

KARAKTERISTIK KIMIA ROTI TEPUNG BERAS DENGAN TAMBAHAN ENZIM TRANSGLUTAMINASE

CHEMICAL CHARACTERISTICS OF BREAD FROM RICE WITH THE ADDITION OF TRANSGLUTAMINASE ENZYME

Ani Nuraisyah, Sapta Raharja^{*}, dan Faqih Udin

Departemen Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor
Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680, Jawa Barat, Indonesia
Email: saptaraharja.ipb@gmail.com

Makalah: Diterima 7 Januari 2018; Diperbaiki 20 November 2018; Disetujui 2 Desember 2018

ABSTRACT

The effect of crosslinking by transglutaminase in rice flour was done to improve the characteristics of rice bread. The aims of this research was to obtain the optimum treatment of the combination of enzyme concentration and the substrate protein concentration of glutamine in gluten and lysine in skim milk so that the bread that is expected to produce a product that has the characteristics of a good and accepted by society. The response surface methodology (RSM) with central composite design (CCD) was used to obtain mathematical model in order to define correlation to any effected variables. Chemical characteristics have been observed from rice bread products. Based on the analysis of the two factor variables (concentration of transglutaminase enzyme and protein concentration) and four response parameters, namely moisture content, ash content, fat content, and protein content. The optimum solution suggested by Design expert 7.0.0 program for chemical characteristic response was 45% protein concentration and 4 U/g enzyme concentration with a desirability value of 0.518. Validation test of chemical characteristics of the rice bread are moisture content of 37.56%, ash content 1.75%, fat content 0.40%, and protein content 12.63%. Rice bread produced in the research has fulfilled the quality requirements for bread based on SNI No. 01-3840-1995 namely maximum moisture content of 40% (b/b) and maximum ash content of 1% (b/b).

Keywords: gluten, RSM, skim milk, rice flour, transglutaminase enzyme

ABSTRAK

Pengaruh taut silang oleh transglutaminase dalam tepung beras dilakukan dalam upaya memperbaiki karakteristik roti dari tepung beras. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan perlakuan optimum kombinasi konsentrasi enzim dan konsentrasi protein substratnya ialah asam amino glutamin pada gluten dan lisin pada susu skim sehingga roti yang diharapkan menghasilkan produk yang memiliki karakteristik yang baik dan diterima oleh masyarakat. Metode yang digunakan *response surface methodology* (RSM) dengan *central composite design* (CCD). Karakteristik kimia telah diamati dari produk roti tepung beras. Berdasarkan analisis dua variabel faktor (konsentrasi enzim transglutaminase dan konsentrasi protein) dan empat variabel respons diantaranya kadar air, kandungan abu, kadar lemak, dan protein. Solusi optimum yang disarankan oleh program *Design expert 7.0.0* untuk respons karakteristik kimia adalah konsentrasi protein 45% dan konsentrasi enzim 4 U/g dengan nilai desirabilitas 0,518. Uji validasi karakteristik kimia roti tepung beras yang diperoleh dengan kadar air 37,56%, kadar abu 1,75%, kadar lemak 0,40%, dan kadar protein 12,63%. Roti beras yang dihasilkan pada penelitian ini telah memenuhi persyaratan mutu roti tawar berdasarkan SNI No. 01-3840-1995 ialah kadar air maksimal 40% (b/b) dan kadar abu maksimal 1% (b/b).

Kata kunci: enzim transglutaminase, gluten, RSM, susu skim, tepung beras

PENDAHULUAN

Jumlah penduduk di Indonesia yang terus meningkat berdampak pada semakin meningkatnya kebutuhan permintaan produk pangan, salah satunya ialah produk *bakery* atau roti. Produk *bakery* saat ini bukan hanya dilihat sebagai makanan sampingan, melainkan sudah menjadi makanan pokok bagi sebagian masyarakat Indonesia, terutama bagi sebagian besar masyarakat perkotaan. Bahkan dikalangan remaja dan anak-anak, produk *bakery* mulai bisa menggeser nasi sebagai sumber

karbohidrat utama. Mengonsumsi roti dianggap lebih praktis bagi pola hidup masyarakat perkotaan yang cenderung mobilitasnya yang tinggi. Roti umumnya terbuat dari adonan tepung gandum. Permasalahannya adalah gandum tidak dapat tumbuh di Indonesia, sehingga untuk memenuhi permintaan tersebut Indonesia harus mengimpor gandum dari negara lain.

Salah satu komoditas yang melimpah di Indonesia adalah beras. Beras dapat digunakan sebagai bahan baku pengganti gandum. Tepung beras memiliki distribusi ukuran partikel yang sama

dengan tepung gandum. Tepung beras memiliki banyak keunikan tersendiri, seperti rasa yang hambar, warna putih, mudah dicerna, dan bersifat *hypoallergenic* (Shin *et al.*, 2010).

Tepung beras dapat diaplikasikan untuk produk rerotian sebagai pengganti gandum. Permasalahan yang timbul pada formula adonan roti dari tepung beras adalah kemampuan yang buruk dalam menahan gas CO₂ yang terbentuk dalam adonan sehingga pengembangan volume akhir produk roti kurang optimal. Hal ini karena tepung berastidak memiliki protein seperti protein tepung terigu ialah gluten. Gluten berfungsi memberi sifat elastis pada adonan dan meningkatkan volume pengembangan roti. Menurut Listyaningrum (2017), taut silang antara tepung beras dengan gluten dapat meningkatkan kualitas adonan tepung beras.

Kualitas roti juga dapat diperbaiki dengan memodifikasi protein menggunakan enzim melalui pembentukan tautan silang. Salah satu enzim yang digunakan adalah enzim transglutaminase yang mampu memperbaiki tekstur dan volume spesifik roti bebas gluten yang terbuat dari tepung beras (Moore *et al.*, 2006). Reaksi taut silang antara tautan protein residu glutamin dan lisin dtautalisis oleh transglutaminase. Transglutaminase bekerja dengan mengkatalisis transfer gugus asil dari residu asam amino lisin pada satu protein ke gugus karboksiamida pada residu asam amino glutamin pada protein yang sama atau protein lain (Ohtsuka *et al.*, 2000) sehingga membentuk tautan silang. Lisin merupakan asam amino esensial yang banyak terkandung pada susu. Protein gluten banyak mengandung asam amino glutamin.

Enzim transglutaminase membentuk tautan silang terutama pada subunit glutenin dan memodifikasi struktur protein (Steffolani *et al.*, 2012), dengan membentuk tautan kovalen antara rantai polipeptida baik dengan tautan silang oksidatif gugus SH, tautan silang residu tirosin atau reaksi asil-transfer antara residu asam amino (Joye *et al.*, 2009). Oleh karena itu, enzim transglutaminase berperan sebagai pembentuk tekstur dalam pengolahan roti dikarenakan crosslinking protein memberikan sifat viskoelastis yang baik (Kuraishi *et al.*, 2001). Lagrain *et al.* (2008) menjelaskan pada tahap mixing agregat protein gluten yang terdiri dari tautan SH dan SS akan mengalami perubahan. Tautan disulfide (SS) yang terbentuk akan menghasilkan adonan dengan viskositas rendah, sedangkan tautan thiol (SH) akan menghasilkan struktur adonan yang memiliki viskositas yang tinggi dikarenakan mobilitas molekul protein yang tinggi pula.

Penelitian ini menentukan pengaruh perlakuan konsentrasi protein (gluten dan susu skim) dan konsentrasi enzim transglutaminase pada pembuatan roti yang diharapkan menghasilkan produk yang memiliki karakteristik yang baik dan diterima oleh masyarakat. Penelitian ini bertujuan

menentukan kondisi optimum dari faktor-faktor yang mempengaruhi proses pengtautan dengan *response surface methodology* (RSM), serta mengevaluasi kualitas roti beras secara kimia (kadar air, kadar abu, kadar lemak, dan kadar protein).

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian terdiri atas bahan untuk pembuatan roti dan bahan analisis. Bahan yang digunakan untuk pembuatan roti ialah tepung beras (*Rose Brand*), tepung gluten gandum, ragi instan (*Fermipan*), air dan enzim Transglutaminase (*Taixing Dongseng Food Science & Technology Co., Ltd.* ; E.C. 2.3.2.13; aktivitas enzim 18 U/g) serta tepung gandum (Segitiga Biru) sebagai produk pembanding roti tepung beras, serta bahan kimia lain untuk analisis seperti HCl, H₂SO₄, K₂SO₄, HgO, H₃BO₃, heksan dan larutan indikator (Methylen red : Methylen blue = 2:1). Alat-alat yang digunakan terdiri atas alat pembuatan roti dan alat untuk analisis produk roti. Alat tersebut adalah cetakan kue aluminium foil (diameter atas: 6,5 cm; diameter bawah: 4 cm; tinggi: 4 cm), oven listrik, timbangan, *hand mixer*, baskom, pengaduk, dan peralatan kimia lain untuk analisis seperti: cawan porselen, cawan aluminium, labu Kjedahl, tabung reaksi, erlenmeyer, labu lemak, tanur, destاتور, alat destilasi, dan alat ekstraksi soxhlet.

Metode

Rancangan Formula Produk

Formula produk yang digunakan pada penelitian ini merupakan hasil *trial* dan *error* untuk komposisi formulasi roti tepung beras yang telah dimodifikasi dengan penambahan susu skim dan gluten serta tanpa menggunakan bahan tambahan lain yang seperti garam, *shortening*, ragi, *baking powder*, gula, air, dan gum xanthan. Jenis tepung yang digunakan pada penelitian ini hanya satu jenis ialah tepung beras sebagai sumber bahan baku utama. Hasil rancangan formula roti tepung beras yang digunakan disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Rancangan formula roti beras

Bahan	Jumlah
	Roti Tepung Beras
Tepung Beras	100 *
Gluten ***	12,5 *
Susu Skim ****	**
Ragi	1,5 *
Air	78 *
Transglutaminase	**U/g (susu+gluten) dalam sistem

* Berdasarkan persentase total tepung yang digunakan

**Variabel peubah dalam rancangan percobaan

*** % gluten adalah tetap 12,5%

**** % susu skim adalah % substrat protein - % gluten

Proses Produksi Roti Tepung Beras

Proses pembuatan roti menggunakan metode langsung (*straight dough*). Ragi yang digunakan sebanyak 1,5% dari basis total seluruh bahan yang digunakan. Air yang digunakan adalah pH netral (pH 7) sebanyak 78% dari basis bahan yang digunakan. Air dipanaskan hingga hangat dengan suhu 35-40°C. Enzim dilarutkan pada air hangat tersebut sebanyak ¾ bagian, kemudian ragi dilarutkan pada sebagian sisa air. Bahan kering seperti tepung beras, susu skim, dan gluten dicampur dan diaduk menggunakan *hand mixer* menggunakan pengaduk tipe *spiral*. Pencampuran dilakukan dengan dua tahap.

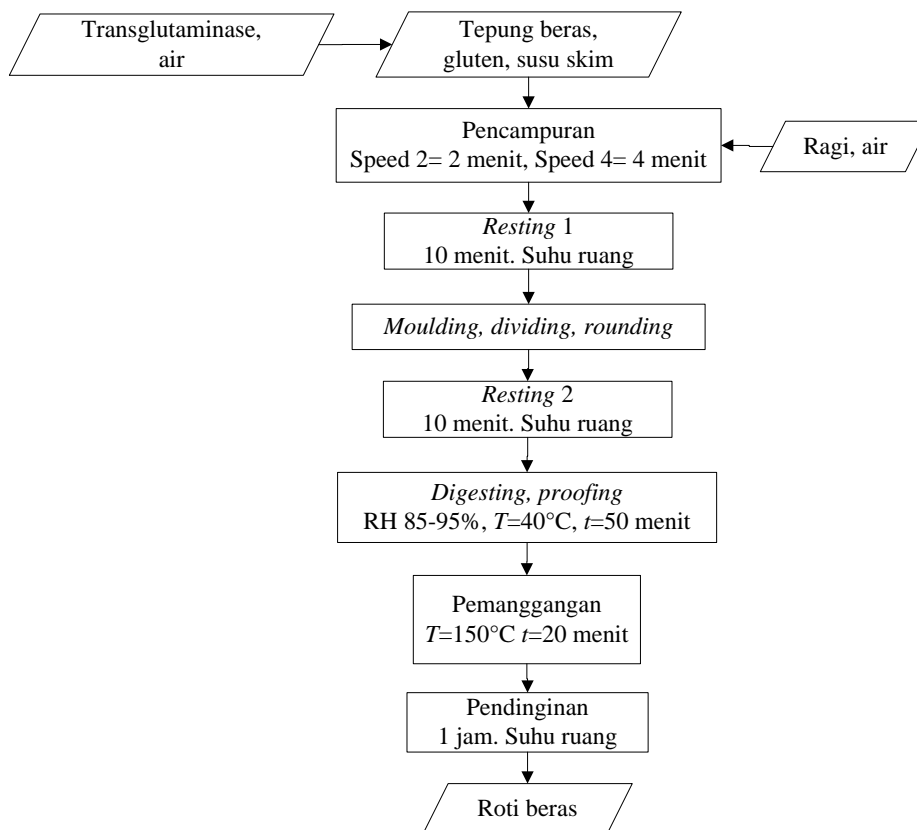
Campuran bahan diaduk hingga rata dan dilanjutkan dengan proses pembagian adonan (menyesuaikan cetakan), pembulatan dan pencetakan, *proofing*, dan pemanggangan dalam oven listrik (suhu 150°C selama 20 menit). Proses produksi roti tepung beras dapat dilihat pada Gambar 1.

Karakteristik Fisikokimia

Analisis kimia tepung yang diamati yaitu kadar air (AOAC, 1995), kadar abu (SNI-01-3451-1994), kadar lemak (AOAC, 1995 dengan Modifikasi), kadar serat kasar (AOAC 1995), dan kadar protein (Metode Kjelhdahl) (AOAC, 1995).

Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan untuk mengetahui kondisi optimal adalah RSM (*response surface methodology*). Desain percobaan yang digunakan adalah CCD (*central composite design*) dengan dua factor, yaitu konsentrasi protein (X₁) dan konsentrasi transglutaminase (X₂). Variabel respons yang dianalisis (Y) ialah kadar air, kadar abu, kadar lemak, dan kadar protein. Selanjutnya data diolah dengan *Design expert 7*. Rancangan desain rentang dan level variabel bebas dan desain matriks percobaan disajikan pada Tabel 2 dan 3.



Gambar 1. Proses produksi roti tepung beras

Tabel 2. Rancangan desain rentang dan level variabel bebas

Faktor	Kode	Taraf				
		-√2	-1	0	1	+√2
Konsentrasi protein (%)	X ₁	32,93	35	40	45	47,07
Konsentrasi Transglutaminase (U/g)	X ₂	2,34	4	8	12	13,66

Tabel 3. Desain matriks percobaan dan hasil respons

Run	Faktor		Respons
	Konsentrasi protein (%)	Konsentrasi transglutaminase (U/g)	Y
1	-1	-1	Y ₁
2	1	-1	Y ₂
3	-1	1	Y ₃
4	1	1	Y ₄
5	-√2	0	Y ₅
6	+√2	0	Y ₆
7	0	-√2	Y ₇
8	0	+√2	Y ₈
9	0	0	Y ₉
10	0	0	Y ₁₀
11	0	0	Y ₁₁
12	0	0	Y ₁₂
13	0	0	Y ₁₃

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Bahan Baku

Karakterisasi tepung beras bertujuan mengetahui sifat fisikokimia dan kualitas tepung beras yang digunakan dalam penelitian. Komposisi proksimat tepung beras disajikan pada Tabel 4. Hasil karakterisasi tepung beras menunjukkan kadar air tepung beras sebesar 11,42%. Hasil tersebut lebih tinggi dibandingkan dengan kadar air tepung beras yang diuji oleh Kraithong *et al.* (2017) sebesar 9,04%, namun masih memenuhi standar kadar air yang ditetapkan oleh SNI 3549-2009 sebesar 13%. Menurut Earle (1969), tepung yang baik memiliki kadar air tidak lebih dari 14%. Kadar air menentukan ketahanan terhadap kerusakan kimia maupun biologi. Kadar air tepung beras berpengaruh pada jumlah air yang digunakan pada saat pembuatan adonan. Kadar air tepung beras juga berpengaruh pada produk roti yang dihasilkan, terutama terhadap penyimpanan karena dapat menyebabkan pertumbuhan kapang. Kerusakan oleh kapang merupakan faktor kerugian yang cukup besar pada industri rotian. Hal ini diakibatkan oleh kemampuan kapang yang dapat tumbuh bahkan pada kondisi aktivitas air (*aw*) $\approx 0,65$ (Smith *et al.*, 2004)

Kadar abu tepung beras hasil pengujian lebih rendah ialah sebesar 0,44% dibandingkan kadar abu hasil pengujian Kraithong *et al.* (2017) sebesar 1,57%, namun kadar abu hasil pengujian tetap masih memenuhi standar SNI 3549-2009 ialah dibawah 1,00%. Kadar abu tepung beras sangat mempengaruhi kualitas produk akhir. Secara kuantitatif nilai kadar abu dalam tepung dan pati berasal dari mineral dalam bahan, pemakaian pupuk, kontaminasi tanah dan udara selama pengolahan, atau dapat disebabkan oleh adanya reaksi enzimatis (*browning enzymatic*) yang menyebabkan turunnya derajat putih tepung (Hasrini *et al.*, 2011).

Kadar protein hasil pengujian tidak jauh berbeda dengan hasil uji Kraithong *et al.* (2017) sebesar 7,83%. Kadar protein tepung beras berdampak pada pengembangan volume produk akhir. Semakin rendah kadar protein maka semakin rendah pengembangan volume produk roti yang dihasilkan.

Kadar lemak tepung beras hasil pengujian lebih rendah ialah sebesar 0,41% dibandingkan kadar hasil pengujian Kraithong *et al.* (2017) sebesar 1,89%. Kadar lemak tepung beras mempengaruhi tekstur kekerasan dari produk yang dihasilkan. Semakin tinggi kadar lemak maka tekstur produk terutama roti menjadi lebih lembut. Kadar serat dan kadar pati hasil pengujian tidak jauh berbeda dengan hasil uji Kraithong *et al.* (2017) sebesar 0,53%. Bahan pangan yang kaya serat dan pati berpengaruh pada fungsi fisiologis tertentu saat dicerna dan bermanfaat sebagai pangan fungsional terutama bagi penderita diabetes dan penderita masalah pencernaan lainnya

Kadar karbohidrat diperoleh dari metode *by difference* yaitu 79,90%. Nilai kadar karbohidrat yang tinggi dapat disebabkan pada penelitian ini tidak mengukur besarnya kadar karbohidrat, tetapi langsung menghitungnya dengan rumus *by difference*. Hasil analisis kadar amilosa tepung beras adalah 26,07%. Kategori beras berdasarkan kadar amilosanya ialah beras beramilosa rendah (9-20%), beramilosa sedang (20-25%) dan beras beramilosa tinggi (>25 %) (Prasad *et al.*, 2012), sehingga beras ini dapat diklasifikasikan ke dalam beras beramilosa tinggi.

Hasil karakterisasi tepung gluten menunjukkan kadar air dan kadar protein pada tepung gluten gandum merupakan kandungan inti yang menunjukkan kualitas dan kemurnian tepung gluten tersebut. Komposisi proksimat gluten disajikan pada Tabel 5.

Tabel 4. Karakteristik tepung beras

No	Parameter (%)	Tepung beras (rata-rata dan SD)		
		Hasil uji	Kraithong <i>et al.</i> (2017)	SNI 3549-2009
1	Kadar air	11,42±0,22	9,04	13,00
2	Kadar abu	0,44±0,11	1,57	1,00
3	Kadar protein	7,83±0,09	7,61	-
4	Kadar lemak kasar	0,41±0,16	1,89	-
5	Kadar serat kasar	0,53±0,01	0,91	-
6	Kadar karbohidrat (<i>by difference</i>)	79,90±0,04	78,19	-
7	Kadar pati	69,62±0,43	-	-
8	Kadar amilosa	26,07±0,30	19,18	-

Tabel 5. Karakteristik gluten

No	Parameter (%)	Gluten (rata-rata dan SD)	
		Hasil uji	Gluten teknis (Patriadi 2015)
1	Kadar air	1,42±0,22	9,18
2	Kadar abu	0,44±0,11	-
3	Kadar protein	81,63±0,38	70,25

Kadar air tepung gluten pro analisis dari Sigma Aldrich yang digunakan untuk penelitian ini memiliki nilai yang lebih tinggi dibandingkan tepung gluten gandum teknis hasil pengujian Patriadi (2015) sebesar 11,42%. Kadar protein tepung gluten lebih tinggi dibandingkan dengan kadar protein gluten hasil pengujian Patriadi (2015) sebesar 81,63%. Hal tersebut berarti tepung gluten pro analisis dari Sigma Aldrich memiliki tingkat kemurnian tinggi yang dibutuhkan dalam proses pengtautan gluten dengan tepung beras pada penelitian ini.

Analisis proksimat susu skim ini penting karena memberi manfaat pada penilaian kualitas roti terutama standar zat makanan yang seharusnya terkandung didalamnya seperti kandungan proteinnya. Susu akan memberikan efek terhadap warna kulit roti karena kandungan proteinnya dan memperkuat gluten sehingga pengembangan volume roti maksimal (Koswara, 2009). Komposisi proksimat susu skim disajikan pada Tabel 6.

Hasil karakterisasi susu skim menunjukkan kadar air telah memenuhi standar SNI ialah sebesar 5,36%. Kadar abu susu skim hasil pengujian lebih rendah ialah sebesar 5,59% dibandingkan dengan susu skim hasil penelitian Sawitri *et al.* (2010) sebesar 8,2-8,6%. Kadar protein susu skim yang dihasilkan juga telah memenuhi standar SNI ialah 24,93% dan demikian pula dengan hasil kadar lemak telah sesuai dengan SNI dan hasil penelitian Sawitri *et al.* (2010) sebesar 0,11%.

Karakteristik Kimia Roti Tepung Beras

Analisis Kombinasi Faktor Terhadap Kadar Air

Kadar air suatu bahan pangan umumnya digunakan sebagai indikator penentuan mutu bahan pangan. Kadar air pada produk rerotian sangat rentan terhadap mikroorganisme yang akan menurunkan

umur simpannya. Air yang terkandung dalam roti perlu diketahui karena air merupakan komponen pangan yang memberikan pengaruh terhadap sensori, fisik, dan mikrobiologi roti. Gallagher (2004) melaporkan bahwa kadar air yang tinggi dapat meningkatkan volume roti. Model polinomial yang disarankan ialah linier. Analisis ragam (ANOVA) menunjukkan nilai p-value “Prob>F” lebih kecil dari 0,05 ialah 0,0119 yang berarti bahwa model yang dihasilkan tidak signifikan, hal ini berarti bahwa faktor konsentrasi protein dan konsentrasi enzim transglutaminase tidak berbeda nyata terhadap respons kadar air. Berdasarkan uji *lack of fit* diperoleh p-value “Prob>F” lebih besar dari 0,05 ialah 0,7994. Hal ini berarti tidak ada *lack of fit* (tidak signifikan). Nilai *lack of fit* yang tidak signifikan menunjukkan adanya kesesuaian data respons kadar air dengan model.

Hasil analisis ANOVA respons kadar air menghasilkan nilai R² untuk respons kadar air sebesar 0,5879 yang mempunyai arti bahwa pengaruh variabel X₁ dan X₂ terhadap perubahan variabel respons adalah 58,79% sedangkan sisanya 41,21% dipengaruhi oleh variabel-variabel lain yang tidak diketahui. Persamaan model polinomial respons kadar air dalam bentuk yang sebenarnya :

$$\text{Kadar air (Y)} = 36,85 - 0,63X_1 - 1,16X_2 \dots \dots \dots (1)$$

dimana:

X₁ = konsentrasi protein substrat

X₂ = konsentrasi enzim transglutaminase

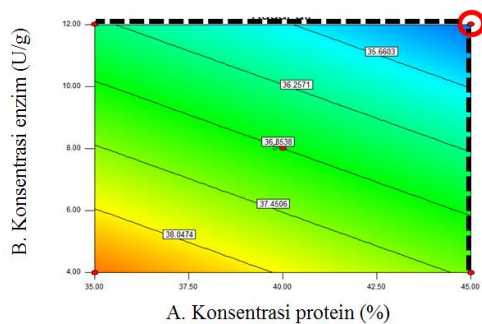
Berdasarkan persamaan model tersebut, diketahui bahwa kadar air akan meningkat seiring dengan penurunan nilai konsentrasi protein dan konsentrasi enzim transglutaminase.

Tabel 6. Karakteristik susu skim

No	Parameter (%)	Tepung beras (rata-rata dan SD)		
		Hasil uji	Sawitri <i>et al.</i> (2010)	SNI 2970-2006
1	Kadar air	5,36±0,04	-	Maks, 5
2	Kadar abu	5,59±0,02	8,2-8,6	-
3	Kadar protein	24,93±0,61	34-37	Min, 23
4	Kadar lemak kasar	0,11±0,00	0,6-1,25	Maks, 1,5

Model linier tetap mampu menghasilkan nilai optimum, namun kelemahan dari pemodelan regresi linier tidak mampu menduga nilai kadar air diluar rentang dari konsentrasi protein dan konsentrasi enzim yang ditentukan. Jika ingin mendapatkan nilai protein dan enzim diluar rentang yang ditentukan maka perlu dilakukan penelitian ulang dengan melebarkan nilai rentang.

Keberadaan enzim transglutaminase juga membantu meningkatkan kemampuan menahan air (Dłuzewska *et al.*, 2014) sebagai hasil dari terbentuknya tautan silang yang memperkuat jaringan protein (Lorenzen *et al.*, 2011) dan sebagai hasil dari reaksi deaminasi residu glutamin menjadi asam glutamat yang menurunkan hidrofobisitas lingkungan (Gerrard *et al.*, 1998; Joye *et al.*, 2009). Grafik kontur nilai kadar air disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Grafik kontur respons permukaan nilai kadar air roti beras terhadap konsentrasi protein dan konsentrasi enzim transglutaminase

Berdasarkan Gambar 2, terlihat model linier dengan semakin tinggi konsentrasi protein dan konsentrasi enzim, maka semakin rendah kadar airnya. Maka titik terbaik dengan mengasumsikan titik optimum berada pada nilai kadar air terendah ialah pada pada titik merah pojok kanan atas. Solusi optimasi yang direkomendasikan *design expert* 7.0.0 untuk respons tunggal kadar air ialah $X_1 = 45\%$ dan $X_2 = 12$ U/g dengan nilai kadar air sebesar 35,10% dan nilai *desirability* sebesar 93,9%. Pada umumnya roti tawar memiliki kandungan air sebesar $36,60 \pm 2,0$ hingga $41,56 \pm 0,2$ g/100g (Hathorn *et al.*, 2008). Kadar air roti beras hampir mendekati nilai kadar air roti tawar terigu ialah $35,58 \pm 0,05\%$, karena produk roti beras ini masih menggunakan gluten tetapi dengan konsentrasi yang rendah ialah

sebesar 12,5%. Akan tetapi roti beras yang dihasilkan pada penelitian ini telah memenuhi persyaratan mutu roti tawar berdasarkan SNI No. 01-3840-1995, bahwa kadar air maksimal sebesar 40% (b/b).

Berdasarkan data yang diperoleh kadar air roti beras lebih rendah dari roti tawar terigu, sedangkan kandungan air tepung beras yang digunakan sebagai bahan baku roti yaitu sebesar 11,42% lebih tinggi dibandingkan kadar air pada terigu sebesar 9,8% (Damayanthi, 2006). Rendahnya kadar air pada roti beras disebabkan karena pada pembuatan roti, gluten terbentuk karena adanya air yang ditambahkan sehingga adonan menahan gas yang terbentuk dengan baik. Berdasarkan hal tersebut, kemampuan tepung untuk mengikat air dapat mempengaruhi sifat-sifat adonan. Tepung yang mengikat sedikit air akan menghasilkan adonan yang tidak elastis dan kaku, sedangkan tepung dengan daya ikat air yang baik akan menghasilkan adonan yang elastis dan mudah mengembang (Syahputri dan Wardani, 2015).

Menurut Meyer (1996), enzim memecah karbohidrat, protein, dan senyawa organik lainnya sehingga air yang terikat berubah menjadi air bebas. Air bebas ini kemudian akan menguap saat proses pemanggangan sehingga kadar air menurun. Berdasarkan hal tersebut, kemampuan enzim transglutaminase dalam proses tautan silang antara protein yang terdapat dalam gluten dan tepung beras telah berhasil dalam penelitian ini.

Analisis Kombinasi Faktor Terhadap Kadar Abu

Kadar abu suatu bahan pangan umumnya digunakan sebagai indikator penentuan mutu bahan pangan. Kadar abu dalam bahan pangan ditetapkan dengan tujuan untuk menentukan baik atau tidaknya suatu pengolahan, mengetahui jenis bahan yang digunakan, dan sebagai penentu parameter nilai gizi suatu bahan pangan. Model polinomial yang disarankan ialah linier, namun pada nilai *lack of fit*, R^2 , dan Adjusted R^2 tertinggi dihasilkan oleh model kuadratik. Maka perlu dilihat hasil ANOVA pada model kuadratik. Analisis ragam (ANOVA) menunjukkan nilai p-value "Prob>F" lebih kecil dari 0,05 ialah $<0,0001$ yang berarti bahwa model yang dihasilkan signifikan. Hal tersebut menandakan model kuadratik lebih baik dibandingkan dengan model linier.

Berdasarkan uji *lack of fit* diperoleh p-value "Prob>F" lebih besar dari 0,05 ialah 0,3440,

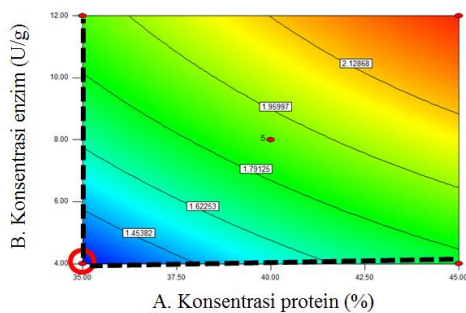
hal ini berarti tidak ada *lack of fit* (tidak signifikan). Nilai *lack of fit* yang tidak signifikan menunjukkan adanya kesesuaian data respons kadar abu dengan model. Hasil analisis ANOVA respons kadar abu menghasilkan nilai R^2 untuk respons kadar abu sebesar 0,9591 yang mempunyai arti bahwa pengaruh variabel X_1 dan X_2 terhadap perubahan variabel respons adalah 95,91% sedangkan sisanya 4,09% dipengaruhi oleh variabel-variabel lain yang tidak diketahui. Persamaan model polinomial respons kadar abu dalam bentuk yang sebenarnya

$$\text{Kadar abu (Y)} = 1,89 + 0,22X_1 - 0,088X_2 - 0,015X_1X_2 - 0,034X_1^2 - 0,052X_2^2$$

dimana:

X_1 = konsentrasi protein substrat

X_2 = konsentrasi enzim transglutaminase



Gambar 3. Grafik kontur respons permukaan nilai kadar abu roti beras terhadap konsentrasi protein dan konsentrasi enzim transglutaminase

Berdasarkan persamaan model dan grafik kontur respons permukaan nilai kadar abu roti beras pada Gambar 3, Berdasarkan persamaan model tersebut, diketahui bahwa kadar abu akan menurun seiring dengan peningkatan konsentrasi protein dan konsentrasi enzim transglutaminase yang dikuadratkan, peningkatan interaksi konsentrasi protein dan konsentrasi enzim transglutaminase, dan peningkatan konsentrasi enzim transglutaminase, sedangkan kadar abu akan meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi protein. Hal ini menunjukkan residu anorganik pada roti tepung beras formula tersebut lebih sedikit. Berdasarkan hasil penelitian, roti beras ini menggunakan formula tepung beras dan gluten yang mengandung kadar abu yang sama sebesar 0,44%, serta susu skim yang mengandung kadar abu sebesar 5,59%. Kadar abu tertinggi adalah susu skim karena susu skim mengandung mineral yang tinggi.

Enzim transglutaminase bereaksi membutuhkan mineral untuk membantu reaksinya. Kadar mineral pada roti beras menurun karena adanya sebagian mineral yang terlibat dalam reaksi enzimatik. Sehingga ketika diakhir reaksi kadar mineralnya akan mengalami penurunan karena sebagian telah terlibat dalam reaksi enzimatik dalam

pembuatan roti. Aktivitas enzimatik transglutaminase dari hewan, dipengaruhi oleh banyak faktor, diantaranya adalah ion Ca^{2+} (Yokoyama *et al.*, 2004). Sharma *et al.* (2002), telah menunjukkan bahwa kehadiran ion kalsium menginduksi perubahan konformasi dalam molekul enzim, yang kemudian mendukung aktivitasnya dan menunjukkan residu asam amino dalam pusat katalitik.

Solusi optimasi yang direkomendasikan *design expert 7.0.0* untuk respons tunggal kadar abu ialah $X_1 = 35\%$ dan $X_2 = 4$ U/g dengan nilai kadar abu sebesar 1,28% dan nilai *desirability* sebesar 98,6%. Kadar abu yang diperoleh lebih rendah dibandingkan dengan roti tawar terigu ialah $2,56 \pm 0,01\%$. Roti beras yang dihasilkan pada penelitian ini telah memenuhi persyaratan mutu roti tawar berdasarkan SNI No. 01-3840-1995 ialah kadar abu maksimal 1% (b/b).

Analisis Kombinasi Faktor Terhadap Kadar Lemak

Lemak berperan penting dalam pembentukan tekstur roti, membuat roti lebih mudah untuk dipotong, memperbaiki remah roti, melembutkan tekstur *crumb* roti, membantu pengembangan struktur fisik roti, dan memberikan rasa yang gurih pada roti (Suryatna, 2015). Model polinomial yang disarankan ialah kuadratik. Analisis ragam (ANOVA) menunjukkan nilai p-value “Prob>F” lebih kecil dari 0,05 ialah 0,0064 yang berarti bahwa model yang dihasilkan signifikan dan berdasarkan uji *lack of fit* diperoleh p-value “Prob>F” lebih besar dari 0,05 ialah 0,4802, hal ini berarti tidak ada *lack of fit* (tidak signifikan).

Nilai *lack of fit* yang tidak signifikan menunjukkan adanya kesesuaian data respons kadar lemak dengan model. Hasil analisis ANOVA respons kadar lemak menghasilkan nilai R^2 untuk respons kadar lemak sebesar 0,7888 yang mempunyai arti bahwa pengaruh variabel X_1 dan X_2 terhadap perubahan variabel respons adalah 78,88% sedangkan sisanya 21,12% dipengaruhi oleh variabel-variabel lain yang tidak diketahui. Persamaan model polinomial respons kadar lemak dalam bentuk yang sebenarnya.

$$\text{Kadar lemak (Y)} = 0,71 + 0,58X_1 - 0,013X_2 + 0,068X_1X_2 - 0,14X_1^2 - 0,17X_2^2$$

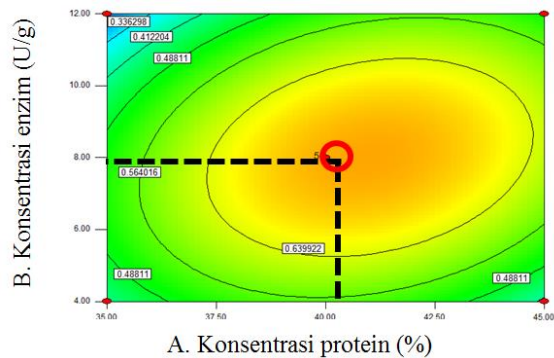
dimana:

X_1 = konsentrasi protein substrat

X_2 = konsentrasi enzim transglutaminase

Berdasarkan persamaan model dan grafik kontur respons permukaan nilai kadar lemak roti beras pada Gambar 4, diketahui bahwa kadar lemak akan menurun seiring dengan peningkatan konsentrasi protein dan konsentrasi enzim transglutaminase yang dikuadratkan serta

peningkatan konsentrasi enzim transglutaminase, sedangkan kadar lemak akan meningkat seiring dengan peningkatan interaksi konsentrasi protein dan interaksi konsentrasi enzim transglutaminase, serta peningkatan konsentrasi protein. Penambahan konsentrasi enzim transglutaminase dan pengurangan konsentrasi protein dapat meningkatkan kadar lemak disebabkan karena enzim yang mengkatalis pembentukan tautan silang antar molekul protein (pembentukan polimer antar molekul protein).



Gambar 4. Grafik kontur respons permukaan nilai kadar lemak roti beras terhadap konsentrasi protein dan konsentrasi enzim transglutaminase

Lemak dapat disintesis dari karbohidrat dan protein. Karbohidrat ini berasal dari tepung beras. Protein gluten kandungan glutaminanya tinggi, tetapi kandungan asam amino esensialnya, ialah lisina, metionina dan triptofan rendah. Gerrard *et al.* (2001), mengenalkan lisin kedalam gluten gandum melalui tautan silang untuk meningkatkan nilai gizi. Transglutaminase memiliki kemampuan untuk memodifikasi protein gluten secara efektif sebagai hasil dari modifikasi untuk beberapasifat fisik yang penting pada adonan tepung meliputi kelengketan, kemampuan untuk mengembang, serta sifat elastis dalam adonan.

Solusi optimasi yang direkomendasikan *design expert* 7.0.0 untuk respons tunggal kadar lemak ialah $X_1 = 41,01\%$ dan $X_2 = 8$ U/g dengan nilai kadar lemak sebesar 0,72% dan nilai *desirability* sebesar 83,7%. Nilai kadar lemak tersebut lebih rendah dibandingkan roti tawar terigu ialah $0,84 \pm 0,04\%$.

Analisis Kombinasi Faktor Terhadap Kadar Protein

Kadar protein yang terdapat pada roti tepung beras ini dipengaruhi oleh jenis tepung yang digunakan dan sumber protein yang ditambahkan seperti susu bubuk skim dan gluten. Model polinomial yang disarankan ialah kuadratik. Analisis ragam (ANOVA) menunjukkan nilai p-value “Prob>F” lebih kecil dari 0,05 ialah 0,0026 yang berarti bahwa model yang dihasilkan signifikan dan

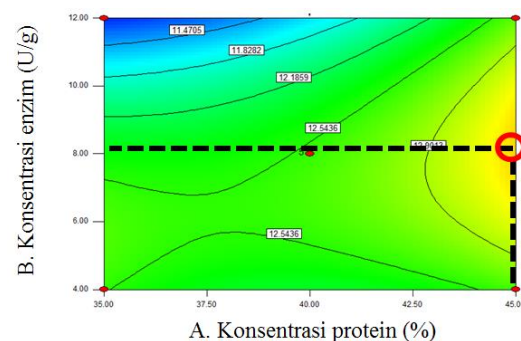
berdasarkan uji *lack of fit* diperoleh p-value “Prob>F” lebih besar dari 0,05 ialah 0,8905, hal ini berarti tidak ada *lack of fit* (tidak signifikan). Nilai *lack of fit* yang tidak signifikan menunjukkan adanya kesesuaian data respons kadar protein dengan model. Hasil analisis ANOVA respons kadar protein menghasilkan nilai R^2 untuk respons kadar protein sebesar 0,8937 yang mempunyai arti bahwa pengaruh variabel X_1 dan X_2 terhadap perubahan variabel respons adalah 89,37% sedangkan sisanya 10,63% dipengaruhi oleh variabel-variabel lain yang tidak diketahui. Persamaan model polinomial respons kadar protein dalam bentuk yang sebenarnya.

$$\text{Kadar protein (Y)} = 12,58 + 0,41X_1 - 0,35X_2 + 0,068X_1X_2 + 0,27X_1^2 - 0,59X_2^2$$

dimana:

X_1 = konsentrasi protein substrat

X_2 = konsentrasi enzim transglutaminase



Gambar 5. Grafik kontur respons permukaan nilai kadar protein roti beras terhadap konsentrasi protein dan konsentrasi enzim transglutaminase

Berdasarkan persamaan model dan grafik kontur respons permukaan nilai kadar protein roti beras Gambar 5, diketahui bahwa kadar protein akan meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi protein yang dikuadratkan dan interaksi dari konsentrasi protein dan enzim transglutaminase serta peningkatan konsentrasi protein, sedangkan kadar protein akan menurun seiring dengan peningkatan konsentrasi enzim transglutaminase yang dikuadratkan dan peningkatan konsentrasi enzim transglutaminase, serta peningkatan konsentrasi protein. Hal ini disebabkan karena proses taut silang yang dilakukan oleh enzim transglutaminase ini telah berhasil mengikat asam amino lisin pada susu skim dan asam amino glutamin pada gluten sehingga menghasilkan kadar protein yang tinggi. Sumber protein roti ini berasal dari gluten dan susu yang ditambahkan dalam formula roti beras. Semakin tinggi kandungan protein maka semakin tinggi

pengembangan volume roti dan berdampak pula pada produk akhir yang dihasilkan.

Solusi optimasi yang direkomendasikan *design expert 7.0.0* untuk respons tunggal kadar protein ialah $X_1 = 45\%$ dan $X_2 = 8,09$ U/g dengan nilai kadar protein sebesar 13,26% dan nilai *desirability* sebesar 88,6%. Nilai kadar protein pada roti beras formula ini tergolong lebih tinggi dibandingkan roti tawar terigu ialah $9,19 \pm 0,16\%$.

Validasi Kondisi Optimum

Solusi optimum gabungan dari respons kadar air, abu, lemak, dan protein yang disarankan oleh program *Design expert 7.0.0* untuk respons karakteristik kimia ialah konsentrasi protein optimum sebesar 45% dan konsentrasi enzim optimum sebesar 4 U/g dengan nilai *desirability* sebesar 0,532 artinya pengaruh variabel bebas dari konsentrasi enzim dan konsentrasi protein terhadap perubahan respons kadar air, kadar abu, kadar protein, dan kadar lemak sebesar 53,2%, sisanya 46,8% dipengaruhi oleh faktor lain yang tidak diketahui diluar dari penelitian. Model yang baik adalah model dengan nilai prediksi respons yang dihasilkannya mendekati nilai verifikasi dalam kondisi aktual (Madamba, 2015). Validasi kondisi

optimum dilakukan perbandingan nilai respons prediksi roti tepung beras formula terbaik dari solusi optimasi program dengan nilai hasil roti gandum. Solusi optimasi yang direkomendasikan oleh model menghasilkan respons yang disajikan pada Tabel 7, dimana hasil tersebut adalah prediksi dari model RSM.

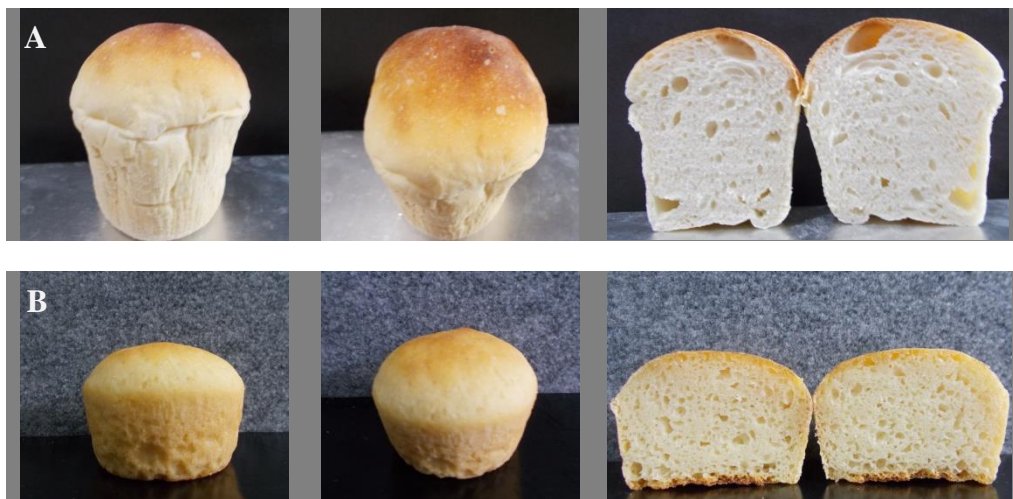
Setelah dilakukan uji validasi karakteristik fisik roti tepung beras formula terbaik diperoleh validasi karakteristik kimia roti tepung beras diperoleh nilai tersebut tidak berbeda jauh dengan nilai dari roti pembandingnya ialah roti yang terbuat dari tepung gandum, sehingga dapat disimpulkan bahwa solusi optimasi yang direkomendasikan oleh program ditegorikan baik dan dapat menghasilkan kualitas roti yang lebih baik.

Analisis Pengujian Fourier Transform Infrared Spectrometer (FTIR)

Analisis FTIR bertujuan menentukan interaksi terbentuknya taut silang yang terjadi pada protein dan enzim transglutaminase. Pemaduan secara fisika atau kimia dapat dianalisis dari puncak-puncak gugus fungsi yang terbentuk. Puncak (*peak*) adalah representasi dari kelompok kimia dari komponen yang ada dalam sampel.

Tabel 7. Perbandingan nilai respons prediksi roti tepung beras formula terbaik dari solusi optimasi program dengan nilai hasil roti gandum

Respons	Roti tawar terigu	Aktual Roti formula terbaik	Prediksi	95 % PI	
				Low	High
Kadar air (%)	35,58±0,05	37,57±0,14	37,38	34,85	39,92
Kadar abu (%)	2,56±0,01	1,63±0,03	1,75	1,59	1,91
Kadar lemak (%)	0,84±0,04	0,40±0,02	0,40	0,19	0,62
Kadar protein (%)	9,19±0,16	12,48±0,09	12,64	11,66	13,62



Gambar 1. Kenampakan visual roti tepung beras formula optimum: dengan enzim transglutaminase(A) dan tanpa enzim transglutaminase (B)

Hasil analisis spektrum infra merah dari roti beras kontrol, roti gandum, roti beras dari formula terbaik, dan roti beras tanpa penambahan enzim transglutaminase dapat dilihat pada Gambar 7. Terdapat lima puncak spektrum yang dapat mewakili gugus fungsi pada sampel ialah O-H, C-H, N-H, C=O, C-N. Spektrum yang menunjukkan keberadaan gugus O-H pada kisaran gelombang 3368,68–3428,10 cm^{-1} , C-H pada kisaran gelombang 2924,38–2928,74 cm^{-1} , N-H pada kisaran 2361,89–2378,20 cm^{-1} , C=O pada kisaran 1651,47 – 1653,69 cm^{-1} , dan C-N pada kisaran 1241,63– 1243,53 cm^{-1} .

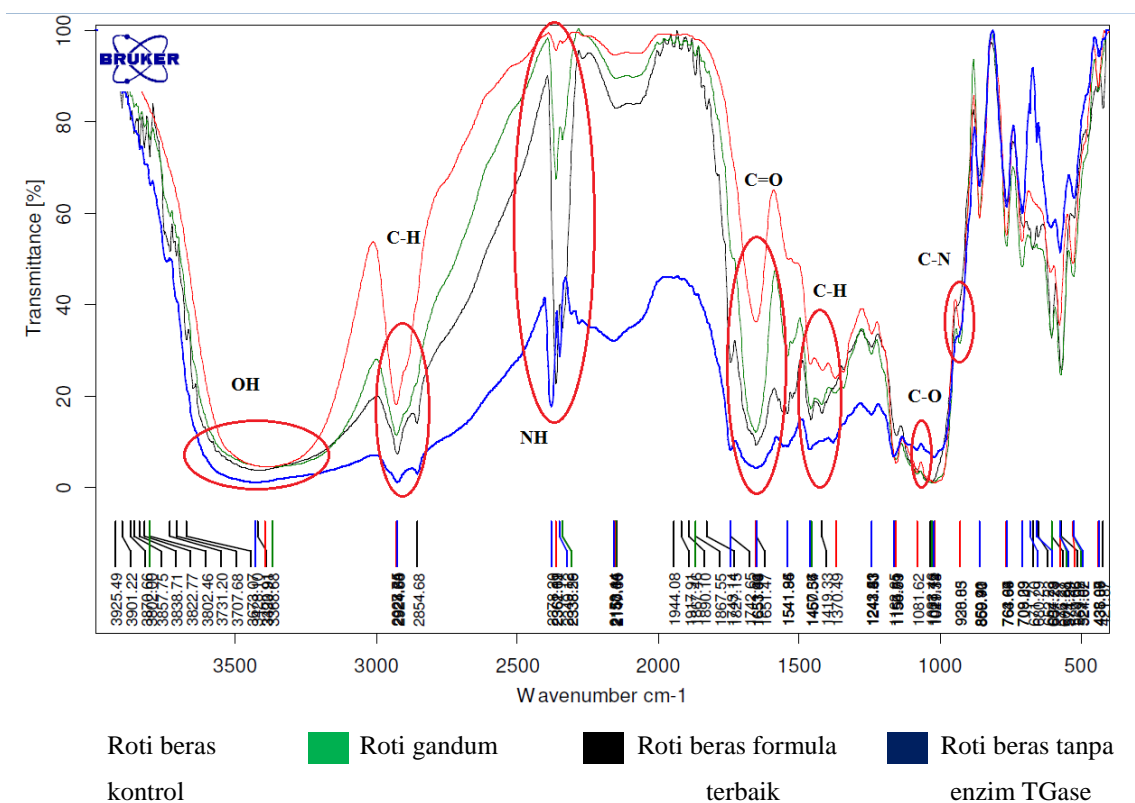
Berdasarkan keempat sampel tersebut dapat dilihat bahwa gugus O-H roti beras tanpa enzim mengalami penurunan transmitans dibandingkan roti beras formula terbaik yang ditambahkan dengan enzim. Menurunnya presentase transmitans tersebut menunjukkan penguatan tautan O-H pada roti beras tanpa enzim yang mengindikasikan terjadinya peningkatan kadar air. Kadar air pada roti beras adalah sebesar 11,42%, sementara rata-rata kadar air pada roti beras yang ditambahkan dengan enzim ialah 37%.

Puncak tautan C-H pada roti beras formula terbaik terlihat pada bilangan gelombang 2924,68 cm^{-1} , sementara pada roti beras tanpa enzim terlihat pada bilangan gelombang 2924,38 cm^{-1} . Tautan C-H pada tepung roti beras tanpa enzim menunjukkan adanya penurunan presentase transmitans yang mengindikasikan adanya penguatan tautan hidrogen.

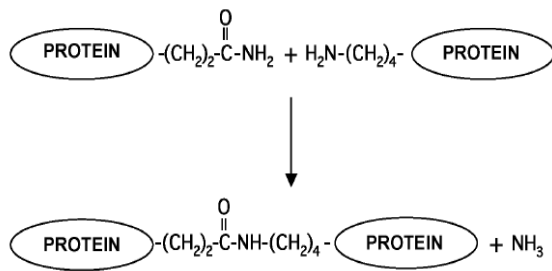
Meningkatnya kuantitas tautan C-H pada roti beras tanpa enzim dapat berasal dari tautan C-H dari gugusamina yang ada dalam protein pada gluten.

Tautan N-H roti beras formula terbaik terlihat pada bilangan gelombang 2361,89 cm^{-1} dan Tautan N-H roti beras tanpa enzim terlihat pada bilangan gelombang 2378,20 cm^{-1} . Tautan N-H menunjukkan adanya gugus fungsi amina sebagai indikasi dari kadar protein. Tautan N-H pada beras formula terbaik mengalami penurunan transmitans yang sangat tajam dibandingkan dengan roti beras kontrol, dan roti gandum, tetapi roti beras tanpa enzim tautan N-H lebih rendah dibandingkan roti beras formula terbaik. Hal tersebut membuktikan bahwa terjadi taut silang oleh enzim transglutaminase pada roti beras formula terbaik. Reaksi taut silang protein yang tertaut antara residu glutamin dan lisin yang dtautalisasi oleh transglutaminase dapat dilihat pada Gambar 8. Reaksi tersebut terlihat bahwa jika terjadi taut silang oleh enzim transglutaminase maka akan terjadi penurunan tautan N-H.

Keberadaan tautan C=O terlihat pada bilangan gelombang 1651,47 cm^{-1} pada roti beras formula terbaik dan 1651,97 cm^{-1} pada roti beras tanpa enzim. Persentase transmitans pada roti beras tanpa enzim mengalami penurunan dibanding roti beras formula terbaik, roti beras kontrol, dan roti gandum. Hal ini yang mengindikasikan adanya penguatan tautan C=O.



Gambar 7. Hasil analisis FTIR



Gambar 8. Reaksi taut silang protein yang tertaut antara residu glutamin dan lisin yang dtautalisasi oleh transglutaminase (Goesaert *et al.*,2006)

Persentase transmitans pada roti beras formula terbaik hampir sama dengan roti gandum. Menurut Wang dan Wang (2003), keberadaan gugus karbonil berkontribusi dalam kapasitas hidrasi pati, begitupun gugus karboksil (-COOH) yang tersusun dari O-H, C-O, dan C=O. Reaksi Maillard menurut Rosida *et al.* (2011) terjadi akibat gugus karbonil bereaksi dengan asam amino, sementara menurut Palupi *et al.* (2007) reaksi Maillard terjadi karena karbonil atau dikarbonil yang terdapat pada gula pereduksi bertautan silang dengan protein.

Tautan C-N pada roti beras formula terbaik terlihat pada bilangan gelombang 1242,41 cm^{-1} dan 1243,53 cm^{-1} pada roti beras tanpa enzim. Tautan C-N keempat sample dilihat dari persentase transmitans tidak jauh berbeda dan tautannya menyatu (Gambar 8). Palupi *et al.* (2007) menambahkan bahwa tautan C-N terjadi melalui reaksi maillard ialah ketika gugus karbonil (C=O) yang terbentuk pada pati dapat bertautan dengan protein.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Pengaruh taut silang oleh enzim Transglutaminase dalam tepung beras dilakukan dalam upaya memperbaiki karakteristik roti tepung beras. Solusi optimasi yang direkomendasikan oleh model untuk memaksimalkan kadarprotein serta meminimumkan kadar air, kadar abu dan kadar lemak ialah penambahan konsentrasi protein 45% dan konsentrasi enzim 4 U/g sehingga diperoleh kadar air 37,56%, kadar abu 1,75%, kadar lemak 0,40%, dan kadar protein 12,63%. Setelah dilakukan uji validasi karakteristik kimia roti beras formula terbaik, diperoleh hasil kadar air 37,57±0,14% (bb), kadar abu 1,63±0,03% (bk), kadar lemak 0,40±0,02% (bk), dan kadar protein 12,48±0,09% (bk) dengan nilai *desirability* sebesar 0,532 artinya nilai persentase dimana nilai kecocokan antara nilai prediksi dengan nilai aktual sebesar 53,2%. Roti beras yang dihasilkan pada penelitian ini telah memenuhi persyaratan mutu roti tawar berdasarkan SNI No. 01-3840-1995 ialah kadar air maksimal 40% (b/b) dan kadar abu maksimal 1% (b/b)

sedangkan kadar protein dan kadar lemak telah sesuai dengan Gaman dan Sherington (1992) ialah masing-masing sebesar 8% dan 1,5%. Roti beras hasil penelitian ini juga jika dibandingkan dengan roti yang terbuat dari tepung terigu hasilnya tidak berbeda jauh.

Tautan N-H pada beras formula terbaik mengalami penurunan transmitans yang sangat tajam dibandingkan dengan roti beraskontrol dan roti gandum, tetapi roti beras tanpa enzim tautan N-H lebih rendah dibandingkan roti beras formula terbaik. Hal tersebut membuktikan bahwa terjadi taut silang oleh enzim transglutaminase pada roti beras formula terbaik. Nilai kadar protein pada roti beras formula ini tergolong lebih tinggi dibandingkan roti tawar terigu ialah 9.19±0.16%, hal ini disebabkan proses taut silang yang dilakukan oleh enzim transglutaminase ini telah berhasil mengikat asam amino lisin pada susu skim dan asam amino glutamin pada gluten sehingga menghasilkan kadar protein yang tinggi. Sumber protein roti ini berasal dari gluten dan susu yang ditambahkan dalam formula roti beras. Semakin tinggi kandungan protein semakin tinggi pengembangan volume roti dan berdampak pula pada produk akhir yang dihasilkan.

Saran

Kelemahan penelitian ini adalah nilai *desirability* sebesar 0.532 artinya nilai persentase dimana nilai kecocokan antara nilai prediksi dengan nilai aktual sebesar 53.2%. Oleh karena itu, jika ingin mendapatkan nilai protein dan enzim diluar rentang yang ditentukan maka perlu dilakukan penelitian ulang dengan melebarkan nilai rentang pada rancangan desain RSM sehingga nilai *desirability* bisa meningkat. Untuk meningkatkan pemanfaatan roti tepung beras ini perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai umur simpan untuk mengetahui tingkat ketahanan produk.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia dalam sebuah program Hibah Kompetensi 2016-2017.

DAFTAR PUSTAKA

- Association of Official Analytical Chemists [AOAC]. 2005. Official Methods of Analysis of The Association of Official Agriculture Chemists 18th edition. Virginia (US): AOAC International.
- Badan Standarisasi Nasional. 1995. Standar Nasional Indonesia (SNI). SNI 01-3840-

1995. Roti Tawar. Dewan Standarisasi Indonesia. Jakarta.
- Damayanthi E, Listyorini DI. 2006. Pemanfaatan Tepung Bekatul Rendah Lemak pada Pembuatan Keripik Simulasi. *J Gizi dan Pangan*. 1(2): 34-44. doi 10.25182/jgp.2006.1.2.34-44
- Dłużewska E, Lucasiak KM, Kurek N. 2014. Effect of transglutaminase additive on the quality of gluten-free bread. *J Food*. 13(1):80-86. doi 10.1080/19476337.2014.917336.
- Earle RL. 1969. *Unit Operation in Food Processing*. Pergamon Press. London.
- Gallagher E, Gormley TR, Arendt EK. 2004. Recent advances in the formulation of gluten-free cereal-based products. *J Food Sci and Tech*. 15:143-152. doi 10.1016/j.tifs.2003.09.012.
- Gaman PM, Sherrington KB. 1992. *Ilmu Pangan Pengantar Ilmu Pangan, Nutrisi dan Mikrobiologi*. Ed 2nd. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press
- Gerrard JA, Fayle SE, Wilson AJ, Newberry MP, Ross M, Kavale, S. 1998. Dough properties and crumb strength of white pan bread as affected by microbial transglutaminase. *Food Sci*. 63(3):472-475.
- Gerrard JA, Fayle SE, Brown PA, Sutton KH, Simmons L, Rasiah I. 2001. Effect of Microbial Transglutaminase on the Wheat Protein of Bread and Croissant Dough. *J Food Sci*. Vol 66 No. 6, 782-786. doi 10.1111/j.1365-2621.2001.tb15172.x
- Gerrard JA. 2002. Protein-protein cross linking in food: methods, consequences, application. *J Food Sci & Tech*. 13: 391-399.
- Goesaert H, Gebruers K, Courtin CM, Brijs K, Delcour JA. 2006. *Enzyme in breadmaking*. In: Hui YH (Ed). *Bakery Product. Science and Technology*: Blackwell Publishing, Ames, Iowa, USA. P337-367.
- Hathorn CS, Biswas MA, Gichuhia PN, Bovell-Benjamin AC. 2008. Comparison of chemical, physical, micro-structural, and microbial properties of breads supplemented with sweetpotato flour and high-gluten dough enhancers. *J LWT*. 41: 803-815. doi 10.1016/j.lwt.2007.06.020
- Joye II, Lagrain B, dan Delcour JA. 2009. Use of chemical redox agents and exogenous enzymes to modify the protein network during breadmaking- A Review. *Cer Sci*. 50:11-21. doi: doi.org/10.1016/j.jcs.2009.04.001
- Koswara S. 2009. *Teknologi Pengolahan Roti. ebookpangan.com*.
- Kuraishi C, Yamazaki K, dan Susa Y. 2001. Transglutaminase: its utilization in the food industry. *Food Review International*. 17(2): 221-246. doi: 10.1081/FRI100001258.
- Kraithong S, Lee S, dan Rawdkuen S. 2017. Physicochemical and functional properties of Thai organic rice flour. *J Cer Sci*. 79 (2018) :259-266
- Lagrain B, Brijs K, dan Delcour JA. 2008. Reaction kinetics of gliadin-glutenin cross-linking in model systems and in bread making. *J. Agric. Food Chem*. 56:10660-66
- Lorenzen PCHR, Neve H, Mautner A, Schlimme E. 2011. Effect of enzymatic cross-linking of milk proteins on functional properties of set-style yoghurt. *J Dairy Tech*. 55 (3):152-157.
- Madamba PS. 2015. Determination of optimum intermittent drying condition for rough rice (*Oryza sativa* L.). *J U-Technol*. 38: 157-165.
- Moore MM, Heinbockel ML, Dockery P, Ulmer HM, Arendt EK. 2006. Network formation in gluten-free bread with application of transglutaminase. *J Cer Chem*. 83(1):28-36.
- Motoki M dan Kumazawa Y. 2000. Recent research trends in transglutaminase technology for food processing. *J. Food Sci. Technol. Res*. 6(3):151-160.
- Ohtsuka T, Sawa A, Kawabata R, Nio N, Motoki M. 2000. Substrate Specificities of Microbial Transglutaminase for Primary Amines. *J Agric Food Chem*. 48(6230-6233). doi:10.1021/jf000302k.
- Palupi NS, Zakaria FR, dan Prangdimurti. 2007. Pengaruh pengolahan terhadap nilai gizi pangan. *Modul e-Learning ENPB*. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Patriadi A. 2015. Taut silang pati sagu dengan gluten untuk meningkatkan daya mengembang sagu sebagai bahan utama adonan [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Prasad K, Sing Y, dan Ani A. 2012. Effects of grinding method on the characteristics of Pusa 1121 rice flour. *Trop Agric and Food Sci*. 40(2):193-201.
- Hasrini RF, Pohan HG, dan Aviana T. 2011. Karakteristik Tepung Ubi Jalar. *J Agro-Based Industry*. 28(1):29-37
- Rosida DF, Wijaya CH, Apriyanto A, Zakaria FR. 2011. Efektifitas metode aktivitas antioksidan pada fraksi kecap manis dan model glukosaglisinsistein. *Teknologi Pangan*. 5(1):15-22.
- Sawitri ME, Manab A, dan Huda M. 2010. Kajian penggunaan whey bubuk sebagai pengganti susu skim bubuk dalam pengolahan soft frozen es. *JIPB*. 20(1): 31-37.
- Sharma R, Zakora M, dan Qvist KB. 2002. Susceptibility of an industrial α -lactalbumin concentrate to cross-linking by microbial transglutaminase. *J Int. Dairy* 12:1005-1012
- Shin M, Gang DO, dan Song JY. 2010. Effects of Protein and Transglutaminase on the

- Preparation of Gluten-free Rice Bread. *Journal Food Science Biotechnol.* 19(4): 951-956. doi: 10.1007/s10068-010-0133-8.
- Smith JP, Daifas DP, El-Khoury W, Koukoutsis J, El-Khoury A. 2004. Shelf life and safety concerns of bakery products-a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutritio.* 44: 19-55.
- Steffolani ME, Ribotta PD, Perez GT, Puppo MC, Leon AE. 2012. Use of enzymes to minimize dough freezing damage. *Food Bioprocessing Technology.* 5(6): 2242-2255
- Suryatna BS. 2015. Peningkatan Kelembutan Tekstur Roti Melalui Fortifikasi Rumput Laut *Euchema Cottonii*. *J Teknoba.* 2(2): 18-25
- Syahputri DA dan Wardani AK. 2015. Pengaruh fermentasi jali (*Coix Lacryma Jobi-L*) pada proses pembuatan tepung terhadap karakteristik fisik dan kimia cookies dan roti tawar. *Jurnal Pangan dan Agroindustri.* 3(3): 984-995
- Wang Y dan Wang L. 2003. Physicochemical properties of common and waxy corn starch oxidized by different level of sodium hypochloride. *Carbohydr Polymers.* 52(3):207-217.
- Yokoyama K, Nakamura N, Seguro K, Kubota K. 2000. Overproduction of microbial transglutaminase in *Escherichiacoli*, in vitro refolding, and characterization of the refolded form. *Journal Biosci Biotechnol Biochem.* 64:1263-1270