

BISKUIT BEBAS GLUTEN DAN BEBAS KASEIN BAGI PENDERITA AUTIS

Gluten and Casein Free Biscuits for People with Autism

Yohana Lydia Rissa Tanjung^{1*}, Joni Kusnadi¹

1) Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, FTP Universitas Brawijaya
Jl. Veteran, Malang 65145

*Penulis Korespondensi, Email: yoe.hana@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian yang telah dilakukan tentang penyakit autis salah satunya tentang pola konsumsi bagi penderita autis yaitu diet bebas gluten dan bebas kasein atau GFCE (*Gluten free Casein free*). Diet ini dapat memperbaiki gangguan pencernaan dan mengurangi gejala atau tingkah laku autistik. Gluten dan kasein sulit dicerna sehingga anak autis harus menghindari olahan berbahan dasar kedua protein tersebut. Adapun tujuan dilakukannya penelitian ini yaitu mengetahui rasio tepung MOCAF : tepung kacang hijau dan proporsi margarin yang tepat untuk menghasilkan biskuit perlakuan terbaik. Metode yang digunakan yaitu Rancangan Acak Kelompok (RAK). Biskuit perlakuan terbaik secara fisik kimia di peroleh pada perlakuan rasio tepung MOCAF dan tepung kacang hijau 55 : 45 dengan tingkat penambahan margarin 25% dengan karakteristik : kadar abu 0.66%, kadar air 8.74%, kadar lemak 18.59%, kadar pati 48.47%, kadar serat kasar 3.68%, daya kembang 71.69%, daya patah 12.55 N dan kecerahan (L) 57.06.

Kata kunci: Autis, Biskuit, Tepung Kacang Hijau, Tepung Mocaf

ABSTRACT

Research has been done on autism one of the patterns of consumption for people with autism are GFCE (Gluten free Casein free). Diet can improve and reduce the symptoms of digestive disorders or autistic behavior. Gluten and casein are difficult to digest so that children with autism should avoid processed based both these proteins. The purpose of this research is to know the ratio of MOCAF flour : mung bean flour and margarine proper proportions to produce the best treatment biscuits. The method used is a randomized block design (RBD). The best treatment is obtained on the physical chemical treatment ratio of MOCAF flour : mung bean flour 55:45 and margarine adding 25% with characteristics ash content 0.66%, moisture content 8.74%, fat content 18.59%, starch content 48.47%, crude fiber content 3.68%, expansion power 71.69%, separate power 12.55 N and brightness (L) 57.06.

Keywords: Autism, Biscuits, Mung Bean Flour, Mocaf Flour

PENDAHULUAN

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Pusat Pengendalian dan Pencegahan Penyakit di Amerika Serikat atau *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) menyatakan bahwa pada tahun 2012 terjadi peningkatan yang cukup memprihatinkan dengan jumlah rasio 1 dari 88 orang anak saat ini mengalami autis, meningkat tajam dibanding pada tahun 1987 dengan jumlah rasio 1 dari 5.000 orang anak mengalami autis [1] Oleh karena itu dilakukanlah berbagai penelitian tentang bidang terkait yaitu penyakit autis salah satunya yaitu tentang pola konsumsi yang sesuai bagi penderita autis. Menurut para ahli, diet yang tepat bagi penderita autis yaitu diet GFCE (*Gluten free Casein free*) [2] karena gluten akan

membentuk gluteomorfin sedangkan kasein akan membentuk kaseomorfin sehingga terjadi gangguan perilaku seperti hiperaktif [3].

Salah satu makanan yang cukup di gemari oleh anak-anak termasuk para penderita autis yaitu makanan ringan seperti biskuit. Akan tetapi saat ini belum banyak biskuit di pasaran yang khusus di peruntukkan bagi penderita autis yaitu biskuit yang tidak mengandung gluten dan kasein karena pada umumnya biskuit yang beredar di pasaran yaitu biskuit yang terbuat dari tepung terigu (mengandung gluten) dan adanya penambahan susu (mengandung kasein) dalam pembuatan biskuit [4].

Selain tepung terigu, biskuit dapat di buat dengan menggunakan tepung lain seperti tepung MOCAF dan tepung kacang hijau yang tidak mengandung protein gluten. Menurut literatur [5] MOCAF merupakan produk tepung ubi kayu (*Manihot esculenta*) yang diproses menggunakan prinsip memodifikasi sel ubi kayu secara fermentasi oleh bakteri asam laktat (BAL) yang mendominasi selama berlangsungnya fermentasi ubi kayu tersebut. Sedangkan tepung kacang hijau (*Phaesolus radiates L.*) merupakan tepung yang terbuat dari biji kacang hijau [6].

Dalam pembuatan biskuit bebas gluten dan kasein ini, bahan baku yang di gunakan yaitu tepung MOCAF dan tepung kacang hijau. Selain itu ada beberapa bahan tambahan yang digunakan dalam pembuatan biskuit ini yaitu salah satunya margarin. Penambahan margarin dimaksudkan untuk mengempukkan biskuit karena margarin memiliki kandungan yang cukup tinggi sehingga dapat mempengaruhi tekstur biskuit [7].

Adapun tujuan dilakukannya penelitian ini yaitu mengetahui pengaruh rasio tepung MOCAF : tepung kacang hijau dan proporsi margarin terhadap karakteristik biskuit bebas gluten dan kasein serta mengetahui rasio tepung MOCAF : tepung kacang hijau dan proporsi margarin yang tepat untuk menghasilkan biskuit perlakuan terbaik.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan dasar dalam pembuatan biskuit adalah tepung MOCAF dan tepung kacang hijau. Bahan pembantu berupa garam halus yang diperoleh dari sardo swalayan-Malang, gula fruktosa dan margarin yang diperoleh dari hypermart giant serta telur ayam yang diperoleh dari toko kelontong daerah sumpersari-Malang. Sedangkan bahan yang digunakan untuk analisis diperoleh dari toko kimia Krida Tama Persada, Malang, CV. Makmur Sejati, Malang dan CV. Medika Karya, Yogyakarta. Bahan-bahan tersebut meliputi akuades, petroleum eter, H₂SO₄ pekat, NaOH 45%, K₂SO₄ 10%, alkohol 96%, alkohol 80%, alkohol 10%, HCl 25%, nelson A, nelson B dan arsenomolibdat.

Alat

Peralatan yang digunakan dalam pembuatan produk adalah *mixer* (merk miyako), timbangan digital, loyang, roll kayu, kompor, cetakan biskuit, alat penggorengan, baskom plastik dan oven. Sedangkan alat yang digunakan untuk analisis adalah seperangkat alat elektroforesis, *ependorf*, *glassware* yang bermerk pyrex seperti beker glass 250 mL, labu ukur 100 mL, labu ukur 500 mL, pipet volume 1 mL, pipet volume 10 mL, erlenmeyer 250 mL, gelas ukur 100 mL, pipet tetes, kertas saring, kertas lakmus, tabung reaksi, petridish, spatula, corong kaca, mortar, cawan pengabuan, oven (WTB Binder), timbangan analitik, spektrofotometer (LaboMed, Inc.), desikator, seperangkat alat ekstraksi soxhlet lengkap dengan kondensor (Gerhardt), labu lemak, alat pemanas listrik atau penangas uap, benang wool, *color reader* (Minolta), tanur pengabuan (Thermolyne), penjepit cawan, vortex (Turbo Mixer), lemari asam, refluks dan *tensile strength*.

Tahapan Penelitian

1. Pembuatan biskuit. Proses pembuatan biskuit meliputi tahap persiapan, penyangraian tepung, pencampuran, pembuatan adonan, pembuatan lembaran, pencetakan adonan, pemanggangan dan pendinginan.

2. Pengamatan. Analisis yang dilakukan yaitu meliputi analisis terhadap bahan baku (tepung MOCAF, tepung kacang hijau) dan produk akhir (biskuit).

Metode

Metode penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 2 faktor yaitu faktor pertama adalah proporsi tepung MOCAF : tepung kacang hijau (4 level) dan faktor kedua yaitu penambahan margarin (2 level), didapat 8 perlakuan dan akan diulang sebanyak 3 kali sehingga jumlah unit percobaan keseluruhan adalah 24 unit.

Prosedur Analisis

Pada penelitian ini analisis yang digunakan yaitu meliputi analisis kadar air metode thermogravimetri [8], analisis kadar abu [8], analisis kadar pati metode hidrolisis asam [8], analisis kadar serat kasar [8], analisis kadar lemak metode soxhlet [9], analisis profil protein metode Elektroforesis SDS PAGE [10], analisis warna dengan *color reader* [11], analisis daya kembang [11], analisis daya patah dengan *tensile strength* [11], analisis fruktosa secara kualitatif metode selivanoff [12].

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Karakteristik Bahan Baku

Bahan baku yang digunakan dalam pembuatan biskuit rendah gluten dan bebas kasein adalah tepung MOCAF dan tepung kacang hijau. Adapun analisis yang dilakukan pada bahan baku yaitu analisis kadar abu, air, lemak, pati dan serat kasar yang dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik Tepung MOCAF dan Tepung Kacang Hijau

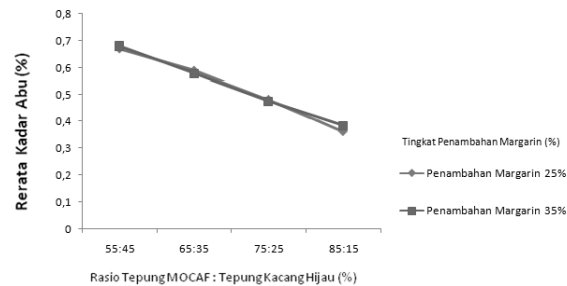
Parameter	Tepung MOCAF		Tepung Kacang Hijau	
	Hasil Analisis	Literatur	Hasil Analisis	Literatur
Kadar Abu (%)	0.25	maks 0.2 ^a	0.44	maks 2.07 ^b
Kadar Air (%)	8.52	maks 13 ^a	5.22	5.07 ^b
Kadar Lemak (%)	0.50	0.4 – 0.8 ^a	0.06	maks 0.09 ^b
Kadar Pati (%)	72.29	70.07 – 82.5 ^a	46.75	43.2 ^b
Serat Kasar (%)	1.90	1.9 – 3.4 ^a	2.86	maks 2.79 ^b

Sumber : a. [13], b. [14]

Berdasarkan tabel diatas diketahui untuk tepung MOCAF, terjadi perbedaan hasil analisis kadar abu dengan literatur yaitu lebih besar dibandingkan dengan literatur. Akan tetapi perbedaannya tidak terlalu jauh. Hal ini dapat disebabkan karena beberapa perbedaan seperti perbedaan varietas, tempat tumbuh maupun cara budidaya. Faktor – faktor komposisi dalam organisme sangat kompleks dan bervariasi yang dipengaruhi oleh faktor genetik, lingkungan dan perlakuan yang diberikan. Ketiga faktor tersebut akan berpengaruh pada komposisi penyusunnya [15].

2. Kadar Abu

Rerata kadar abu biskuit pada berbagai rasio tepung MOCAF dengan tepung kacang hijau serta berbagai tingkat penambahan margarin berkisar antara 0.36 – 0.67%. Pengaruh berbagai rasio tepung MOCAF dengan tepung kacang hijau serta tingkat penambahan margarin terhadap kadar abu biskuit terlihat pada Gambar 1.



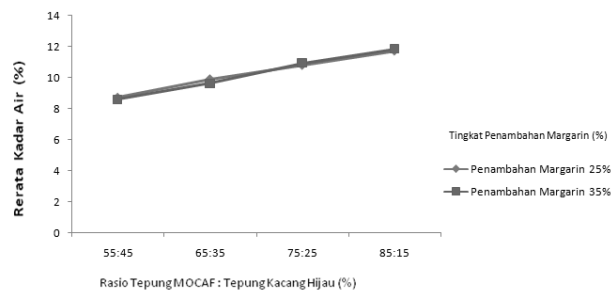
Gambar 1. Grafik Pengaruh Rasio Tepung MOCAF dengan Tepung Kacang Hijau dan Tingkat Penambahan Margarin terhadap Kadar Abu Biskuit

Gambar 1 menunjukkan bahwa kadar abu biskuit cenderung menurun dengan berkurangnya proporsi tepung kacang hijau dan diikuti dengan meningkatnya proporsi tepung MOCAF. Perlakuan rasio tepung MOCAF dengan tepung kacang hijau 55 : 45 dan tingkat penambahan margarin 35% memiliki nilai kadar abu tertinggi yaitu sebesar 0.67%. Sedangkan perlakuan rasio tepung MOCAF dengan tepung kacang hijau 85 : 15 dan tingkat penambahan margarin 25% memiliki nilai kadar abu terendah yaitu sebesar 0.36%.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan rasio tepung MOCAF dengan tepung kacang hijau berpengaruh nyata ($\alpha = 5\%$) terhadap kadar abu biskuit, sedangkan penambahan margarin tidak berpengaruh nyata ($\alpha = 5\%$). Interaksi antar keduanya tidak berpengaruh nyata ($\alpha = 5\%$) terhadap kadar abu biskuit.

3. Kadar Air

Rerata kadar air biskuit pada berbagai rasio tepung MOCAF dengan tepung kacang hijau serta berbagai tingkat penambahan margarin berkisar antara 8.60 – 11.82%. Pengaruh berbagai rasio tepung MOCAF dengan tepung kacang hijau serta tingkat penambahan margarin terhadap kadar air biskuit terlihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Grafik Pengaruh Rasio Tepung MOCAF dengan Tepung Kacang Hijau dan Tingkat Penambahan Margarin terhadap Kadar Air Biskuit

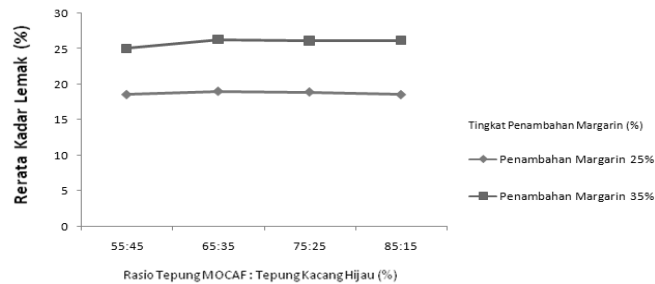
Gambar 2 menunjukkan bahwa kadar air biskuit cenderung meningkat dengan berkurangnya proporsi tepung kacang hijau dan diikuti dengan bertambahnya proporsi tepung MOCAF. Perlakuan rasio tepung MOCAF dengan tepung kacang hijau 85 : 15 dan tingkat penambahan margarin 35% memiliki nilai kadar air tertinggi yaitu sebesar 11.82%. Sedangkan perlakuan rasio tepung MOCAF dengan tepung kacang hijau 55 : 45 dan tingkat penambahan margarin 35% memiliki nilai kadar air terendah yaitu sebesar 8.60%.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan rasio tepung MOCAF dengan tepung kacang hijau berpengaruh nyata ($\alpha = 5\%$) terhadap kadar air biskuit, sedangkan penambahan margarin tidak berpengaruh nyata ($\alpha = 5\%$). Interaksi antar keduanya tidak berpengaruh nyata ($\alpha = 5\%$) terhadap kadar air biskuit.

4. Kadar Lemak

Rerata kadar lemak biskuit pada berbagai rasio tepung MOCAF dengan tepung kacang hijau serta berbagai tingkat penambahan margarin berkisar antara 18.57 – 26.29%.

Pengaruh berbagai rasio tepung MOCAF dengan tepung kacang hijau serta tingkat penambahan margarin terhadap kadar abu biskuit terlihat pada Gambar 3.



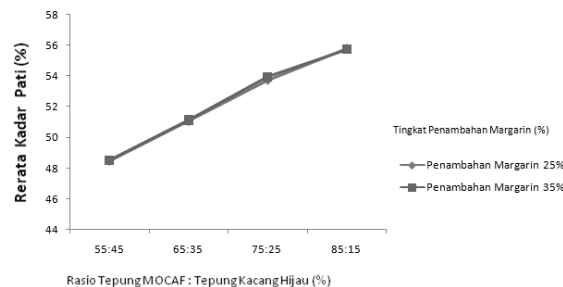
Gambar 3. Grafik Pengaruh Rasio Tepung MOCAF dengan Tepung Kacang Hijau dan Tingkat Penambahan Margarin terhadap Kadar Lemak Biskuit

Gambar 3 menunjukkan bahwa kadar lemak biskuit cenderung meningkat dengan bertambahnya proporsi margarin. Perlakuan rasio tepung MOCAF dengan tepung kacang hijau 65 : 35 dan tingkat penambahan margarin 35% memiliki nilai kadar lemak tertinggi yaitu sebesar 26.29%. Sedangkan perlakuan rasio tepung MOCAF dengan tepung kacang hijau 85 : 15 dan tingkat penambahan margarin 25% memiliki nilai kadar abu terendah yaitu sebesar 18.57%.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan penambahan margarin berpengaruh nyata ($\alpha = 5\%$) terhadap kadar lemak biskuit, sedangkan rasio tepung MOCAF dengan tepung kacang hijau tidak berpengaruh nyata ($\alpha = 5\%$). Interaksi antar keduanya tidak berpengaruh nyata ($\alpha = 5\%$) terhadap kadar lemak biskuit.

5. Kadar Pati

Rerata kadar pati biskuit pada berbagai rasio tepung MOCAF dengan tepung kacang hijau serta berbagai tingkat penambahan margarin berkisar antara 48.47 – 55.79%. Pengaruh berbagai rasio tepung MOCAF dengan tepung kacang hijau serta tingkat penambahan margarin terhadap kadar abu biskuit terlihat pada Gambar 4.



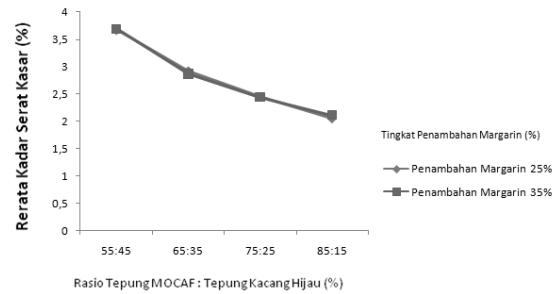
Gambar 4. Grafik Pengaruh Rasio Tepung MOCAF dengan Tepung Kacang Hijau dan Tingkat Penambahan Margarin terhadap Kadar Pati Biskuit

Gambar 4 menunjukkan bahwa kadar pati biskuit cenderung meningkat dengan bertambahnya rasio tepung MOCAF dan menurunnya rasio tepung kacang hijau. Perlakuan rasio tepung MOCAF dengan tepung kacang hijau 85 : 15 dan tingkat penambahan margarin 25% memiliki nilai kadar pati tertinggi yaitu sebesar 55.79%. Sedangkan perlakuan rasio tepung MOCAF dengan tepung kacang hijau 55 : 45 dan tingkat penambahan margarin 25% memiliki nilai kadar pati terendah yaitu sebesar 48.47%.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan rasio tepung MOCAF dengan rasio tepung kacang hijau berpengaruh nyata ($\alpha = 5\%$) terhadap kadar pati biskuit, sedangkan penambahan margarin tidak berpengaruh nyata ($\alpha = 5\%$). Interaksi antar keduanya tidak berpengaruh nyata ($\alpha = 5\%$) terhadap kadar pati biskuit.

6. Kadar Serat Kasar

Rerata kadar serat kasar biskuit pada berbagai rasio tepung MOCAF dengan tepung kacang hijau serta berbagai tingkat penambahan margarin berkisar antara 2.05 – 3.69%. Pengaruh berbagai rasio tepung MOCAF dengan tepung kacang hijau serta tingkat penambahan margarin terhadap kadar abu biskuit terlihat pada Gambar 5.



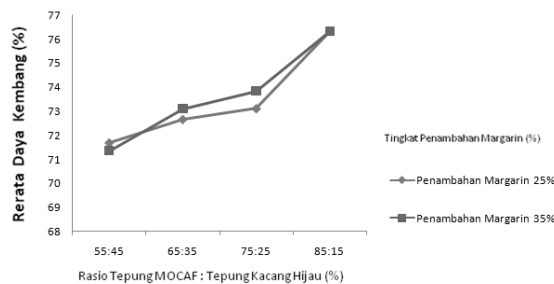
Gambar 5. Grafik Pengaruh Rasio Tepung MOCAF dengan Tepung Kacang Hijau dan Tingkat Penambahan Margarin terhadap Kadar Serat Kasar Biskuit

Gambar 5 menunjukkan bahwa kadar serat kasar biskuit cenderung menurun dengan berkurangnya rasio tepung kacang hijau dan meningkatnya rasio tepung MOCAF. Perlakuan rasio tepung MOCAF dengan tepung kacang hijau 55 : 45 dan tingkat penambahan margarin 35% memiliki nilai kadar serat kasar tertinggi yaitu sebesar 3.69%. Sedangkan perlakuan rasio tepung MOCAF dengan tepung kacang hijau 85 : 15 dan tingkat penambahan margarin 25% memiliki nilai kadar serat kasar terendah yaitu sebesar 2.05%.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan rasio tepung MOCAF dengan rasio tepung kacang hijau berpengaruh nyata ($\alpha = 5\%$) terhadap kadar serat kasar biskuit, sedangkan penambahan margarin tidak berpengaruh nyata ($\alpha = 5\%$). Interaksi antar keduanya tidak berpengaruh nyata ($\alpha = 5\%$) terhadap kadar serat kasar biskuit.

7. Daya Kembang

Rerata daya kembang biskuit pada berbagai rasio tepung MOCAF dengan tepung kacang hijau serta berbagai tingkat penambahan margarin berkisar antara 71.35 – 76.32%. Pengaruh berbagai rasio tepung MOCAF dengan tepung kacang hijau serta tingkat penambahan margarin terhadap daya kembang biskuit terlihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Grafik Pengaruh Rasio Tepung MOCAF dengan Tepung Kacang Hijau dan Tingkat Penambahan Margarin terhadap Daya Kembang Biskuit

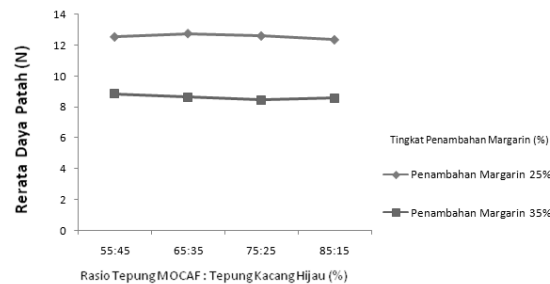
Gambar 6 menunjukkan bahwa daya kembang biskuit cenderung meningkat dengan berkurangnya rasio tepung kacang hijau dan bertambahnya rasio tepung MOCAF. Perlakuan rasio tepung MOCAF dengan tepung kacang hijau 85 : 15 dan tingkat penambahan margarin 25% dan 35% memiliki nilai daya kembang tertinggi yaitu sebesar 76.32%. Sedangkan perlakuan rasio tepung MOCAF dengan tepung kacang hijau 55 : 45 dan tingkat penambahan margarin 35% memiliki nilai daya kembang terendah yaitu sebesar 71.35%.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan rasio tepung MOCAF dengan rasio tepung kacang hijau berpengaruh nyata ($\alpha = 5\%$) terhadap daya kembang biskuit,

sedangkan penambahan margarin tidak berpengaruh nyata ($\alpha = 5\%$). Interaksi antar keduanya tidak berpengaruh nyata ($\alpha = 5\%$) terhadap daya kembang biskuit.

8. Daya Patah

Rerata daya patah biskuit pada berbagai rasio tepung MOCAF dengan tepung kacang hijau serta berbagai tingkat penambahan margarin berkisar antara 8.47 – 12.77 N. Pengaruh berbagai rasio tepung MOCAF dengan tepung kacang hijau serta tingkat penambahan margarin terhadap daya patah biskuit terlihat pada Gambar 7.



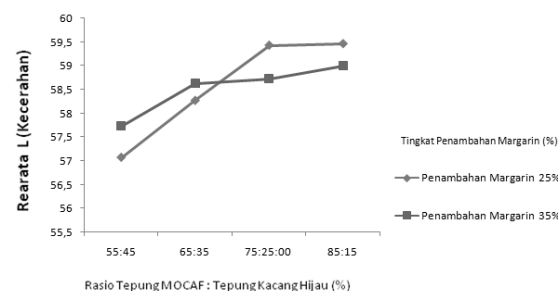
Gambar 7. Grafik Pengaruh Rasio Tepung MOCAF dengan Tepung Kacang Hijau dan Tingkat Penambahan Margarin terhadap Daya Patah Biskuit

Gambar 7 menunjukkan bahwa daya patah biskuit cenderung menurun dengan bertambahnya proporsi margarin. Perlakuan rasio tepung MOCAF dengan tepung kacang hijau 65 : 35 dan tingkat penambahan margarin 25% dan memiliki nilai daya patah tertinggi yaitu sebesar 12.77 N. Sedangkan perlakuan rasio tepung MOCAF dengan tepung kacang hijau 75 : 25 dan tingkat penambahan margarin 35% memiliki nilai daya patah terendah yaitu sebesar 8.47 N.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan penambahan margarin berpengaruh nyata ($\alpha = 5\%$) terhadap daya patah biskuit sedangkan rasio tepung MOCAF dengan tepung kacang hijau tidak berpengaruh nyata ($\alpha = 5\%$). Interaksi antar keduanya tidak berpengaruh nyata ($\alpha = 5\%$) terhadap daya patah biskuit.

9. Kecerahan (L)

Rerata nilai kecerahan biskuit pada berbagai rasio tepung MOCAF dengan tepung kacang hijau serta berbagai tingkat penambahan margarin berkisar antara 57.06 – 59.46. Pengaruh berbagai rasio tepung MOCAF dengan tepung kacang hijau serta tingkat penambahan margarin terhadap daya patah biskuit terlihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Grafik Pengaruh Rasio Tepung MOCAF dengan Tepung Kacang Hijau dan Tingkat Penambahan Margarin terhadap Tingkat Kecerahan Biskuit

Gambar 8 menunjukkan bahwa tingkat kecerahan biskuit cenderung meningkat dengan berkurangnya rasio tepung kacang hijau dan bertambahnya rasio tepung MOCAF. Perlakuan rasio tepung MOCAF dengan tepung kacang hijau 85 : 15 dan tingkat penambahan margarin 25% dan memiliki nilai kecerahan tertinggi yaitu sebesar 59.46.

Sedangkan perlakuan rasio tepung MOCAF dengan tepung kacang hijau 55 : 45 dan tingkat penambahan margarin 25% memiliki nilai kecerahan terendah yaitu sebesar 57.06.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan rasio tepung MOCAF dengan rasio tepung kacang hijau berpengaruh nyata ($\alpha = 5\%$) terhadap tingkat kecerahan biskuit, sedangkan penambahan margarin tidak berpengaruh nyata ($\alpha = 5\%$). Interaksi antar keduanya tidak berpengaruh nyata ($\alpha = 5\%$) terhadap tingkat kecerahan biskuit.

10. Karakteristik Organoleptik Biskuit

Pengujian organoleptik merupakan cara pengujian menggunakan indera manusia sebagai alat utama untuk mengukur daya terima terhadap makanan. Analisis ini dilakukan pada 25 orang panelis. Karena adanya kesulitan untuk mendapatkan 25 orang penderita autis yang memiliki kesamaan untuk digunakan sebagai panelis maka uji organoleptik ini dilakukan pada panelis *non* autis. Parameter yang diujikan yaitu rasa, tekstur, aroma dan warna. Hasil uji oragoleptik dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Organoleptik

Parameter	Tertinggi		Terendah	
	Nilai	Perlakuan	Nilai	Perlakuan
Rasa	3.40 (netral)	Perlakuan rasio tepung MOCAF dengan tepung kacang hijau 55 : 45 dan tingkat penambahan margarin 35%	2.68 (tidak disukai)	Perlakuan rasio tepung MOCAF dengan tepung kacang hijau 55 : 45 dengan tingkat penambahan margarin 25%
Tekstur	3.76 (disukai)	Perlakuan rasio tepung MOCAF dengan tepung kacang hijau 65 : 35 dan tingkat penambahan margarin 35%	3.32 (netral)	Perlakuan rasio tepung MOCAF dengan tepung kacang hijau 75 : 25 dengan tingkat penambahan margarin 25%
Aroma	3.64 (disukai)	Perlakuan rasio tepung MOCAF dengan tepung kacang hijau 65 : 35 dan tingkat penambahan margarin 25%	3.20 (netral)	Perlakuan rasio tepung MOCAF dengan tepung kacang hijau 85 : 15 dengan tingkat penambahan margarin 25%
Warna	3.72 (disukai)	Perlakuan rasio tepung MOCAF dengan tepung kacang hijau 65 : 35 dan tingkat penambahan margarin 25%	2.88 (tidak disukai)	Pada perlakuan rasio tepung MOCAF dengan tepung kacang hijau 75 : 25 dengan tingkat penambahan margarin 25%

11. Perlakuan Terbaik

Pemilihan perlakuan terbaik menggunakan metode indeks efektifitas ditentukan oleh panelis terhadap parameter kimia dan fisik serta organoleptik biskuit. Data panelis yang telah diperoleh pembobotannya kemudian dilakukan perhitungan menggunakan metode indeks efektifitas atau metode De Garmo [16]

Berdasarkan parameter fisik dan kimia diperoleh biskuit hasil perlakuan terbaik yaitu pada proporsi tepung MOCAF dan tepung kacang hijau 55 : 45 dengan tingkat penambahan margarin 25% dengan nilai NP 1.31. Karakteristik fisik dan kimia biskuit perlakuan terbaik dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Karakteristik Biskuit Perlakuan Terbaik secara Fisik dan Kimia

Karakteristik	Parameter	Nilai
Fisik	Daya Kembang (%)	71.69
	Daya Patah (N)	12.55
	Kecerahan (L)	57.06
	Kemerahan (a+)	17.10
	Kekuningan (b+)	29.60
Kimia	Kadar Abu (%)	0.66
	Kadar Air (%)	8.74
	Kadar Lemak (%)	18.59
	Kadar Pati (%)	48.47
	Kadar Serat Kasar (%)	3.68

Tabel 4. Perbandingan Biskuit menurut SNI dengan Biskuit Perlakuan Terbaik secara Fisik Kimia

Parameter	SNI	Perlakuan Terbaik secara Fisik Kimia
Air (% b/b)	Maks 5.0 ^a	8.74
Abu (% b/b)	Maks 1.6 ^a	0.66
Lemak (% b/b)	Min 9.5 ^a	18.59
Karbohidrat (% b/b)	Min 70.0 ^a	48.47 (kadar pati)
Serat Kasar (% b/b)	Maks 0.5 ^a	3.68
Jenis Tepung	Tepung Terigu ^a	Tepung MOCAF dan Tepung Kacang Hijau

Sumber : a. [17]

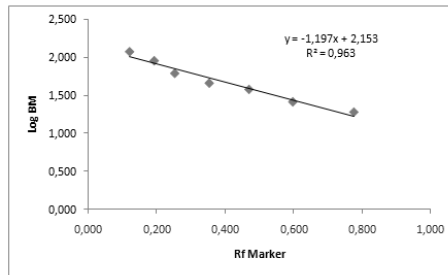
Dari Tabel 4 diketahui bahwa terdapat beberapa parameter yang tidak sesuai dengan SNI yaitu pada parameter kadar air, karbohidrat dan serat kasar. Perbedaan tersebut dapat disebabkan karena perbedaan jenis varietas, umur komoditas maupun tempat tumbuh komoditas yang di gunakan. Hal ini sesuai dengan literatur yang menyatakan bahwa perbedaan analisis kimia suatu bahan dapat di pengaruhi oleh perbedaan tersebut dapat disebabkan karena beberapa faktor yakni perbedaan varietas, tempat tumbuh maupun cara budidaya [18].

12. Analisis Profil Protein

Pemisahan protein dengan metode elektroforesis bertujuan untuk melihat ada tidaknya profil protein gluten dan kasein pada produk biskuit yang dihasilkan. Adapun protein gluten terdiri dari glutenin dan gliadin. Berat molekul dari glutenin berkisar antara 60 – 140 kDa. Sedangkan gliadin memiliki berat molekul antara 16 – 50 kDa. Kasein terdiri atas empat jenis polipeptida, yaitu α 1-kasein (39–46% dari total kasein), α 2-kasein (8–11% dari total kasein), β -kasein (25–35% dari total kasein), dan κ -kasein (8–15% dari total kasein). Berat Molekul (BM) α 1-kasein, β -kasein dan κ -kasein berkisar 30 – 38 kDa sedangkan BM α 2-kasein \pm 36 kDa [19].

Dalam pemisahan protein ini marker yang digunakan yaitu marker protein prestain. Adapun jumlah sumuran yang terdapat pada uji ini berjumlah 13 sumuran. Menentukan molekul relatif protein dilakukan dengan menghitung nilai *Retardation Factor* (Rf) dari masing-masing pita dengan rumus :

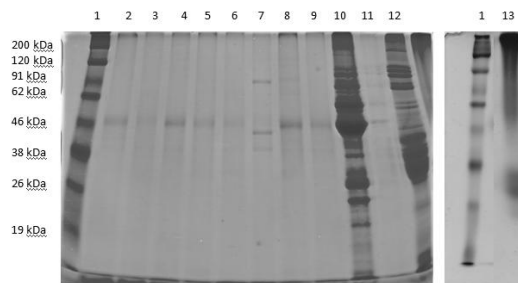
$$Rf = \frac{\text{Jarak pergerakan protein dari tempat awal (a)}}{\text{Jarak pergerakan pelarut dari tempat awal (b)}}$$



Gambar 9. Persamaan Regresi Linier antara Rf Marker dengan Log BM

Dalam pewarnaan gel, semakin tinggi konsentrasi protein pada suatu pita maka pita yang dihasilkan akan tampak jelas dan tebal. Namun, apabila konsentrasi protein pada suatu pita rendah maka pita yang dihasilkan akan tampak tipis. Sedangkan jumlah pita yang terbentuk menunjukkan jenis protein penyusun. Semakin banyak pita yang terbentuk maka jenis protein penyusun suatu bahan semakin banyak dan jika jumlah pita yang terbentuk sedikit maka jenis protein penyusun suatu bahan semakin sedikit [20].

Hasil SDS PAGE protein sampel biskuit, bahan baku tepung MOCAF dan tepung kacang hijau dapat dilihat pada gambar 10. Dari hasil SDS PAGE, tampak bahwa pita-pita protein pada sampel biskuit sangat tipis dan jumlahnya lebih sedikit jika dibandingkan dengan pita-pita protein pada bahan baku yaitu tepung MOCAF dan tepung kacang hijau. Hal ini dapat disebabkan karena faktor proses pengolahan pada sampel biskuit yaitu dengan adanya penggunaan panas yang cukup tinggi pada proses pemanggangan yang menyebabkan protein dalam produk menjadi rusak sehingga kadarnya sedikit akibatnya pita yang dihasilkan tampak tipis. Karena kadar proteinnya sedikit maka jenis protein penyusunnya juga sedikit, akibatnya jumlah pita yang terbentuk juga sedikit. Sedangkan pada bahan baku yaitu tepung MOCAF dan tepung kacang hijau menghasilkan pita-pita protein yang lebih jelas, diduga karena kedua bahan baku tersebut belum mengalami proses pengolahan seperti penggunaan panas yang cukup tinggi seperti di produk biskuit.



Gambar 10. Hasil Scan Elektroforesis

- Keterangan:
1. Sumur 1 : Marker protein prestain
 2. Sumur 2 : Biskuit level 1 (perlakuan 1)
 3. Sumur 3 : Biskuit level 2 (perlakuan 2)
 4. Sumur 4 : Biskuit level 3 (perlakuan 3)
 5. Sumur 5 : Biskuit level 4 (perlakuan 4)
 6. Sumur 6 : Biskuit level 5 (perlakuan 5)
 7. Sumur 7 : Biskuit level 6 (perlakuan 6)
 8. Sumur 8 : Biskuit level 7 (perlakuan 7)
 9. Sumur 9 : Biskuit level 8 (perlakuan 8)
 10. Sumur 10 : Tepung Kacang Hijau
 11. Sumur 11 : Tepung MOCAF
 12. Sumur 12 : Kontrol Positif Gluten (Gluten murni)
 13. Sumur 13 : Kontrol Positif Kasein (Kasein murni)

Tebal tipisnya pita yang terbentuk menunjukkan konsentrasi protein pada suatu bahan. Semakin tebal maka konsentrasi semakin tinggi dan jika konsentrasi semakin sedikit maka pita semakin tipis. Sedangkan jumlah pita yang terbentuk menunjukkan jenis protein penyusun. Semakin banyak pita yang terbentuk maka jenis protein penyusun suatu bahan semakin banyak dan sebaliknya jika jumlah pita yang terbentuk sedikit maka jenis protein penyusun suatu bahan semakin sedikit.

Pada bahan baku, terdapat lebih banyak pita dibanding pita pada produk biskuit, hal ini menunjukkan bahwa jenis protein penyusun di bahan baku lebih banyak dan pita yang terbentuk juga lebih tebal yang berarti kandungan protein dalam bahan baku lebih banyak. Untuk pita tepung MOCAF mempunyai jumlah pita yang lebih sedikit dan lebih tipis dibanding pita tepung kacang hijau karena protein pada tepung MOCAF maksimum 1% sedangkan protein pada tepung kacang hijau yaitu 19.09% sehingga karena kadar protein di tepung MOCAF lebih sedikit maka protein penyusun pada tepung MOCAF pun lebih sedikit.

Pada biskuit, jumlah pita yang terbentuk lebih sedikit. Hal ini menunjukkan bahwa jenis protein penyusunnya sedikit dan pita yang terbentuk juga terlihat lebih tipis yang berarti kandungan protein dalam bahan sedikit. Hal ini dapat disebabkan karena adanya proses pengolahan yaitu proses pengovenan bahan yang menggunakan suhu cukup tinggi (170-180°C) yang mengakibatkan denaturasi protein pada produk biskuit. Sehingga pita yang dihasilkan pada produk biskuit lebih sedikit dan pita tampak lebih tipis.

Kisaran nilai BM dari sampel biskuit (perlakuan pertama sampai biskuit perlakuan kedelapan) yaitu 52.89 kDa - 82.88 kDa. Sedangkan kisaran nilai BM tepung kacang hijau yaitu 10.58 kDa – 118.59 kDa dan untuk kisaran nilai BM tepung MOCAF adalah 52.89 kDa – 94.73 kDa. Berdasarkan pita yang terbentuk, diketahui bahwa protein gluten dan kasein tidak terdapat pada sampel biskuit dan bahan baku tepung MOCAF dan tepung kacang hijau. Hal ini dibuktikan dengan tidak adanya BM pita protein yang dimiliki protein gluten dan kasein yang sama seperti BM pita protein di sampel biskuit dan tepung MOCAF serta tepung kacang hijau.

13. Analisis Fruktosa secara Kualitatif pada Biskuit Perlakuan Terbaik

Uji selivanoff adalah uji yang spesifik dalam mengidentifikasi gula ketosaheksosa seperti fruktosa. Dalam pengujian ini golongan aldosa tidak bereaksi atau bereaksi negatif (hasil reaksi berwarna kuning) sedangkan ketosa mengalami proses dehidrasi untuk memberikan derivat furfuralnya yang kemudian akan mengalami kondensasi dengan resorcinol dan membentuk senyawa kompleks yang berwarna merah (bereaksi positif) [21]

Dari hasil uji fruktosa secara kualitatif dengan metode selivanoff diketahui bahwa kedua sampel biskuit terbukti mengandung gula fruktosa. Hal ini di buktikan dengan terbentuknya senyawa kompleks yang berwarna merah dari hasil reaksi antara sampel biskuit dengan reagen resorcinol. Pernyataan tersebut di dukung oleh tinjauan pustaka yang menyatakan bahwa fruktosa berwarna merah ceri dengan reagen selivanoff resorsinol-HCl [22]

SIMPULAN

Faktor rasio tepung MOCAF dan tepung kacang hijau berpengaruh nyata ($\alpha = 5\%$) terhadap kadar abu, air, pati, serat kasar, daya kembang dan kecerahan (L) biskuit. Sedangkan faktor penambahan margarin berpengaruh nyata ($\alpha = 5\%$) terhadap kadar lemak dan daya patah biskuit.

Biskuit perlakuan terbaik secara fisik kimia (metode De Garmo) di peroleh pada perlakuan rasio tepung MOCAF dan tepung kacang hijau 55 : 45 dengan tingkat penambahan margarin 25%. Perlakuan ini memiliki karakteristik : kadar abu 0.66%, kadar air 8.74%, kadar lemak 18.59%, kadar pati 48.47%, kadar serat kasar 3.68%, daya kembang 71.69%, daya patah 12.55 N dan kecerahan (L) 57.06.

Hasil uji elektroforesis membuktikan bahwa baik di bahan baku (tepung MOCAF, tepung kacang hijau) dan sampel (biskuit) tidak terdapat gluten maupun kasein.

Uji selivanoff untuk perlakuan terbaik secara fisik kimia membuktikan bahwa gula yang terkandung dalam produk biskuit adalah fruktosa.

DAFTAR PUSTAKA

- 1) Ibrahim SH, Voigt RG, Katusic SK, Weaver AL and Barbaresi WJ. 2009. Incidence Of Gastrointestinal Symptoms In Children With Autism: A Population Study. *Pediatrics*, Vol.124(2):680.
- 2) Mathews J. 2009. Diet for Autism: Food Allergens, Sensitivities and Substitutes. *Clin Exp Allergy*, Vol.39(2):261-270.
- 3) Newschaffer CJ, Croen LA, Daniels J. 2007. The Epidemiology Of Autism Spectrum Disorders. *Annu Rev Public Health*, Vol.28:235–258.
- 4) Pirson F. 2006. Food Allergy: A Challenge For The Clinician. *Acta Gastroenterol Belg*, Vol.69: 38-42.
- 5) Carsodo. AP, Mirlone E, Enerseto M, Massaza F, Cliff J, Hague MR, Bradbury JH. 2005. Processing Of Cassave Roots To Remove Cyanogens. *Journal Of Food Composition and Analysis*, Vol.18:451-460.
- 6) Komah, RI. 2013. Pengaruh Substitusi Tepung Kacang Hijau Terhadap Tingkat Kesukaan Kue Jongkong. *Jurnal Pangan*, Vol.2:18-24.
- 7) Jansen, S dan Sanggam, DRT. 2002. Asam Lemak Trans dalam Makanan dan Pengaruhnya Terhadap Kesehatan. *Jurnal Teknologi Pangan*, Vol.XIII:2.
- 8) AOAC. 1990. Official Methods of Analysis of the Association of Official of Analytical Chemist. AOAC, Inc. Washington D. C.
- 9) Sudarmadji, SBH dan Suhardi. 1997. Prosedur Analisis Untuk Bahan Makanan dan Pertanian. Penerbit Liberty. Yogyakarta.
- 10) Tim Laboratorium Biologi Molekuler dan Seluler. 2009. Prosedur SDS PAGE. Jurusan Biologi FMIPA Universitas Brawijaya. Malang.
- 11) Yuwono, SS. dan T. Susanto. 1998. Pengujian Fisik Pangan. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya. Malang.
- 12) Tim Laboratorium Biokimia. 2009. Diktat Penuntun Praktikum Biokimia Umum. Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya. Malang.
- 13) Rahman, AM. 2007. Mempelajari Karakteristik Kimia dan Fisik Tepung Tapioka dan MOCFAF (*Modified Cassava Flour*) sebagai Penyalut Kacang pada Produk Kacang Salut. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- 14) Setyaningtyas, AG. 2008. Formulasi Produk Pangan Darurat Berbasis Tepung Ubi Jalar, Tepung Pisang, dan Tepung Kacang Hijau Menggunakan Teknologi Intermediate Moisture Food (Imf). Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- 15) Kinanti, WL. 2009. Karakteristik Biskuit Wortel (Kajian Proporsi Bubur Wortel : Tepung Jagung – Tepung Tapioka Serta Lama Waktu Pengukusan). Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang.
- 16) De Garmo, ED, Sullivan WG and Canada JR. 1984. Engineering Economy. 7th edition. Mac Millan Publishing Company. New York.
- 17) Dewan Standarisasi Nasional. 1994. SNI 01-3702-1994. Jakarta.
- 18) Nurbaya, S. 2013. Pemanfaatan Talas Berdaging Umbi Kuning dalam Pembuatan Cookies. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, Vol 1:1.
- 19) Nakai, S. and HW Modler. 2006. Food Proteins Properties and Characterization. Food Science and Technology. American Food and Nutrition Center, Vol.4(1):168-224.
- 20) Widjiati, Zaenal dan Lianny. 2008. Identifikasi Growth Differentiation Factor-9 (GDF-9) Pada Oosit Sapi Yang Dimaturasi Secara In Vitro Dengan Metode Elektroforesis. *Jurnal Ilmu Peternakan*, Vol.3(2):64-71.
- 21) Sumarni, NK dan Rahmat Basuki. 2012. Optimalisasi Hidrolisis Sukrosa Menggunakan Resin Penukar Kation Tipe Sulfonat. *Jurnal Natural Science*, Vol.1(1):119-131.
- 22) Ratnayani, N, Adhi, D dan Gitadewi, I. 2008. Penentuan Kadar Glukosa dan Fruktosa Pada Madu Randu dan Madu Kelengkeng. *Jurnal Pangan*, Vol.2:77-86.