteration* (tiap tipe pangan memiliki 'fingerprint' karbohidrat); *food quality* (sifat fisikokimia dari pangan seperti kemanisan, penampakan, stabilitas dan tekstur tergantung tipe dan stabilitas karbohidrat yang ada); ekonomi (agar lebih dapat menghemat biaya produksi bahan yang digunakan pada industri) dan *food processing* (efisiensi dari proses pangan banyak tergantung pada jenis dan kadar karbohidrat).

Analisis jumlah monomer karbohidrat dapat ditentukan dengan metode penentuan berat molekul polimer. Dalam bahan pangan, analisis kadar karbohidrat dilakukan dengan menentukan banyaknya monomer penyusun karbohidrat salah satunya dengan metode Luff Schoorl yang ditetapkan oleh Badan Standarisasi Nasional (SNI 01-2891-1992).

Prinsip analisis dengan Metode Luff-Schoorl yaitu reduksi Cu^{2+} menjadi Cu^{1+} oleh monosakarida. Monosakarida bebas akan mereduksi larutan basa dari garam logam menjadi bentuk oksida atau bentuk bebasnya. Kelebihan Cu^{2+} yang tidak tereduksi kemudian dikuantifikasi dengan titrasi iodometri (SNI 01-2891-1992).

Analisis karbohidrat, sifat-sifat karbohidrat, analisis kadar karbohidrat, dan analisis jumlah monomer karbohidrat dapat diterapkan sebagai media pembelajaran materi karbohidrat. Media pembelajaran merupakan salah satu faktor penting yang mendukung tercapainya tujuan pembelajaran. Kriteria yang perlu dipertimbangkan guru atau tenaga pendidik dalam memilih media pembelajaran menurut Nana Sudjana (1990: 4-5) yakni 1) ketepatan media dengan tujuan pengajaran; 2) dukungan terhadap isi bahan pelajaran; 3)

kemudahan memperoleh media; 4) keterampilan guru dalam menggunakannya; 5) tersedia waktu untuk menggunakannya; dan 6) sesuai dengan taraf berfikir anak.

Penelitian ini bertujuan menerapkan metode penentuan jumlah unit pengulangan glukosa dalam amilosa secara sederhana berdasarkan kestabilan I_2 dalam amilosa dan menentukan jumlah unit pengulangan glukosa dalam amilosa. Amilosa dipisahkan secara sederhana dari amilopektin dalam pati dengan metode sederhana yaitu berdasarkan perbedaan sifat amilosa dan amilopektin dalam air panas.

Pati yang digunakan bersumber dari umbi talas (*Colocasia, sp*) dengan pertimbangan bahwa talas sangat mudah didapat karena talas mudah tumbuh dimana saja di dataran rendah sampai ketinggian 1000 m di atas permukaan air laut terutama pada tempat berair. Talas dapat ditemukan di pinggir selokan, pinggir empang, pematang sawah, atau pinggir kali. Namun ada juga jenis talas yang baik ditanam di lahan kering seperti kebun, tegalan, atau sawah di musim kemarau (Lingga, 1989)

Metode sederhana penentuan jumlah unit pengulangan glukosa dalam amilosa diharapkan dapat dimanfaatkan dan diaplikasikan sebagai media pembelajaran karbohidrat terutama dalam mempelajari sifat-sifat karbohidrat.

METODE

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah umbi talas, etanol 95% p.a (*Merck*), akuades, KI p.a (*Merck*), I_2 p.a (*Merck*), kertas saring (*Whatman*). Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah penyaring Buchner, blender, alat penentu titik lebur (electrothermal 91000), spektrofotometer UV/UV-Vis (Milton Roy Spectronic 3000 Array), Spektrofotometer IR (Shimadzu FTIR-8201 PC), serta alat-alat gelas laboratorium.

Umbi talas dikupas dan ditimbang sebanyak 500 g kemudian dicuci, diparut dan diblender. 200 mL akuades dimasukkan ke dalam pati yang telah diparut kemudian

diblender selama 5 menit. Residu disaring dengan kain dan larutan yang keruh ditampung dalam gelas piala 500 mL. Ditambahkan 200 mL akuades, dikocok kemudian partikel yang tidak larut dibiarkan mengendap selama 16 jam dan larutan jenuh didekantasi. Larutan yang keruh dan endapannya ditambahkan 200 mL akuades dikocok, dan dibiarkan mengendap agar larutan bagian atas dapat didekantasi. Endapan ditambah 100 mL etanol 95% dan disaring dengan penyaring *Buchner*. Pati yang diperoleh dikeringkan pada suhu kamar dengan meratakan pati pada kertas saring. Hasil isolasi pati ditimbang.

Sebanyak 100 g pati talas ditambahkan 1000 mL akuades dan dipanaskan pada suhu 50°C selama 30 menit disertai pengadukan. Larutan didekantasi dalam keadaan panas. Lapisan yang larut adalah amilosa dan yang tak larut adalah amilopektin. Larutan didinginkan, endapan yang terbentuk disaring dengan penyaring *Buchner*. Amilosa dikeringkan pada suhu kamar, ditimbang, serta ditentukan titik leburnya dan dianalisis dengan IR.

0,83 g KI dilarutkan dalam akuades dalam labu takar 100 mL. Kemudian dimasukan I₂ sebanyak 0,254 g dengan cepat, dan digojok keras agar larutan menjadi homogeny. Larutan disimpan dalam botol berwarna gelap dan dihindarkan dari sinar matahari.

Ditimbang 0,01; 0,005; 0,003; 0,002; 0,008; 0,001; 0,0008 g amilosa masing-masing dilarutkan dalam 100 mL akuades. Masing-masing larutan diambil sebanyak 10 mL, 8 mL, 6 mL, 4 mL, dan 2 mL. Larutan dipanaskan pada suhu 95°C selama 30 menit. Masing-masing ditambahkan 0,1 mL larutan I₂/KI. Diamati warna biru yang terjadi dan intensitasnya. Larutan dengan warna biru paling tipis dianalisis dengan UV/UV-Vis. Ulangi pengamatan selang beberapa hari.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Metode ekstraksi dengan pelarut air digunakan dalam memisahkan pati dari umbi talas, dimana sebelumnya sel-sel umbi dirusak sehingga granula-granula pati dapat

dibebaskan dari dalam sel. Melalui penyaringan menggunakan kain maka granula-granula pati akan lolos dan partikel lain yang lebih besar seperti serat umbi akan tertinggal.

Pencucian dengan akuades dimaksudkan untuk melarutkan zat pengotor yang mungkin masih ada sedangkan pencucian dengan etanol dimaksudkan untuk melarutkan zat pengotor yang tidak larut dalam akuades. Pati yang diperoleh sebesar 71,722 g berupa padatan putih.

Bau busuk sangat mungkin timbul pada hasil isolasi pati karena pada saat pencucian dengan akuades pati diendapkan selama 16 jam dan dilakukan dua kali pengulangan agar diperoleh rendemen yang maksimal. Tetapi dengan pengendapan pati dalam media berair dalam jangka waktu relative lama maka bakteri-bakteri pembusuk mudah berkembang sehingga dapat menimbulkan bau busuk.

Amilosa diisolasi dari pati, dipisahkan dari amilopektin berdasarkan pada perbedaan sifat keduanya dalam air panas yaitu amilosa bersifat dapat larut dalam air panas sedangkan amilopektin tak larut.

Suhu gelatinasi pati berkisar antara 55 – 88°C (Swinkels, 1985), sedangkan kelarutan merupakan fungsi suhu. Berdasarkan hal tersebut maka dalam penelitian ini digunakan kondisi pemisahan pada suhu 50°C dengan rasio pati: akuades 1:10 g/mL. Jika digunakan suhu lebih besar dari 50°C dimungkinkan akan terdapat molekul-molekul amilopektin yang terlepas dan ikut dalam amilosa. Amilosa hasil pemisahan dalam penelitian ini sebesar 17,7 g.

Spektroskopi UV/UV-Vis digunakan dalam analisa amilosa hasil pemisahan dari pati talas. Amilosa ditambahkan larutan iodin sehingga terbentuk kompleks amilosa-iodin dimana iodin akan mengisi *channel* pada struktu heliks amilosa. Kompleks ini berwarna biru yang khas. Analisis ini dilakukan dua tahap yaitu penentuan panjang gelombang maksimum dan penentuan unit pengulangan glukosa dalam rantai amilosa.

Umumnya amilosa mempunyai panjang gelombang maksimum pada 600-650 nm. Menurut Whistler (1965), λ_{maks} dari amilosa

berkisar pada 600 nm dan amilopektin pada daerah 550 nm. Daerah panjang gelombang yang digunakan untuk menentukan λ_{maks} dalam penelitian ini antara 400-700 nm. Hasil yang diperoleh dari pengukuran kompleks amilosa-iodin dengan kadar larutan amilosa 0,003 g / 100 mL akuades, menunjukkan absorbansi maksimum sebesar 0,112 pada panjang gelombang 611 nm. Panjang gelombang maksimum kompleks ini digunakan sebagai dasar λ pada analisis UV/UV-Vis amilosa lebih lanjut.

Amilosa membentuk kompleks dengan iodine dimana iodine mengisi *channel* struktur heliks amilosa. Semakin panjang rantai amilosa semakin banyak I_2 yang dapat diakomodasikan dalam suatu struktur heliks amilosa sehingga absorbansi UV/UV-Vis akan semakin besar pula.

Derajat polimerisasi glukosa atau jumlah unit pengulangan glukosa yang menyusun rantai heliks amilosa dapat ditentukan dengan cara mencari konsentrasi larutan amilosa terendah yang masih memberikan warna biru

yang stabil jika ditambah I_2 . Pemanasan larutan amilosa pada suhu 93°C dilakukan dengan tujuan agar amilosa benar-benar larut, artinya ikatan hydrogen antara molekul amilosa terputus dan digantikan oleh ikatan hydrogen antara molekul amilosa dengan molekul air.

Data hasil pengamatan kestabilan amilosa diperoleh bahwa larutan amilosa yang ditambahkan I_2 dalam KI memberikan warna biru khas yang jernih. Warna biru paling pekat diberikan oleh larutan amilosa dengan kadar 0,01 g/100 mL H_2O . Semakin rendah kadar amilosa dalam larutan, semakin rendah pula intensitas warna biru yang diberikan. Diasumsikan bahwa pada kadar amilosa 0,001 g/100 mL akuades merupakan kadar terendah dan tidak dapat diencerkan lagi. Berdasarkan data kestabilan tersebut terlihat bahwa dalam konsentrasi terkecil amilosa masih memberikan warna biru yang cukup jelas dengan iodine dan masih stabil setelah didiamkan dalam ruang terbuka selama 4 hari.

Tabel 1. Hasil pengamatan kestabilan kompleks amilosa-iodine

Kadar amilosa (g/100 mL H_2O)	kepekatan warna biru pada volume larutan:				
	10	8	6	4	2
0,01	10	8	6	4	2
0,005	6	5	4	3	2
0,003	4	3	3	2	1,4
0,002	3	2	2	1,2	1,6
0,001	2	-	-	-	-

Keterangan:

Kisaran kepekatan warna biru diberikan nilai antara 10-1

Keberadaan warna kekuningan diberikan range nilai antara 0,1-0,9

Nilai 10 : warna biru jernih paling pekat sehingga mendekati warna biru tua

Nilai 1 : warna biru jernih paling muda (intensitas paling kecil)

Nilai 0,1 : terdapat warna kekuningan dengan intensitas paling kecil

Nilai 0,9: terdapat warna kekuningan dengan intensitas paling pekat

Berdasarkan data tersebut, pada kadar amilosa 0,001 g/ 100 mL H_2O dengan volume 10 mL dengan I_2 memberikan warna biru yang masih dapat terlihat oleh mata dengan intensitas relatif tipis dan stabil. Oleh karena itu maka dilakukan analisis spectrometer UV/UV-Vis pada larutan amilosa dengan kadar lebih kecil dari 0,001 g/100 mL H_2O sehingga diharapkan diperoleh konsentrasi terkecil amilosa yang masih memberikan absorbansi.

Dilakukan analisis UV/UV-Vis terhadap kompleks amilosa-iodine dengan kadar 0,001 g/100 mL H_2O ; 0,008 g/100 mL H_2O , dan 0,0008 g/100 mL H_2O . Analisis UV/UV-Vis bertujuan untuk mengetahui larutan kompleks amilosa-iodine yang memberikan absorbansi terkecil secara tepat. Data hasil analisis UV/UV-Vis disajikan dalam table berikut:

Tabel 2. Hasil analisis UV/UV-Vis kompleks amilosa-iodin

Kadar amilosa (g/100 mL H ₂ O)	Absorbansi
0,008	0,0400
0,0008	0,0550
0,001	0,0685

Data tersebut menunjukkan bahwa absorbansi minimum diberikan oleh larutan dengan kadar 8×10^{-4} g amilosa dalam 100 mL air, sedangkan larutan dengan kandungan amilosa lebih rendah memberikan absorbansi yang semakin besar. Hal ini dimungkinkan karena pada kadar amilosa yang lebih tinggi ada sebagian amilosa yang tak larut atau membentuk endapan sehingga pada saat analisis dengan spectrometer UV/UV-Vis intensitas sinar yang terserap oleh kompleks amilosa-iodin telah berkurang karena adanya hamburan sinar oleh padatan.

Endapan pada saat analisis muncul meskipun larutan amilosa telah dipanaskan pada 95°C karena analisis tidak dilarutkan pada saat suhu larutan masih tinggi melainkan pada suhu kamar (29°C) sehingga ada kemungkinan timbul endapan amilosa.

Komposisi mol amilosa dan iodin yaitu 1 mol amilosa akan dapat mengakomodasi 1 mol I₂. Kadar larutan amilosa dibuat bervariasi dan konsentrasi I₂ dibuat tetap sehingga dapat diketahui bahwa 1 mol I₂ setara dengan mol amilosa pada kadar larutan amilosa terkecil. Kadar 0,0008 g/100 mL H₂O merupakan kadar terendah yang memberikan absorbansi minimum sehingga dalam kadar tersebut setara dengan 1 mol amilosa.

Sehingga dengan kadar amilosa yang semakin rendah, I₂ hanya terakomodasi sebagian dan tersisa dalam larutan. Semakin rendah kadar amilosa, semakin banyak I₂ yang tersisa. Larutan I₂ dalam KI memberikan absorbansi pada panjang gelombang antara 200 sampai 550 nm pada pengukuran menggunakan spectrometer UV/UV-Vis dengan blanko air. Pengukuran kompleks amilosa-iodin dilakukan pada panjang gelombang 611 nm (panjang gelombang kompleks amilosa-iodin) sehingga sisa I₂ tidak akan memberikan absorbansi.

Berdasarkan kesetaraan mol antara amilosa dengan iodin dalam membentuk kompleks amilosa-iodin, maka dapat dihitung jumlah unit glukosa yang menyusun suatu struktur heliks amilosa. Hasil perhitungan diperoleh keterangan bahwa satu unit amilosa terdiri dari 5 unit glukosa, yang berarti massa molekul rantai amilosa sebesar 810.kecilnya jumlah unit pengulangan glukosa disebabkan karena pemanasan yang terlalu tinggi yaitu mencapai 95°C menyebabkan beberapa rantai amilosa terputus sehingga massa molekulnya berkurang.

Spektra IR amilosa menunjukkan adanya puncak serapan yang karakteristik pada bilangan gelombang 3406,1 cm⁻¹. Puncak ini terdapat pada daerah pita serapan gugus hidroksil, yaitu getaran ulur O-H dengan bilangan gelombang 3650 – 3584 cm⁻¹. Bentuk pita melebar dan kuat menunjukkan gugus hidroksil tersebut terikat antar molekuler melalui ikatan hydrogen. Sedangkan pita gugus hidroksil “bebas” berbentuk tajam.

Karakteristik gugus hidroksil diperkuat dengan adanya puncak serapan pada 1080,1 cm⁻¹ untuk getaran ulur C-O alkoholik dengan tipe alcohol sekunder-cincin asiklik beranggota 5 atau 6.

Puncak serapan pada daerah 1419,5 cm⁻¹ menunjukkan vibrasi tekuk O-H yang terkopling (tergabung) dengan puncak 1304,4 cm⁻¹ untuk vibrasi *wagging* CH alcohol primer dan sekunder. Puncak-puncak ini menunjukkan gugus alcohol primer amilosa dan gugus alcohol sekunder dalam karbon sikliknya.

Pita serapan utama yang lain terdapat pada 2931,6 cm⁻¹, yaitu pita serapan dari uluran C-H alifatik. Pita ini menunjukkan gugus metilena (-CH₂-) pada amilosa. Adanya gugus eter ditunjukkan dengan puncak serapan pada daerah 1155,3 cm⁻¹ untuk getaran ulur C-O-C asimetrik. Gugus C-O-C dalam cincin yang beranggotakan 6 menyerap pada frekuensi yang sama dengan eter asiklik.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa penentuan jumlah unit

pengulangan glukosa dalam amilosa dapat ditentukan dengan metode sederhana berdasarkan analisis kestabilan I_2 dalam amilosa. Berdasarkan hasil penelitian penentuan jumlah unit pengulangan glukosa dalam amilosa yang diisolasi dari pati talas dengan menggunakan metoda tersebut, maka diperoleh jumlah unit pengulangan glukosa dalam amilosa sebanyak 5 unit.

DAFTAR PUSTAKA

- Nana Sudjana dan Ahmad Rivai. (1991). Media Pengajaran. Bandung: Sinar Baru.
- Koolman, 2005, Color Atlas of Biochemistry, 2nd edition, Thieme, Stuttgart, Germany
- Lingga, 1989, Betanam Umbi-Umbian, Penebar Swadaya, Jakarta
- Swinkels, 1985, Source of Starch: Its Chemistry and Physics, in G.M.A Van Beynum dan J.A Roels (editor), Starch Conversion Technology, Marcel Dekker Inc, New York
- Halim, dkk, ----, Studi Awal Pemisahan Amilosa dan Amilopektin Pati Singkong Dengan Fraksinasi Butanol – Air, Jurusan Farmasi Fakultas MIPA Universitas Andalas Padang
- Hee-Young An., 2005, *Effects of Ozonation and Addition of Amino acids on Properties of Rice Starches*. A Dissertation Submitted to the Graduate Faculty of the Louisiana state University and Agricultural and Mechanical College.
- Arief S Sadiman, dkk. 2002. Media Pendidikan. Jakarta: PT Raja Grafindo Persada
- Latuheru, John D.1988. Media Pembelajaran Dalam Proses Belajar Mengajar Masa Kini. Jakarta: Depdikbud & P2 LPTK
- Setyosari, Punaji, Sihkabuden. 2005. Media Pembelajaran. Malang : Elang Press.
- <http://www.m-edukasi.web.id>, diakses April 2013 SNI 01-2891-1992