

KAJIAN TENTANG DISTRIBUSI SUBSTITUSI PATI HIDROKSIPROPIL DENGAN HPLC

Oleh :

*H a r y a d i **

Abstrak

Hidrolisat asam dari Pati hidroksipropil dari gandum, jagung, jagung waxy dan jagung amilose tinggi dipisahkan dengan HPLC menggunakan kolom uPoracil menjadi enam komponen.

Senyawa model hidroksipropil-D-glukosa disintesa dengan cara hidroksipropilasi glukosa yang lebih dahulu diblok. Komponen hidrolisat pati hidroksipropil dianalisa dengan menggunakan senyawa model. Hasilnya menunjukkan bahwa substitusi pada C2 lebih dari 82% dan sekitar 6% pada C6 pada unit glukose pada derivatif pati gandum; lebih dari 87% pada C2 dan lebih dari 3% pada C6 pada pati jagung.

Penentuan substitusi molar dengan HPLC memberi hasil yang mirip dengan penentuan menggunakan spektrofotometer.

I. Pendahuluan

Pati hidroksipropil dibuat dari reaksi pati dengan propilin oksida dalam suasana basa. Derifatisasi pati dengan pengikatan gugus hidroksipropil memberi akibat yang nyata

terhadap sifat-sifat pasta pati, yaitu kejernihan, kelekatan, kemampuan mengikat air dan pengurangan kecenderungan memburam setelah pendinginan dan penyimpanan.

Pati digunakan luas dalam industri pangan, terutama untuk pengendalian tekstur dan reologi beberapa produk. Sifat-sifat fungsional pati hidroksipropil sangat tergantung pada tingkat substitusi. Tingkat substitusi biasanya dinyatakan dengan nilai MS (molar substitution), yaitu jumlah rata-rata gugus hidroksipropil per unit glukosa; atau dengan nilai DS (degree of substitution) yaitu fraksi glukose tersubstitusi (1). MS umumnya diukur dengan cara spektrofotometris atau dengan cara pengukuran resonansi magnetis inti (2). Cara-cara ini tidak menyediakan keterangan tentang pola substitusi yang kemungkinan berpengaruh terhadap sifat-sifat pati.

HPLC bisa memisahkan komponen-komponen hidrolisat asam dari pati hidroksipropil (3), sehingga tingkat substitusi bisa dianalisa dengan menggunakan senyawa model sebagai pembanding. Dibanding terhadap cara-cara lain, HPLC adalah cepat dan tidak membutuhkan derivatisasi.

II. Bahan dan Percobaan

Pati hidroksipropil dibuat dari pati gandum pre-gel (100 g) dalam

*) Staf Pengajar Fak. Teknologi Pertanian
UGM Yogyakarta.

400 mL larutan mengandung 1% NaOH dan 12,5% Na_2SO_4 dengan 20 mL propilin oksida dalam bak air bergoyang pada suhu 40°C selama 24 jam. Suspensi dinetralkan dengan 1 M H_2SO_4 , didialisa dan kemudian dikeringkan dengan freeze dryer (MS = 0,28).

Pati-pati jagung, jagung waxy dan jagung amilose tinggi beserta derivatifnya juga dianalisa. Semua sample dianalisa kadar air, protein dan abunya. Nilai MS ditentukan secara spektrofotometris (2).

6-0-, 3-0- dan 2-0-hidroksipropil-D-glukosa masing-masing dibuat dari derivatif glukosa yang diblok seperlunya, yaitu 1,2:3,5,5-di-0-metilid-D-glukosa, 1,2:5,6-di-0-isopropilid-D-glukosa dan metil 4,6-0-benzilid-D-glukosida dengan propilin oksida, kemudian gugus pemblok dihilangkan dengan hidrolisa menggunakan asam encer (4). Senyawa model dimurnikan dengan menggunakan HPLC.

Pati hidroksipropil dihidrolisa dengan asam sulfat (0,75 M) selama 4 jam kemudian dinetralkan, disaring dan dipekatkan.

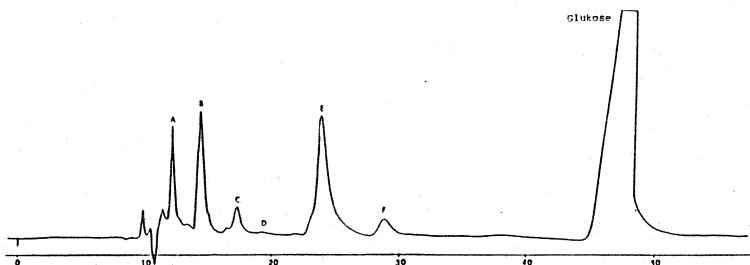
Analisa hidrolisat dan pemurnian senyawa model dilakukan dengan HPLC, menggunakan kolom uPoracil yang sudah diperlakukan dengan SAM I (Waters). Fase bergerak terdiri atas asetonitril/air 80 : 20 mengandung 0,1% SAM I. Detektor yang digunakan ialah yang berdasar indeks bias.

III. Hasil dan Pembahasan

Komposisi pati alami dan pati hidroksipropil adalah seperti nampak pada Tabel 1.

Kromatogram hidrolisat pati hidroksipropil dari jagung, jagung waxy, jagung amilose tinggi dan gandum secara kualitatif adalah sama seperti nampak pada Gambar 1.

Puncak-puncak A, B, C, E dan F dianalisa secara kuantitatif dengan membandingkan luasannya terhadap luasan puncak senyawa model. Proporsi molar komponen masing-masing hidrolisat adalah seperti nampak pada Tabel 2, bersama-sama dengan nilai MS-nya.



Gambar 1. Pemisahan hidrolisat asam dari pati hidroksipropil (MS 0.28) dengan HPLC menggunakan kolom uPoracil.

Tabel 1. Komposisi pati alami dan pati hidroksipropil berdasar berat kering

Jenis Pati	MS	Air (%)	Protein (%)	Abu (%)	Amilose (%)
Gandum pre-gel	0,00	8,2	0,69	0,11	—
Gandum pre-gel Hp ^a	0,28	6,3	0,48	0,59	—
Jagung ^b	0,00	14,7	0,45	0,05	21,9
Jagung HP ^b	0,12	7,7	0,11	0,26	—
Jagung waxy ^b	0,00	13,7	0,30	0,07	3,8
Jagung waxy Hp ^b	0,13	10,9	0,18	0,29	—
Jagung amilose tinggi ^b	0,00	15,7	0,75	0,11	49,6
Jagung amilose tinggi HP ^b	0,08	7,2	0,71	0,32	—

a HP = hidroksipropil; ^bdata dari Azemi (1985)

Komponen-komponen A dan B sudah diidentifikasi sebagai 1,2-0-propilin-D-glukose (5), produk dehidrasi dari 2-0-hidroksipropil-D-glukose, maka A dan B juga dihitung sebagai 2-0-hidroksipropil-D-glukose. E dan F juga sudah diidentifikasi sebagai 2-0- dan 6-0-hidroksipropil-D-glukose. Karena C belum dapat diidentifikasi dengan jelas, tetapi kemungkinan besar adalah derivatif dari 2-0-hidroksipropil-D-glukose, dan E mengandung sangat sedikit 3-0-hidroksipropil-D-glukose (5), maka nilai substitusi pada atom C2 pada glukose adalah nilai kurang-lebih yang dihitung dengan rumus $(A + B + E) \times 100\%/TNG$.

Substitusi pada C2 terbanyak pada semua jenis pati hidroksipropil yang digunakan, yang mana selaras dengan penemuan pada substitusi pati hidroksietil (6). Telah dilaporkan pula bahwa pada pati hidroksipropil yang dibuat dari kentang (MS 0,07) lebih dari 80% gugus hidroksipropil terikat pada C2 pada glukose dan kira-kira 7% pada C6 (7). Perbedaan

proporsi substitusi pada C2 dan C6 kemungkinan disebabkan oleh perbedaan kemudahan pencapaian substitusi antara pati-pati dari jenis-jenis tanaman yang berbeda.

Meskipun kadar amilopektinnya berbeda (Tabel 1) yang seharusnya menyebabkan makin sedikit hidroksil pada C6 pada jagung waxy, sedikit perbedaan dijumpai perbedaan dalam substitusi pada C6 (F_x100%/TNG) antara beberapa jenis pati jagung (Tabel 2).

Jika dianggap rasio luasan puncak F terhadap TNG (F/TNG dihitung sebagai persentasi) menunjukkan proporsi unit 6-0-hidroksipropil-glukose dalam molekul pati (Tabel 3). Nilainya pada pati gandum pre-gel hidroksipropil dengan MS 0,28 dan pati gandum hidroksipropil dengan MS 0,22 dan 0,32 adalah sangat mirip (6,3, 6,1 dan 6,0%). Hal ini menunjukkan bahwa derivatisasi menggunakan pati gandum pre-gel maupun pati gandum alami memberi hasil yang tidak berbeda dalam hal proporsi

Tabel 2. Proporsi molar hidrolisat beberapa pati hidroksipropil

Jenis Pati	Komponen									Substitusi pada	
	A	B	C	D	E	F	TNG	Glukose	MS ^a	C2 ^b	C6 ^c
Jagung	0.035	0.030	0.011	sangat kecil	0.040	0.004	0.120	0.880	0.12	> 87%	3.3%
Jagung waxy	0.029	0.037	0.014	sangat kecil	0.048	0.004	0.130	0.870	0.13	> 87%	3.1%
Jagung amilose tinggi	0.037	0.032	0.012	sangat kecil	0.040	0.004	0.125	0.875	0.08	> 87%	3.2%
Gandum pre-gel	0.048	0.050	0.029	sangat kecil	0.106	0.015	0.248	0.752	0.28	> 82%	6.0%

^a Ditentukan dengan spektrofotometri (2); ^b Dari (A + B + C)/TNG; ^c dari F/TNG

Tabel 3. Presentasi luasan puncak dari komponen-komponen hidrolisat dari Kromatogram-kromatogram hidrolisat asam pati hidroksipropil

Jenis Pati	MS	Komponen								F/TN
		A	B	C	D	E	F	TNG	Glukose	
Gandum pre-gel	0,28	9,5	8,1	4,0	a	12,8	2,2	36,6	63,4	6,0
Gandum ^a	0,22	3,6	8,0	1,9	0,37	13,0	1,8	28,6	71,4	6,3
	0,32	5,1	12,0	2,9	0,44	16,3	2,4	39,1	60,9	6,1

^a Sangat kecil; ^b Data dari Kesavamoorthy (1983).

substitusi pada C6. Proporsi substitusi pada C6 pada pati gandum adalah dua kali dari pada proporsi pada pati-pati jagung (Tabel 2 dan Tabel 3). Hal ini kemungkinan berhubungan dengan perbedaan struktur granula pati.

Proporsi molar TNG pada hidrolisat adalah sama dengan nilai DS derivatif pati. Nilai DS hidrolisat dari derivatif pati jagung dan pati jagung waxy (Tabel 2) adalah tidak berbeda terhadap MS yang ditentukan dengan alat spektrofotometri. Ini menunjukkan bahwa pada MS 0,12 — 0,13 multisubstitusi dapat diabaikan untuk jenis pati tersebut, sehingga istilah DS sama dengan MS.

DS dari hidrolisat derivatif pati amilose tinggi lebih besar daripada

nilai MS nya, hal ini menunjukkan bahwa substitusi lebih banyak terjadi pada permukaan granula sehingga terjadi multisubstitusi pada tempat yang terbatas. DS hidrolisat dari pati gandum hidroksipropil (0,25) adalah lebih kecil daripada MS (0,28), hal ini menunjukkan adanya multisubstitusi.

IV. Kesimpulan

Analisa hidrolisat pati hidroksipropil dengan menggunakan senyawa model menunjukkan bahwa substitusi pada C2 lebih dari 82% dan sekitar 6% pada C6 pada unit glukose pada derivatif pati gandum; dan lebih dari 87% pada C2 dan lebih dari 3% pada C6 pada pati jagung. Perbedaan

proporsi substitusi pada C2 dan C6 kemungkinan disebabkan oleh perbedaan kemudahan pencapaian substitusi antara beberapa jenis pati.

Derifatisasi menggunakan pati gandum pre-gel maupun pati gandum alami memberi hasil yang tidak berbeda dalam hal proporsi substitusi C6. Sedangkan proporsinya pada pati gandum adalah dua kali daripada proporsi pada pati-pati jagung.

Pada MS kurang atau sama dengan 0.13, multisubstitusi dapat diabaikan untuk pati jagung dan pati jagung waxy, sehingga DS sama dengan MS.

Pada derivatif pati amilose tinggi (MS 0,08) dan pati gandum hidrosipropil (MS 0,28) menunjukkan terjadinya multisubstitusi.

V. Daftar Pustaka

1. Leegwater, D.C. *Starch* 24, 11 (1972).
2. Johnson, D.P. *Anal Chem.* 41 (6), 859 (1969).
3. Wootton, M., Kesavamoorthy, S. & Azemi, B.M.N.M. *Starch* 37, 276 (1985).
4. Brownell, H.H. & Purves, C.B. *Can. J. Chem* 35, 677 (1957).
5. Haryadi & Wootton, M. *Symposium HPLC, Unair-HKI, Surabaya*, 1987.
6. Merkus, H.G., Mourits, J.W., de Galan, L. & de Jong, W.A. *Starch* 29, 406 (1977).
7. Leegwater, D.C., Marsman, J.W. & Mackor, A. *Starch* 25 (5) : 142; 1973.

usl pada

C6⁶

3.3%

3.1%

3.2%

6.0%