



Karakteristik Kimia Dan Warna Biskuit Substitusi Tepung Cacing Tanah (*Lumbricus Rubellus*) Dan Tepung Ubi Jalar Oranye (*Ipomoea Batatas*) Sebagai Makanan Tambahan Potensial Pada Anak Dengan Hipoproteinemia

Previta Zeisar Rahmawati¹, Ariana Listuhayu Wahyuni²

¹ Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Maharani, Jl. Akordion Selatan 8B Malang - Jawa Timur 65143, previta.zr@gmail.com

² Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Maharani, Jl. Akordion Selatan 8B Malang - Jawa Timur 65143, previta.zr@gmail.com

Kata kunci:

Analisis Proksimat
Cacing tanah
Pangan Fungsional
Ubi Jalar Oranye
Uji Warna

ABSTRAK

Latar belakang: Cacing tanah (*Lumbricus rubellus*) merupakan sumber protein hewani tinggi, tetapi olahan tepung cacing tanah untuk dijadikan sebagai bahan aditif pada produk pangan fungsional belum optimal. Produk pangan dalam bentuk biskuit yang diperuntukkan terutama bagi anak-anak dengan kondisi rendah protein (*hipoproteinemia*), **Tujuan:** Melakukan karakterisasi produk biskuit yang disubstitusi tepung cacing tanah (TCT) dan Tepung Ubi Jalar Oranye (TUO), secara kimia dan fisik warna. **Metode:** Penelitian ini merupakan eksperimental. Karakteristik kimia meliputi penentuan kadar karbohidrat, protein, lemak, air, dan abu, sedangkan uji warna menggunakan unit warna L, a*, b*. **Hasil:** Data menunjukkan bahwa, dibandingkan biskuit Kontrol F0, rerata kenaikan kadar pada protein, lemak dan abu biskuit formulasi sebesar 10,67%; 1,81% dan 0,68%. Selain itu rerata penurunan kadar pada karbohidrat sebesar 12,75% dan kadar air 0,22% Warna biskuit paling gelap pada F4 (41,2). **Kesimpulan:** nilai gizi protein pada biskuit F3 dan F4 telah memenuhi nilai AKG untuk balita usia 4-6 tahun dan berpotensi diterapkan sebagai camilan tinggi protein.

Key word:

Proximate analysis
Lumbricus rubellus
Functional Food
Ipomoea batatas
Color test

ABSTRACT

Background: Earthworms (*Lumbricus rubellus*) are a high source of animal protein, but the use of processed earthworm such as flour as an additives in functional food products is not optimal yet. Earthworm based Biscuits, with addition of orange sweet potato flour is one of the potential snacks than can be consumed especially for children with low protein conditions (*hypoproteinemia*) **Objectives:** To characterize the biscuit products substituted by earthworm flour and Orange Sweet Potato Flour, chemically and physically in color. **Methods:** This study is an experimental study. Chemical characteristics observed were levels of carbohydrates, protein, fat, water, and ash, while the color test using colour models L, a*, b*. **Results:** The data showed, compared to Control biscuits (F0), the average increase in protein, fat and ash content of formulated biscuits was 10.67%; 1.81% and 0.68% respectively. And the average decrease in carbohydrate and water content was 12.75% and 0.22% respectively. The biscuit color is most intense at F4 (41.2). **Conclusion :** The nutritional value of protein in F3 and F4 biscuits has fulfilled the AKG for children aged 4-6 years and has the potential to be applied as a high protein snack.

This is an open access article under the CC-BY-SA license



1. Pendahuluan

Dietary Protein adalah sumber penting asam amino pada bahan pangan yang mengandung asam amino esensial yaitu asam amino yang tidak dapat disintesis dan harus diperoleh dari makanan. Protein yang dicerna dalam makanan dipecah menjadi asam amino atau peptida kecil yang dapat diserap oleh usus dan diedarkan dalam darah.[1] Protein di dalam tubuh mengalami metabolisme katabolik dan anabolik yang salah satu peran utama protein pada metabolisme yaitu dalam proses sintesis sel-sel jaringan tubuh yang mengalami kerusakan selain itu sintesis sel juga terjadi untuk kepentingan tumbuh kembang sel yang terdapat dalam tubuh.[1]

Anak di usia 4-6 tahun merupakan masa yang masih berada pada masa dengan pertumbuhan cepat dan aktivitas yang semakin tinggi. Kebutuhan protein harian pada masa tumbuh kembang anak harus tercukupi setiap harinya dan memastikan tubuh mendapatkan cukup protein untuk mendapatkan energi dalam beraktivitas. Berdasarkan Angka Kecukupan Gizi (AKG) kebutuhan energi protein pada anak usia 4-6 tahun adalah 25 g per hari.[2]

Kondisi di mana seseorang memiliki kadar protein dalam darah yang sangat rendah dinamakan *hipoproteinemia*. Pola diet makan yang kekurangan kebutuhan protein dapat mengembangkan kondisi *hipoproteinemia* yang berujung pada kegagalan fungsi hati, ginjal dan malnutrisi protein (*kwashiorkor* dan *marasmus*).[3] Protein didapatkan dari makanan seperti daging merah, ayam, ikan, tahu, telur, produk susu, dan kacang-kacangan. Selain itu protein juga bisa didapatkan dari produk olahan pangan yang menambahkan protein hewani/nabati dengan tujuan untuk meningkatkan nilai gizi protein pada produk olahan makanan tersebut.

Salah satu sumber protein hewani yaitu pada tepung cacing tanah yang diketahui memiliki nilai Indeks Asam Amino Esensial (EAAI) sebesar 58,67%.[4] Cacing tanah diolah menjadi tepung sebagai sarana untuk penambahan nilai protein dalam bahan pangan. Tepung cacing tanah (TCT) dipilih sebagai bahan baku lokal sumber protein hewani yang telah banyak diteliti dengan memanfaatkannya sebagai bahan aditif untuk pakan pada unggas dan pakan ikan.[5] [6] [7]. Selain itu tepung cacing tanah juga digunakan dalam bidang farmasi yaitu dapat mengobati penyakit *typhoid*, karena diketahui pada cacing tanah memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Salmonella thypi*. [8] Pemanfaatan cacing tanah (*Lumbricus rubellus*), utamanya untuk obat, konsumsi serta budidaya, telah memiliki dasar hukum yang jelas, sehingga tidak lagi menjadi kekhawatiran bagi masyarakat luas, terutama bagi Indonesia yang mayoritas beragama Islam. Regulasi terkait pemanfaatan cacing tanah sebagai produk tepung dapat dikuatkan dengan fatwa MUI (2000), setelah mempertimbangkan pendapat beberapa ulama, diantaranya Imam Malik, Ibn Abi Laila, dan Al-Auzi, yang menyatakan bahwa mengkonsumsi/memakan serta membudidayakan cacing dan jangkrik adalah halal selama memiliki manfaat dan tidak membahayakan. Pemanfaatan TCT sebagai bahan substitusi pangan fungsional masih sedikit penelitian yang melaporkan. Pemanfaatan TCT pada biskuit dalam rangka untuk meningkatkan kadar protein pada produk makanan olahan dan asupan protein harian merupakan salah satu inovasi yang perlu dikembangkan dan diteliti lebih lanjut.

Pangan lokal lain yang berpotensi digunakan sebagai bahan pengganti tepung terigu dan dijadikan sebagai substitusi biskuit guna meningkatkan nilai gizi dan mendukung program diversifikasi pangan adalah ubi jalar.[9] Ubi jalar oranye telah diidentifikasi sebagai makanan diet yang mengandung sejumlah senyawa bioaktif seperti beta-karoten, asam askorbat, polifenol, serat makanan serta vitamin, dan mineral.[10] Tepung ubi jalar oranye juga merupakan sumber provitamin A, dan memberikan efek penting bagi kesehatan manusia.[11] Berdasarkan latar belakang diatas, penelitian ini bertujuan untuk menganalisis karakteristik kimia dan warna pada biskuit yang disubstitusi dengan Tepung Cacing Tanah (TCT) dan Tepung Ubi Jalar Oranye (TUO) dengan perbandingan formulasi. Substitusi TCT dan TUO diduga dapat

memberikan pengaruh yang dapat diukur melalui sifat kimia dan fisik, sehingga peneliti berkeinginan untuk meneliti beberapa hal terkait faktor fisik dan kimiawi dari tepung cacing tanah serta produk olahannya, dan dapat digunakan dasar sebagai penelitian selanjutnya, atau pengembangan produk lebih lanjut.

2. Metode

2.1 Desain Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimental menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 1 kontrol, 4 perlakuan dan 2 kali pengulangan analisis (*duplo*). Sampel dari penelitian ini adalah biskuit yang disubstitusi TCT dan TUO. Jumlah substitusi ditetapkan berdasarkan perumusan formulasi dengan melihat kebutuhan nutrisi harian anak usia 4-6 tahun per orang per hari yang mengacu pada AKG.

Tabel 1. Presentase Perbandingan Formulasi Tepung Cacing Tanah, Tepung Ubi Jalar Oranye dan Tepung Terigu

Formulasi	F0	F1	F2	F3	F4
Tepung Cacing Tanah (TCT)	0%	1%	3%	5%	9%
Tepung Ubi Jalar Oranye (TUO)	0%	11%	16%	20%	29%
Tepung Terigu (TT)	100%	88%	81%	75%	63%
Total	100%	100%	100%	100%	100%

Tabel 2. Komposisi Biskuit tersubstitusi TCT dan TUO

Komposisi (g)	Kontrol		Perlakuan		
	F0	F1	F2	F3	F4
Tepung Terigu	400	350	325	300	250
Tepung Cacing Tanah	0	5	10	20	35
Tepug Ubi Jalar Oranye	0	45	65	80	115
Gula Halus	120	120	120	120	120
Kuning Telur	72	72	72	72	72
Margarin	200	200	200	200	200
Susu Bubuk	16	16	16	16	16
<i>Baking Powder</i>	1	1	1	1	1
Vanili	2	2	2	2	2
Total	811	811	811	811	811

Penelitian ini dilaksanakan melalui tiga tahap, yaitu pembuatan tepung cacing tanah dan tepung ubi jalar oranye, pembuatan biskuit formulasi, kemudian analisis proksimat dan uji warna pada biskuit formulasi. Pengujian analisis proksimat dilakukan di Laboratorium Gizi Universitas Airlangga Surabaya dan uji fisik warna dilakukan di Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan Universitas Brawijaya Malang.

2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tepung cacing tanah, tepung ubi jalar oranye, gula halus, telur, susu bubuk, margarin, baking powder, vanili, HCl *p.a* (Merck), NaOH *p.a* (Merck), aquadest, H₂SO₄*p.a* (Merck), K₂SO₄*p.a* (Merck), HgOp.a (Merck), H₂BO₃*p.a* (Merck) dan Hexan (Merck).

2.3 Tahapan Penelitian

2.3.1 Pembuatan Tepung Cacing Tanah

Cacing tanah dipisahkan dari media tumbuhnya, kemudian dibersihkan dengan air mengalir. Cacing tanah yang sudah hilang media tanahnya, dimasukkan dalam wadah dan disiram dengan air panas suhu 90-100°C selama 10 detik. Air panas dibuang dan dilakukan pembilasan dengan air bersih (2-3 kali). Satu buah jeruk lemon diperas diambil airnya dan 3 g jahe yang telah ditumbuk, ditambahkan ke dalam wadah cacing dan didiamkan selama 15 menit. Cacing tanah yang sudah bersih, dikukus selama 15-20 menit. Cacing tanah kukus ditumbuk menggunakan mortar hingga berbentuk pasta. Pasta cacing tanah dipindahkan ke dalam loyang oven dan ratakan tipis. Pasta Cacing dikeringkan dalam oven dengan suhu 60°C selama 5 jam. Adonan tepung cacing kering, dihaluskan dalam *grinder* dan diayak dengan menggunakan ayakan 40 *mesh*.

2.3.2 Pembuatan Tepung Ubi Jalar Oranye

Ubi jalar oranye dikupas dan dibersihkan dengan air mengalir, kemudian diiris tipis dengan ukuran ketebalan 0,2 cm. Irisan ubi jalar, dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 70°C selama 5 jam. Irisan ubi yang kering dihaluskan dengan *grinder* dan diayak dengan menggunakan ayakan 80 *mesh* hingga menjadi tepung ubi jalar.

2.3.3 Pembuatan Biskuit

Pembuatan biskuit substitusi menggunakan metode krim yaitu memisahkan antara bahan kering dan bahan pembentuk *butter*. [12] Bahan pembentuk *butter* yaitu gula halus, margarin, vanili, *baking powder* dimasukkan terlebih dahulu ke dalam wadah dan di *mixer* sampai agak putih, lalu ditambahkan 4 butir kuning telur dan di *mixer* hingga homogen. kemudian dicampur dengan bahan kering yaitu tepung terigu, tepung ubi jalar oranye, dan tepung cacing tanah hasil formulasi (Tabel 2.) secara perlahan hingga terbentuk adonan dan tercampur hingga kalis. Adonan dipipihkan menggunakan *roll* kayu dengan ketebalan optimal yaitu 0,4 cm dan diameter 3 cm, lalu dicetak menggunakan cetakan kue kemudian ditata diatas loyang lalu dimasukkan oven dengan suhu 160°C selama 10 menit.

2.4 Analisis Komponen Kimia

2.3.1 Kadar Protein, Metode *Kjeldhal* (AOAC, 2005)

Pengukuran kadar protein menggunakan metode *Kjeldahl* yaitu dengan mengukur persen nitrogen total pada sampel kemudian dikonversi kedalam protein menggunakan faktor konversi tepung-tepungan yaitu 5,7. Sampel yang telah dihaluskan ditimbang 0,2 – 0,4 g dan dimasukkan ke dalam labu *Kjeldahl*. Ditambahkan 10 mL asam sulfat pekat dan 1,9 ± 0,1 g K₂SO₄, 40 ± 10 mg HgO sebagai katalis, dan batu didih. Destruksi (dilakukan dalam lemari asam) hingga cairan berwarna hijau jernih. Setelah dingin larutan tersebut diencerkan dengan akuades hingga 100 mL dalam labu ukur. Larutan tersebut dipipet 10 mL dan dimasukkan ke dalam alat distilasi lalu ditambah 10 ml NaOH 30% yang telah dibakukan oleh larutan asam oksalat. Distilasi dijalankan dan distilatnya ditampung sampai kira-kira 15 ml dalam erlenmeyer yang berisi 25 mL larutan HCl 0,1N yang telah dibakukan oleh larutan H₂BO₃. Kelebihan HCl dititrasi dengan larutan NaOH 0,1 N dengan indikator *fenolftalein*.

2.3.2 Kadar Lemak, Metode Ekstraksi *Soxhlet* (AOAC, 2005)

Sebanyak 5 g sampel ditimbang dan dimasukkan dalam kertas saring kemudian diletakkan kedalam alat *soxhlet* yang sebelumnya telah ditambahkan kapas pada alas bawah dan atas kertas saring, kemudian dirangkai alat ekstraksi *soxhlet* yang terdiri atas labu alas bulat yang didalamnya terdapat batu didih, labu *soxhlet*, dan kondensor. Setelah itu diekstrak dengan pelarut *dietil eter* selama lebih kurang 6 jam. Selanjutnya labu alas bulat

yang berisi lemak hasil ekstraksi dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C. Lalu didinginkan dan ditimbang hingga bobot tetap. Perhitungan kadar lemak dilakukan dengan membandingkan berat lemak dan berat sampel dikali 100%.

2.3.3 Kadar Air, Metode Termogravimetri (AOAC, 2005)

Penentuan kadar air biskuit tersubstitusi dan biskuit kontrol dilakukan dengan menggunakan metode *termogravimetri*. Sampel yang ditimbang sebanyak 5 gram, dimasukan ke dalam cawan yang sudah diketahui bobotnya selanjutnya dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 3 jam. Setelah itu didinginkan dalam eksikator hingga dingindan ditimbang menggunakan neraca analitik hingga diperoleh bobot tetap. Perhitungan kadar air diperoleh dengan membandingkan cawan sampel sebelum dikeringkan dan bobot yang hilang setelah dikeringkan dikali 100%.

2.3.4 Kadar Abu, Metode Pengabuan Kering (AOAC, 2005)

Pengukuran kadar abu total dilakukan dengan metode pengabuan kering. Sampel sebanyak 3-5 g ditimbang pada cawan yang sudah diketahui bobotnya. Lalu diarangkan dan diabukan dalam tanur pada suhu 550°C sampai terbentuk abu berwarna abu-abu. Kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang hingga diperoleh bobot tetap. Perhitungan kadar abu dilakukan dengan membandingkan berat abu dan berat sampel dikali 100%.

2.3.5 Kadar Karbohidrat, Metode *by difference* (AOAC, 2005)

Kadar karbohidrat ditentukan dengan metode *by difference* yaitu dengan cara dihitung sebagai sisa dari kadar air, abu, kadar lemak dan kadar protein, yang dapat dinyatakan dengan rumus: Kadar karbohidrat (% b/b) = 100 % - (kadar air + kadar abu + kadar lemak + kadar protein)

2.5 Analisis Fisik Warna (*Color reader*)

Analisis ini dilakukan menggunakan *color analyzer* (hunterLab colorFlex EZ) dan Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu, 1200). Uji warna dilakukan dengan sistem warna Hunter L* (warna putih), a* (warna merah), b* (warna kuning). *Chromameter* terlebih dahulu dikalibrasi dengan standar warna putih yang terdapat pada alat tersebut. Hasil analisis derajat putih yang dihasilkan berupa nilai L*, a*, b*. Pengukuran total derajat warna digunakan basis warna putih sebagai standar.[13]

3. Hasil Dan Pembahasan

3.1 Analisis Kadar Protein Tepung Cacing Tanah (TCT)

Pada penelitian ini dilakukan analisis karakteristik kimia terhadap tepung cacing tanah *Lumbricus rubellus*. Tujuan dilakukannya analisis komponen kimia pada tepung cacing tanah adalah untuk mengetahui kadar protein yang sebenarnya dan juga kadar komponen proksimat lainnya, guna untuk melihat pengaruh kandungan nutrisi dari substitusi tepung cacing tanah terhadap biskuit. Hasil analisis kadar protein pada Tepung Cacing Tanah (TCT) ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil analisis komponen kimia pada Tepung Cacing Tanah (*Lumbricus rubellus*)

Sampel	Kadar (%)				
	Protein	Lemak	Air	Abu	Karbohidrat
Tepung Cacing Tanah	60,42	16,61	7,79	5,73	9,46

Hasil analisis kadar protein pada tepung cacing tanah didapatkan sebesar 60,42%. Hasil ini sedikit lebih rendah dari penelitian Istiqomah *et al* yaitu sebesar 63% berat protein kasar terhadap kandungan protein dari cacing tanah.[4] Perbedaan ini kemungkinan disebabkan pada

penelitian Istiqomah *et al* digunakan penambahan asam format saat pembuatan tepung cacing tanah. Penambahan asam format ke dalam tepung cacing dapat meningkatkan kadar protein kasar. Asam format ditambahkan berguna sebagai agen pelindung pada cacing tanah saat sebelum memasuki proses penggilingan sehingga menjaga kualitas kandungan protein tepung cacing tersebut.[4] Pada penelitian ini tidak digunakan penambahan asam format karena pertimbangan keamanan dari bahan kimia yang ditambahkan pada bahan baku pembuatan biskuit substitusi tersebut. Kandungan protein yang di dapatkan menurut peneliti cukup tinggi tanpa adanya tambahan dari agen pelindung. Tepung cacing tanah sebagai sumber protein hewani pada produk tepung, jika dibandingkan dengan tepung dengan kandungan protein hewani lain seperti tepung ikan runcah, kandungan proteinnya sebesar 53,7% [9], pada penelitian lain menyebutkan kandungan proteinnya sebesar 44%.[14] Tepung protein hewani lain seperti tepung kerang hijau (*Perna viridis*) hanya sebesar 14,5%.[15] Selain kandungan protein tinggi, tepung cacing tanah memiliki 11 kandungan asam amino esensial (fenilalanin, valin, metionin, isoleusin, threonin, histidin, arginin, lisin, sistein, tirosin) dan 6 asam amino nonesensial (asam aspartat, asam glutamat, serin, glisin, alanin dan prolin).[4]

Kebutuhan protein sangat penting bagi anak-anak/balita di mana asupan protein didapatkan dari sumber makanan utama dan makanan tambahan. Menurut Kemenkes RI (2012) syarat makanan tambahan bagi balita usia 4-6 tahun yaitu memiliki sekitar 1/3 dari kebutuhan energi per hari menurut AKG yaitu sebesar 466 kkal (total 1.400 kkal) dan protein sebesar 8–10 g (total 25 g protein) per hari. Balita tergolong dalam masa pertumbuhan sehingga memerlukan peningkatan jumlah protein yang ada di dalam tubuh. Jumlah protein yang dibutuhkan oleh balita lebih besar daripada yang dibutuhkan oleh orang dewasa. Tinggi badan anak yang kekurangan protein akan tumbuh lebih lambat dibandingkan anak yang konsumsi proteinnya cukup.[16] Menurut Prentice dan Bates, asam amino protein digunakan untuk membangun matriks tulang serta memengaruhi pertumbuhan tulang karena protein memiliki fungsi memodifikasi sekresi maupun aksi *osteotropic hormone* IGF-1. Sehingga, protein dapat memodulasi potensi genetik dari pencapaian *peak bonemass*.[17] Menurut Fanzo dkk, makanan sumber protein hewani memiliki asam amino esensial yang lengkap dalam memenuhi kebutuhan protein yang dibutuhkan oleh tubuh. Apabila asam amino dalam tubuh yang diperoleh dari konsumsi makanan tidak lengkap maka dapat mengakibatkan gangguan pertumbuhan.[18]

Salah satu masalah gizi yang paling banyak ditemukan dinegara berkembang seperti Indonesia adalah Kurang Energi Protein (KEP) yaitu keadaan kurang gizi yang disebabkan oleh rendahnya konsumsi energidan protein dalam makanan sehari-hari sehingga tidak memenuhi AKG yang mana akan berujung pada kondisi *stunting* dan *hipoproteinemia*.[9]

3.2 Karakteristik Kimia Biskuit tersubstitusi TCT dan TUO

Karakteristik kimia biskuit tersubstitusi TCT dan TUO disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil analisis proksimat sampel biskuit yang tersubstitusi TCT dan TUO

Parameter (%)	Kontrol		Perlakuan		
	F0	F1	F2	F3	F4
Kadar Protein	7,90	14,19	17,24	20,19	22,69
Kadar Lemak	0,73	2,17	2,45	2,66	2,87
Kadar Air	8,02	7,65	7,88	7,85	7,84
Kadar Abu	2,44	2,78	2,99	3,28	3,45
Kadar Karbohidrat	80,72	73,22	69,46	66,03	63,16

Keterangan, F0: Biskuit kontrol (tidak disubstitusi TCT dan TUO); F1: Formulasi 1, F2:

Formulasi 2, F3: Formulasi 3. F4: Formulasi 4

3.2.1 Kadar Protein

Protein merupakan komponen penting dari makanan manusia yang dibutuhkan untuk proses regenerasi jaringan, penghasil energi dalam tubuh, dan makro molekul serbaguna disistem kehidupan yang mempunyai fungsi penting dalam semua proses biologi seperti sebagai katalis, transpor oksigen, sebagai kekebalan tubuh, dan menghantarkan impuls saraf [19]. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan diperoleh kadar protein produk biskuit cenderung meningkat bersamaan dengan penambahan jumlah tepung cacing tanah dan tepung ubi jalar oranye (Tabel 3.)

Protein merupakan molekul kompleks yang terdiri atas asam amino esensial dan asam amino non esensial yang sangat dibutuhkan oleh tubuh untuk pertumbuhan. Menurut Alamsyah, komposisi asam amino pada tepung cacing tanah mengandung lisin 8,69%; histidin 5,76; arginin 3,01; threonin 2,29; valin 5,12; metionin 3,64; isoleusin 4,2; leusin 4,64; sistin 2,51; tirosin 3,72; dan fenilalanin 1,77 [6]. Keadaan inilah yang menyebabkan semakin tinggi substitusi tepung cacing tanah semakin tinggi kadar protein biskuit, sehingga akan berpengaruh juga terhadap kadar energi, karena berdasarkan konsep metabolisme, protein merupakan salah satu sumber energi dalam bentuk ATP yang digunakan tubuh untuk proses biologis seperti pertumbuhan sel dan jaringan serta beraktifitas.[1]

Komposisi biskuit F1 (Tabel 2), TCT yang disubstitusikan sebanyak 5 g dan kadar protein TCT pada penelitian ini sebesar 60,42%. Apabila dihitung jumlah potensi protein yang dapat disumbang oleh tepung cacing tanah pada biskuit F1 per 100 g biskuit, yaitu sebesar 3 g. Kadar protein pada biskuit F0 dipengaruhi oleh kuning telur dan susu sebagai komposisi biskuit, sedangkan pada biskuit F1 hingga F4 kuning telur dan susu tidak mempengaruhi karena jumlahnya sama dengan komposisi pada biskuit kontrol, sehingga yang mempengaruhi kenaikan proteinnya adalah adanya substitusi dari tepung cacing tanah (Tabel 5).

Tabel 5. Potensi Nilai Protein Penyumbang pada Biskuit Tersubstitusi per 100 gram dari Hasil Uji Laboratorium dan DKBM berdasarkan AKG Balita Usia 4-6 Tahun

Kandungan	F0	F1	F2	F3	F4	AKG balita usia 4-6 tahun
Hasil Laboratorium						
- Protein TCT	0	3	6	12	21	
DKBM						
- Protein Kuning Telur	12	12	12	12	12	
- Protein Susu Bubuk	1	1	1	1	1	
Total per hari	13	14	17	25	34	25
Total per porsi	1,3	1,4	1,7	2,5	3,4	2,5

Berdasarkan Tabel 5. AKG balita usia 4-6 tahun asupan protein perhari sebesar 25 g. Sedangkan biskuit yang merupakan makanan tambahan berupa *snack*, energi yang perlukan hanya sebesar 10% dari jumlah total energi harian, dengan kebutuhan per porsinya yaitu sebesar 2,5 gram. Maka bila dilihat dari segi AKG pada balita usia 4-6 tahun dari ke-4

formulasi biskuit tersubstitusi, potensi penyumbang gizi protein yang sesuai dengan AKG adalah pada biskuit F3 dan F4.

Sedangkan apabila ditinjau berdasarkan standar mutu biskuit dari Badan Standarisasi Nasional (BSN) SNI 2973-2018, pada penelitian ini kadar protein yang di dapatkan (Tabel 4) dari biskuit F1 hingga F4 sudah memenuhi standar mutu SNI yaitu minimum 5%. Nilai rerata kenaikan kadar protein pada penelitian ini adalah sebesar 10,67%. SNI 2973-2018 ini merupakan suatu standar mutu yang dirumuskan oleh BSN dengan tujuan untuk meningkatkan perlindungan konsumen dari segala usia mengenai komponen kimia, biologi dan cemaran pada biskuit tersebut. Sedangkan AKG adalah Angka Kecukupan Gizi yang pada penelitian ini dikhususkan kandungan gizi proteinnya bagi balita usia 4-6 tahun.

3.2.2 Kadar Lemak

Salah satu peran fisiologis utama dari lemak yaitu sebagai molekul bahan bakar sumber energi yang disimpan sebagai *triasilgliserol* pada metabolisme asam lemak. Energi yang diperoleh dari oksidasi sempurna asam lemak adalah sebesar 9 kkal dimana angka tersebut lebih besar dari pada energi yang diperoleh dari karbohidrat dan protein yang hanya sebesar 4 kkal.[1] Hasil penetapan kadar lemak total pada biskuit kontrol sebesar 0,73% dan pada biskuit perlakuan (F1, F2, F3 dan F4) kadar lemak meningkat berurut-urut sebesar 2,17%; 2,45%; 2,66%; 2,87% (Tabel 4) dan nilai rerata kenaikan kadar lemak pada penelitian ini adalah sebesar 1,81%. Bila dibandingkan dengan nilai mutu SNI biskuit kadar lemak dalam penelitian ini belum memenuhi syarat yaitu maksimal 1%.[20] Tingginya kadar lemak disebabkan oleh kandungan lemak dari bahan baku tepung yang digunakan. Jika dilihat dari komposisi substitusi antara TCT dan TUO (Tabel 1). Semakin banyak substitusi TCT dan TUO pada formulasi biskuit kenaikan kadar lemak mengalami peningkatan. Pada penelitian ini diketahui kandungan lemak pada tepung cacing tanah sebesar 16,61% meskipun tidak memberikan dampak yang tinggi pada kenaikan kadar lemak pada biskuit tersubstitusi, tetapi jika dibandingkan biskuit kontrol kadar lemak mengalami peningkatan yang cukup besar. Pada penelitian Rodrigues *et al.*, kandungan lemak pada tepung ubi jalar oranye hanya sebesar 0,39% dan menurut *U.S. Department of Argicultural* kandungan total lemak pada tepung terigu sebesar 0,98%.[11] [21] Selain itu, tingginya kandungan lemak biskuit kemungkinan dipengaruhi juga oleh penggunaan bahan tambahan seperti margarin saat proses pembuatan adonan biskuit. Menurut DKBM margarin memiliki kandungan lemak yang cukup tinggi yaitu 81 g per 100 g margarin. Sehingga dengan sedikit penambahan dari TCT mampu menaikkan kadar lemak pada biskuit.

3.2.3 Kadar Air

Air merupakan komponen penting dalam bahan makanan karena air dapat mempengaruhi penampakan, tekstur, serta cita rasa makanan. Kandungan air dalam bahan makanan menentukan daya terima, kesegaran dan daya tahan bahan tersebut.[22] Kadar air pada biskuit substitusi menunjukkan penurunan jika dibandingkan dengan biskuit tanpa perlakuan (F0) (Tabel 4), dan nilai rerata penurunan kadar air pada penelitian ini adalah 0,22%. Sedangkan jika dibandingkan dengan syarat mutu biskuit, kadar air dalam penelitian ini masih belum memenuhi syarat yaitu maksimal 5%.[20] Kadar air biskuit substitusi TCT dan TUO kemungkinan dipengaruhi pada saat proses pemanggangan biskuit. Selama proses pemanggangan, air akan terevaporasi dan jumlah air yang terevaporasi dari biskuit tidak akan sama antara biskuit satu dengan yang lainnya, bisa terjadi karena penyebaran panas pada oven yang tidak merata sehingga proses evaporasi tidak berjalan dengan sempurna. Beberapa dugaan lain yang menyebabkan yaitu perbedaan kadar air pada masing-masing bahan dimana tepung cacing tanah kadar airnya sebesar 7,79% (Tabel 3.) pada saat proses

pengolahan cacing tanah menjadi tepung, terdapat proses pencucian berulang dan pengukusan sebelum dilakukan proses pengeringan. Proses pengeringan yang terlalu singkat dapat menyebabkan kurang optimalnya proses evaporasi air sehingga mempengaruhi kadar air TCT tersebut. Berdasarkan penelitian Rodrigues *et al* kadar air tepung ubi jalar oranye sebesar 10,97%. Sehingga apabila digunakan sebagai bahan baku pada biskuit, akan berpengaruh pada kadar air biskuit yang dihasilkan.[11] Menurut Pratama *et al.*, jika kadar air pada biskuit terlalu rendah maka warnanya akan terlalu gelap dan dapat menyebabkan biskuit akan memiliki rasa gosong, jika kadar air terlalu tinggi maka tekstur tidak renyah, daya patah rendah dan cepat terjadi perubahan rasa selama proses penyimpanan.[23]

3.2.4 Kadar Abu

Abu merupakan residu anorganik setelah bahan dibakar dengan suhu tinggi (diabukan) menggunakan tanur pengabuan. Kadar abu ada hubungannya dengan mineral suatu bahan, hal ini dapat dibagi menjadi dua macam garam yaitu garam organik dan garam anorganik.[22] Tingginya kadar abu pada sampel, menunjukkan semakin tinggi mineral yang terkandung pada sampel tersebut. Berdasarkan dari hasil penelitian nilai kadar abu pada biskuit meningkat mulai dari F0 (tanpa perlakuan) yaitu sebesar 2,44% hingga dengan perlakuan (F4) yaitu sebesar 3,45% (Tabel 4) dan nilai rerata kenaikan kadar abu pada penelitian ini adalah sebesar 0,68%. Besar kadar abu pada seluruh biskuit baik tanpa perlakuan (F0) maupun dengan perlakuan (F1, F2, F3 dan F4) yang diperoleh lebih tinggi dari nilai mutu SNI yaitu maksimum 1,6%.[24] Kadar abu biskuit substitusi meningkat sejalan dengan bertambahnya jumlah substitusi TCT dan TUO pada formulasi biskuit. Hal ini disebabkan adanya mineral yang berperan dalam TCT dan TUO. Pada penelitian ini kadar abu dari TCT adalah sebesar 5,73% (Tabel 2.). Menurut Palungkun (1999) cacing tanah (*Lumbricus rubellus*) memiliki kandungan mineral kalsium (0,55%) dan fosfor (1%). Besar kadar abu pada TCT diduga kemungkinan saat proses pengolahan cacing tanah menjadi tepung, proses tersebut kurang bersih sehingga terdapat kontaminan dari mineral-mineral lain yang bukan berasal dari cacing tanah yang kemungkinan berasal dari media tumbuh cacing itu sendiri. Persyaratan kadar abu sangat penting untuk mengetahui tingkat kebersihan serta kemurnian suatu bahan. Kadar abu ini menggambarkan banyaknya mineral yang tidak terbakar menjadi zat yang dapat menguap. Sedangkan untuk kadar abu TUO menurut penelitian Rodrigues *et all.*, adalah sebesar 2,11% [11].

3.2.5 Kadar Karbohidrat

Pada penelitian ini, penentuan kadar karbohidrat dilakukan dengan metode *by different* yaitu dengan perhitungan persentase yang tersisa setelah semua komponen lain terukur. Komponen lain yang mempengaruhi besarnya kandungan karbohidrat diantaranya adalah kadar protein, lemak, air dan abu. Pada Tabel 4. dapat diperlihatkan bahwa pada biskuit F0, F1, F2, F3 dan F4 kadar protein, lemak dan abu mengalami peningkatan dan kadar air mengalami sedikit penurunan dan peningkatan yang tidak signifikan. Keadaan tersebut sejalan dengan penurunan nilai karbohidrat pada setiap perlakuan mulai dari F0 hingga F4. Bila komponen lain mengalami peningkatan maka nilai kandungan karbohidrat akan mengalami penurunan. Nilai kandungan karbohidrat biskuit F0 sebesar 80,72% dan F1 sebesar 73,22% masih memenuhi standar SNI yaitu minimum 70% [24], sedangkan F2, F3 dan F4 tidak memenuhi syarat SNI dengan nilai karbohidrat berurut-urut sebesar 69,43% ; 66,03% ; 63,16%. Nilai rerata penurunan kadar karbohidrat pada penelitian ini adalah sebesar 12,75%.

3.3 Uji Fisik Warna Biskuit

Uji fisik warna pada biskuit dilakukan dengan tujuan pengukuran warna secara objektif penting dilakukan karena pada produk pangan warna merupakan daya tarik utama sebelum konsumen mengenal dan menyukai sifat-sifat lainnya. Warna biskuit tanpa perlakuan (F0) dan dengan perlakuan (F1, F2, F3, F4) diamati secara kuantitatif dengan metode Hunter. Warna bahan makanan biasanya diukur dalam unit $L^*a^*b^*$ yang merupakan standar internasional pengukuran warna, diadopsi oleh CIE (*Commission Internationale d'Eclairage*). Nilai L^* , a^* , b^* yang di dapatkan pada penelitian ini dikonversikan kedalam nilai L^* , c^* , h^* untuk membandingkan spektrum warna biskuit yang lebih luas dengan parameter kecerahan yang berbeda.

Tabel 6. Karakteristik fisik warna biskuit substitusi TCT dan TUO menggunakan unit L^* , a^* dan b^*

Perbandingan perlakuan (TCT:TUO:TT)	Unit Warna		
	L	a^*	b^*
F0(0%:0%:100%)	58,7	15,1	34
F1 (1%:11%:88%)	49,9	15,7	30,1
F2 (3%:16%:81%)	47,7	15	28,3
F3 (5%:20%:75%)	43,8	14,7	24,6
F4 (9%:29%:63%)	41,2	13,8	22,3

Keterangan: L^* : indikator kecerahan dengan kisaran 0-100 (gelap-putih); a^* : indikator merah-hijau dengan kisaran 128 hingga -128 (nilai positif merah/hangat, nilai negatif hijau/dingin); b^* : indikator kuning-biru dengan kisaran 128 hingga -128 (nilai positif kuning/hangat, nilai negatif biru/dingin).

Tabel 7. Karakteristik fisik warna biskuit substitusi TCT dan TUO menggunakan unit L^* , c^* dan h^*

Perbandingan perlakuan (TCT:TUO:TT)	Unit Warna		
	L	c^*	h^*
F0(0%:0%:100%)	58,7	37,2	66
F1 (1%:11%:88%)	49,9	33,9	62,4
F2 (3%:16%:81%)	47,7	32	62
F3 (5%:20%:75%)	43,8	28,6	59,1
F4 (9%:29%:63%)	41,2	26,2	58,2

Keterangan: L^* : indikator kecerahan dengan kisaran 0-100 (gelap-putih); c^* : nilai Chroma dengan kisaran 0-100 (gelap-cerah); h^* : nilai Hue 0-360 derajat (warna cerah berdasarkan panjang gelombang).

Indikator kecerahan (L^*) merupakan tingkat warna berdasarkan pencampuran dengan unsur warna putih sebagai unsur warna yang memunculkan kesan warna terang dan gelap. Nilai terendah yaitu 0 sebagai warna paling gelap (hitam) dan semakin mendekati nilai 100 menunjukkan warna paling terang (putih). Hasil uji derajat kecerahan pada biskuit tersubstitusi TCT dan TUO menyatakan bahwa dengan meningkatnya jumlah tepung cacing tanah dan tepung ubi jalar oranye yang disubstitusikan pada formulasi biskuit, maka warna biskuit menunjukkan warna yang cenderung lebih gelap yang ditandai dengan semakin kecilnya nilai L^* . Pada biskuit tanpa perlakuan (F0) derajat kecerahannya sebesar 58,7 dan berurut-urut biskuit dengan perlakuan F1 hingga F4 menunjukkan derajat kecerahan yang semakin menurun

menuju warna gelap yang ditunjukkan pada Tabel 5. Semakin cerah sampel yang diukur maka nilai L mendekati 100. Sebaliknya semakingelap, maka nilai L mendekati 0.

Nilai yang dihasilkan dari a^* sebagai indikator warna merah-hijau dan b^* sebagai indikator warna kuning-biru. Warna merah dan kuning menandakan warna hangat dengan nilai positif (128), warna hijau dan biru menandakan warna dingin dengan nilai negatif (-128). Pada biskuit formulasi menunjukkan bahwa semakin banyak komposisi tepung cacing tanah dan tepung ubi jalar oranye yang tersubstitusi pada perlakuan F1 hingga F4 nilai a^* dan b^* semakin rendah. Warna biskuit yang dihasilkan semakin gelap yang nilainya sama-sama menurun menuju warna yang lebih condong ke dingin.

Nilai c^* dan h^* didapatkan berdasarkan dari hitungan konversi nilai a^* dan b^* . Ruang warna $L^*c^*h^*$ mirip dengan ruang warna $L^*a^*b^*$, tetapi menggambarkan perbedaan warna menggunakan koordinat silinder bukan koordinat persegi panjang. Nilai Chroma (c^*) menunjukkan besaran intensitas warna (*saturation*) bila dilihat dari hasil analisis (Tabel 6) menunjukkan bahwa pada biskuit tersubstitusi, nilai c^* biskuit semakin rendah intensitasnya (*unsaturated*) dan nilai hue yaitu nilai yang mewakili panjang gelombang dominan yang akan menentukan apakah warna tersebut merah, hijau, atau kuning pada biskuit tersubstitusi rona warnanya juga semakin gelap.

Indikator warna dari beberapa parameter yang telah dijabarkan memiliki nilai yang semakin rendah sehingga menandakan bahwa warna biskuit semakin gelap. Perubahan warna tersebut dipengaruhi oleh beberapa faktor. Pertama, disebabkan oleh tepung cacing tanah yang berwarna coklat tua (Gambar 1). Saat pembuatan tepung cacing tanah terjadi reaksi *maillard*, yaitu reaksi non enzimatis yang terjadi antara gula pereduksi dengan senyawa amino dari protein pada proses pengeringan dengan suhu tinggi sehingga membentuk polimer berwarna coklat (Winarno, 2008). Kedua, berkaitan dengan adanya beta-karoten atau sumber vitamin A yang dimiliki oleh tepung ubi jalar oranye yang disubstitusikan. Berdasarkan penelitian Rodrigues *et al.*, (2016) pada tepung ubi jalar oranye memiliki kandungan vitamin A yang dinyatakan sebagai setara aktivitas retinol (*retinol activity equivalent/ RAE*) yaitu sebesar 768 μg RAE. Salah satu sifat beta-karoten adalah sensitif terhadap suhu tinggi. Pada saat proses pembuatan biskuit, suhu tinggi oven dapat menyebabkan senyawa karoten beberapa mengalami degradasi. Menurut Ramdhan dan Aminah (2014) proses pengolahan bahan pangan dengan suhu tinggi dapat menyebabkan penurunan dan kerusakan beta-karoten. Ketiga, Pengaruh dari kandungan glukosa pada tepung terigu, telur, margarin dan gula pasir pada saat pembuatan biskuit. Gugus karbonil pada molekul glukosa bereaksi dengan gugus amino nukleofilik dari asam amino pada telur juga akan terjadi reaksi *maillard* dengan membentuk polimer berwarna coklat. Selain itu gula dan margarin yang meleleh menjadi warna kecoklatan pada suhu tinggi saat pembuatan biskuit juga berpengaruh.



Gambar 1. (a) Perbandingan perbedaan warna pada pada TT, TUO dan TCT. (b) Tepung Ubi Jalar Oranye (TUO). (c) Tepung Cacing Tanah (TCT). Sumber: Data primer penelitian, (2020)

4. Kesimpulan

Substitusi tepung cacing tanah dan tepung ubi jalar oranye pada biskuit formulasi diketahui dapat meningkatkan kadar protein, khususnya pada biskuit F3 dan F4 yang memenuhi kebutuhan gizi protein dari segi AKG untuk anak usia 4-6 tahun. Hal ini merupakan sebuah peluang yang sangat baik walaupun masih perlu dilakukan riset lebih lanjut terkait usaha alternatif lainnya dalam hal formulasi, sehingga nanti dapat mencapai standar mutu SNI biskuit dan dapat digunakan sebagai makanan tinggi protein bagi anak usia 4-6 tahun khususnya.

5. Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini telah diikuti dalam skim Penelitian Dosen Pemula (PDP) dari Kemendikbud. PDP ini mendapat dukungan dana dari DRPM Ristekdikti, Ketua dan UPPM STIKes Maharani yang telah memberikan dukungan dan Dyah Patria Nuringtyas, S.Gz sebagai konsultan saat perumusan formulasi biskuit.

6. Referensi

- [1] J. Berg, J. Tymoczko, and L. Stryer, *Biochemistry*. 2012.
- [2] Menteri Kesehatan Republik Indonesia, "PERMENKES RI No. 28 Tahun 2019 tentang Angka Kecukupan Gizi yang Dianjurkan untuk Masyarakat Indonesia," 2019.
- [3] J. Berry, "Hypoproteinemia: Symptoms, causes, and treatment," 2019.
<https://www.medicalnewstoday.com/articles/320050#Causes>.
- [4] H. Istiqomah, L., Sofyan, A., Damayanti, E., and Julendra, "Amino Acid Profile of Earthworm and Earthworm Meal (*Lumbricus rubellus*) for Animal Feedstuff," *J.Indonesian Trop.Anim.Agric*, vol. 34, no. 4, 2009.
- [5] H. Julendra, Zuprizal, and Supadmo, "PENGUNAAN TEPUNG CACING TANAH (*Lumbricus rubellus*) SEBAGAI ADITIF PAKAN TERHADAP PENAMPILAN PRODUKSI AYAM PEDAGING, PROFIL DARAH, DAN KECERNAAN PROTEIN," *Bul. Peternak.*, vol. 34, no. 1, pp. 21–29, 2010.
- [6] S. Aslamyah and M. Y. Karim, "Potensi Tepung Cacing Tanah *Lumbricus* sp. Sebagai Pengganti Tepung Ikan Dalam Pakan Terhadap Kinerja Pertumbuhan, Komposisi Tubuh, Kadar Glikogen Hati dan Otot Ikan Bandeng *Chanos chanos* Forsskal," *J. Iktiologi Indones.*, vol. 13, no. 1, pp. 67–76, 2013.
- [7] M. R. Taris, L. Santoso, and E. Harpeni, "PENGARUH SUBSTITUSI TEPUNG IKAN DENGAN TEPUNG CACING TANAH (*Lumbricus* sp.) TERHADAP PERTUMBUHAN BENUR UDANG WINDU (*Penaeus monodon*)," *e-Jurnal Rekayasa dan Teknol. Budid. Perair.*, vol. 6, no. 2, p. 699, 2018, doi: 10.23960/jrtbp.v6i2.p699-704.
- [8] F. S. M. Mulyatno, "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Cacing Tanah (*Lumbricus rubellus*) Terhadap Bakteri *Salmonella thypi* dan *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro," Universitas Muhammadiyah Surakarta, 2017.
- [9] D. P. Nuringtyas and A. C. Adi, "Mutu Organoleptik, Kandungan Protein Dan Betakaroten Mie Substitusi Ikan Rucah Dan Ubi Jalar Kuning," *Media Gizi Indones.*, vol. 12, no. 2, pp. 164–172, 2017, doi: 10.20473/mgi.v12i2.164-172.
- [10] K. Ngoma, M. E. Mashau, and H. Silungwe, "Physicochemical and Functional Properties of Chemically Pretreated Ndou Sweet Potato Flour," *Int. J. Food Sci.*, vol. 2019, 2019, doi: 10.1155/2019/4158213.
- [11] N. da R. Rodrigues, J. L. Barbosa, and M. I. M. J. Barbosa, "Determination of physico-chemical composition, nutritional facts and technological quality of organic orange and purple-fleshed sweet potatoes and its flours," *Int. Food Res. J.*, vol. 23, no. 5, pp. 2071–2078,

- 2016.
- [12] R. Claudia, T. Estiasih, D. W. Ningtyas, and E. Widyastuti, "Pengembangan Biskuit Dari Tepung Ubi Jalar Oranye (Ipomoea Development of Biscuit from Orange Sweet Potato Flour (Ipomoea batatas L .) and Fermented Corn Flour (Zea mays)," *Pangan dan Agroindustri*, vol. 3, no. 4, pp. 1589–1595, 2015.
- [13] C. F. M. Almawaty Kaemba, Edi Suryanto, "Karakteristik Fisiko-Kimia dan Aktivitas Antioksidan Beras Analog dari Sagu Baruk (Arenga microcarpha) dan Ubi Jalar Ungu (Ipomea batatas L. Poiret)," *J. Ilmu dan Teknol. Pangan*, vol. 5, no. 1, 2017.
- [14] dan E. H. Septi Yolanda, Limin Santoso, "PENGARUH SUBSTITUSI TEPUNG IKAN DENGAN TEPUNG IKAN RUCAH TERHADAP PERTUMBUHAN IKAN NILA GESIT (Oreochromis niloticus)," *e-Jurnal Rekayasa dan Teknol. Budid. Perair.*, vol. 1, no. 2, pp. 95–100, 2013.
- [15] Y. K. Risna, "PENGUNAAN TEPUNG KERANG HIJAU (Perna viridis) DALAM RANSUM TERHADAP MORTALITAS DAN INDEKS PERFORMA AYAM BROILER," vol. 15, no. 15, pp. 16–20, 2015.
- [16] E. dan N. Sundari, "HUBUNGAN ASUPAN PROTEIN, SENG, ZAT BESI, DAN RIWAYAT PENYAKIT INFEKSI DENGAN Z-SCORE TB/U PADA BALITA," *J. Nutr. Coll.*, vol. 5, no. 4, pp. 520–529, 2016, doi: 10.1038/184156a0.
- [17] C. J. Prentice, Ann and Bates, "an Appraisal of the Adequacy of Dietary Mineral Intakes in Developing Countries for Bone Growth and Development in Children," vol. 6, pp. 51–69, 1993.
- [18] F. Ernawati, M. Prihatini, and A. Yuriestia, "Gambaran Konsumsi Protein Nabati Dan Hewani Pada Anak Balita Stunting Dan Gizi Kurang Di Indonesia," *Penelit. Gizi dan Makanan (The J. Nutr. Food Res.*, vol. 39, no. 2, pp. 95–102, 2016, doi: 10.22435/pgm.v39i2.6973.95-102.
- [19] W. S. Fredrick, V. Sadeesh Kumar, and S. Ravichandran, "Protein analysis of the crab haemolymph collected from the trash," *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.*, vol. 5, no. 4, pp. 304–308, 2013.
- [20] [BSN] Badan Standardisasi Nasional, "SNI 2973:2018," 2018.
- [21] U.S. DEPARTEMEN OF AGRICULTURE (USDA), "FoodData Central," *FoodData Central*, 2019. <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/171706/nutrients%0Ahttps://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/query=ndbNumber:11216%0Ahttps://fdc.nal.usda.gov/index.html>.
- [22] wa ode Irmayanti, Hermanto, and N. Asyik, "Analisis organoleptik dan proksimat biskuit berbahan dasar ubi jalar (Ipomea batatas L) dan kacang hijau (Phaseolus radiatus L)," *J. Sains Dan Teknol. Pangan*, vol. 2, no. 2, pp. 413–424, 2017.
- [23] R. Pratama, I. Rostini, and E. Liviawaty, "Karakteristik Biskuit Dengan Penambahan Tepung Tulang Ikan Jangilus (Istiophorus Sp.)," *J. Akuatika Indones.*, vol. 5, no. 1, p. 245040, 2014.
- [24] [BSN] Badan Standardisasi Nasional, "Sni 01-2891-1992," *Standar Nasional Indonesia: Cara Uji Makanan dan Minuman*. 1992.
- [25] Winarno, F.G. (2008). Kimia pangan dan gizi. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.