

PEMBUATAN PATI TINGGI AMILOSA SECARA ENZIMATIS DARI PATI UBI KAYU (*Manihot esculenta*) DAN APLIKASINYA UNTUK PEMBUATAN MALTOSA;

Liliek Harianie A.R⁽¹⁾, Dr.Ir. Yunianta, DEA⁽²⁾, Dr.Ir. Bambang Dwi Argo, DEA⁽³⁾.

(1). Dosen Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN MALIKI Malang

(2) dan (3) Dosen Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang

ABSTRAK

Sebagian besar pati alami seperti pati jagung, gandum, tapioka, kentang dan sagu mengandung prosentase yang tinggi dari rantai percabangan amilopektin. Tingginya komponen amilopektin dalam tapioka tersebut merupakan salah satu kendala dalam pemanfaatan tapioka secara meluas dalam berbagai industri. Agar dihasilkan pati dengan amilosa tinggi maka salah satu alternatifnya adalah memodifikasi pati secara enzimatik dengan *debranching enzymes* yaitu enzim yang mampu menghidrolisis ikatan α -1,6 pada pati. Aplikasi pati tinggi amilosa dalam penelitian ini adalah untuk pembuatan maltosa.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh konsentrasi tapioka dan lama inkubasi terhadap kadar amilosa yang dihasilkan oleh enzim pullulanase dan mengetahui pengaruh penambahan enzim β -amilase pada tapioka dengan amilosa tertinggi terhadap maltosa yang dihasilkan.

Rancangan percobaan yang digunakan pada tahap I adalah Rancangan Acak Kelompok yang disusun secara faktorial dengan dua faktor, faktor I adalah konsentrasi tapioka (5, 10, 15, dan 20%) dan faktor dua adalah lama inkubasi (12 dan 24 jam) pada larutan 2% enzim pullulanase. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Data yang diperoleh dianalisa dengan ANOVA yang dilanjutkan dengan uji DMRT. Sedangkan pada tahap II menggunakan metode eksperimen secara deskriptif.

Hasil penelitian tahap I menunjukkan bahwa dari perlakuan kombinasi konsentrasi substrat tapioka dan lama inkubasi, kadar amilosa tertinggi diperoleh pada konsentrasi tapioka 15% dengan lama inkubasi 12 jam yaitu sebesar 41,12%, dengan kadar pati 77,46%, viskositas 358,33 cP dan kadar air 4,01%. Penelitian tahap II menunjukkan hasil hidrolisis tapioka tinggi amilosa oleh β -amilase adalah maltosa 30,84%, maltotriosa 2,90%, glukosa 0,27% dan oligosakarida 5,42%. Sedangkan untuk tapioka tanpa proses *debranching* menghasilkan maltosa 26,47%, maltotriosa 1,86%, glukosa 0,28% dan oligosakarida 13,83%.

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Ubi kayu (*Manihot esculenta*) adalah sumber karbohidrat yang melimpah di Indonesia dengan produksi terbesar di Asia Afrika yaitu 11,185 juta ton/tahun (Wenten, 2007). Ubi kayu di Indonesia biasa diolah menjadi gaplek dan tapioka (pati), dalam perdagangan tapioka lebih dikenal sebagai *tapioca flour* atau tepung tapioka. Tapioka merupakan sumber pati yang potensial (Muljohardjo, 1987).

Pati tersusun dari dua makromolekul polisakarida, yaitu amilosa (15-25%) dan amilopektin (75-85%), yang keduanya tersimpan dalam butiran yang disebut granula pati. Amilosa mempunyai struktur lurus dengan ikatan α -(1,4)-D-glukosa, sedang amilopektin mempunyai cabang dengan ikatan α -(1,6)-D-glukosa sebanyak 4-5% dari berat total (Winarno, 2002).

Sebagian besar pati alami seperti pati jagung, gandum, tapioka, kentang dan sagu mengandung prosentase yang tinggi dari rantai percabangan amilopektin (Orford *et al.*, 1987; Pomerans, 1991 dalam Wong *et al.*, 2007). Tapioka mengandung amilosa sekitar 17% (Zobel and

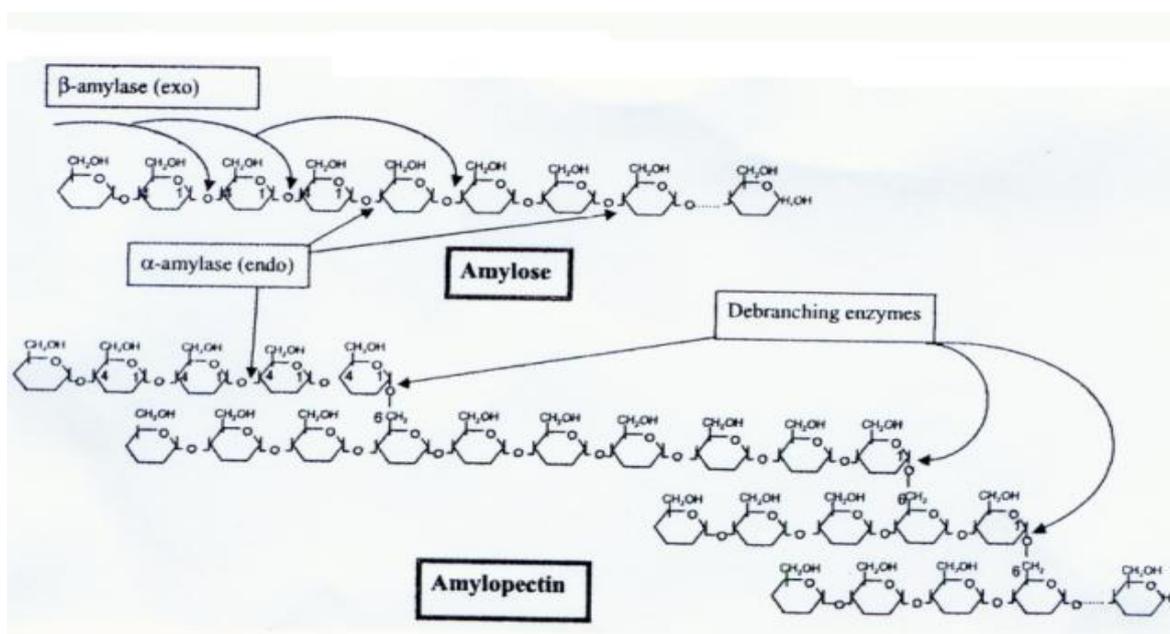
Stephen, 1995). Tingginya komponen amilopektin dalam tapioka tersebut merupakan salah satu kendala dalam pemanfaatan tapioka secara meluas dalam berbagai industri, agar dihasilkan pati dengan amilosa tinggi maka salah satu alternatifnya adalah memodifikasi pati secara enzimatik dengan *debranching enzymes* yaitu enzim yang mampu menghidrolisis ikatan α -1,6 pada pati. Penelitian ini menggunakan *debranching enzymes* yaitu pullulanase. Wong *et al.* (2007) telah berhasil memproduksi pati yang mempunyai rantai linier panjang dari pati sagu (*Metroxylon sagu*) dengan konsentrasi pati 5 %, menggunakan 2% (v/b) enzim pullulanase selama 24 jam dan konsentrasi amilosa dari pati sagu mengalami kenaikan dari 24,9% menjadi 33,2%.

Pullulanase merupakan enzim yang stabil terhadap panas, bekerja pada rantai sisi cabang terluar dari dua atau lebih unit glukosa, (Liu, 2005), selain itu enzim pullulanase menghidrolisis pati secara lambat namun sempurna (Hizukuri, 1996). Pullulanase dapat menghidrolisis ikatan α -1,6 pada pullulan dan amilopektin, sedangkan isoamilase hanya dapat menghidrolisis ikatan α -1,6 pada amilopektin (Van der Maarel, *et al.*, 2002).

Maltosa merupakan salah satu pemanis (*sweeteners*) dari kelompok karbohidrat. Penggunaan maltosa sangat luas pada industri pangan, diantaranya sebagai pemanis (*sweeteners*) dan juga sebagai *intravenous sugar supplement*. Alasan penggunaan maltosa yaitu karena tidak mudah mengkristal dan relatif bersifat tidak higroskopis (Aiyer, 2005).

Indonesia mengimport produk maltosa, glukosa, dan fruktosa cukup tinggi, mencapai 4800 ton atau 2,7 juta dolar Amerika. Hal ini terjadi karena ubi kayu Indonesia hanya diolah menjadi produk sederhana (Wenten, 2007).

Tingginya komponen amilopektin pada tapioka dapat membatasi kerja β -amilase dalam menghasilkan maltosa, karena β -amilase tidak dapat memotong ikatan percabangan α -1,6. Industri yang memproduksi sirup tinggi maltosa dengan enzim-enzim *exomaltogenic*, sering melibatkan enzim-enzim percabangan (*debranching enzymes*) untuk meningkatkan *yield* dari maltosa dan memperpendek waktu reaksi (Jiahua, 1999). Oleh karena itu dalam penelitian ini perlu dikaji pemanfaatan tapioka dengan amilosa tinggi untuk bahan baku pembuatan maltosa dengan menggunakan β -amilase.



Gambar 1. Hidrolisis amilosa dan amilopektin oleh enzim-enzim pemecah pati (Tester, *et al.*, 2004)

Mengingat pentingnya pati dengan amilosa tinggi maka penggunaan enzim pullulanase perlu dioptimalkan sehingga terjadi pemutusan rantai cabang amilopektin semaksimal mungkin.

Perumusan Masalah

Dari uraian tersebut permasalahan yang akan dijawab dalam penelitian ini adalah :

1. Bagaimana pengaruh konsentrasi tapioka terhadap kadar amilosa yang dihasilkan oleh enzim pullulanase?
2. Bagaimana pengaruh lama inkubasi enzim pullulanase terhadap kadar amilosa yang dihasilkan?

Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah :

Mengetahui pengaruh konsentrasi tapioka dan lama inkubasi terhadap kadar amilosa yang dihasilkan oleh enzim pullulanase.

Manfaat Penelitian

Penelitian ini memiliki manfaat antara lain :

1. Memperluas aplikasi dari tapioka.
2. Menambah nilai ekonomis dari tapioka

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu

Penelitian dilakukan di Lab. Biokimia dan Nutrisi, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian dan Lab. Mikrobiologi dan Biologi Molekuler, Jurusan Biologi Universitas Brawijaya Malang; Lab Mikrobiologi, jurusan Biologi Universitas Islam Negeri Malang; Lab. Bioteknologi Universitas Muhammadiyah Malang; serta Lab. PT. Sorini, Gempol Pasuruan - Jawa Timur.

Waktu pengambilan data sekitar 3 bulan mulai Mei - Agustus 2008.

Bahan dan Alat Penelitian

Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan meliputi tapioka (Merk Daun Singkong), diperoleh dari PT. Sorini, Gempol Pasuruan - Jawa Timur; enzim

pullulanase dari *Bacillus acidopullulyticus* (sigma, 400 unit/ml) dan β -amilase dari *malt barley* (sigma, 45,2 unit/mg); buffer asetat.

Bahan-bahan untuk analisa kimia meliputi bahan-bahan untuk analisa amilosa, pati dan maltosa. Semua bahan kimia yang digunakan adalah p.a (pro analisa).

Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan antara lain Erlenmeyer, karet hisap, timbangan digital, mikropipet, pipet ukur, pipet tetes, tip, aluminium foil, gelas ukur, gelas arloji, spatula, corong, termometer, *vortex*, *hotplate*, *stirrer*, *beaker glass*, tabung reaksi, *incubator shaker*, pH meter (Hanna), oven, *centrifuge*, *spectrofotometer uv-vis*, HPLC (Shimadzu tipe C-R7A).

Metode Penelitian

✓ Pengaruh konsentrasi substrat tapioka dan lama inkubasi terhadap kadar amilosa yang dihasilkan oleh enzim pullulanase.

Pada tahap ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi tapioka dan lama inkubasi terhadap kadar amilosa yang dihasilkan oleh enzim pullulanase. Penelitian tahap I ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) Faktorial, yang terdiri dari dua faktor yaitu :

Faktor I : Variasi konsentrasi substrat (K), terdiri dari 6 level K1 (5 %)(b/v), K2 (10 %), K3 (15 %) dan K4 (20 %)

Faktor II : Variasi lama inkubasi (T), terdiri dari 2 level T1 (12 jam) dan T2 (24 jam)

Masing-masing perlakuan diulang 3 (tiga) kali.

Pelaksanaan Penelitian

Tahapan penelitian adalah (Wong, *et al.*, 2007 termodifikasi) :

- Konsentrasi tapioka (5, 10, 15 dan 20% b/v) dibuat dalam volume 300 ml dengan menambahkan air. Kemudian dipanaskan pada suhu 105°C selama 15 menit (*autoclave*).
- Pati yang tergelatinisasi kemudian didinginkan sampai suhunya 40°C dengan *distirer*.
- pH diatur 5 dengan buffer asetat 0,2 M dan ditambahkan enzim pullulanase sebanyak 2% (v/b tapioka) kemudian diinkubasi dalam *Shaker incubator* pada suhu optimal enzim pullulanase (40 °C), 150 rpm selama 12 dan 24 jam.
- Reaksi dihentikan (inaktivasi enzim) dengan memanaskan suspensi pati pada suhu 85°C selama 5 menit, kemudian didinginkan.
- Tapioka yang dihasilkan dikeringkan dengan oven pada 50°C selama 24 jam.

Pengamatan

Analisa pada bahan baku tapioka meliputi analisa kadar air (AOAC, 1990), pati, amilosa

(Apriyantono, dkk.,1989), viskositas (Yuwono dan Susanto, 1998).

Analisa produk meliputi analisa amilosa (IRRI, 1971 dalam Apriyantono, dkk.,1989), pati, kadar air (AOAC, 1990), viskositas (Yuwono dan Susanto, 1998), DE (Kirk and Sawyer, 1991).

Analisa Data

Data yang diperoleh dari penelitian dianalisa varians (ANOVA) dengan program excel, dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) dengan selang kepercayaan 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Bahan Baku

Bahan baku tapioka yang digunakan pada penelitian ini berasal dari PT. Sorini, Gempol Pasuruan Jawa Timur. Analisis proksimat tapioka yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Komposisi Kimia Bahan Baku

Parameter	Hasil Analisa	Literatur ^a
Air (%)	8,73	7,85
Pati (%)	83,49	84,8
Amilosa (%)	31,95	15,31
Abu (%)	0,25	0,33

a = Rochma (2007)

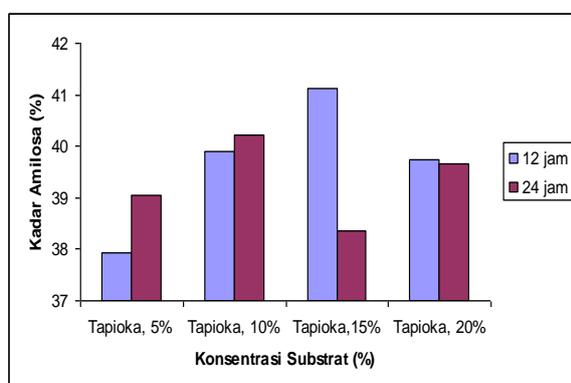
Adanya perbedaan antara hasil analisa dengan literatur dikarenakan perbedaan varietas, umur panen, musim, iklim di lahan penanaman ubi kayu serta proses yang digunakan untuk ekstraksi pati ubi kayu tersebut. Sebagaimana dijelaskan oleh Hui (1992) bahwa varietas dan areal penanaman dapat mempengaruhi sifat dan kandungan bahan dalam tanaman. Kulp *and* Ponte (2000) juga menyatakan bahwa jenis metode ekstraksi pati yang berbeda berpengaruh pada komposisi kimia maupun sifat pati.

Tahap 1.

Kadar Amilosa

Kadar amilosa pada semua perlakuan berkisar antara 37,93 – 41,12% (Tabel 4). Kadar amilosa tersebut mengalami peningkatan dari kadar awal amilosa sebelum proses *debranching* yaitu 31,95%. Peningkatan amilosa terjadi akibat adanya pemutusan rantai cabang amilopektin pada ikatan α -1,6 glikosida oleh enzim pullulanase, sehingga jumlah rantai cabang amilopektin berkurang dan meningkatkan jumlah rantai lurus amilosa baik rantai panjang maupun rantai pendek. Enzim pullulanase dapat merubah pati menjadi dekstrin yang linier (Whitaker, 1994). Pengaruh konsentrasi tapioka dan lama reaksi enzim terhadap kadar amilosa ditunjukkan pada Gambar 7.

Penelitian ini menggunakan tapioka yang tergelatinisasi pada 105°C selama 15 menit agar dapat dihidrolisis oleh pullulanase, disamping itu juga mendukung meningkatnya kadar amilosa karena pada proses ini terjadi fenomena gelatinisasi dan retrogradasi. Ketersediaan air dan suhu yang cukup pada proses autoklaving dapat mengoptimalkan terjadinya gelatinisasi, sehingga pada proses pendinginan dan pengeringan tapioka memacu terjadinya retrogradasi. Pada awal proses retrogradasi, potongan lurus dari dua untai pati atau lebih dapat membentuk ikatan sederhana yang membawa pati ke struktur yang lebih teratur (Hui, 1992), dan selama retrogradasi, granula pati bergabung menjadi struktur yang kompak dan stabil karena adanya ikatan hidrogen (Haralampu, 2000). Struktur kompak ini menyebabkan resiko kehilangan sebagian amilosa yang terlepas dari granula pati dan terlarut dalam air selama proses gelatinisasi dapat diminimalkan.



Gambar 7. Kadar Amilosa Tapioka Hasil Debranching

Pada Gambar 7 dapat dilihat bahwa pada lama inkubasi 12 jam dengan konsentrasi substrat tapioka 5%-15% kadar amilosa mengalami peningkatan, dimana menunjukkan terjadinya peningkatan aktivitas enzim. Adapun konsentrasi enzim pullulanase yang digunakan dalam penelitian ini adalah 2% (v/b). Pada konsentrasi tapioka yang lebih tinggi yaitu 20% kadar amilosa mengalami penurunan. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas enzim pullulanase optimal pada pemakaian substrat hingga 15% dan mengalami penurunan pada konsentrasi tapioka yang tinggi (20%). Konsentrasi tapioka 20% diduga dapat menjadi inhibitor sehingga menghambat kinerja enzim akibatnya kurang terbentuk kompleks enzim-substrat, seluruh bagian aktif enzim telah jenuh oleh substrat. Menurut Lehninger (1995) Kecepatan reaksi akan meningkat dengan meningkatnya konsentrasi substrat. Kecepatan reaksi terus meningkat dengan nilai yang semakin kecil hingga mencapai titik batas dimana enzim semakin jenuh oleh substrat dan tidak berfungsi dengan cepat. Titik batas itu disebut kecepatan maksimum. Sebagaimana dilaporkan juga oleh Sadikin (2002) bahwa

peningkatan konsentrasi substrat yang lebih tinggi tidak akan meningkatkan laju reaksi lagi.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa konsentrasi tapioka serta interaksi antar perlakuan memberikan pengaruh yang nyata ($\alpha = 0,05$) terhadap kadar amilosa, sedangkan lama inkubasi tidak memberikan pengaruh yang nyata pada kadar amilosa. Pengaruh konsentrasi tapioka dan lama inkubasi terhadap kadar amilosa tapioka hasil debranching ditunjukkan pada Tabel 4.

Tabel 4 menunjukkan bahwa kadar amilosa yang dihasilkan dari proses debranching tidak mengalami kenaikan yang signifikan dengan bertambahnya waktu inkubasi (24 jam). Hal ini diduga waktu inkubasi optimum pullulanase pada penelitian ini sebelum 24 jam, sehingga setelah melewati waktu inkubasi optimum tersebut jumlah substrat dalam larutan semakin kecil, dan menyebabkan bertambahnya waktu inkubasi tidak sebanding dengan produk yang terbentuk, akibatnya aktivitas enzim juga mengalami penurunan.

Tabel 4. Rerata Kadar Amilosa pada Pati Hasil Debranching

Konsentrasi Tapioka (%)	Lama Inkubasi (jam)	Amilosa (%)
5	12	37,93 ^a
	24	39,04 ^{ab}
10	12	39,90 ^{bc}
	24	40,23 ^{cd}
15	12	41,12 ^d
	24	38,35 ^a
20	12	39,75 ^b
	24	39,66 ^b

Keterangan : nilai rerata yang didampingi oleh huruf yang sama menyatakan tidak berbeda nyata

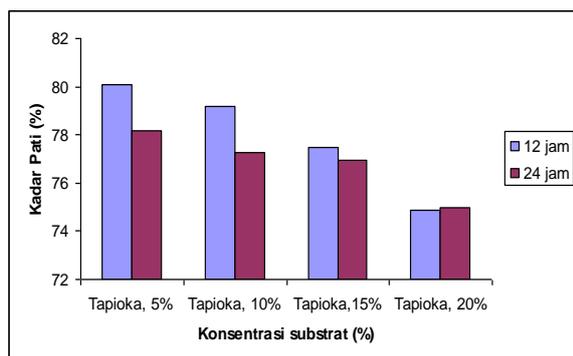
Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa waktu inkubasi 12 jam lebih efisien pada semua perlakuan untuk menghasilkan tapioka tinggi amilosa daripada 24 jam. Hal ini diduga enzim telah melalui waktu inkubasi optimum sehingga bertambahnya waktu reaksi enzimatis menjadi 24 jam tidak sebanding dengan produk yang terbentuk dan akibatnya aktivitas enzim menurun. Waktu inkubasi 12 jam memberikan keuntungan apabila diaplikasikan untuk pembuatan tapioka tinggi amilosa pada skala yang lebih besar atau skala industri karena dapat mengurangi biaya proses produksi. Penelitian ini menghasilkan tapioka dengan kadar amilosa tertinggi sebesar 41,12%, dengan prosentase kenaikan amilosa sebesar 9,17%. Adapun kondisi terbaik dalam penelitian ini untuk menghasilkan tapioka tinggi amilosa adalah dengan konsentrasi tapioka 15% dan lama inkubasi 12 jam.

Tapioka tinggi amilosa yang dihasilkan sudah bisa dikategorikan sebagai pati tinggi amilosa. Sebagaimana dilaporkan Zallie *et al.*, (1994) bahwa

pati tinggi amilosa merupakan pati yang mempunyai komposisi amilosa paling sedikit 40%. Amilosa yang dihasilkan dalam penelitian ini cukup tinggi, sebelumnya telah dilakukan penelitian oleh Rochma (2007) yaitu melakukan proses *debranching* menggunakan enzim pullulanase untuk modifikasi pati ubi kayu tanpa proses gelatinisasi dan menghasilkan kadar amilosa 29,89%. Wong *et al.* (2007) juga telah melakukan produksi pati sagu tinggi amilosa dari pati yang tergelatinisasi dengan menggunakan 2% (v/b) enzim pullulanase, konsentrasi substrat 5% selama 12 jam dan menghasilkan kenaikan amilosa sebesar 8,3%.

Pati

Kadar pati pada semua perlakuan berkisar antara 74,89-80,08% (Tabel 5). Kadar pati sebelum *debranching* yaitu 87,26%. Pati *debranching* memiliki kadar pati yang lebih rendah dari pada tapioka sebelum *debranching*, hal ini diduga karena tapioka yang digunakan pada penelitian telah tergelatinisasi pada 105°C selama 15 menit sehingga granula pati telah mengalami kerusakan dan sebagian pati terdegradasi molekuler menjadi senyawa yang lebih sederhana. Kadar pati hasil *debranching* ditampilkan pada Gambar 8.



Gambar 8. Kadar Pati pada Tapioka Hasil *Debranching*

Gambar 8 menunjukkan bahwa kadar pati tertinggi terdapat pada kombinasi perlakuan tapioka 5% selama 12 jam. Namun dapat dilihat pula bahwa perbedaan kadar pati pada tiap kombinasi perlakuan tidak terlalu besar. Semakin lama waktu inkubasi (24 jam) maka kadar pati cenderung menurun untuk setiap perlakuan. Hal ini diduga karena semakin lama waktu inkubasi maka suspensi pati semakin lama berada pada suhu 40°C dan memungkinkan struktur pati mengalami sedikit kerusakan sehingga menyebabkan kadar pati mengalami penurunan. Penelitian ini menggunakan suhu inkubasi 40°C.

Hasil analisa ragam menunjukkan bahwa konsentrasi tapioka memberikan pengaruh yang nyata ($\alpha= 0,05$) terhadap kadar pati, sedangkan lama inkubasi dan interaksi antar perlakuannya tidak memberikan pengaruh yang nyata. Pengaruh konsentrasi tapioka terhadap kadar pati tapioka hasil *debranching* ditunjukkan pada Tabel 5.

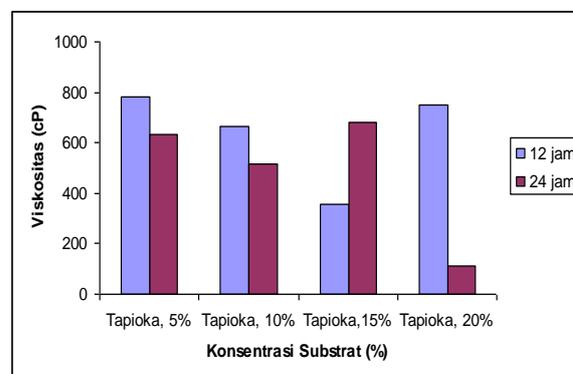
Tabel 5. Kadar Pati pada Tapioka Hasil *Debranching*

Konsentrasi Tapioka (%)	Pati (%)
5	79,13 ^b
10	78,25 ^b
15	77,20 ^{ab}
20	74,95 ^a

Keterangan : nilai rerata yang didampingi oleh huruf yang sama, tidak berbeda nyata

Viskositas

Faktor-faktor yang berpengaruh terhadap viskositas produk setelah proses *debranching* adalah sifat alami dari pati itu sendiri (telah tergelatinisasi sempurna atau belum), proporsi dari amilosa dan amilopektin yang ada pada pati termodifikasi, derajat konversi amiossa dan suhu (Laga, 2006). Rerata nilai viskositas pada penelitian ini berkisar antara 358,33 – 1100 cP. Setelah *debranching* nilai viskositas mengalami penurunan, dimana sebelum *debranching* viskositasnya adalah 27500 cP. Penambahan pullulanase (2% v/b tapioka) pada 5-20% suspensi tapioka yang tergelatinisasi dapat menghasilkan suspensi yang lebih mencair karena kekentalannya menjadi lebih rendah setelah terjadi reaksi enzimatis selama 12 dan 24 jam. Pada konsentrasi tapioka 5% mengalami tingkat pencairan yang paling tinggi sehingga sebagian besar tapioka terlarut dalam air. Pengaruh konsentrasi tapioka dan lama reaksi enzim terhadap viskositas ditunjukkan pada Gambar 9.



Gambar 9. Viskositas Tapioka Hasil *Debranching*

Pada Gambar 9 tampak bahwa semakin lama inkubasi (24 jam) pada masing-masing perlakuan viskositas cenderung mengalami penurunan. Hal ini seiring dengan kadar amilosa yang dihasilkan, yaitu semakin lamanya waktu inkubasi (24 jam) maka amilosa yang dihasilkan cenderung mengalami penurunan pada konsentrasi tapioka tersebut (10, 15 dan 20%). Sebagaimana dilaporkan oleh Laga (2002) bahwa penurunan viskositas akibat proses *debranching* amilopektin yang terkonversi menjadi fraksi amilosa. Whitt (2002) juga melaporkan bahwa amilopektin memiliki efek yang lebih kuat terhadap viskositas

akibat strukturnya yang bercabang dan lebih terbuka jika dibandingkan dengan amilosa. Amilopektin dapat mengentalkan pasta seiring dengan kenaikan suhu.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa konsentrasi tapioka serta interaksi antar perlakuan memberikan pengaruh yang nyata ($\alpha= 0,05$) terhadap nilai viskositas, sedangkan lama inkubasi tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap nilai viskositas. Pengaruh konsentrasi tapioka dan lama inkubasi terhadap nilai viskositas tapioka hasil *debranching* ditunjukkan pada Tabel 6.

Tabel 6 menunjukkan bahwa viskositas terendah diperoleh pada kombinasi perlakuan 15% tapioka-12 jam (358,33 cP) sedangkan viskositas tertinggi pada perlakuan 20% tapioka-24 jam. Hal ini karena disamping amilosa yang berperan pada nilai viskositas, konsentrasi substrat juga berpengaruh. Semakin besar konsentrasi substrat tapioka, maka semakin tinggi jumlah pati yang memiliki ikatan cabang amilopektin, sebaliknya semakin kecil konsentrasi tapioka maka semakin sedikit jumlah pati yang memiliki ikatan cabang amilopektin sehingga terjadi penurunan viskositas.

Tabel 6. Rerata Kadar Viskositas pada Tapioka Hasil *Debranching*

Konsentrasi Tapioka (%)	Lama Inkubasi (jam)	Viskositas (cP)
5	12	783,33 ^d
	24	633,33 ^c
10	12	666,67 ^c
	24	516,67 ^b
15	12	358,33 ^{bc}
	24	683,33 ^b
20	12	750 ^a
	24	1100 ^{ab}

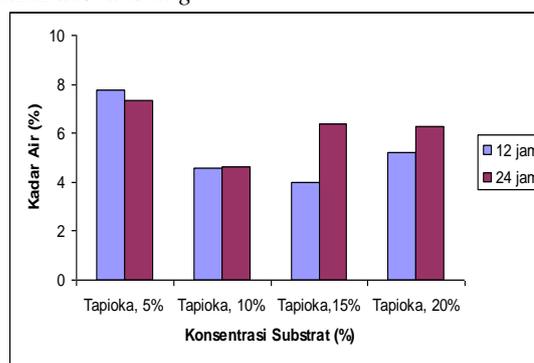
Keterangan : nilai rerata yang didampingi huruf yang sama, tidak berbeda nyata

Kadar Air

Rerata kadar air pada tapioka *debranching* berkisar antara 4,01 – 7,75 % (Tabel 7). Pengaruh konsentrasi tapioka dan lama reaksi enzim terhadap kadar air ditunjukkan pada Gambar 10.

Kadar air hasil tapioka *debranching* dalam penelitian ini lebih rendah daripada sebelum *debranching*. Kadar air bahan baku tapioka adalah 8,73%. Penurunan kadar air pada pati setelah *debranching* karena kadar amilosa mengalami kenaikan. Garcia (1999) dalam Cahyana et al., (2006) melaporkan bahwa pada pati dengan amilosa yang tinggi cenderung terjadi interaksi antar rantai molekul polimer yang lebih kuat atau terbentuk ikatan silang sehingga menghalangi masuknya molekul air atau sifat hidrofiliknya menurun. Disamping itu pati tinggi amilosa mudah mengalami retrogradasi yang diikuti oleh peristiwa sineresis.

Peristiwa retrogradasi erat kaitannya dengan sineresis. Pada saat retrogradasi, rantai amilosa cenderung untuk mengendap dari larutan dan melepaskan air, karena amilosa saling terikat kuat bersama-sama melalui ikatan hidrogen. Pada larutan yang pekat, hal ini memacu pembentukan gel pati yang elastis dan keluarnya air dari dalam gel seiring dengan meningkatnya ikatan hidrogen dan menyusutnya gel pati. Kondisi ini menyebabkan menurunnya kadar air secara signifikan pada tapioka setelah *debranching*



Gambar 10. Kadar Air Tapioka Hasil *Debranching*

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa konsentrasi tapioka serta interaksi antar perlakuan memberikan pengaruh yang nyata ($\alpha= 0,05$) terhadap kadar air, sedangkan lama inkubasi tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap kadar air. Pengaruh konsentrasi tapioka dan lama inkubasi terhadap kadar air tapioka hasil *debranching* ditunjukkan pada Tabel 7.

Tabel 7. Rerata Kadar Air pada Tapioka Hasil *Debranching*

Konsentrasi Tapioka (%)	Lama Inkubasi (jam)	Kadar Air (%)
5	12	7,75 ^c
	24	7,34 ^c
10	12	4,56 ^a
	24	4,63 ^a
15	12	4,01 ^a
	24	6,38 ^{bc}
20	12	5,22 ^{ab}
	24	6,30 ^b

Keterangan : nilai rerata yang didampingi oleh huruf yang sama, tidak berbeda nyata

Pada Tabel 7 dapat diketahui bahwa kadar air yang tertinggi terdapat pada hasil *debranching* tapioka 5%. Hal ini karena kadar amilosa rendah pada konsentrasi tersebut, sedangkan kadar air yang tertinggi didapatkan pada hasil *debranching* tapioka 15%, karena kadar amilosa pada kondisi tersebut tinggi.

Sebagaimana dilaporkan Gonzales et al. (2006) dalam Rochma (2007) bahwa semakin tinggi

kadar amilosa pada pati maka makin rendah kadar airnya. Peningkatan kadar amilosa ini menyebabkan penurunan kadar air karena struktur rantai lurus amilosa yang membentuk jaringan lebih teratur dan rapat (Nusantoro, dkk., 2003), menyebabkan sukarnya air untuk masuk ke dalam granula pati.

Tahap II

Hasil penelitian tahap I menunjukkan bahwa tapioka dengan amilosa tertinggi diperoleh pada perlakuan *debranching* dengan konsentrasi tapioka 15% dan lama inkubasi 12 jam, sehingga tapioka tersebut digunakan untuk penelitian tahap II. Komposisi kimia dari tapioka tinggi amilosa tersebut adalah kadar amilosa 41,12%, kadar pati 77,46%, kadar air 4,01% dan viskositas 358,33 cP. Sedangkan kontrol yang digunakan adalah tapioka tanpa perlakuan *debranching* sebelumnya. Penelitian ini menggunakan tapioka 5% dan enzim β -amilase 0,2% (b/b).

Komposisi Gula

Hidrolisis tapioka tinggi amilosa oleh enzim β -amilase akan menghasilkan maltosa,

maltotriosa, glukosa dan oligosakarida (dekstrin). Analisa komposisi gula tersebut dilakukan dengan metode HPLC. Analisa dengan HPLC lebih spesifik dan teliti (Wijanarko, 2000). Adapun kondisi HPLC yang digunakan mempunyai ketentuan sebagai berikut : merk HPLC Beckman, tipe kolom HPX 87C dengan ukuran 300 x 7,8 mm yang berisi aminex sebagai fase diam dan aquabidest sebagai fase mobil, suhu kolom (CTO-10A) 80°C, tekanan pompa saat operasi 344 psi, *flow rate* 0,6 ml/menit, sistem elusi isokratik dan deteksi dengan detektor *Refractive Index Detector* (RID).

Untuk mengetahui jenis komponen gula yang dihasilkan dapat dilihat dengan munculnya waktu retensi. Uji pendahuluan menunjukkan bahwa waktu retensi untuk glukosa 9,631 menit, maltosa 7,867 menit, maltotriosa 7,084 menit dan oligosakarida digunakan standart kromatogram dari *Bio-Rad* dengan waktu retensi 5,5-6,9 menit (Lampiran 17). Hasil beberapa kromatogram dari HPLC menunjukkan bahwa oligosakarida terlebih dahulu keluar, diikuti oleh maltotriosa, maltosa dan yang terakhir adalah glukosa.

Tabel 8. Rerata Komponen Gula Hasil Hidrolisis Tapioka

Tapioka	Glukosa (%)	Maltosa (%)	Maltotriosa (%)	Oligosakarida (%)
Tanpa <i>debranching</i>	0,28	26,47	1,86	13,86
<i>Debranching</i>	0,27	30,84	2,90	5,42

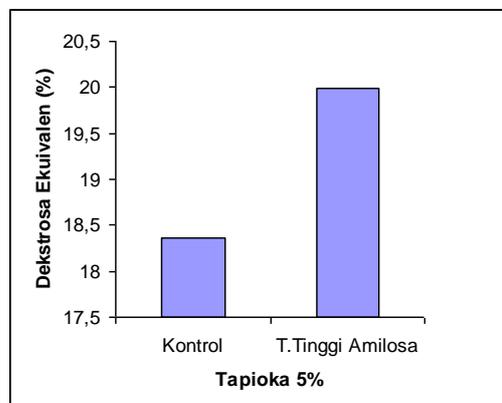
Pada tabel 8 menunjukkan bahwa rerata komponen gula hasil hidrolisis tapioka tinggi amilosa oleh β -amilase adalah maltosa 30,84%, maltotriosa 2,90%, glukosa 0,27% dan oligosakarida 5,42%. Sedangkan untuk tapioka tanpa proses *debranching* menghasilkan maltosa 26,47%, maltotriosa 1,86%, glukosa 0,28% dan oligosakarida 13,86%. Komponen gula terbesar yang dihasilkan dari hidrolisis tapioka pada penelitian ini adalah maltosa, diikuti oleh oligosakarida, maltotriosa dan yang terakhir adalah glukos. Pada penelitian ini tidak dilakukan pemisahan air yang ada dalam filtrat hasil hidrolisis oleh β -amilase sehingga komponen yang ada disamping gula-gula tersebut adalah air. Air mempunyai komposisi terbesar dalam filtrat karena tapioka tidak terkonversi dengan baik menjadi produk terutama maltosa.

Dekstrosa Ekuivalen

Nilai rerata dekstrosa ekuivalen pada penelitian ini adalah sebesar 19,99 %. Dekstrosa ekuivalen merupakan persentasi perbandingan antara gula reduksi dengan kadar bahan kering sirup maltosa. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi nilai DE menurut Mc Pherson *and* Seib (1997) adalah aktivitas dan dosis enzim, serta lama sakarifikasi. Pada penelitian ini, faktor-faktor tersebut bukan merupakan variabel yang dianalisa

sehingga diasumsikan tetap, sedangkan lama reaksi β -amilase dilakukan selama 18 jam.

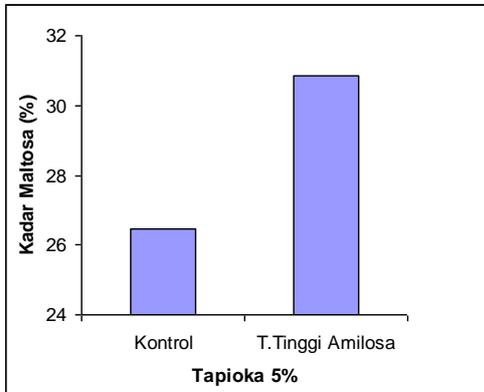
Gambar 11 menunjukkan kadar dekstrosa ekuivalen dari pati tinggi amilosa lebih besar daripada kontrol (18,36%). Hal ini karena substrat tapioka yang dipecah oleh β -amilase lebih sederhana karena jumlah percabangan amilopektin lebih kecil, sehingga meningkatkan aktivitas β -amilase dan menyebabkan gula reduksi yang terbentuk semakin meningkat. Peningkatan kadar maltosa, maltotriosa dan glukosa pada hasil hidrolisis tapioka diiringi juga dengan peningkatan dekstrosa ekuivalen.



Gambar 11. Kadar Dekstrosa Ekuivalen Hasil Hidrolisis Tapioka

Maltosa

Nilai rerata maltosa yang dihasilkan dari hidrolisis tapioka tinggi amilosa oleh β -amilase selama 18 jam adalah 30,84%, sedangkan kontrol 26,47%. Maltosa yang dihasilkan dari tapioka tinggi amilosa disajikan pada Gambar 12.



Gambar 12. Kadar Maltosa Hasil Hidrolisis Tapioka

Gambar 12 menunjukkan adanya perbedaan antara pati tinggi amilosa yang digunakan dengan kontrol dalam menghasilkan maltosa. Hal ini karena struktur molekul dari pati tinggi amilosa lebih linier disebabkan rantai percabangan amilopektin α -1,6 glikosida telah terputus oleh pullulanase. Sebagaimana diketahui β -amilase tidak dapat memotong ikatan percabangan α -1,6, sehingga kerja β -amilase lebih efisien pada pati dengan amilosa tinggi. Menurut Winarno (1986), Enzim β -amilase tidak berdaya memecah ikatan α -1,6 yang terdapat pada amilopektin, karenanya degradasi amilopektin dengan β -amilase tidak pernah sempurna. Selain itu tapioka tinggi amilosa juga memiliki rantai dekstrin yang susunannya lebih pendek daripada molekul pati alami sehingga memudahkan β -amilase untuk memotongnya menjadi maltosa.

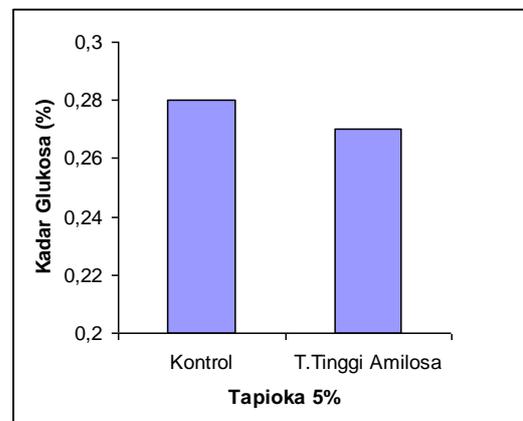
Penelitian ini menghasilkan maltosa yang masih rendah, disebabkan kerja β -amilase tidak efisien pada tapioka tinggi amilosa. Tapioka yang digunakan belum terlarut sempurna dengan proses pemanasan, sehingga total padatan dalam suspensi tapioka masih tinggi, Hal ini karena pati tinggi amilosa mudah teretrogradasi. Retrogradasi pada pati menyebabkan terbentuknya struktur yang lebih keras. Sajilata *et al.* (2006) menyatakan bahwa amilosa yang teretrogradasi akan membentuk kristal yang memiliki titik leleh yang sangat tinggi sehingga membutuhkan suhu yang lebih tinggi pula untuk memecahnya. Penelitian ini menggunakan suhu 121°C selama 15 menit untuk pencairan pati. Belitz and Grosch (1999) juga melaporkan bahwa amilosa memiliki sifat yang lebih stabil terhadap suhu dibandingkan amilopektin, oleh karena itu pati tinggi amilosa memiliki sifat yang lebih stabil terhadap suhu.

Hasil penelitian ini menunjukkan apabila tapioka tinggi amilosa digunakan sebagai bahan

baku untuk pembuatan maltosa, diperlukan *pretreatment* pencairan (likuifikasi) dengan pemanasan tinggi dan penambahan α -amilase termostabil sebelum tapioka tersebut didegradasi oleh β -amilase agar dihasilkan maltosa yang lebih besar. Niimi *et al.*, (1989) melaporkan tentang produksi maltosa menggunakan α -amilase dan β -amilase serta enzim pemutus cabang dengan pH sakarifikasi 6,0 yang diinkubasi selama 16 jam pada suhu 50°C yang dapat menghasilkan maltosa sebesar 53,5%.

Glukosa

Nilai rerata glukosa yang dihasilkan dari hidrolisis tapioka tinggi amilosa oleh β -amilase selama 18 jam adalah 0,27%. Glukosa yang dihasilkan dari tapioka tinggi amilosa disajikan pada Gambar 13.



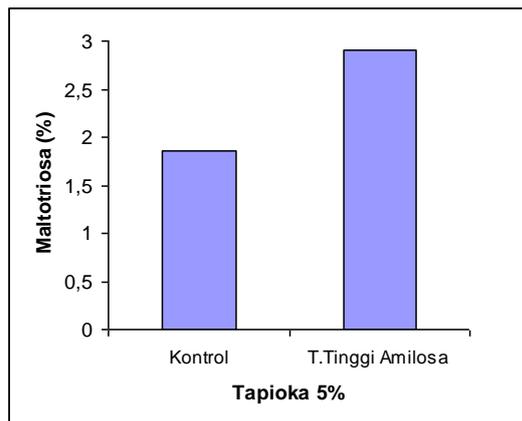
Gambar 13. Kadar Glukosa Hasil Hidrolisis Tapioka

Gambar 13 menunjukkan kadar glukosa dari pati tinggi amilosa hampir sama dengan kontrol (0,28%). Hal ini diduga rantai molekul pati yang dipotong oleh β -amilase pada tapioka tinggi amilosa dan kontrol tidak berpengaruh terhadap kadar glukosa yang dihasilkan karena β -amilase merubah sebagian besar pati menjadi maltosa. Sebagaimana diketahui bahwa hidrolisis β -amilase terjadi dengan memotong 2 unit glukosa (Winarno, 1986).

Maltotriosa

Rerata kadar maltotriosa dari tapioka hasil hidrolisis adalah 2,90%. Selain dihasilkan glukosa dan maltosa, hidrolisis pati tinggi amilosa oleh β -amilase juga menghasilkan maltotriosa.

Maltotriosa merupakan tiga molekul glukosa yang dihubungkan oleh ikatan α -glikosidik. Gambar 14 menunjukkan bahwa maltotriosa yang dihasilkan pada tapioka tinggi amilosa lebih tinggi daripada kontrol (1,86%), hal ini diduga karena tapioka tinggi amilosa memiliki rantai linier yang lebih banyak.

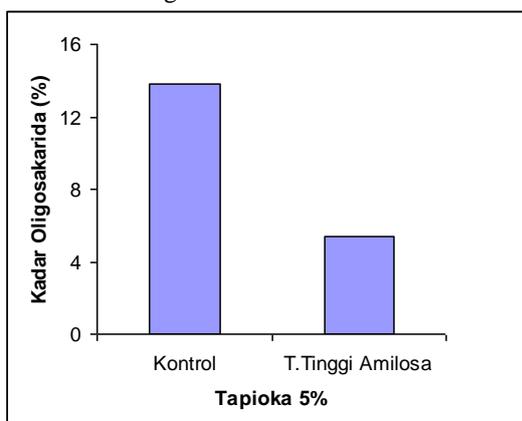


Gambar 14. Kadar Maltotriosa Hasil Hidrolisis Tapioka

Menurut Whitaker (1994) pada rantai amilosa yang hanya mengandung ikatan α -1,4 glikosidik β -amilase mampu menghidrolisis secara sempurna menjadi maltosa, akan tetapi biasanya masih mengandung beberapa maltotriosa.

Oligosakarida

Rerata kadar oligosakarida dari hidrolisis tapioka tinggi amilosa adalah 5,42%. Oligosakarida yang dideteksi oleh HPLC dalam penelitian ini merupakan oligosakarida yang terdiri dari empat atau lebih rantai glukosa.



Gambar 15. Kadar oligosakarida Hasil Hidrolisis Tapioka

Gambar 15 menunjukkan bahwa kadar oligosakarida pada kontrol lebih tinggi (13,83%). Tapioka yang digunakan pada kontrol mempunyai struktur molekul pati yang masih kompleks seperti pati alaminya karena tidak dilakukan proses *debranching*, sehingga kadar amilopektinnya masih tinggi. Hal ini menyebabkan β -amilase kerjanya tidak bisa optimal, sehingga masih banyaknya rantai molekul panjang dari pati, terutama yang tersusun dari empat molekul glukosa atau lebih yang terdeteksi sebagai oligosakarida. Tingginya kadar oligosakarida pada filtrat hasil hidrolisis β -amilase dikuti oleh turunnya dekstrosa ekuivalen, maltosa, maltotriosa dan glukosa.

DAFTAR PUSTAKA

- Achdiyan, Y., Abudaeri, R., Soelistiani, J., 1999, **Handbook of PT Sorini Corporation Product**, Second edition.
- Aiyer, P.V. 2005. **Amylases and their Applications**. African Journal of Biotechnology 4 (13) : 1525-1529.
- Anonim, 1990, **Standard Analytical Methods of the Member Companies of Corn Refiners Association**. Sixth Edition. Washington D.C.
- Anonim. 2001 . **HACCP dalam Industri Pangan**. http://www.agrimutu.com/sni/HACCP_pangan.htm.
- _____ 2007^a. **Pullulanase**. <http://en.wikipedia.org/wiki/Pullulanase>
- Apriyantono, A.D, Fardiaz, N.L.Puspitasari, Sedarnawati dan S. Bidiyanto. 1989. **Analisa Pangan**. Penerbit IPB Press. Bogor.
- Balagopalan C., G. Padmada, S.K., Nanda, dan S.N., Moothy. 1988. **Cassava in Food, Feed and Industry**. CRS Press Inc. Boca Raton, Florida.
- Banks, W., and Greenwood, C.T., 1975, **Starch and Its Components**, John Wiley & Sons: New York.
- Belitz. H.D and W.Grosch, 1999, **Food Chemistry**. Springer-Verlag, Berlin
- Biro Pusat Statistik. 2000. **Statistik Perdagangan Luar Negeri Indonesia**. BPS. Jakarta.
- Cahyana, P.T., dan B. Haryanto, 2006, **Pengaruh Kadar Amilosa terhadap Permeabilitas Film dari Pati Beras**, Prosiding Seminar PATPI, Yogyakarta, K14.
- Clarke, M.A. 1997. **Sugar in Food Processing**. International Sugar Journal. 99 (1178): 114 – 118.
- Galliard, T., and Bowler, P., (1987), **Morphology and Composition of Starch**, in: **Starch: Properties and Potential**, Ed. T., Galliard, John Wiley & Sons, New York, 281.
- Gaouor, O.C., Aymard., N. Zakhia and G.M. Rios, 1997, **Enzymatic Hydrolysis of Casava Starch into Maltose Syrup in Continuous Membrane Reactor**, J. Chem. Tech. Biotechnol. 69 (9)
- Godfrey, T and S. West, 1996, **Industrial Enzymology**, Second edition, Macmillan Press LTD. London.
- Haralampu, S.G., 2000, **Resistant Starch : A Review of The Physical Properties and Biological Impact of RS3**. *Carbohydrat Polymers*. Vol. 55. 3-8.
- Harper, L.J., B.j. Deaton, J.A. Driskel, 1986, **Pangan, Gizi dan Pertanian**, UI-Press, Jakarta.

- Hizukuri, S., 1996, **Starch Analytical Aspects**. In Ellison, A.C., 1996, **Carbohydrates in Foods**, Marcell Decker Inc., New York.
- Hood, L.E., 1982, **Current Concepts of Starch Structure**, Pages 218-244 in : Food Carbohydrates, D.R. Lineback and G.E. Inglett, Eds. AVI, Westport, CT.
- Huang, J. 2006. **Function-Structure Relationship of Acetylated Pea starch**. Dissertation. Wageningen University. Wageningen.
- Hui, Y. H. 1992, **Encyclopedia of Food Science and Technology**. Volume 4, John Willey and Sons Inc. New York.
- Jariyah, 2002, **Analisis Komponen Gula pada Sirup Maltosa Hasil Hidrolisis Pati Garut secara Enzimatis**, Tesis, Program Pascasarjana Universitas Brawijaya, Malang.
- Kirk, R.S. and R. Sawyer, 1991, **Composition and Analysis of Food**. Ninth Edition. Longman Publishers. LTD. Singapore.
- Kitahara, K., Eitoku, E., Suganuma, T. And Nagahama, T., 1997, **Some Properties of Branches Linier Dextrins from Nageli Amylodextrin**. *Carbohydrate Polymer*, Vol. 33
- Kulp, K. and Ponte, J.G., 2000, **Hand Book of Cereal Science and Technology**, Marcell dekker, Inc. New York.
- Kusnandar, F., 2006, **Modifikasi Pati dan Aplikasinya dalam Industri Pangan**. Food Review Indonesia
- Krzyzaniak, W.; Bialas, W.; Olesienkiewicz, A.; Jankowski, T. and Grajek, W. 2003. **Characteristics of Oligosaccharides Produced by Enzymatic Hydrolysis of Potato Starch Using Mixture of Pullulanases and Alpha-Amylases**. *Journal of Polish Agricultural Universities* 6(2).
- Kujawski, M.; Ziobro, R. and Gambus, H. 2002. **Raw Starch Degradation By Pullulanase**. *Technologia Alimentaria* I(2) :
- Laga, A., 2006. **Pengembangan Pati Termodifikasi dari Substrat Tapioka dengan Optimalisasi Pemotongan Rantai Cabang Menggunakan Enzim Pullulanase**. Prosiding Seminar Nasional PATPI, Yogyakarta.
- Lehninger, A.L., 1990, **Dasar-Dasar Biokimia**. Penerjemah : Maggy Thenawijaya, cetakan kedua. Erlangga. Jakarta.
- Liu, Cheng-Yi., Shao, Yi-Yuan and Tseng Kuo-Hsuen, 1995, **Gelation Mechanism and Rheological Properties of Rice Starch**, *Cereal Chemistry* 72 (4)
- Malcolm, W.K., 1998, **BSO and Starch Developments in Indonesia and China** *International Sugar Journal* C (1198).
- Manners, D.J., 1989, **Recent Developments in Our Understanding of Amylopectin Structure**, *Carbohydrat Poymers*, 11: 87-112.
- McCready, R.M., 1970, **Starch and Dextrin** di dalam M.A Joslyn (ed), **Methods in Food and Analysis**, Academic Press, New York.
- Mc Pherson, A.E. and P.A. Seib, 1997, **Preparation and Properties of Wheat and Corn Starch Maltodextrins with a Low Dextrose Equivalent**, *Cereal Chemistry*, 74(4): 423-430
- Muljohardjo, M. 1987. **Teknologi Pengolahan Pati**. PAU Pangan dan Gizi UGM. Yogyakarta.
- Niimi, M., Y. Hariu, K.I. Kataru, K.Yoshibumi and Kazuaki, 1992, **Manufacture Methode of High Purity Maltose and its Reduced Product**, United State Patent, No. 5,141,589.
- Nusantoro, B.P., Haryadi, Bintoro. N., dan P. Darmadji, 2003, **Pembuatan Tepung Jagung Kuning Pra-Masak dari Proses Nixtamalisasi serta Karakteristik Produknya**. *Agritech* Vol. 25, No.3 Hal. 148-153.
- Poedjiadi, A., 1994. **Dasar-Dasar Biokimia**. Penerbit UI-Press. Jakarta
- Pomeranz, Y. 1985. **Functional Properties of Food Components**. Academic Press, Inc. Orlando.
- Rochma, L., 2007, **Modifikasi Pati Alami dan Pati Hasil Pemotongan Rantai Cabang dengan Kombinasi Perlakuan Fisik/Kimia untuk Meningkatkan Kadar Pati Resisten pada Pati Ubi Kayu (*Manihot esculenta*)**, Skripsi, Jurusan THP, UB, Malang.
- Roy, I. and Gupta, M.N. 2003. **Hydrolysis of Starch By a mixture of Glucoamylase and Pullulanase Entrapped Individually in Calcium Alginate Beads**. *Enzyme and Microbial Technology* 34 : 26-32.
- Sajilata, T.G., Rekha S.S. and Puspha. R.K. 2006, **Resistant Starch-A Review**. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food safety*..
- Satyanarayana, T.; Noorwez, S.M.; Kumar, S.; Rao, J.L.U.M.; Ezhilvannan, M. and Kaur, P. 2004. **Development of an Ideal Starch Saccharification Process Using Amyolytic Enzymes from Thermophiles**. *Biochemical society Transactions*, 32(2): 276-278.
- Stephen, M.A., 1995, **Food Polysaccharides and Their Application**. Marcell Dekker Inc. New York.
- Tester, R.F., Karkalas, J. And Qi, X. 2004, **Starch Structure and Digestibility Enzyme –**

- Substrat Relationship.** World's Poultry Science Journal, Vol. 60 : 186 -195
- Tjokroadikoesoemo, P.S. 1993. **HFS dan Industri Ubi Kayu Lainnya.** PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Van der Maarel, M.J.E.C.; Van der Veen, B.; Uitdehaag, J.C.M.; Leemhuis, H. and Dijkhuizen, L. 2002. **Properties and Applications of Starch-Converting Enzymes of the α -amylase Family.** Journal of Biotechnology 94 : 137-155.
- Wenten, I.G., 2007. **Bisnis Ketela,** Program Studi Teknik Kimia Institut Teknologi Bandung, igw@che.itb.ac.id.
- Wong, C.W.; Muhammad, S.K.S.; Dzulkifly, M.H.; Saari, N. and Ghazali, H.M. 2007. **Enzymatic Production of Linear Long-Chain Dextrin from Sago (*Metroxylon sago*).** J.Food Chemistry 100 : 774-780.
- Winarno, F.G. 1986. **Enzim Pangan.** PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Winarno, F.G. 2002. **Kimia Pangan dan Gizi.** PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Whistler, R. L. 1984. **History and Future Expectation of Starch Uses.** In R.L. Whistler, J. N. BeMiller, & E. F. Paschall (Eds.), Starch chemistry and technology. New York: Academic Press.
- Whitt,B., 2002, **Genetic Diversity and Selection in The Maize Starch Pathway.** PNAS Vol 99 No. 20 12959-12962. www.pnas.org/cgi/dos/10.1073/pnas
- Wurzburg, O.B. 1995. **Modified Starches.** dalam Stephen, A.M. (Editor). Food Polysaccharides and Their Applications. Marcel Dekker, Inc. New York.
- Yoshida, M.; Oishi, K.; Takashi, K.; Ogata, M. and Nakakuki, T.1989. **Continuous Production of Maltose Using a Dual Immobilized Enzyme System.** Agric. Biol. Chem., 53 (12) : 3139-3142.
- Zallie. J.P., Eden, J., Kasica, J., Chiu, C. W., Zwiercan, G., & Plutchok, G., (1994). **Method Of Making Foods Containing Soluble High Amylose Starch.** United State Patent 5,281,432.
- Zobel, H.F. and Stephen, A.M. 1995. **Starch : Structure, Analysis, and Application.** dalam Stephen, A.M. (Editor). Food Polysaccharides and Their Applications. Marcel Dekker, Inc. New York.