

**PENETAPAN NILAI ACUAN AMILOSA BEBERAPA VARIETAS
PADI MENGGUNAKAN METODE PENGIKATAN IODIN (I):
KALIUM IODIDA (KI) MELALUI UJI BANDING
ANTARLABORATORIUM**

***AMYLOSE ASSIGNED VALUE DETERMINATION OF SEVERAL
RICE VARIETIES USING IODINE (I): POTASSIUM IODIDE (KI)
BINDING METHOD***

Shinta D. Ardhiyanti, Udin S. Nugraha, Siti Dewi Indrasari, dan Bram Kusbiantoro

Balai Besar Penelitian Tanaman Padi (BB Padi)
Jalan Raya 9 Sukamandi, Subang, 41256 Indonesia
Pos-el: shinta.090886@gmail.com

ABSTRACT

The assigned value of amylose content in rice is the key factor in the development of internal laboratory quality control system. To produce reliable data, quality control system becomes necessary. The aim of this research was to determine the assigned value of amylose content of several rice varieties through interlaboratory testing. This research was conducted in 2012 in Post-Harvest Physiology Laboratory of Indonesian Center for Rice Research (ICRR) and several laboratories in Bogor, West Java, as interlaboratory testing participant. Samples used in this research were 4 new superior varieties with different amylose content i.e. Lusi, Sintanur, Ciherang, and Inpari 12, and had been confirmed for their homogeneity and stability. The Cochran's, the Grubbs', and the Z-score tests were used to determine the outlier data of the interlaboratory testing results and the competent laboratories as well. The assigned values obtained for each variety were Lusi 6.29% (± 1.73); Sintanur 19.42% (± 1.51); Ciherang 23.78% (± 1.44); and Inpari 12 29.83% (± 0.68). All tested varieties could be used as reference materials in determining the laboratory performance to analyze rice's amylose content using iodine: potassium iodide (I:KI) binding method.

Keywords: Reference material, Assigned value, Amylose, Rice

ABSTRAK

Nilai acuan kandungan amilosa pada beras merupakan faktor kunci dalam pengembangan sistem kontrol internal laboratorium. Sistem kontrol ini sangat diperlukan untuk menghasilkan data analisis yang terpercaya. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan nilai acuan kandungan amilosa beberapa varietas padi melalui uji banding antar-laboratorium. Penelitian dilaksanakan pada tahun 2012 di Laboratorium Fisiologi Hasil Balai Besar Penelitian Tanaman Padi (BB Padi) dan di beberapa laboratorium di Bogor, Jawa Barat, yang terlibat dalam uji banding antar-laboratorium. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah empat varietas unggul baru (VUB) dengan kandungan amilosa berbeda antara lain Lusi, Sintanur, Ciherang, dan Inpari 12. Sebelum menentukan nilai acuan dilakukan uji homogenitas dan stabilitas sampel dan proses seleksi laboratorium peserta untuk mendapatkan laboratorium yang kompeten dalam melakukan pengujian kandungan amilosa pada beras melalui uji banding antarlaboratorium. Uji Cochran's, Grubbs', dan Z-score digunakan dalam proses penyeleksian laboratorium. Sampel yang digunakan homogen dan stabil. Hasil analisis kandungan amilosa oleh laboratorium yang kompeten digunakan dalam menetapkan nilai acuan untuk masing-masing varietas. Adapun nilai acuan yang didapatkan yakni Lusi 6,29% ($\pm 1,73$); Sintanur 19,42% ($\pm 1,51$); Ciherang 23,78% ($\pm 1,44$); and Inpari 12 29,83% ($\pm 0,68$). Keempat sampel dalam batch tersebut dapat digunakan sebagai materi acuan untuk pengujian performa laboratorium dalam menganalisis amilosa dengan metode pengikatan iodin: kalium iodida (I:KI).

Kata kunci: Materi acuan, Nilai acuan, Amilosa, Beras

PENDAHULUAN

Kadar amilosa merupakan salah satu faktor penentu tekstur nasi yang dihasilkan oleh suatu varietas/galur padi. Berdasarkan kandungan amilosanya dalam bobot kering, beras dapat dikelompokkan menjadi beras ketan yang bertekstur sangat lengket (0–4%), beras beramilosa sangat rendah yang bertekstur lengket (5–12%), beras beramilosa rendah yang bertekstur sangat pulen (12–20%), beras beramilosa sedang yang bertekstur pulen (20–25%), dan beras beramilosa tinggi yang bertekstur pera (25–33%).¹ Oleh karena itu, informasi kandungan amilosa pada beras diperlukan dalam proses pemuliaan, konservasi plasmanutfah, dan pengembangan produk berbasis beras.

Hingga saat ini paling tidak terdapat sebelas metode analisis amilosa dengan pemanfaatan prinsip yang berbeda,^{2,3} salah satunya adalah metode analisis amilosa dengan prinsip pengikatan I:KI. Dalam beberapa publikasi, metode ini mempunyai beberapa istilah yang sedikit berbeda, antara lain *iodine colorimetry*,^{1,4} *iodine binding method*,² *blue value method*,³ *colorimetric methods*,⁵ *iodine staining and spectrophotometric analysis*,⁶ dan *iodine-potassium iodide (I:KI) method*.⁷ Metode analisis ini memanfaatkan kemampuan molekul pati untuk berikatan dengan senyawa iodin. Kompleks iodin dengan amilosa menghasilkan warna biru, sedangkan kompleks iodin dengan amilopektin menghasilkan warna ungu kemerahan.⁷ Metode ini paling banyak digunakan dalam pengujian amilosa,^{2,3} karena waktu pengerjaannya yang cepat dan sederhana, selain biaya analisisnya yang lebih terjangkau.⁸ Akan tetapi, terdapat kekurangan dalam metode ini, yakni adanya interferensi dari senyawa lain, seperti lemak dan amilopektin⁹ sehingga ketelitiannya lebih rendah jika dibandingkan dengan metode kalorimetri dan kromatografi.

Seperti halnya pada metode analisis lainnya, pada metode ini terdapat berbagai macam modifikasi. Modifikasinya terjadi pada pengaturan suhu inkubasi, lama waktu inkubasi, dan panjang gelombang yang digunakan. Modifikasi metode tersebut menyebabkan bervariasinya hasil

pengukuran amilosa suatu sampel.¹⁰ Selain faktor tersebut, variasi hasil pengukuran dapat disebabkan oleh perbedaan kadar air sampel, keterampilan operator dalam melarutkan pati, dan merek bahan kimia serta tipe spektrofotometer yang digunakan.² Padahal, data analisis yang terpercaya sangat diperlukan oleh semua pihak yang berkepentingan dengan informasi yang dihasilkan. Oleh karena itu, pengembangan sistem kontrol internal laboratorium (*internal quality control*) sangat diperlukan.¹¹

Salah satu syarat utama dalam pengembangan sistem kontrol internal laboratorium adalah materi acuan yang dapat digunakan sebagai pembandingan dalam setiap analisis.¹⁰ *Certified reference material (CRM)* merupakan jenis materi acuan yang memiliki tingkat ketidakpastian sangat kecil, namun kendala penggunaan CRM adalah harganya yang mahal, padahal beberapa jenis CRM bersifat sangat mudah mengalami perubahan.¹² CRM dikemas dalam kemasan yang kedap udara sehingga saat CRM dibuka dan terpapar udara maka akan mulai terjadi perubahan pada komposisi senyawa di dalamnya. Salah satu cara lain yang dapat digunakan dalam menetapkan nilai acuan adalah melalui uji banding antarlaboratorium yang relatif lebih terjangkau. Dengan demikian, tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan nilai acuan kandungan amilosa beberapa varietas padi melalui uji banding antarlaboratorium.

METODOLOGI

Preparasi Sampel

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi Hasil BB Padi, dan di beberapa laboratorium di Bogor, Jawa Barat, yang terlibat dalam uji banding antarlaboratorium pada tahun 2012. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah empat VUB (varietas unggul baru) dengan kandungan amilosa berbeda, antara lain Lusi (amilosa sangat rendah), Sintanur (amilosa rendah), Ciherang (amilosa sedang), dan Inpari 12 (amilosa tinggi). Keempat jenis varietas tersebut diperoleh dari Unit Penyedia Benih Sumber (UPBS) BB Padi pada tahun 2012.

Dua kg gabah kering giling (GKG) dihomogenisasi dan dibagi menggunakan *sample divider* menjadi delapan bagian yang masing-masing berisi 250 g GKG. Tujuh bagian GKG disimpan di ruang penyimpanan dingin, sedangkan satu bagian sisanya diproses menjadi tepung berukuran 100 *mesh*. Sampel tepung dihomogenisasi secara manual, kemudian dibagi menjadi 29 sampel uji, masing-masing sebanyak 3 g. Sebanyak sepuluh kemasan digunakan untuk uji homogenitas, 16 kemasan untuk uji antar-laboratorium, dan tiga kemasan untuk uji stabilitas. Sampel uji dikemas dalam kantong plastik *polypropylene* secara *hermetis*. Selanjutnya, secara acak sampel diambil untuk pengujian homogenitas, pengujian antar-laboratorium, dan pengujian stabilitas. Sampel uji disimpan dalam lemari pendingin sebelum dianalisis.

Pengujian Homogenitas dan Stabilitas Sampel

Pengujian homogenitas mengacu pada Purwastien dkk.¹⁰ Sampel uji homogenitas diuji kandungan amilosa dan kadar airnya. Setiap kemasan dihomogenisasi terlebih dahulu sebelum diambil dua bagian sebagai contoh uji. Pengujian homogenitas sampel setiap VUB harus memenuhi persyaratan repeatabilitas, yakni dilakukan oleh satu operator dengan jenis alat yang sama dan pada hari yang sama. Hasil analisis kandungan amilosa dalam bobot kering dianalisis keragamannya menggunakan *software* SPSS 11.5.

Sampel uji stabilitas disimpan pada suhu 4–5°C selama uji banding antarlaboratorium berlangsung. Setelah seluruh peserta uji melaksanakan pengujian maka dilakukan uji stabilitas sampel. Uji stabilitas sampel dilakukan dengan menganalisis kadar amilosa dan kadar air sampel seperti halnya pada uji homogenitas. Hasil pengujian stabilitas dibandingkan dengan hasil uji homogenitas menggunakan uji statistik *independent two-sample t-test (unequal sample sizes, unequal variance)*.

Pengujian Antarlaboratorium

Sampel yang telah dinyatakan homogen didistribusikan secara langsung ke delapan laboratorium

peserta uji. Masing-masing laboratorium peserta uji menerima empat sampel, masing-masing dua kemasan tiap sampel tanpa mengetahui identitas sampel. Sampel diberikan kode acak untuk menghilangkan bias. Tiap laboratorium peserta uji melaksanakan pengujian kandungan amilosa dan kadar air sampel.

Seluruh laboratorium yang terlibat dalam uji banding antarlaboratorium menggunakan metode analisis amilosa dengan prinsip pengikatan I:KI, sesuai dengan metode analisis amilosa yang rutin digunakan pada masing-masing laboratorium. Akan tetapi, terdapat sedikit perbedaan metode antar-laboratorium. Dua laboratorium yakni laboratorium V dan VI menggunakan suhu ruang dalam proses gelatinisasi pati selama 24 jam, sedangkan laboratorium lainnya menggunakan suhu 95–100°C selama sepuluh menit. Laboratorium I, VII, dan VIII merupakan laboratorium terakreditasi.

Penentuan Konsistensi Hasil

Penentuan konsistensi hasil analisis antar-laboratorium digunakan untuk mendukung keputusan dalam penentuan *outlier*. Terdapat dua jenis konsistensi hasil yang ditentukan yakni konsistensi hasil antarlaboratorium (*h*) dan konsistensi hasil antarulangan dalam satu laboratorium (*k*). Perhitungan nilai *h* dan *k* mengacu pada ISO 5725-2:1994,¹³ menggunakan rumus statistik Mandel's *h* dan *k*.

Penentuan Nilai Acuan

Nilai acuan didapatkan dari rata-rata hasil pengujian antar-laboratorium setelah proses penghilangan data *outlier*. Penelitian ini menggunakan tiga tahapan dalam penentuan *outlier*, yakni melalui uji Cochran's¹³ untuk menguji variabilitas dalam laboratorium, uji Grubbs'¹³ untuk menguji variabilitas antarlaboratorium, dan uji *robust Z-score* untuk menentukan *between laboratories Z-score* (Z_{Bi}) serta *within laboratory Z-score* (Z_{wi}).

Terdapat dua jenis uji Grubbs' yakni *one outlying observation* dan *two outlying observation*. Uji *two outlying observation* dilakukan jika pada uji *one outlying observation* tidak ditemukan hasil *outlier*.¹³ Setelah penghilangan data *outlier*

berdasarkan nilai Z_{Bi} dan Z_{Wi} yang diperoleh maka dilakukan perhitungan rata-rata, *repeatability standard deviation*, *between laboratory standard deviation*, dan *reproducibility standard deviation* berdasarkan ISO 5725-2:1994.¹³

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Uji Homogenitas dan Uji Stabilitas Sampel

Berdasarkan uji homogenitas yang telah dilakukan, seluruh *batch* sampel yang digunakan dinyatakan homogen (Tabel 1). Nilai F hitung (ANOVA) yang diperoleh lebih kecil dari nilai F tabel pada taraf nyata 5%. Uji homogenitas dilakukan untuk memastikan bahwa sampel yang dibagikan ke peserta uji antarlaboratorium seragam sehingga perbedaan hasil analisis bukan disebabkan oleh sampel yang tidak homogen.

Berdasarkan hasil uji t Student's, seluruh *batch* sampel yang digunakan juga dinyatakan stabil (Tabel 2). Kandungan amilosa sampel sebelum uji banding antarlaboratorium dan kandungan amilosa sampel setelah uji banding antar-laboratorium tidak berbeda nyata. Hal ini menunjukkan bahwa sampel yang disimpan sesuai metode penyimpanan yang dipergunakan dalam penelitian ini tetap stabil selama proses uji banding antarlaboratorium sehingga perbedaan hasil analisis antarlaboratorium tidak disebabkan oleh sampel yang tidak stabil. Perubahan hasil pengukuran kandungan amilosa dengan metode I:KI pada sampel setelah penyimpanan dapat disebabkan oleh adanya perubahan sifat fisiko-kimia amilosa yakni tingkat kelarutannya dan perubahan struktur amilosa. Indudhara Swamy dkk. dalam Zhou dkk.¹⁴ menyebutkan bahwa pada sampel tepung 45 *mesh* jumlah amilosa terlarut dalam air mendidih mengalami penurunan

Tabel 1. Hasil Uji Homogenitas Sampel*

	Sampel			
	Lusi	Sintanur	Ciherang	Inpari 12
Rata-rata kadar amilosa (% bk)	4,60	19,95	23,93	28,76
Rata-rata kadar air (%)	11,27	11,39	10,85	10,45
SD (% bk)	0,70	0,88	0,53	0,83
F Hitung	0,821	1,803	0,744	0,879
F Tabel α 0,05 (9; 10)	3,02	3,02	3,02	3,02
Signifikansi	0,611	0,186	0,666	0,572
Kesimpulan	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen

*bk: bobot kering

Tabel 2. Hasil Uji t Student's*

	Sampel			
	Lusi	Sintanur	Ciherang	Inpari 12
Rata-rata kadar amilosa (% bk)	4,23	19,81	23,85	28,88
Rata-rata kadar air (%)	10,95	11,01	11,53	11,06
SD (% bk)	0,20	0,53	0,30	0,25
t hitung	2,26	0,49	0,47	-0,59
t tabel α 0,01	2,80	2,98	2,95	2,80
Derajat bebas	24,00	14,09	15,30	23,87
Kesimpulan	Stabil	Stabil	Stabil	Stabil

* bk: bobot kering

selama penyimpanan. Peluang perubahan struktur amilosa selama penyimpanan cukup besar, namun masih belum banyak dilaporkan karena diperlukan instrumen yang kompleks untuk menganalisis struktur polimer berukuran besar seperti amilosa.¹⁴

Hasil Uji Antar-Laboratorium

Hasil analisis kadar amilosa setiap laboratorium dapat dilihat pada Tabel 3. Berdasarkan hasil analisis sidik ragam, terdapat variasi yang cukup besar antar-laboratorium, khususnya pada varietas Lusi. Pada varietas ini hanya terdapat tiga laboratorium yang memiliki hasil tidak berbeda nyata. Adapun pada varietas Sintanur terdapat lima laboratorium, dan pada varietas Ciherang, dan Inpari 12 terdapat enam laboratorium yang memiliki hasil tidak berbeda nyata. Angka selajur yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf nyata 0,05 DMRT.

Besarnya variasi hasil analisis pada varietas Lusi dapat disebabkan oleh adanya interferensi oleh senyawa amilopektin yang merupakan komponen pati utama pada beras ketan. Penelitian Fitzgerald dkk.² mengindikasikan terjadinya diskrepansi hasil uji antarlaboratorium terhadap beras ketan mutan yang tidak mengandung amilosa. Hasil kandungan amilosa beras ketan sebesar 0% biasanya hanya dapat dihasilkan pada laboratorium yang menggunakan metode *size exclusion chromatography (SEC)* dan *differential scanning calorimetry (DSC)*. Metode *SEC* mampu memisahkan polimer amilosa dan

amilopektin berdasarkan ukurannya, sedangkan metode *DSC* memanfaatkan informasi entalpi kompleks amilosa-lemak untuk menentukan kandungan amilosa tanpa interferensi dari senyawa amilopektin. Oleh karena itu, kedua metode ini mempunyai tingkat akurasi yang tinggi dalam menentukan kandungan amilosa varietas ketan.²

Penelitian tersebut juga menemukan bahwa laboratorium yang menggunakan metode pengikatan I:KI dengan kurva standar amilosa kentang menghasilkan nilai kandungan amilosa di atas 2% hingga 11%. Adapun laboratorium yang menggunakan metode pengikatan I:KI tetapi dengan kurva standar berupa campuran standar amilosa kentang dan amilopektin menghasilkan nilai kandungan amilosa antara 0–2%. Besarnya hasil pengukuran pada metode dengan kurva standar amilosa kentang disebabkan oleh tidak adanya faktor koreksi terhadap interferensi amilopektin pada metode dengan kurva standar amilosa kentang.² Saat penelitian ini berlangsung, *International Rice Research Institute (IRRI)* sedang mengembangkan metode amilosa untuk meminimalkan interferensi amilopektin, salah satunya dengan mengembangkan standar amilosa dari beras yang lebih terjangkau bagi laboratorium di negara-negara berkembang. Dengan standar amilosa dari beras yang di dalamnya juga terkandung amilopektin, diharapkan interferensi senyawa tersebut dapat terkoreksi.

Besarnya variasi antarlaboratorium dapat pula disebabkan oleh perbedaan merek bahan dan alat yang digunakan dan kemampuan masing-

Tabel 3. Hasil Uji Antarlaboratorium

Laboratorium	Kadar Amilosa (% bk)			
	Lusi Rataan ± SD	Sintanur Rataan ± SD	Ciherang Rataan ± SD	Inpari 12 Rataan ± SD
I	4,90±0,25 ^b	19,54±0,51 ^{ab}	22,36±0,13 ^{ab}	30,35±0,14 ^a
II	5,62±0,34 ^b	19,44±0,27 ^{ab}	24,10±1,39 ^b	29,51±0,77 ^a
III	3,93±0,19 ^a	16,84±0,33 ^a	18,54±3,29 ^a	29,10±0,22 ^a
IV	5,01±0,39 ^b	20,74±0,36 ^b	24,05±0,50 ^b	29,57±0,58 ^a
V	8,69± 0,10 ^e	25,62±4,50 ^c	25,07±3,95 ^b	34,44±0,00 ^b
VI	6,52 ±1,09 ^c	18,93±0,12 ^{ab}	22,41±0,52 ^{ab}	30,34±1,63 ^a
VII	8,31 ± 0,09 ^e	21,01±0,46 ^b	24,68±0,24 ^b	30,08±1,10 ^a
VIII	7,39±0,26 ^d	25,51±0,28 ^c	33,19±5,76 ^c	37,49±1,28 ^c

masing operator analisis serta kesalahan (*error*) yang mungkin dilakukan dalam analisis. Menurut Smith,¹⁵ terdapat beberapa jenis *error* dalam analisis, antara lain *gross error (blunder)*, *random error*, dan *systematic error*. Untuk melihat data yang tidak konsisten dengan keseluruhan hasil analisis dilakukan pengujian konsistensi hasil antarlaboratorium dan konsistensi hasil antarulangan dalam satu laboratorium yang dapat dilihat pada Gambar 1 dan Gambar 2. Berdasarkan tabel indikator Mandel's *h* dan *k* pada taraf signifikansi 5% didapatkan nilai kritis sebesar 1,75 dan 1,88.⁶ Hasil perhitungan statistik konsistensi antarlaboratorium (Gambar 1) menunjukkan bahwa hasil analisis kandungan amilosa varietas Ciherang dan Inpari 12 oleh Laboratorium VIII tidak konsisten dengan hasil analisis laboratorium peserta lainnya. Hal tersebut ditunjukkan dengan nilai *h* yang lebih besar dibanding nilai kritis *h* pada taraf signifikansi 5%.

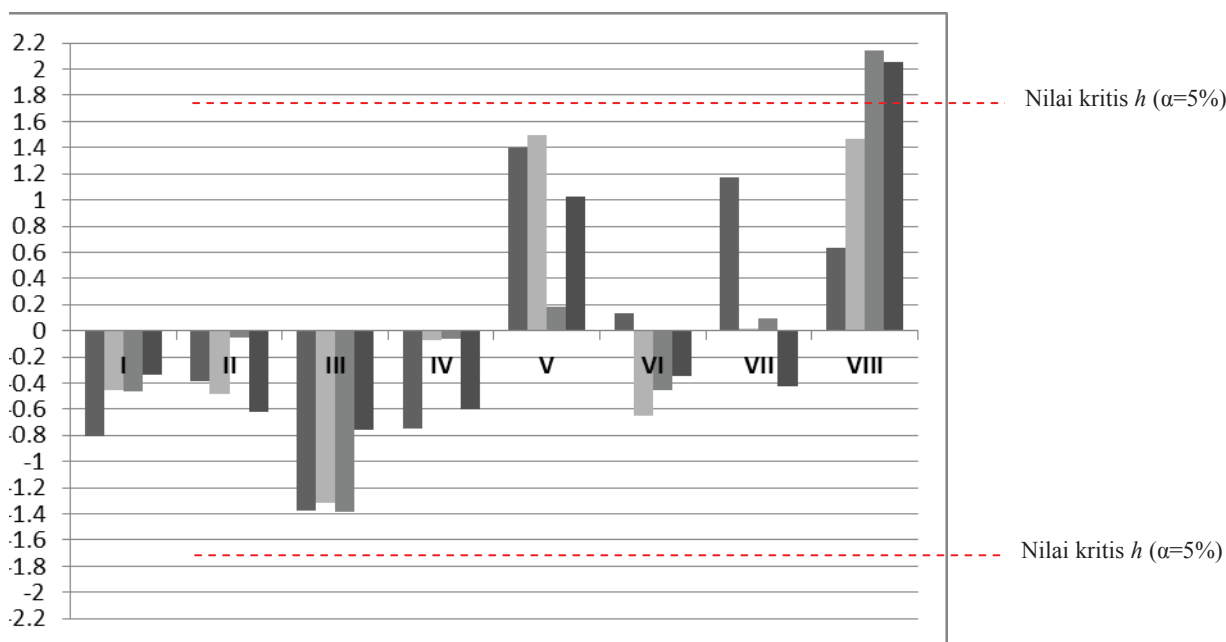
Hasil perhitungan statistik konsistensi dalam laboratorium (Gambar 2) menunjukkan bahwa terdapat variasi yang besar antarulangan pada hasil analisis amilosa Laboratorium V (Sintanur), Laboratorium VI (Lusi), dan Laboratorium VIII (Ciherang). Ketiga hasil analisis tersebut memiliki nilai *k* yang melampaui nilai kritis *k* pada taraf

signifikansi 5%. Hasil perhitungan statistik konsistensi ini tidak dipergunakan dalam penentuan *outlier*, tetapi dapat mendukung keputusan akhir yang diambil.

Penentuan *Assigned Value*

Berdasarkan uji Cochran's dan uji Grubbs' (Tabel 4 dan Tabel 5), terdapat dua hasil analisis yang termasuk *straggler* (data melenceng/*irregular*) yakni hasil analisis laboratorium VI untuk Lusi dan hasil analisis laboratorium VIII untuk Ciherang. Selain itu terdapat hasil analisis yang termasuk *outlier* yakni hasil analisis laboratorium V untuk Sintanur, dan hasil analisis laboratorium V serta VIII untuk Inpari 12. Data-data *straggler* dipertahankan untuk perhitungan selanjutnya, sedangkan data-data *outlier* dihilangkan.

Variasi antarulangan atau antarlaboratorium yang cukup besar pada hasil analisis kandungan amilosa oleh Laboratorium V dan VI mungkin disebabkan oleh adanya modifikasi metode analisis. Laboratorium V dan VI menggunakan suhu ruang dalam proses gelatinisasi. Hal ini dapat menjadi penyebab kurang optimalnya proses gelatinisasi. Walaupun laboratorium VIII telah terakreditasi, namun hasil analisis Ciherang dan Inpari 12 oleh laboratorium tersebut menunjukkan



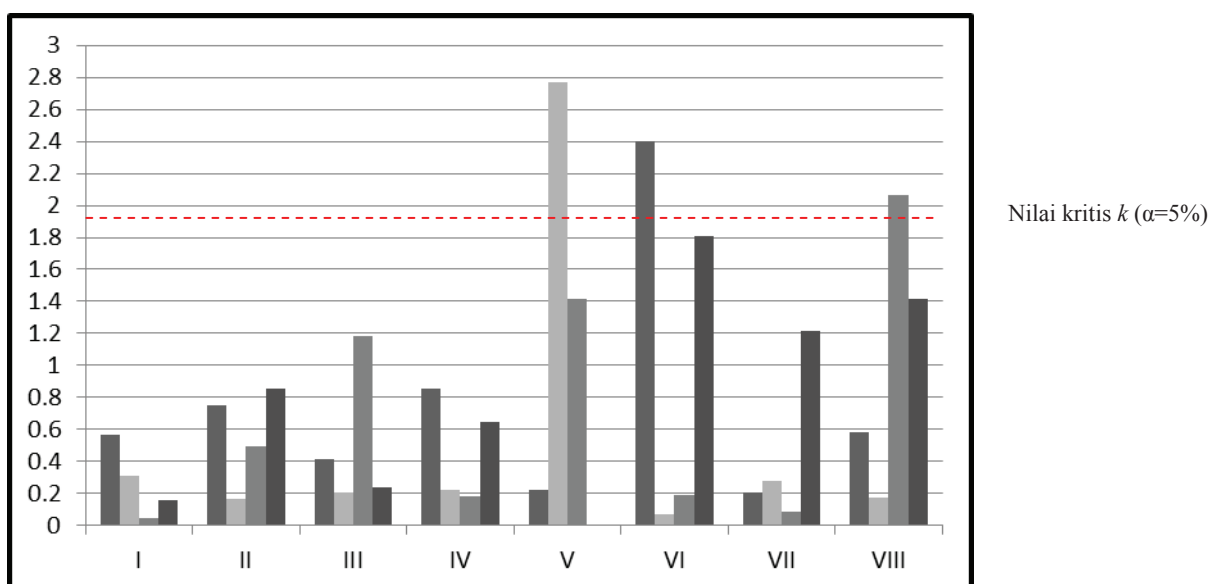
Gambar 1. Statistik Konsistensi Antar-laboratorium/*Between Laboratory* (Mandel's *h*), Dikelompokkan Berdasar Laboratorium dan Diurutkan dari Varietas Beramilosa Paling Rendah Sampai Paling Tinggi

variasi antarlaboratorium yang besar. Hal ini mungkin disebabkan oleh kurang maksimalnya penerapan sistem jaminan mutu pada laboratorium VIII. Selain itu terjadi penerapan metode preparasi sampel yang berbeda misalnya pada tahap pelarutan sampel, gelatinisasi sampel, dan pembuatan pereaksi yang dapat berkontribusi pada besarnya variasi data yang dihasilkan oleh Laboratorium VIII.

Terdapat beberapa data yang termasuk dalam kategori dipertanyakan dan *outlier* dari hasil uji *Z-score* (Tabel 6). Data yang termasuk dalam kategori dipertanyakan yakni hasil analisis laboratorium VI untuk Lusi, serta hasil analisis laboratorium I dan III untuk Sintanur. Hasil analisis laboratorium VI untuk Lusi memiliki variasi antar-ulangan yang tinggi, hasil tersebut didukung oleh hasil pengujian Mandel's *k* dan

Cochran's yang telah dilakukan sebelumnya. Hasil analisis laboratorium I untuk Sintanur memiliki variasi antarulangan yang cukup besar, sedangkan hasil analisis laboratorium III untuk Sintanur memiliki variasi antarlaboratorium yang cukup besar.

Data yang termasuk kategori *outlier* dari hasil uji *Z-score* yakni hasil analisis laboratorium VIII untuk Sintanur, dan hasil analisis laboratorium III serta VIII untuk Ciherang. Ketiga data laboratorium-laboratorium tersebut memiliki variasi antarlaboratorium yang tinggi. Keputusan outlier hasil analisis laboratorium VIII untuk Ciherang didukung oleh hasil pengujian Mandel's *h*. Berdasarkan tahapan hasil uji statistik yang dilakukan, laboratorium I, II, dan IV menunjukkan performa yang baik selama pengujian antarlaboratorium berlangsung.



Gambar 2. Statistik Konsistensi dalam Laboratorium/*within laboratory* (Mandel's *k*), Dikelompokkan Berdasar Laboratorium dan Diurutkan dari Varietas Beramilosa Paling Rendah Sampai Paling Tinggi

Tabel 4. Hasil Uji Cochran's (*C*)

	Sampel			
	Lusi	Sintanur	Ciherang	Inpari 12
Nilai <i>C</i> hitung	0.723	0.959	0.533	0.409
Nilai <i>C</i> tabel ($\alpha=1\%$)	0,794	0,794	0,794	0,794
Nilai <i>C</i> tabel ($\alpha=5\%$)	0,680	0,680	0,680	0,680
Data <i>straggler</i>	Laboratorium VI	-	-	-
Data <i>outlier</i>	-	Laboratorium V	-	-

Selanjutnya data pada Tabel 6 digunakan dalam menentukan rata-rata, *repeatability standard deviation* (s_{ij}), *between laboratory standard deviation* (s_{Lj}), dan *reproducibility standard deviation* (s_{Rj}). s_{ij} menunjukkan tingkat keragaman antarulangan dalam satu laboratorium. s_{Lj} menunjukkan keragaman antar-laboratorium. Adapun s_{Rj} menunjukkan tingkat keragaman yang disebabkan oleh variasi data antarulangan dalam satu laboratorium maupun keragaman data antar-laboratorium. *Repeatability* dan *reproducibility* merupakan komponen utama dalam penentuan tingkat presisi metode.¹⁶

Hasil perhitungan rata-rata, s_{ij} , s_{Lj} , dan s_{Rj} dapat dilihat pada Tabel 7. Varietas dengan nilai s_{ij} terbesar adalah Ciherang. Hal ini dikarenakan simpangan antarulangan beberapa laboratorium masih cukup besar meskipun sudah ada data *outlier* yang dihilangkan. Adapun varietas dengan nilai s_{Rj} terbesar adalah Lusi. Seperti yang telah disebutkan sebelumnya, menurut Fitzgerald dkk.² besarnya keragaman hasil antarlaboratorium dapat disebabkan oleh tidak adanya faktor koreksi terhadap interferensi amilopektin pada metode dengan kurva standar amilosa kentang.

Tabel 5. Hasil Uji Grubbs' (G)

	Sampel				Nilai G tabel ($\alpha=1\%$)	Nilai G tabel ($\alpha=5\%$)
	Lusi	Sintanur	Ciherang	Inpari 12		
Nilai G hitung <i>single low</i>	1,375	0,455	1,389	0,755	2,126	2,274
Nilai G hitung <i>single high</i>	1,393	1,464	2,144	2,052	2,126	2,274
Nilai G hitung <i>double low</i>	0,521	0,916	0,611	0,819	0,110	0,056
Nilai G hitung <i>double high</i>	0,370	0,642	0,210	0,021	0,110	0,056
Data <i>straggler</i>	-	-	Lab.VIII	-		
Data <i>outlier</i>	-	-	-	Lab.V&VIII		

Tabel 6. Data Setelah Penghilangan *Outlier* dengan Uji Z-score

Laboratorium	Kadar Amilosa (% bk)			
	Lusi Rataan $\pm$ SD	Sintanur Rataan $\pm$ SD	Ciherang Rataan $\pm$ SD	Inpari 12 Rataan $\pm$ SD
I	4,90 $\pm$ 0,25	19,54 $\pm$ 0,51*	22,36 $\pm$ 0,13	30,35 $\pm$ 0,14
II	5,62 $\pm$ 0,34	19,44 $\pm$ 0,27	24,10 $\pm$ 1,39	29,51 $\pm$ 0,77
III	3,93 $\pm$ 0,19	16,84 $\pm$ 0,33*	-	29,10 $\pm$ 0,22
IV	5,01 $\pm$ 0,39	20,74 $\pm$ 0,36	24,05 $\pm$ 0,50	29,57 $\pm$ 0,58
V	8,69 $\pm$ 0,10	-	25,07 $\pm$ 3,95	-
VI	6,52 $\pm$ 1,09*	18,93 $\pm$ 0,12	22,41 $\pm$ 0,52	30,34 $\pm$ 1,63
VII	8,31 $\pm$ 0,09	21,01 $\pm$ 0,46	24,68 $\pm$ 0,24	30,08 $\pm$ 1,10
VIII	7,39 $\pm$ 0,26	-	-	-

Tabel 7. Rata-rata, s_{ij} , s_{Lj} , dan s_{Rj}

Sampel	Jumlah laboratorium	Rataan (% berat kering)	s_{ij} (% berat kering)	s_{Lj} (% berat kering)	s_{Rj} (% berat kering)
Lusi	8	6,29	0,32	1,70	1,73
Sintanur	6	19,42	0,26	1,49	1,51
Ciherang	6	23,78	1,23	0,74	1,44
Inpari 12	6	29,83	0,64	0,22	0,68

Tabel 8. Nilai Keberterimaan yang Diacu untuk Uji Presisi¹⁷

	Jenis beras			
	Beras ketan	Beras beramilosa rendah	Beras beramilosa sedang	Beras beramilosa tinggi
Rata-rata kadar amilosa (g/100g)	0,59	13,85	22,63	26,97
s_r (<i>repeatability standard deviation</i>) (g/100g)	0,22	0,54	0,63	0,62
Repeatability limit	0,62	1,51	1,76	1,74
s_R (<i>reproducibility standard deviation</i>) (g/100g)	0,59	1,61	2,29	2,68
Reproducibility limit	1,64	4,52	6,41	7,51

Untuk menetapkan nilai acuan, *repeatability*, dan *reproducibility standard deviation* yang diperoleh (Tabel 7) harus dibandingkan dengan nilai pada Tabel 8 yang merupakan hasil uji antarlaboratorium yang diselenggarakan oleh *FOSS Analytical AB*, Swedia, di mana metode yang digunakan pada uji antarlaboratorium sudah menggunakan metode acuan berdasarkan ISO 6647-1:2007.¹⁷ Prinsip yang digunakan pada metode acuan sama dengan metode dalam penelitian ini, tetapi jenis standar yang digunakan berbeda. Jenis standar yang digunakan pada metode acuan adalah campuran antara amilosa kentang dan amilopektin dari beras ketan. Penggunaan standar campuran dapat memperkecil interferensi amilopektin² sehingga dapat diperoleh tingkat presisi yang lebih tinggi.

Berdasarkan nilai pembanding tersebut, seluruh varietas yang diuji masih memiliki *repeatability* dan *reproducibility standard deviation* yang lebih kecil dari nilai pembanding limit. Nilai pembanding limit diperoleh dari nilai *repeatability* dan *reproducibility standard deviation* ditambah dengan nilai *repeatability* dan *reproducibility limit* (Tabel 8). Nilai pembanding s_{rj} untuk Lusi, Sintanur, Ciherang, dan Inpari 12 berturut-turut adalah 0,84; 2,05; 2,39; dan 2,36; sedangkan nilai pembanding s_{Rj} untuk Lusi, Sintanur, Ciherang, dan Inpari 12 berturut-turut 2,23; 6,13; 8,70; dan 10,19. Oleh karena itu, keempat varietas tersebut dapat dipergunakan sebagai materi acuan. Materi acuan yang diperoleh dapat dimanfaatkan sebagai sampel uji dalam sistem *internal quality control* laboratorium atau sebagai

materi uji dalam proses validasi metode,^{10,18} yang sangat bermanfaat dalam peningkatan performa metode analisis amilosa menggunakan prinsip pengikatan I:KI.¹⁸

KESIMPULAN

Perbedaan hasil analisis antar-laboratorium dapat disebabkan oleh adanya modifikasi metode dalam analisis amilosa, meskipun seluruh laboratorium peserta memanfaatkan prinsip yang sama, yakni prinsip pengikatan I:KI. Selain itu hasil analisis laboratorium peserta uji banding yang memiliki tingkat presisi lebih rendah disebabkan oleh beberapa jenis *error* yang mungkin terjadi selama proses analisis di laboratorium tersebut. Setelah dilakukan pengujian statistika bertahap untuk menghilangkan *outlier* didapatkan *assigned value* untuk keempat varietas, yakni Lusi 6,29% ($\pm 1,73$); Sintanur 19,42% ($\pm 1,51$); Ciherang 23,78% ($\pm 1,44$); dan Inpari 12 29,83% ($\pm 0,68$). Keempat varietas tersebut dapat digunakan sebagai materi acuan dalam pengujian performa laboratorium dalam menganalisis kandungan amilosa pada beras menggunakan metode pengikatan I:KI.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dr. Cynthia Henny dari Pusat Penelitian Limnologi LIPI atas bimbingan yang diberikan selama penulisan dan kepada BB Padi atas dana penelitian yang telah diberikan sehingga KTI ini dapat terselesaikan dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- ¹Juliano, B. O. 2003. *Rice chemistry and quality*. Manila: PhilRice.
- ²Fitzgerald, M. A. dkk. 2009. Addressing the dilemmas of measuring amylose in rice. *Cereal Chemistry* 86(5): 492–498.
- ³Stawski, D. 2008. New determination method of amylose content in potato starch. *Food Chemistry* 110: 777–781.
- ⁴Jin, P. W., Y. Bo, M. X. Xue, Y. Na, Y. J. Zheng, and M. K. Jin. 2011. Orthogonal-function spectrophotometry for the measurement of amylose and amylopectin contents. *Food Chemistry* 127: 102–108.
- ⁵Zhan, H. L., T. Sasaki, Y. L. Yong, T., Yoshihashi, T. L. Li, and K. Kohyama. 2009. Effect of amylose content and rice type on dynamic viscoelasticity of a composite rice starch gel. *Food Hydrocolloids* 23: 1712–1719.
- ⁶Dennett, A. L., P. R. Schofield, J. E. Roake, N. K. Howes, and J. Chin. 2009. Starch swelling power and amylose content of triticale and *Triticum timopheevii* germplasm. *Journal of Cereal Science* 49: 393–397.
- ⁷BeMiller, J. N. 2007. *Carbohydrate chemistry for food scientists*. Second Edition. Minnesota: AACC International Press.
- ⁸Hu, G., C. Burton, C. Yang. 2010. Efficient measurement of amylose content in cereal grains. *Journal of Cereal Science* 51: 35–40.
- ⁹Juliano, B. O. 1979. Amylose analysis in rice – a review. Dalam Coffman, W.R., G. S. Khush, B. O. Juliano, J. S. Nanda, dan M. D. Pathak (Committee). *Proceedings of the Workshop on Chemical Aspect of Rice Grain Quality*. Manila: International Rice Research Institute. Pp. 251–260.
- ¹⁰Puwastien, P., K. Judprasong, N. Pinprapai. 2009. Development of rice reference material and its use for evaluation of analytical performance of food analysis laboratories. *Journal of Food Composition and Analysis* 22: 453–462.
- ¹¹Wolf, W. R. 1996. Reference materials for food composition analysis. *Food Chemistry* 57(1): 119–123.
- ¹²Yazgan, S., A. Bernreuther, F. Ulberth, H. D. Isengard. 2006. Water-an important parameter for the preparation and proper use of certified reference materials. *Food Chemistry* 96: 411–417.
- ¹³International Organization for Standardization. 1994. *ISO 5725-2, accuracy (trueness and precision) of measurement methods and result - part 2: basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method*. First Edition. Switzerland.
- ¹⁴Zhou, Z., K. Robards, S. Helliwell, and C. Blanchard. 2002. Ageing of stored rice: changes in chemical and physical attributes. *Journal of Cereal Science* 35: 65–78.
- ¹⁵Smith, J. S. 1994. Evaluation of analytical data. Dalam Nielsen, S. S. (Ed.). *Introduction to the chemical analysis of foods*. Boston: Jones and Bartlett Publishers. Pp. 51–63.
- ¹⁶Huber, L. 2007. *Validation of analytical methods and procedures*. <http://www.labcompliance.com/tutorial/methods/default.aspx>, diakses 29 November 2011.
- ¹⁷International Organization for Standardization. 2007. *ISO 6647-1, rice —determination of amylose content— part 1: reference method*. Switzerland. 12 p.
- ¹⁸Castanheira, I., C. Abrantes, M. Batista, I. Coelho, and A. Sanches-Silva. 2009. Quality control materials in food composition databanks. *Food Chemistry* 113: 768–775.