

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret sampai dengan Oktober 2023.

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Pangan Fakultas Pertanian-Peternakan, Universitas Muhammadiyah Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan untuk pembuatan tepung kacang merah antara lain *cabinet dryer*, baskom, panci, blender, dan ayakan 80 mesh. Alat yang digunakan pada pembuatan gluten yaitu baskom. Alat yang digunakan untuk pembuatan daging analog yaitu baskom, panci, timbangan digital, alat cetak daging. Alat yang digunakan untuk analisis antara lain kertas saring, penjepit, batang pengaduk, pipet ukur, filler, kurs porselen, gelas ukur, *beaker glass*, erlenmeyer, labu lemak, labu Kjeldahl, satu set alat ekstraksi soxhlet, satu set alat destilasi, desikator (Glaswerk Wertheim), timbangan analitik (Shimadzu), oven (memmert), *hot plate* (Maspion S-301), *texture analyzer*, satu set alat titrasi, pendingin balik, *chorong buchner*, *waterbath*, dan perlatan lainnya yang digunakan untuk analisis.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan untuk pembuatan tepung kacang merah yaitu kacang merah merk FINNA yang didapatkan dari supermarket di Malang. Bahan yang digunakan dalam pembuatan gluten yaitu tepung terigu protein tinggi merk Cakra Kembar yang didapatkan dari supermarket di Malang. Adapun bahan yang digunakan dalam pembuatan daging analog antara lain tepung kacang merah, gluten, isolat protein kedelai yang didapat dari toko *online*, dan air. Bahan yang

digunakan pada proses analisis antara lain akuades, H₂SO₄ pekat, NaOH 3,25%, NaOH 50%, H₂SO₄ 1,25%, H₃BO₃, HCl 0,02 N, antibuih, etanol 96%, petroleum ether, tablet Kjeldahl dan beberapa bahan kimia lainnya.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini terdiri dari 3 tahap, yaitu pembuatan tepung kacang merah, pembuatan gluten dan pembuatan daging analog. Penelitian yang dilakukan yaitu penelitian kuantitatif menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) sederhana yang terdiri dari 1 faktor yaitu variasi penambahan gluten dan isolat protein kedelai. Variasi penambahan gluten dan isolat protein kedelai yang digunakan terdiri dari 6 perlakuan. Tiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali sehingga diperoleh 18 unit percobaan. Perlakuan yang diterapkan dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 1. Perlakuan Tepung Kacang merah, Gluten dan Isolat Protein Kedelai

Perlakuan	Gluten	Isolat Protein Kedelai
A1	65%	35%
A2	60%	40%
A3	55%	45%
A4	50%	50%
A5	45%	55%
A6	40%	60%

Keterangan :

A1 = Gluten 65% : Isolat protein kedelai 35%

A2 = Gluten 60% : Isolat protein kedelai 40%

A3 = Gluten 55% : Isolat protein kedelai 45%

A4 = Gluten 50% : Isolat protein kedelai 50%

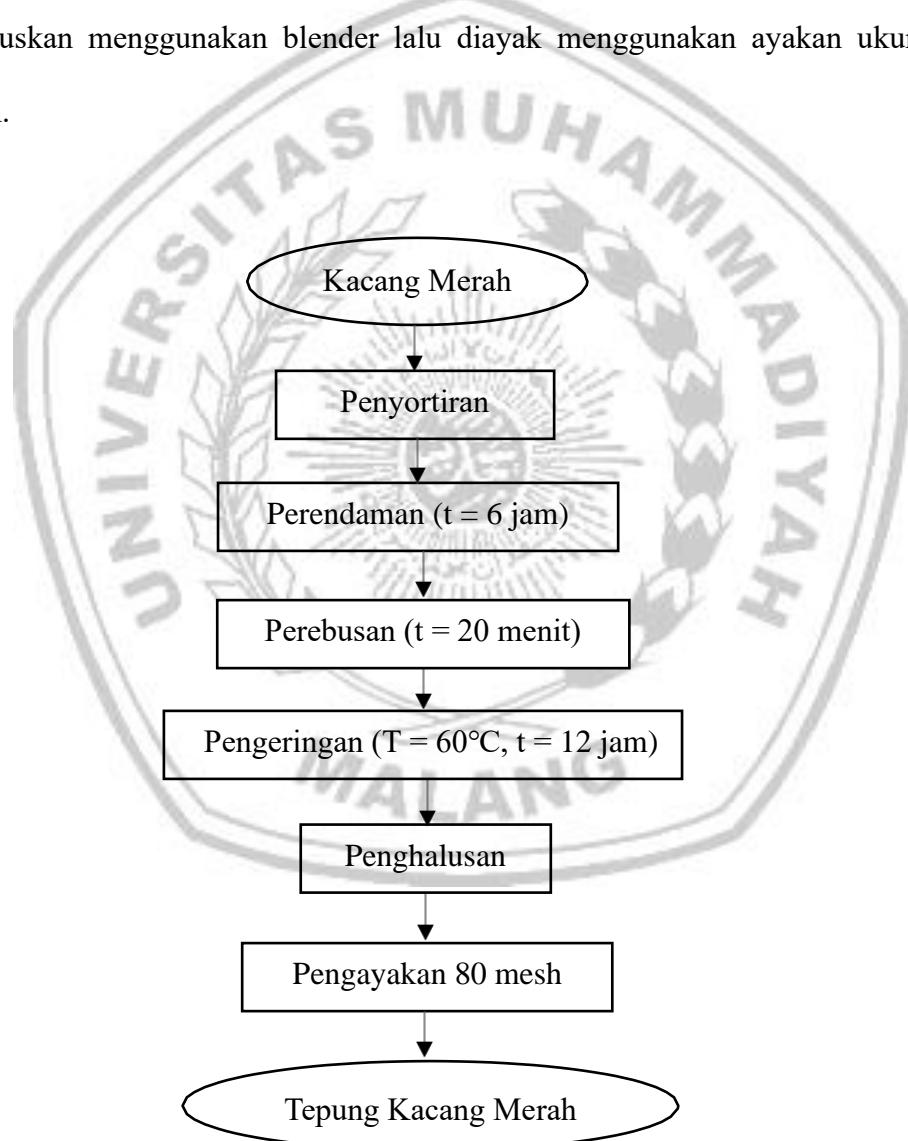
A5 = Gluten 45% : Isolat protein kedelai 55%

A6 = Gluten 40% : Isolat protein kedelai 60%

3.4 Tahapan Penelitian

3.4.1 Pembuatan Tepung Kacang Merah

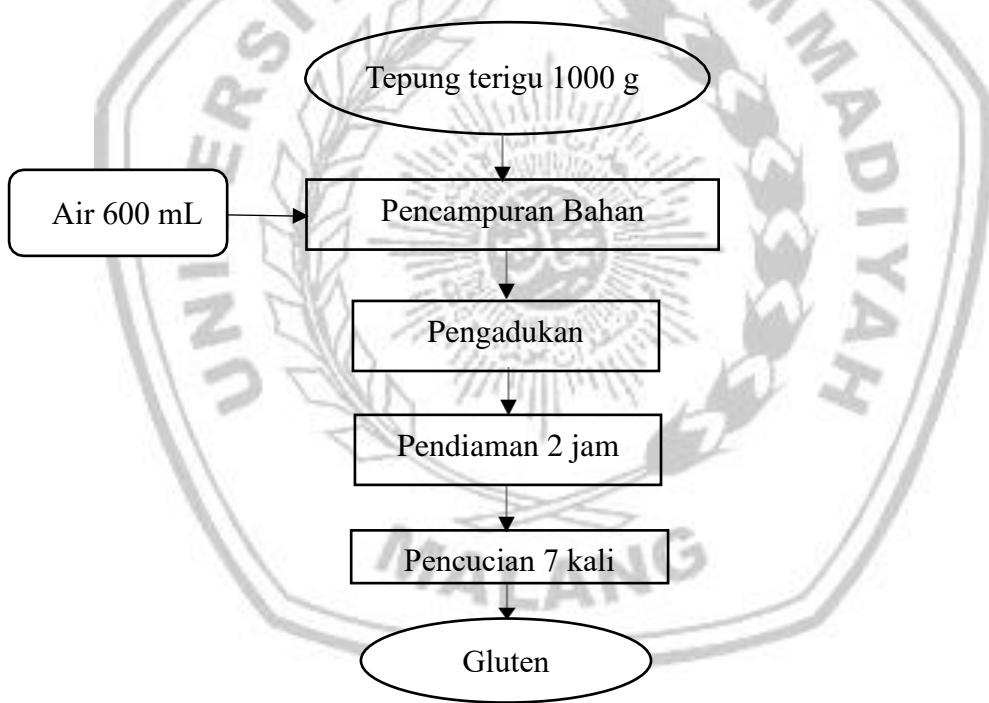
Proses pembuatan tepung kacang merah mengacu pada penelitian Praptiningrum (2015) dengan modifikasi. Kacang merah disortir lalu dilakukan perendaman selama 6 jam, hasil perendaman ditiriskan dan direbus selama 20 menit. Selanjutnya kacang merah hasil perebusan dikeringkan selama 12 jam menggunakan *cabinet dryer* dengan suhu 60°C. Hasil pengeringan kacang merah dihaluskan menggunakan blender lalu diayak menggunakan ayakan ukuran 80 mesh.



Gambar 1. Diagram Alir Proses Pembuatan Tepung Kacang Merah (Modifikasi Praptiningrum, 2015)

3.4.2 Pembuatan Gluten

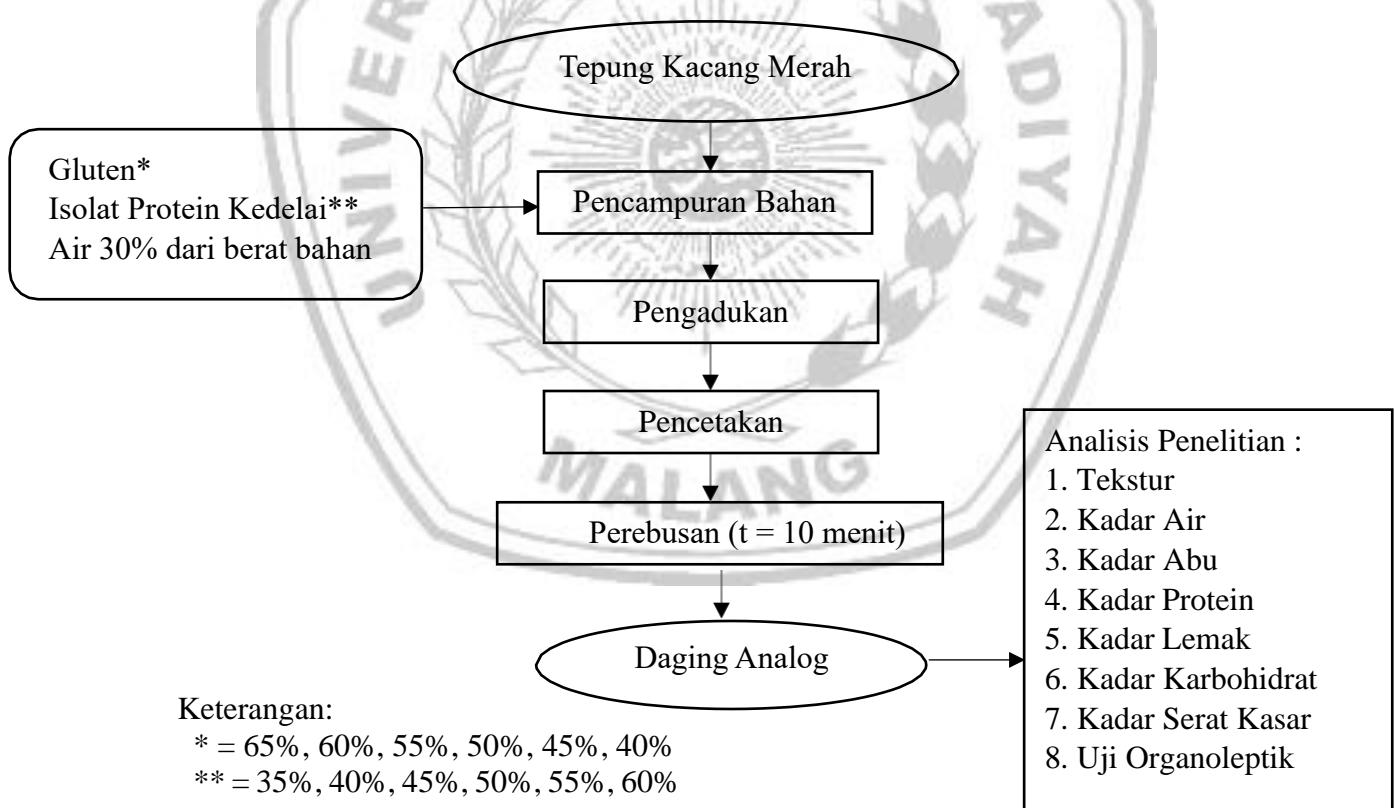
Menurut penelitian Wardani dan Widjanarko (2013) dengan modifikasi gluten dapat diekstraksi dari tepung terigu protein tinggi. Proses pembuatan gluten diawali dengan mencampur tepung terigu protein tinggi merk cakra kembar 1000 g dengan air sebanyak 60% dari berat bahan, lalu diuleni sampai membentuk adonan yang kalis dan homogen. Selanjutnya adonan yang telah kalis didiamkan selama 2 jam lalu dilakukan pencucian sebanyak 7 kali dengan air sampai patinya benar-benar terpisah dari gluten. Hal ini ditandai dengan beningnya air bekas pencucian hingga membentuk gumpalan elastis seperti karet (gluten).



Gambar 2. Diagram Alir Proses Pembuatan Gluten (Modifikasi Wardani dan Widjanarko, 2013)

3.4.3 Pembuatan Daging Analog

Proses pembuatan daging analog mengacu pada penelitian Kumalasari dan Rohman (2022) dengan modifikasi. Proses pembuatan daging analog diawali dengan mencampurkan tepung kacang merah sebanyak 25 g dengan gluten, isolat protein kedelai dan air sesuai dengan formulasi yang telah ditetapkan yaitu A1 (65% : 35%), A2 (60% : 40%), A3 (55% : 45%), A4 50% : 50%), A5 (45% : 55%), dan A6 (40% : 60%) lalu bahan yang telah tercampur diaduk hingga kalis dan dilakukan pencetakan dengan model penyajian menyerupai daging burger dengan berat 50 g. Setelah dilakukan pencetakan adonan daging analog direbus selama 10 menit dan daging analog siap diolah.



Gambar 3. Diagram Alir Proses Pembuatan Daging Analog (Kumalasari dan Rohman, 2022)

Tabel 2. Formulasi Tepung Kacang Merah, Gluten dan Isolat Protein Kedelai

Bahan	A1	A2	A3	A4	A5	A6
Tepung Kacang Merah (g)	25	25	25	25	25	25
Gluten (g)	16,25	15	13,75	12,5	11,25	10
Isolat Protein Kedelai (g)	8,75	10	11,25	12,5	13,75	15
Total (g)	50	50	50	50	50	50

3.5 Pelaksanaan Penelitian

Analisis yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu analisis bahan baku pada tepung kacang merah, gluten dan isolat protein kedelai serta analisis fisikokimia daging analog. Analisis bahan baku terdiri dari analisis proksimat dan analisis serat kasar. Analisis kimia daging analog meliputi analisis kadar air metode gravimetri (AOAC, 2005), analisis kadar abu (AOAC, 2005), analisis kadar protein metode kjeldahl (AOAC, 2005), analisis kadar lemak metode soxhletasi (AOAC, 2005), analisis kadar karbohidrat metode *by difference*, analisis serat kasar (AOAC, 2005), dan analisis fisik yang yaitu tekstur menggunakan *texture analyzer*, dan uji organoleptik dengan parameter warna, aroma, tekstur, serta keseluruhan.

3.5.1 Kadar Air Metode Gravimetri (AOAC, 2005)

1. Kurs porselen dimasukkan ke dalam oven pada suhu 100-105°C selama 24 jam untuk dikeringkan.
2. Kurs porselen yang telah melewati proses pengeringan diletakkan dalam desikator selama 15 menit.
3. Kurs porselen yang telah dingin, ditimbang lalu dicatat sebagai berat kurs kosong.
4. Sampel dihancurkan lalu timbang sebanyak 2g dan letakkan di kurs yang telah dikeringkan sebelumnya, kemudian hasil timbang dicatat sebagai berat sampel.
5. Sampel dikeringkan menggunakan oven pada suhu 100-105°C selama 4 jam.

6. Sampel didinginkan menggunakan desikator selama 15 menit lalu ditimbang dan dicatat sebagai berat akhir.
7. Kadar air dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Kadar Air (\%)} = \frac{\text{berat akhir-berat cawan}}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$$

3.5.2 Kadar Abu (AOAC,2005)

1. Kurs porselen dimasukkan ke dalam oven pada suhu 100-105°C selama 24 jam untuk dikeringkan.
2. Kurs porselen yang telah melewati proses pengeringan diletakkan ke dalam desikator selama 15 menit.
3. Kurs porselen yang telah dingin, ditimbang lalu dicatat sebagai berat kurs kosong.
4. Sampel dihancurkan lalu timbang sebanyak 2g dan letakkan di kurs yang telah dikeringkan sebelumnya, kemudian hasil timbang dicatat sebagai berat sampel.
5. Sampel diletakkan ke dalam tanur selama 5 jam pada suhu 600°C.
6. Sampel didinginkan menggunakan desikator selama 15 menit lalu timbang dan catat sebagai berat akhir.
7. Kadar Abu dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Kadar Abu (\%)} = \frac{\text{berat akhir-berat cawan}}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$$

3.5.3 Kadar Protein Metode kjeldahl (AOAC, 2005)

1. Sampel dihancurkan lalu ditimbang sebanyak 0,1 gram.
2. Sampel dimasukkan ke dalam labu kjeldahl 100 mL lalu tambahkan katalisator sebanyak 0,5 gram dan 10 mL H₂SO₄ pekat.
3. Sampel didestruksi hingga larutan berwarna jernih selama 1-1,5 jam lalu

didinginkan.

4. Sampel hasil destruksi ditambahkan 15 mL aquades dan 10 mL NaOH 50% sebelum dimasukkan dalam alat destilasi.
5. Sampel hasil destruksi diletakkan dalam erlenmeyer yang telah berisi 15 mL larutan jenuh H_3BO_3 .
6. Sampel didestilasi hingga destilat berwarna hijau.
7. Sampel hasil destilasi kemudian dititrasi hingga berubah menjadi warna merah muda menggunakan larutan HCl 0,02 N.
8. Kadar Protein dapat dihitung menggunakan rumus :

$$N (\%) = \frac{V_{HCl} \times N_{HCl} \times 14,008}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$$

$$\text{Kadar protein (\%)} = \% N \times 6,25$$

3.5.4 Kadar Lemak Metode Soxhletasi (AOAC, 2005)

1. Labu lemak dimasukkan ke dalam oven selama 24 jam untuk dikeringkan pada suhu 100°C.
2. Labu lemak didinginkan menggunakan desikator selama 15 menit lalu ditimbang.
3. Sampel dihancurkan lalu timbang sebanyak 2g dan dimasukkan ke dalam kertas saring.
4. Labu lemak hasil pendinginan ditambahkan pelarut *petroleum eter* sebanyak 30 mL lalu dihubungkan dengan Soxhlet dan pendingin balik pada *waterbath* pada suhu 85°C selama 4 jam.
5. Labu lemak yang berisi pelarut dan minyak dipanaskan dalam oven dengan suhu 100°C selama ±1 jam (hingga pelarut menguap) dan hanya tersisa lemak.
6. Labu lemak didinginkan dalam desikator selama 15 menit lalu ditimbang.

7. Kadar Lemak dapat dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Kadar Lemak (\%)} = \frac{\text{Berat lemak}}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$$

3.5.5 Kadar Karbohidrat (By Difference)

Kadar karbohidrat dihitung menggunakan metode *by difference* yaitu menentukan jumlah karbohidrat dengan cara mengurangi 100% dengan jumlah hasil persentase kadar air, abu, protein, dan lemak. Kadar karbohidrat dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Kadar Karbohidrat (\%)} = 100\% - \%(\text{air}+\text{abu}+\text{lemak}+\text{protein})$$

3.5.6 Kadar Serat Kasar (AOAC, 2005)

1. Kertas saring dengan diameter 12 dikeringkan dalam oven lalu ditimbang dan dicatat beratnya.
2. Sampel bebas lemak yang telah diekstraksi dengan metode soxhlet ditimbang sebanyak 2g dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer khusus serat.
3. Sampel ditambahkan larutan H_2SO_4 1,25% sebanyak 50 mL dan dipanaskan menggunakan refluks selama 30 menit.
4. Sampel hasil pemanasan sebelumnya ditambahkan NaOH 3,25% sebanyak 50 mL dan dipanaskan kembali menggunakan refluks selama 30 menit.
5. Larutan disaring (dalam keadaan panas) menggunakan *chorong buchner* yang telah diberi kertas saring.
6. Endapan dicuci berturut-turut menggunakan 25 mL H_2SO_4 1,25% panas, 25 mL ethanol 96% panas, dan 25 mL aquades panas.
7. Kertas saring yang berisi residu dikeringkan menggunakan oven selama 15 menit dengan suhu 105°C.

8. Kertas saring hasil pengeringan didinginkan selama 15 menit menggunakan desikator lalu timbang dan catat berat akhirnya.
9. Kadar serat dapat dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Kadar Serat Kasar (\%)} = \frac{\text{Kertas saring akhir-kertas saring kosong}}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$$

3.5.7 Tekstur

1. *Texture analyzer* dinyalakan dan dikalibrasi.
2. Sampel diletakkan di bawah meja penekanan.
3. Penekanan dilakukan sebanyak 1 kali dan jarak pada sampel diatur hingga setinggi 1,5 mm/s.
4. Data hasil pergerakan alat akan tertera pada layar dalam bentuk grafik.
5. Nilai kekerasan (*hardness*) ditentukan dari maksimal gaya pada tekanan pertama dan dinyatakan dalam satuan newton (N).

3.5.8 Uji Organoleptik

Uji organoleptik dilakukan untuk mengetahui penilaian panelis terhadap produk daging analog berdasarkan berbagai parameter, meliputi aroma, tekstur, warna, dan keseluruhan. Uji organoleptik dilakukan oleh 30 panelis tidak terlatih yang akan menilai produk daging analog kacang merah dengan variasi penambahan gluten dan isolat protein kedelai. Produk yang diuji akan dinilai berdasarkan skala dari 1 hingga 5 yang merupakan tingkat penerimaan panelis terhadap produk yang diuji. Pengujian dilakukan dengan memberikan sampel dengan kode yang berbeda kepada 30 panelis tidak terlatih. Kemudian, panelis dapat menilai sampel sesuai dengan skala deskriptif yang tersedia.

Tabel 3. Skor Skala Uji Organoleptik

Skor	Aroma	Tekstur	Warna	Keseluruhan
1	Sangat tidak langu	Sangat tidak kenyal	Sangat tidak cerah	Sangat tidak suka
2	Tidak langu	Tidak kenyal	Tidak cerah	Tidak suka
3	Agak langu	Agak kenyal	Agak cerah	Agak suka
4	Langu	Kenyal	Cerah	Suka
5	Samgat langu	Sangat kenyal	Sangat Cerah	Sangat suka

3.6 Analisis Data

Data hasil penelitian yang diperoleh dilakukan analisis menggunakan *Analysis of Variance (ANOVA)* untuk melihat pengaruh dari perlakuan yang dilakukan pada tingkat kepercayaan $\alpha = 0,01$ dan $\alpha = 0,05$. Apabila terjadi pengaruh sangat nyata dan nyata maka data yang diperoleh akan dilanjutkan dengan uji pembeda menggunakan uji DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) pada taraf 5%.

