

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Pati adalah salah satu sumber karbohidrat yang berperan sebagai cadangan makanan pada tanaman dan sumber energi utama bagi manusia. Pati tersusun atas dua komponen utama, yaitu amilosa dan amilopektin yang merupakan polisakarida kompleks penyusun unit glukosa (Wang *et al.*, 2022). Pati dimanfaatkan secara luas, baik dalam bidang industri pangan sebagai pengubah suatu sifat pangan, maupun dalam bidang farmasi, tekstil, kertas, kosmetik, dan polimer sebagai bahan pengikat, pengental, serta pengganti polimer sintetis (Dorantes- Fuertes *et al.*, 2024).

Indonesia memiliki keanekaragaman sumber daya hayati sebagai bahan pangan, salah satu kawasan yang memiliki keanekaragaman hayati yang tinggi, yaitu Kawasan Hutan Dengan Tujuan Khusus (KHDTK) Wanadipa Undip (Harni & Viza, 2024). Kawasan hutan ini banyak ditumbuhi berbagai jenis vegetasi tanaman penghasil pati yang dapat ditemukan di kawasan ini seperti, singkong (*Manihot esculenta* Crantz), ubi ungu (*Ipomoea batatas*), kimpul (*Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott), dan jagung (*Zea mays*) (PT. Permada Nusantara Hijau Yogyakarta, 2021; Marsely *et al.*, 2024).

Setiap tanaman penghasil pati memiliki karakteristik yang berbeda, yang dipengaruhi oleh bentuk, ukuran granula, serta kandungan amilosa dan amilopektin pada patinya. Variasi karakteristik ini mempengaruhi interaksi

pati dengan enzim selama hidrolisis, sehingga persentase hidrolisisnya berbeda antar jenis pati. Perbedaan respons terhadap hidrolisis menggunakan amilase menunjukkan bahwa setiap sumber pati memiliki tingkat hidrolisis yang berbeda.

Berdasarkan tingkat kecernaannya, pati diklasifikasikan menjadi *Rapidly Digestible Starch* (RDS) yang terhidrolisis menjadi glukosa dalam waktu < 20 menit, *Slowly Digestible Starch* (SDS) yang terhidrolisis antara 20–120 menit, dan *Resistant Starch* (RS) yang tidak terhidrolisis setelah 120 menit (Adeyanju *et al.*, 2024). Uji hidrolisis *in vitro* dilakukan untuk menilai hidrolisis pati pada setiap sampel, sehingga pati sensitif amilase dapat dikategorikan ke dalam fraksi RDS karena mudah dihidrolisis menjadi glukosa oleh enzim amilase.

Pati sensitif amilase merupakan fraksi pati yang memiliki struktur amorf lebih banyak, sehingga ikatan α -1,4-glikosidiknya sangat sensitif terhadap hidrolisis enzimatis. Dalam klasifikasi hidrolisis *in vitro*, pati ini dikategorikan sebagai RDS karena dapat dihidrolisis menjadi glukosa oleh enzim α -amilase dan pati mudah dicerna setelah masuk duodenum pada kondisi suhu tubuh (Aller *et al.*, 2011; Lin *et al.*, 2023). Pati sensitif amilase memiliki potensi sebagai pati yang mampu menyediakan glukosa secara cepat bagi tubuh karena mudah dicerna dan diserap dengan cepat di usus halus (Singh *et al.*, 2010; Dodi *et al.*, 2023). Selain itu, pati jenis ini berpotensi dalam pengembangan produk *sports nutrition* yang memerlukan suplai energi tambahan selama latihan olahraga (Mancin *et al.*, 2025).

Hidrolisis pati untuk menghasilkan glukosa sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti, meliputi suhu, waktu inkubasi, konsentrasi substrat, pH, kandungan amilosa dan amilopektin (Istia'nah *et al.*, 2020). Selain itu, ukuran granula, sumber pati, dan jenis enzim, mempengaruhi sensitivitas pati terhadap hidrolisis oleh enzimnya (William *et al.*, 2023). Variasi faktor-faktor tersebut dapat memengaruhi aktivitas enzim α -amilase serta menentukan jumlah glukosa yang dihasilkan selama proses hidrolisis.

Beberapa penelitian sebelumnya telah mengevaluasi pengaruh perlakuan konsentrasi substrat, waktu inkubasi, dan suhu inkubasi. Muliasari & Permatasari (2022) menguji aktivitas amilase secara kualitatif pada sampel biji-bijian menggunakan substrat pati 1% dengan variasi suhu 4 °C, 25 °C, dan 37 °C dan jumlah substrat 6, 8, 12 mL. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa amilase memiliki aktivitas tertinggi pada suhu 25 °C dan pada konsentrasi substrat 6 mL. Berdasarkan penelitian tersebut, aktivitas enzim dipengaruhi oleh kondisi saat reaksi, seperti suhu dan konsentrasi substrat dapat menentukan laju reaksi enzim. Ketidaksesuaian suhu dapat menyebabkan penurunan aktivitas hingga inaktivasi enzim, sedangkan variasi konsentrasi substrat mempengaruhi kecepatan reaksi hingga kompleks enzim-substrat mencapai kondisi jenuh. Hal tersebut dapat mempengaruhi hasil hidrolisis dan jumlah produk yang terbentuk (Muliasari & Permatasari, 2022). Hal ini sejalan dengan penelitian William *et al.* (2023) melaporkan, bahwa hidrolisis pati singkong menggunakan α -amilase dalam rentang suhu 30–80°C menunjukkan produksi glukosa tertinggi pada

suhu 40 °C. Kedua penelitian tersebut menunjukkan bahwa, suhu dan konsentrasi substrat merupakan faktor yang memengaruhi aktivitas enzim amilase dan hidrolisis pati.

Selain itu, tingkat hidrolisis pati secara *in vitro* juga dipengaruhi oleh waktu inkubasi. Milek & Liszkowska (2026) menguji hidrolisis pati kentang 1% oleh α -amilase pada suhu 25 °C, 30 °C, 35 °C, 40 °C, 45 °C, 50 °C, 55 °C, dan 60 °C dan waktu inkubasi 3, 5, 10, 15, 30, dan 60 menit. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa hidrolisis pati kentang oleh α -amilase menghasilkan nilai suhu optimum, yaitu 45,7–53,1 °C, yang diperoleh pada waktu pengukuran 3 menit. Seiring bertambahnya waktu inkubasi pada 30–60 menit, nilai suhu optimum menurun. Berdasarkan penelitian tersebut, suhu optimum α -amilase tidak bersifat tetap, tetapi berubah bergantung pada lamanya waktu dan kondisi saat hidrolisis pati (Milek & Liszkowska, 2026).

Meskipun berbagai penelitian telah mengevaluasi pengaruh suhu, konsentrasi substrat, dan waktu inkubasi terhadap hidrolisis pati, sebagian besar penelitian dilakukan pada sumber pati tertentu dan masih sedikit yang membandingkan beberapa sumber pati lokal. Selain itu, hingga saat ini penelitian yang mengevaluasi respons pati terhadap variasi konsentrasi substrat, suhu, dan waktu inkubasi pada berbagai sumber pangan pati lokal yang berasal dari kawasan KHDTK Wanadipa Undip masih terbatas. Adanya perbedaan karakteristik sumber pati yang dihasilkan dapat mempengaruhi kondisi optimal untuk hidrolisis pati menjadi glukosa.

Perbedaan respons pati terhadap kondisi hidrolisis menunjukkan bahwa tidak semua pati memiliki tingkat sensitivitas yang sama terhadap enzim α -amilase.

Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini dilakukan untuk mengeksplorasi dan menganalisis potensi tanaman penghasil pati sensitif amilase dari KHDTK Wanadipa Undip berdasarkan variasi konsentrasi substrat, waktu, dan suhu inkubasi. Penelitian ini diharapkan memberikan informasi mengenai tingkat sensitivitas hidrolisis berbagai sumber pati terhadap enzim α -amilase serta menentukan kondisi hidrolisis yang optimal berdasarkan variasi suhu, konsentrasi substrat, dan waktu inkubasi. Hasil analisis diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam perkembangan informasi pati sensitif amilase dari tanaman lokal, yang dapat dimanfaatkan untuk berbagai aplikasi di bidang pangan.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diurai, maka dirumuskan masalah sebagai berikut.

1. Bagaimana hasil uji hidrolisis awal pada keempat sampel pati lokal di KHDTK Wanadipa Undip oleh α -amilase untuk menentukan kandidat pati sensitif amilase terbaik?
2. Bagaimana pengaruh variasi suhu inkubasi 30°C, 35°C, 40°C, 45°C, dan 50°C terhadap hidrolisis pati sensitif amilase pada kandidat pati terpilih?

3. Bagaimana pengaruh variasi konsentrasi substrat 0,5%, 1%, 1,5%, 2%, dan 2,5% (b/v) terhadap hidrolisis pati sensitif amilase pada kandidat pati terpilih?
4. Bagaimana pengaruh variasi waktu inkubasi selama 5, 10, 15, 20, dan 25 menit terhadap hidrolisis pati sensitif amilase pada kandidat pati terpilih?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian yang dilakukan adalah sebagai berikut.

1. Menganalisis hasil uji hidrolisis awal pada keempat sampel pati lokal di KHDTK Wanadipa Undip oleh α -amilase untuk menentukan kandidat pati sensitif amilase terbaik.
2. Menganalisis pengaruh variasi suhu inkubasi 30°C, 35°C, 40°C, 45°C, dan 50°C terhadap hidrolisis pati sensitif amilase pada kandidat pati terpilih.
3. Menganalisis pengaruh variasi konsentrasi substrat 0,5%, 1%, 1,5%, 2%, dan 2,5% (b/v) terhadap hidrolisis pati sensitif amilase pada kandidat pati terpilih.
4. Menganalisis pengaruh variasi waktu inkubasi selama 5, 10, 15, 20, dan 25 menit terhadap hidrolisis pati sensitif amilase pada kandidat pati terpilih.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut.

1. Memberikan informasi ilmiah mengenai pati sensitif amilase dari tanaman lokal yang terdapat di kawasan KHDTK Wanadipa Undip, sehingga dapat menjadi referensi bagi penelitian lanjutan.
2. Menjadi dasar bagi pengembangan aplikasi bioteknologi, khususnya dalam industri pangan.
3. Mendukung pemanfaatan sumber pati dari tanaman lokal di KHDTK Wanadipa Undip secara berkelanjutan, sehingga dapat meningkatkan nilai ekonomi tanaman tersebut dan pemberdayaan masyarakat.