

Optimasi Formula Tepung Komposit Tinggi Protein dan Seng dengan Response Surface Methodology

[Optimization of High Protein and Zinc Composite Flour Formulation with Response
Surface Methodology]

Christina Mumpuni Erawati* dan Ardhia Deasy Rosita Dewi

Program Studi Biologi, Fakultas Teknobiologi, Universitas Surabaya, Surabaya, Indonesia

Diterima 13 Desember 2021 / Disetujui 18 Juli 2022

ABSTRACT

Covid-19 pandemic had limited people's movement despite the demand to remain productive and maintain good health. Therefore, it was necessary to provide foods which are easy to distribute, durable, nutritious, and easily transformable to increase immunity. This research aims to develop a composite flour (TK) formula with optimal proportion of wheat flour (TT), snakehead fish flour (TIG), pumpkin flour (TBuL), and pumpkin seed flour (TBiL) which then enriched with zinc. The resulting TK is expected to be used as an ingredient for nutritious snacks containing high protein and zinc. The research was conducted in four stages, namely the making of each constituent flour, determining the best formulation with the Response Surface Methodology using Central Composite Design model, characterizing the physicochemical properties of TK and making meatballs, biscuits, and unting-unting from the TK. The three products were tested on experimental animals for their metabolic responses. The optimization of the formula resulted in three optimal formulations, namely formula A, B, and C with the proportion of TT:TIG:TBuL:TBiL respectively as follows 55:20:15:10; 56.65:20:13.35:10; 57.98:20:12.02:10. The most optimal formula of composite flour was formula A with the highest protein (26.12%) and zinc (18.06 mg/kg) content among other formulas. Then, zinc was added into Formula A using microencapsulation, and TK with protein content of 26.74% and zinc of 56.8 mg/kg were obtained. The histopathology observation on experimental animals showed that the three products made from TK did not cause necrosis of the liver or cell infiltration in the kidneys.

Keyword: composite flour, covid 19, protein, zinc

ABSTRAK

Pandemi Covid 19 menyebabkan ruang gerak terbatas, aktivitas harus tetap produktif dan imunitas harus tetap terjaga. Oleh karena itu, diperlukan suatu bentuk bahan pangan yang mudah didistribusikan, tahan lama, banyak aplikasi produk yang dapat dibuat dan mampu mencukupi kebutuhan gizi untuk meningkatkan imunitas. Penelitian ini dilakukan untuk membuat suatu formula tepung komposit (TK) dengan proporsi bahan yang optimal dari tepung terigu (TT), tepung ikan gabus (TIG), tepung buah labu (TBuL) dan tepung biji labu (TBiL) kemudian diperkaya dengan mineral seng secara mikroenkapsulasi. TK ini diharapkan dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan makanan selingan yang memenuhi kebutuhan gizi tinggi energi tinggi protein terutama kebutuhan mineral seng para tenaga kesehatan dalam tim penanganan Covid-19 serta masyarakat pada umumnya. Penelitian dilakukan dalam empat tahap yaitu pembuatan masing-masing tepung penyusun, menentukan formulasi terbaik dengan metode Response Surface Methodology (RSM) dengan model *Central Composite Design*, karakterisasi fisikokimia TK dan pembuatan produk makanan selingan bakso, biskuit, dan unting-unting. Produk kemudian diberikan pada hewan coba dan diamati respon metabolismenya. Hasil optimasi formula menampilkan tiga formula optimal yaitu formula A, B dan C dengan proporsi TT:TIG:TBuL:TBiL berturut-turut adalah 55:20:15:10; 56,65:20:13,35:10; 57,98:20:12,02:10. Tepung komposit formula A memiliki kadar protein dan seng paling tinggi dengan kadar protein (26,12%) dan seng (18,06 mg/kg). Formula A ini kemudian ditambah mineral seng secara mikroenkapsulasi dan diperoleh TK dengan kadar protein 26,74% dan seng sebesar 56,8 mg/kg. TK diaplikasikan pada pembuatan produk bakso, biskuit, dan unting-unting lalu uji respon metabolisme pada hewan coba. Pengamatan histopatologi pada hewan coba menunjukkan bahwa produk bakso, biskuit, dan unting-unting. berbahan baku TK tidak menyebabkan nekrosis pada organ hati atau infiltrasi sel pada ginjal.

Kata kunci: covid 19, protein, seng, tepung komposit

*Penulis Korespondensi: E-mail: christina_erawati@staff.ubaya.ac.id

PENDAHULUAN

Pandemi covid-19 membuat ruang gerak masyarakat terbatas. Di lain pihak, imunitas tubuh mesti terjaga. Salah satu alternatif menghadapi pandemi maupun kondisi-kondisi darurat adalah dengan membuat tepung komposit sebagai bahan baku berbagai produk aplikasi terutama untuk makanan selingan. Mineral seng saat ini sudah digunakan oleh berbagai pihak untuk menghadapi virus corona (covid-19) baik sebagai anti inflamasi, antioksidan, produksi metallothionein, *complement activity*, aktivasi NK cell, *phagocytosis* maupun sebagai antivirus yang mampu menghambat replikasi virus dalam proses translasi dan transkripsi. Mekanisme kerja mineral seng ini cukup kompleks namun sudah teruji dalam studi *in vitro* maupun uji klinik (Pal *et al.*, 2020). UNICEF dan WHO juga telah menyarankan penambahan garam seng untuk menangani kasus diare pada penderita covid-19 karena diketahui bahwa penambahan garam seng dapat meningkatkan penyerapan air (Murugaia *et al.*, 2020). Namun demikian, pemberian tambahan seng pada bahan makanan perlu memperhatikan aturan pemakaian maupun formulasi bahan yang terlibat karena ada bahan yang memperkuat maupun melemahkan bioavailabilitas seng. Bahan yang memperkuat bioavailabilitas seng diantaranya protein dan yang melemahkan adalah tannin dalam teh maupun asam fitat (Yohanes, 2013).

Ikan gabus sering digunakan sebagai sumber protein dalam berbagai penelitian karena memiliki kandungan protein yang lebih tinggi dibandingkan ikan air tawar lainnya (Prastari *et al.*, 2017). Ikan gabus memiliki kadar protein sekitar 25,5% dan albumin 6,22% (Susetyowati *et al.*, 2020). Tepung labu kuning memiliki kadar provitamin A dan mineral kalsium, fosfor dan zat besi (Susetyowati *et al.*, 2020). Labu adalah sumber yang baik dari karoten, serat makanan, vitamin, mineral dan rendah lemak. Oleh karena itu, labu biasa digunakan sebagai bahan makanan berbagai kasus kesehatan seperti makanan anak gizi kurang, pangan untuk penderita diabetes, pangan tinggi antioksidan, antikarsinogenik maupun antiinflamasi. Biji labu memiliki beberapa kandungan mineral, salah satunya adalah seng (Sharma *et al.*, 2019). Optimasi formula TK diperlukan supaya berbagai bahan baku tepung itu saling mendukung hingga diperoleh manfaatnya sampai di tubuh manusia. Harapan lebih lanjut, TK ini dapat diproduksi untuk kebutuhan masyarakat pada umumnya sebagai bahan baku makanan selingan tinggi protein dan seng yang diperlukan untuk menjaga imunitas dan meningkatkan kemampuan melawan infeksi di masa pandemi. Setelah mendapatkan formulasi yang tepat untuk produk tepung komposit tinggi protein dan seng penelitian dilanjutkan dengan fortifikasi tepung komposit terpilih dengan mikroenkapsulasi seng untuk mencapai kecukupan kadar

seng dalam TK yang hilang sebagian karena proses pengolahan.

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui formulasi optimum TK yang diharapkan dapat memenuhi kebutuhan gizi tenaga kesehatan dan masyarakat pada umumnya terutama pemenuhan kebutuhan protein dan seng. Tepung komposit (TK) dirancang tinggi protein dan mineral seng menggunakan bahan lokal yaitu tepung ikan gabus (TIG), tepung buah labu (TBuL), serta tepung biji labu (TBiL). Campuran tepung-tepung tersebut kemudian ditambah tepung terigu (TT) dan mineral seng dengan metode mikroenkapsulasi. Selain itu, rancangan TK ini diharapkan dapat memenuhi kebutuhan gizi tenaga kesehatan yang berhadapan langsung dengan penderita covid-19 dan masyarakat pada umumnya berdasarkan AKG penyesuaian dalam Panduan Praktis Penatalaksanaan Nutrisi covid-19 (Taslim *et al.*, 2020) pada porsi makanan selingan.

Karakterisasi produk TK dilakukan secara fisik, kimia, mikrobiologi dan aspek keamanan pangan. Dalam penelitian ini, uji keamanan pangan dilakukan karena produk TK diperkaya mineral seng. Pengujian dilakukan dengan uji respon metabolisme dari organ hati dan ginjal hewan coba setelah TK menggantikan proporsi tepung terigu pada beberapa makanan selingan yang biasa dikonsumsi masyarakat. Makanan selingan ini adalah biskuit (mewakili pengolahan dengan pemanggangan) dengan proporsi tepung terigu sekitar 42,8% dari resep totalnya, unting-unting (mewakili pengolahan dengan penggorengan) dengan proporsi tepung terigu sekitar 62,1% dari resep totalnya dan bakso (mewakili pengolahan dengan perebusan) dengan proporsi tepung terigu sekitar 29,6% dari resep totalnya. Ketiga makanan selingan tersebut dibuat dengan penambahan telur untuk memberi kontribusi vitamin D (Valentina *et al.*, 2014).

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah buah labu kuning dan ikan gabus yang dibeli dari pasar tradisional di Kecamatan Rungkut Surabaya serta tepung terigu protein sedang, $C_4H_4Na_2O_5$ (Merck, Jerman), $CaCl_2$ (Sigma-Aldrich Ireland Ltd), $NaNO_3$ (Merck, Jerman), $C_2H_3NaO_2$, ethanol 99% (Sigma-Aldrich Ireland Ltd), HCl bufer (pH 1,5), KOH (Sigma-Aldrich Ireland Ltd), Sodium Acetate (Sigma-Aldrich Ireland Ltd).

Proses pembuatan TBuL dan TBiL

Proses pembuatan TBuL dan TBiL mengacu pada metode Diska (2018) dengan modifikasi. Buah labu kuning dikupas dan dipisahkan antara bagian daging buah dan bagian biji labu. Bagian daging buah dipotong dalam bentuk irisan (*slice*) dengan kete-

balan ± 2 mm lalu dikeringkan menggunakan pengering kabinet (Omron E5CSL/E5EWL, Jepang) pada suhu 50°C selama 15 jam sambil dibolak balik setiap 2 jam hingga kering merata. Setelah itu, dihancurkan dengan blender hingga halus dan diayak dengan ayakan 100 mesh. Biji labu kuning disortir dan dibersihkan lalu dikeringkan menggunakan sinar matahari selama 3-4 jam, kulit biji labu dikupas, dihancurkan dengan blender hingga halus dan diayak dengan ayakan 100 mesh.

Proses pembuatan TIG

Proses pembuatan TIG mengacu pada metode Sari *et al.* (2014) dengan modifikasi. Ikan gabus dibersihkan dan bagian kepala, ekor, isi perut, sisik dan sirip dibuang lalu dibelah pada bagian punggung, dicuci dan dikukus selama 15 menit pada suhu sekitar 90°C . Daging ikan dikeringkan menggunakan *cabinet dryer* (Omron E5CSL/E5EWL, Jepang) pada suhu 60°C selama 72 jam sambil dibolak balik hingga kering merata. Daging ikan yang telah kering, dihancurkan lalu diayak dengan ukuran 60-80 mesh.

Formulasi tepung komposit

Metode penelitian untuk mendapatkan formulasi tepung komposit ini termasuk penelitian eksperimental. Penelitian ini menggunakan metode *central composite design* (CCD) untuk mencocokkan permukaan respon dalam *Response Surface Methodology* (RSM). CCD dalam proses optimasi dilakukan untuk mengetahui perkiraan arah optimal karena dalam RSM optimasi dan lokasi optimal tidak diketahui. Penemuan titik optimum dilihat dari *desirability* yang dihasilkan. Titik optimum yang baik memiliki *desirability* yang tinggi atau mendekati 1 (Hidayat *et al.*, 2021). Tahapan pertama yang dilakukan adalah perancangan dengan faktor berupa proporsi bahan penyusun tepung komposit berdasarkan penelitian sebelumnya yaitu TT (komponen A) pada kisaran 55-70%, TIG (komponen B) 15-25%, TBuL (komponen C) sekitar 0-15%, dan TBiL (komponen D) 0-10% (Erwati dan Khasanah, 2021) hingga menghasilkan 20 formula. Pada tahapan ini juga ditentukan batas atas dan batas bawah tiap komponen penyusun tepung komposit. Tahapan selanjutnya adalah *analyzing* menggunakan respon protein (%) dan respon kandungan mineral seng (mg/kg) untuk melihat signifikansi dan optimasi formula dengan kadar protein dan mineral seng tertinggi pada responnya.

Proses mikroenkapsulasi Seng (Zn)

Proses mikroenkapsulasi seng (Zn) mengacu pada metode Kustiyah *et al.* (2011) dan Santoso *et al.* (2016) dengan modifikasi. Seng yang dicampurkan adalah Seng-asetat (Zn-asetat) (Merck, Jerman) yang bioavailabilitasnya lebih baik dibandingkan ZnSO_4 . Bahan penyalut pada mikroenkapsulasi adalah gum arab (Merck, Jerman) dan maltodekstrin

(Merck, Jerman) dengan perbandingan 80:20 dengan intinya adalah Zn-asetat dan pengeringan menggunakan metode *spray drying* (Buchi B290). Fortifikasi Zn dilakukan pada tepung komposit terpilih dengan didasarkan pada AKG tenaga kesehatan dan masyarakat umum dalam tiga jenis makanan selingan yaitu biskuit, unting-unting dan bakso. Selanjutnya ketiga produk olahan tersebut diuji respon metabolismenya pada hewan coba dan sifat fisikokimianya.

Analisis produk

Tepung komposit terpilih dengan RSM dan ditambahkan hasil mikroenkapsulasi seng sesuai AKG merupakan produk akhir penelitian ini yang disebut sebagai TK. Karakterisasi yang dilakukan pada TK adalah uji parameter fisik berupa densitas kamba (Indriyani *et al.*, 2013) dan warna produk (Kaemba *et al.*, 2017), pengujian parameter kimia dengan basis basah meliputi kadar air metode oven (AOAC, 2005), kadar abu (AOAC, 2005), kadar lemak metode Soxhlet (AOAC, 2005), kadar protein metode Kjeldahl (AOAC, 2005), karbohidrat metode Luff Schrool, analisis seng dilakukan dengan alat *Atomic Absorption Spectroscopy* (AAS) dan pengujian respon metabolisme seng pada hewan coba (Sugihartini dan Fajri, 2016; Prasetyo, 2020). Pengujian mikrobiologi, khususnya angka lempeng total dan *Bacillus cereus* (SNI 2973-2011). Prinsip pengujian angka lempeng total adalah pertumbuhan bakteri mesofil aerob setelah contoh diinkubasi dalam pembenihan yang sesuai selama 28 jam pada suhu $35\pm 1^{\circ}\text{C}$. Sementara itu, prinsip pertumbuhan *Bacillus cereus* adalah ditandai dengan terbentuknya koloni eosin merah muda penghasil lechitinase yang diikuti dengan uji konfirmasi pada berbagai media.

Uji respon metabolik pada hewan coba

Uji respon metabolik TK yang diaplikasikan pada resep makanan selingan yang umum dibuat masyarakat dilakukan secara *in vivo* dengan *post-test only control group design* mengacu pada metode Sugihartini dan Fajri (2016) dan Prasetyo (2020). Uji respon metabolik ini menggunakan mencit galur BALB/c jantan yang diperoleh dari pasar hewan di Singosari Malang, umur 8 minggu bobot 20 g yang diaklimatisasi selama 1 minggu dengan diberi pakan standar dan minum akuades secara *ad libitum*. Mencit tersebut lalu dibagi menjadi 5 kelompok yang ditentukan secara acak. Pembedahan mencit dilakukan pada hari ke-21 melalui bius lokal menggunakan kloroform (Sigma-Aldrich Ireland Ltd) dan secara euthanasia lalu diambil organ hati dan ginjal. Pemeriksaan organ mencit hingga membuat preparat histopatologinya.

Analisis data

Penetapan formula diperoleh dengan metode *central composite design* (CCD) menggunakan 20

formula percobaan. Respon formula optimasi tepung komposit yang diperoleh selanjutnya dianalisis menggunakan RSM program *Design Expert* 12.0. Data parametrik dan non parametrik yang diperoleh pada uji fisikokimia dan uji respon metabolisme pada hewan coba dianalisis menggunakan ANOVA *two-way* dan dilanjutkan dengan Turkey test jika signifikan ($p < 0,05$). Data non parametrik diuji menggunakan Kruskal Wallis menggunakan SPSS rev 2019 (Hidayat *et al.*, 2020)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil karakterisasi warna bahan-bahan tepung penyusun tepung komposit

TK terdiri dari TT, TBuL, TBiL dan TIG yang selanjutnya diuji parameter warna menggunakan *color reader* (Konica Minolta CR-10, Jepang). Semakin besar nilai L^* (*Lightness*) semakin terang, semakin kecil nilai L^* semakin gelap mendekati hitam (Tabel 1). Pengamatan parameter warna L^* menunjukkan bahwa TK ini memiliki warna relatif lebih gelap dibanding TT yang umum digunakan masyarakat dan TBuL yang memiliki nilai L^* paling rendah atau paling gelap. Karakter warna gelap pada TBuL karena kandungan pigmen karotenoid dari bahan buah labu (Sharma *et al.*, 2019). TBuL inilah yang menyebabkan warna gelap menyerupai warna cokelat pada produk aplikasinya.

Tabel 1. Hasil pengamatan warna tepung bahan baku

Table 1. The results of observing the color of the raw material flour

Tepung (Flour)	L^*	a^*	b^*
TK	73.83 ^a	5.58	21.24
TT	90.83 ^a	1.00	9.40
TBuL	51.58 ^b	11.45	21.15
TBiL	52.40 ^b	2.15	15.23
TIG	81.85 ^a	2.08	15.45

Parameter warna a^* menunjukkan kecenderungan warna merah. Pengamatan parameter warna hue a^* menunjukkan bahwa TBuL memiliki angka tertinggi dibanding tepung lainnya. Parameter warna b^* menunjukkan kecenderungan warna kuning. Pengamatan parameter warna b^* , perbedaannya tidak signifikan, hanya TBuL tetap memiliki angka tertinggi dibanding tepung lainnya.

Hasil formulasi tepung komposit

Optimasi formula tepung komposit dari berbagai variasi proporsi tepung menghasilkan 20 formula yang digunakan pada CCD (Tabel 2). Penentuan

batas atas dan batas bawah variasi tepung komposit diperoleh dari penelitian pendahuluan yaitu TT 55-70%, TIG 10-20%, TBuL 0-15%, dan TBiL 0-10%. Selanjutnya, 20 formula tersebut masing-masing diuji kadar protein dan seng sebagai respon untuk menentukan formula yang optimum. Hasil pengujian pada Tabel 2 menunjukkan kisaran kadar protein pada tepung komposit antara 18,47-26,74% dan seng pada tepung komposit berkisar 11,3-31,7 mg/kg. Hal ini menunjukkan semakin tinggi penambahan TIG pada formula optimum yaitu 20% memberikan hasil kadar protein tertinggi (formula nomor 7). Hal ini juga memperkuat hasil penelitian Nurilmala *et al.* (2020) bahwa kadar protein ikan gabus murni adalah tertinggi dibandingkan jenis ikan lain yaitu 105,23 mg/g, sementara Dewantara *et al.* (2019) menguji kadar protein pada tepung ikan gabus sebesar 84,77%.

Kandungan seng pada tepung komposit terutama dipengaruhi oleh penambahan TT dan TIG. TBuL juga menyumbang kandungan seng pada tepung komposit. Menurut Cahyaningtyas *et al.* (2014), semakin tinggi penambahan tepung labu kuning, semakin besar kandungan seng pada tepung. Jayadi dan Rahman (2018) menerangkan tepung ikan mengandung seng sebesar 0,6-4,7 mg/100 g tepung ikan. Hasil pengujian ANOVA pada Tabel 3 menunjukkan bahwa formulasi berbagai variasi proporsi tepung berpengaruh nyata ($p < 0,05$) untuk parameter protein, tetapi tidak berpengaruh nyata pada parameter seng ($p > 0,05$).

Pada Gambar 1 terlihat bahwa model linier signifikan ($p < 0,05$) terhadap kandungan protein tepung komposit. *Lack of fit value* (ketidaktepatan terhadap model) sebesar 0,37 yang menunjukkan tidak signifikan terhadap *pure error* (kesalahan/variasi data) Signifikansi ini menunjukkan adanya kesesuaian antara data respon kandungan protein tepung komposit terhadap model linier pada RSM. Nilai *predicted R-squared* dan *adjusted R-squared* untuk respon berturut-turut sebesar 0,86 dan 0,89 menunjukkan bahwa data yang diprediksikan dan data aktual untuk respon protein tercakup ke dalam model sebesar 86 dan 89%. *Adequate precision* (tanda untuk variasi data) juga mengindikasikan sinyal yang memadai sehingga model ini dapat dijadikan pedoman prediksi formula yang baik.

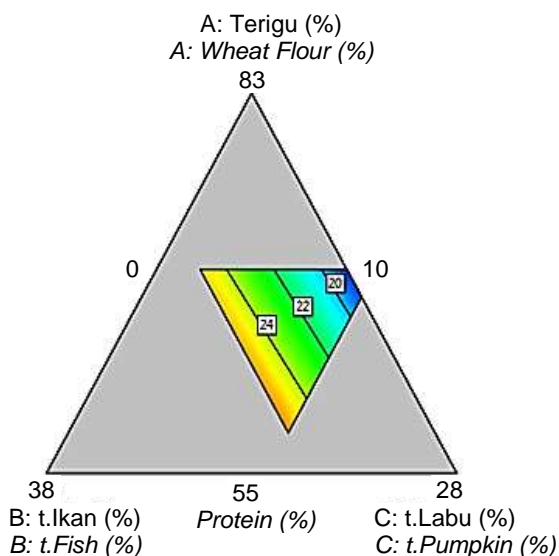
Kandungan seng tepung komposit percobaan berkisar antara 11,3-31,7% (Gambar 2). Pada Gambar 2 terlihat bahwa model linier tidak signifikan ($p > 0,05$) terhadap kandungan seng tepung komposit. *Lack of fit value* sebesar 0,86 yang menunjukkan tidak signifikan terhadap *pure error*. Signifikansi ini menunjukkan adanya kesesuaian antara data respon kandungan seng tepung komposit terhadap model linier pada RSM.

Tabel 2. Hasil uji protein dan seng dari 20 proporsi tepung
 Table 2. Protein and zinc test results from 20 proportions of flour

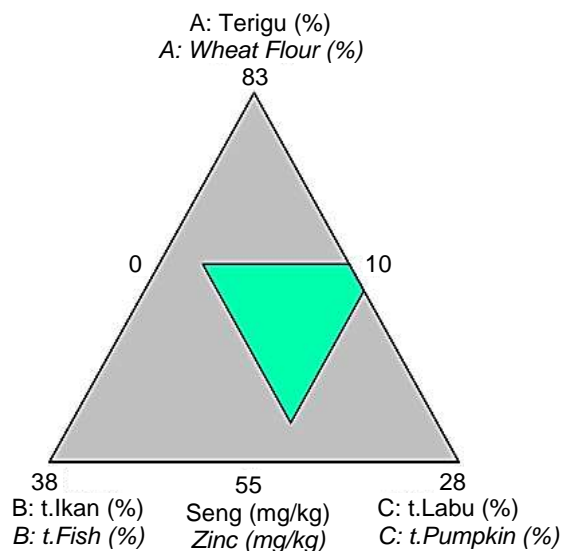
Run	TT (%)	TIG (%)	TBuL (%)	TBiL(%)	Protein (%)	Seng (mg/kg) Zinc (mg/kg)
1	65.40	14.93	15.00	4.67	22.49	19.9
2	70.00	20.00	0.00	10.00	26.35	20.8
3	70.00	10.00	10.00	10.00	19.91	19.9
4	61.58	19.61	14.68	4.12	24.95	14.7
5	59.44	18.12	12.44	10.00	25.73	18.4
6	62.78	19.39	8.41	9.42	24.29	11.3
7	55.00	20.00	15.00	10.00	26.74	12.00
8	70.00	15.26	8.59	6.14	22.66	16.6
9	65.48	14.35	10.17	10.00	22.20	11.3
10	67.39	17.57	5.03	10.00	22.52	15.6
11	62.78	19.39	8.41	9.42	24.97	18.1
12	66.58	10.00	14.23	9.19	19.16	16.3
13	70.00	15.26	8.59	6.14	22.82	20.4
14	70.00	20.00	8.82	1.18	24.76	23.4
15	62.10	13.74	15.00	9.16	21.36	24.9
16	70.00	10.00	15.00	5.00	18.47	15.7
17	70.00	15.26	8.59	6.14	21.09	31.7
18	70.00	20.00	8.82	1.18	24.73	15.6
19	69.35	15.65	15.00	0.00	21.45	14.0
20	61.58	19.61	14.68	4.12	24.54	20.6

Tabel 3. Hasil pengujian ANOVA untuk model linier RSM
 Table 3. ANOVA test results for the RSM linear model

Variabel (Variable)	F	P	R ²	Adj. R ²	Signifikansi (Significant)
Protein (%)	56.92	<0.0001	0.9143	0.8983	Signifikan (Significant)
Seng (mg/kg) Zinc (mg/kg)	0.50	0.858	0.00	0.00	Tidak signifikan (Not significant)



Gambar 1. Respon kandungan protein tepung komposit (TK) pada berbagai variasi tepung
 Figure 1. Response of zinc content of composite flour protein in various flour variations



Gambar 2. Respon kandungan seng TK pada berbagai variasi tepung
 Figure 2. Response of zinc content of composite flour on various flour variations

Nilai *predicted R-squared* dan *adjusted R-squared* serta *adequate precision* untuk respon berturut-turut menunjukkan nilai 0 yang berarti model yang digunakan belum mampu memprediksikan formula yang baik untuk kandungan seng pada tepung komposit. Metode RSM dilakukan untuk mencari formulasi terbaik dari 20 formulasi yang ada dengan kadar protein dan mineral seng sebagai masukannya menghasilkan 3 formula terbaiknya di Tabel 4.

Hasil RSM (Tabel 4) diperoleh hasil terbaik adalah formula optimasi A (formula nomor 7 CCD) yaitu TT (55%), TIG (20%), TBuL (15%) dan TBiL (10%) dengan perkiraan kadar protein 26,12% dan kadar seng 18,06 mg/kg (nilai perkiraan kadar protein dan seng *software* RSM, sementara hasil uji laboratorium formula nomor 7 CCD pada Tabel 2 adalah kadar protein 26,74%, seng 12 mg/kg. Hasil pengukuran kadar seng dibawah kadar seng hasil prediksi menggunakan *software* RSM.

Hasil formulasi mikroenkapsulasi mineral seng

Mikroenkapsulasi dilakukan menggunakan gum arab dan maltodekstrin 80:20 (w/w) sebagai penyalut yang dilarutkan dalam aquades 193,5 mL hingga total larutan 213,5 g kemudian dikeringkan dengan *spray dry* pada suhu 110°C. Metode ini sama dengan metode yang dikerjakan Sari *et al.* (2014) dan menghasilkan serbuk enkapsulasi seng dengan kadar seng 29,8 mg/kg. Sementara itu, formula tepung campuran TT, TIG, TBuL dan TBiL yang terpilih dari hasil RSM memiliki kadar seng 12 mg/kg (Tabel 4).

Nilai kecukupan gizi tenaga kesehatan yang berhadapan langsung dengan penderita covid-19 adalah 20 mg/kg/hari (Taslim *et al.*, 2020), sehingga perlu tambahan mineral seng sebesar 8 mg/kg. TK (dibuat dengan mencampur TT, TIG, TBuL dan TBiL dengan proporsi terpilih/formula 7) sebanyak 1 kg ditambah bubuk mikroenkapsulasi hasil pengeringan *spray dry* sebanyak 270 mg, demikian pula kelipatannya.

Hasil karakterisasi fisikokimia tepung komposit (TK)

Karakterisasi fisikokimia TK terdiri dari analisis kadar air; kadar abu; kadar lemak; kadar protein dan kadar seng berturut-turut adalah 6,54; 2,48; 1,00; 26,74% dan 56,8 mg/kg. Kadar seng TK ini lebih

tinggi daripada kadar seng TT yaitu 26,2 mg/kg. Hal ini memperlihatkan hasil formulasi TK yang diperkaya dengan mikroenkapsulasi mineral seng menghasilkan kadar seng sekitar 2 kali lipat kadar seng pada TT yang biasa digunakan masyarakat dalam pembuatan makanan selingan. Demikian pula, kadar protein TK sebesar 26,74% jauh lebih tinggi dari tepung terigu yang biasanya berkisar 7-12% protein.

Dampak dari pencampuran tepung juga terlihat dari pengamatan fisik yaitu daya serap air dari campuran tepung (TK) dibanding salah satu tepung penyusunnya (TT). Perubahan daya serap air menyebabkan kebutuhan air untuk membentuk adonan produk olahan juga berbeda (Rauf dan Sarbini, 2015). TK memiliki daya serap lebih tinggi (42,9%) daripada TT (33,1%) karena selain berbeda jenis tepung juga ada perbedaan umur produksi. TT yang dibeli di pasar retail tentunya sudah menjalani lamanya penyimpanan selama transportasi maupun di pajangan, sehingga sudah cukup menyerap air (relatif lebih jenuh) karena sifat kering tepung yang higroskopis. TK diproduksi baru dalam kisaran 1-2 bulan sehingga lebih kering dan daya serap airnya lebih tinggi. Selain itu, perbedaan daya serap air ini bisa terjadi karena distribusi ukuran partikel yang cukup besar yaitu 75-400 mikron (Gambar 3). Semakin kecil ukuran partikel semakin besar luas permukaan dan akan lebih mudah menyerap air. Molekul dengan bobot massa kecil menyebabkan posisi agak renggang sehingga lebih mudah menyerap air (Aini *et al.*, 2016). Makin tinggi daya serap air campuran tepung, semakin banyak volume air yang dibutuhkan untuk membentuk adonan yang baik (Rauf dan Sarbini, 2015) pada pembuatan roti.

Pengukuran sudut curah sangat dipengaruhi oleh ukuran, bentuk, karakteristik permukaan partikel, kadar air dan kerapatan tumpukan. Tepung gandum dengan kadar air 13% memiliki sudut curah 33,60° (Khan dan Saini, 2016). Tepung kunyit dengan kadar air 15,86-17,32% memiliki ukuran partikel (150-425 µm) dan kisaran sudut curah 27-41° (Priastuti *et al.*, 2016). Sudut curah TK terukur 35° dan TT terukur 38°. Ukuran partikel TK berkisar 75-400 µm (Gambar 3).

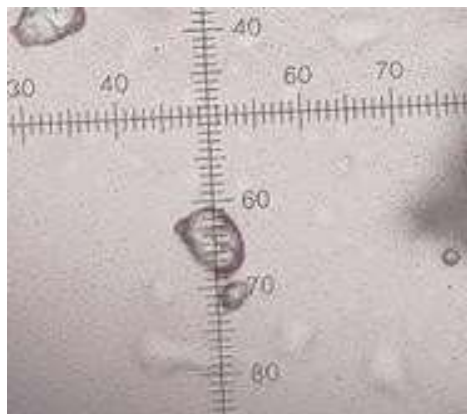
Tabel 4. Hasil optimasi formula tepung komposit menggunakan metode RSM
Table 4. Optimization results of composite flour formula using the RSM method

Formula	TT(%)	TIG (%)	TBuL (%)	TBiL (%)	Protein (%)	Seng (mg/kg) Zinc (mg/kg)
A	55.00	20	15.00	10	26.12	18.06
B	56.65	20	13.35	10	26.04	18.06
C	57.98	20	12.02	10	25.98	18.06

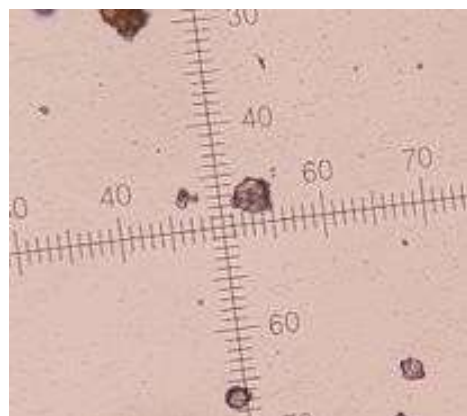
Keterangan: A= Perbandingan tepung terigu:tepung labu (55:15); B= Perbandingan tepung terigu:tepung labu (56,65:13,35); C= Perbandingan tepung terigu:tepung labu (57,98:12,02)

Note: A= Comparison of wheat flour:pumpkin flour (55:15); B= Comparison of wheat flour:pumpkin flour (56.65:13.35); C= Comparison of wheat flour:pumpkin flour (57.98:12.02)

Hasil ini menunjukkan bahwa ukuran partikel TK tidak terlalu homogen, karena masih menggunakan peralatan sederhana di laboratorium namun memiliki kisaran sudut curah yang relatif sama dengan tepung lain maupun tepung komersial (TT).



A



B

Gambar 3. Ukuran partikel tepung komposit (perbesaran 400x (A) dan 100x (B))

Figure 3. Particle size of composite flour (400x (A) and 100x magnification (B))

Ukuran partikel tepung labu berkisar 74-841 μm dengan densitas kamba berkisar 0,5-0,7 g/cm^3 (Ahmed *et al.*, 2014). Densitas kamba TK (0,63 g/mL) dan TT (0,71 g/mL). Densitas kamba tepung beras

merah adalah 0,70 g/mL (Rachma *et al.*, 2018), sementara densitas kamba pangan bubuk pada umumnya berkisar 0,3-0,8 g/cm^3 (Ardhianditto *et al.*, 2013). Semakin besar densitas kamba, semakin efektif dan efisien dalam aspek penyimpanan bahan, karena dengan volume (ruang) penyimpanan yang sama jumlah bobot bahan yang ditampung akan lebih banyak (Ramdhiana *et al.*, 2020). Beberapa pengamatan fisik ini dapat menunjukkan bahwa keperluan alat/mesin untuk tepung dengan karakteristik TK tidak banyak berbeda dengan keperluan alat/mesin untuk tepung yang telah produksi secara komersial hanya perlu perbaikan dalam proses *milling* sehingga distribusi ukuran partikel bisa diperkecil.

Hasil karakterisasi kimia dan mikrobiologi serta uji respon metabolisme TK dalam produk selingan

Kebutuhan gizi untuk para tenaga kesehatan dalam penelitian ini lebih difokuskn untuk terpenuhinya kebutuhan protein dan seng pada TK sebagai bahan baku pembuatan makanan selingan. TK ini diujikan pada beberapa produk yang biasa dibuat masyarakat umum yaitu biskuit (produk dipanggang), bakso (produk direbus) dan unting-unting (produk digoreng). Tabel 5 menunjukkan kadar seng tertinggi ada pada produk biskuit (37,0 mg/kg) dan terendah ada pada produk bakso (16,6 mg/kg). Data karakteristik kimia TK memiliki kadar seng sebesar 56,8 mg/kg maka pengolahan dengan pemanggangan cukup dapat mempertahankan mineral seng dari TK dibanding perebusan maupun penggorengan. Hal ini kemungkinan karena mineral seng terlarut dan mengendap pada air rebusan maupun minyak penggoreng. Mineral seng termasuk logam berat yang pada dasarnya bersifat mengendap (Triantoro *et al.*, 2017).

Kebutuhan mineral seng per hari dapat ditentukan dari umur, jenis kelamin, dan aktivitas fisik. Taslim *et al.* (2020) telah mengatur AKG penyesuaian untuk tenaga kesehatan yang berhadapan langsung dengan penderita covid-19. Berdasarkan Pedoman Gizi Seimbang (PGS) untuk 1 kali makanan selingan yaitu 10% dari kebutuhan AKG (dalam 1 hari ada 2 kali makanan selingan).

Tabel 5. Hasil analisis gizi dan mikrobiologis pada produk aplikasi
Table 5. Results of nutritional and microbiological analysis on application products

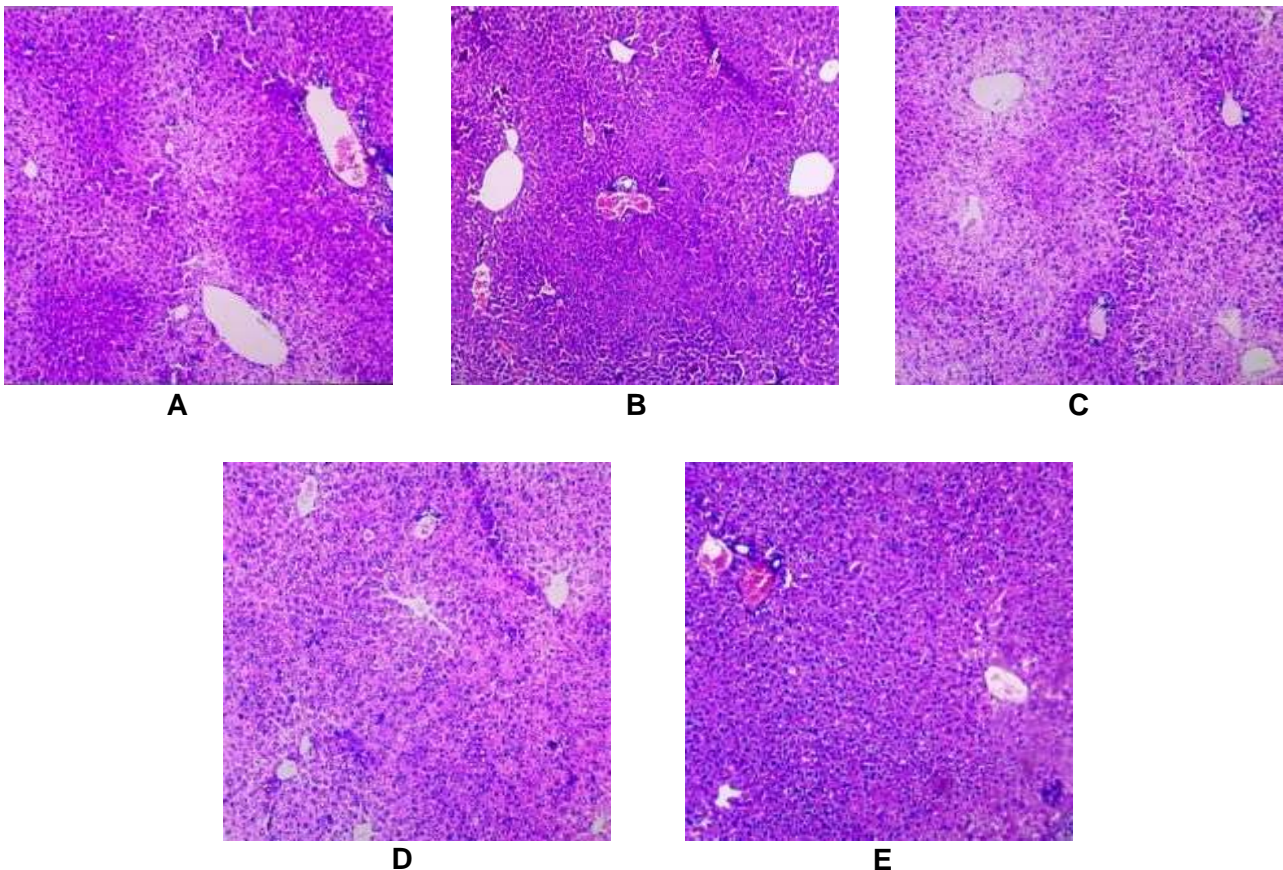
Parameter	Bakso (<i>Meatball</i>)	Unting-Unting	Biskuit (<i>Biscuit</i>)	Metode (<i>Method</i>)
Seng (mg/kg) (<i>Zinc mg/kg</i>)	16.6	29.3	37.0	AAS
Karbohidrat (%) (<i>Carbohydrate (%)</i>)	16.4	31.5	38.8	Luff Schrool
Protein (%)	13.8	8.3	6.3	Kjeldahl
Lemak (%) (<i>Fat (%)</i>)	3.9	21	19.7	Ekstraksi
<i>B.cereus</i>	0	0	0	Koloni/g

AKG mineral seng untuk tenaga kesehatan adalah 2 mg/kg untuk sekali periode makan makanan selingan per hari sehingga didapatkan banyaknya makanan selingan untuk memenuhi kebutuhan mineral seng yaitu 12 butir bakso (@10 g bakso/ butir), 9 biji unting (@8 g unting/biji), atau 11 keping biskuit (@5 g biskuit/keping). AKG protein 1 kali periode makan makanan selingan tenaga kesehatan covid-19 adalah 1,5% sehingga jika dikonversikan pada banyaknya makanan selingan didapatkan 1 butir bakso, 3 biji unting atau 5 keping biskuit.

Kadar seng pada bakso, unting-unting, biskuit berturut-turut sebesar 16,6; 29,3; dan 37 mg/kg, ternyata tidak membuat histopatologi organ hati mencit mengalami nekrosis dan organ ginjal juga tidak mengalami infiltrasi sel. Kedua organ masih dalam keadaan normal, hal ini dikarenakan penurunan kadar seng plasma posprandial pada mencit sehingga absorpsi seng terhambat juga efikasi seng makin menurun dengan meningkatnya dosis seng yang diberikan seperti 40% efikasi pada 15 mg pemberian seng (Santosa *et al.*, 2016). Toksisitas seng terjadi pada penyerapan 300 mg/hari (Santosa *et al.*, 2016).

KESIMPULAN

Hasil optimasi formula menampilkan tiga formula optimal yaitu formula A, B dan C dengan proporsi TT:TIG:TBuL:TBiL masing-masing formula adalah 55:20:15:10; 56,65:20:13,35:10; 57,98:20:12,02:10. Kadar protein dan seng tertinggi dari formula optimal tepung komposit hasil RSM adalah formula A dengan kadar protein (26,12%) dan seng (18,06 mg/kg). Hasil optimasi formula lalu diperkaya mineral seng dan dihasilkan TK dengan kadar protein 26,74% dan seng 56,8 mg/kg. Hasil uji respon metabolisme hewan coba terhadap produk aplikasi TK (dalam bentuk biskuit, bakso, unting unting) menunjukkan hasil bahwa ketiga produk aplikasi tersebut tidak membuat histopatologi organ hati hewan coba mengalami nekrosis dan organ ginjal hewan coba juga tidak mengalami infiltrasi sel (Gambar 4 dan Tabel 6). Produk TK ini berpotensi menjadi bahan baku makanan selingan dalam upaya menjaga imunitas tubuh dan meningkatkan kemampuan tubuh melawan infeksi covid-19.



Keterangan: A= Kontrol, B= Tepung Komposit, C= Bakso, D= Biskuit, E= Unting-unting
Note: A=Control, B= Composite Flour, C=Meatball, D=Biscuit, E= Unting-unting

Gambar 4. Gambaran histopatologi organ hati mencit setelah 14 hari diberikan perlakuan dibanding kontrol
Figure 4. Histopathological picture of the liver of mice after 14 days of treatment compared to control

Tabel 6. Hasil histopatologi mencit setelah 14 hari diberikan makanan selingan
 Table 6. Histopathological results of mice after 14 days of being given a snack

Kelompok (Group)	Hasil Histopatologi Organ (Organ Histopathology Results)	
	Hati (Heart)	Ginjal (Kidney)
Kontrol (Control)	-	-
Perlakuan 1 (TK) (Treatment 1 (Composite flour))	-	-
Perlakuan 2 (Bakso) (Treatment 2 (Meatball))	-	-
Perlakuan 3 (Unting-unting) (Treatment 3 (Unting-unting))	-	-
Perlakuan 4 (Biskuit) (Treatment 4 (Biscuit))	-	-

Keterangan: (-) menunjukkan tidak ada perubahan histopatologi organ
 Note: (-) indicate no histopathological changes in organs

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed J, Al-foudari M, Al-Salman F, Almusallam AS. 2014. Effect of particle size and temperature on rheological, thermal, and structural properties of pumpkin flour dispersion. *J Food Eng* 124: 43-53. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.09.030>
- Aini N, Wijonarko G, Sustriawan B. 2016. Sifat fisik, kimia dan fungsional tepung jagung yang diproses melalui fermentasi. *Agritech* 36: 160-169. <https://doi.org/10.22146/agritech.12860>
- [AOAC] Association of Official Analytical Chemists. 2005. *Official Methods of Analysis*. Arlington. AOAC International.
- Ardhianditto D, Affandi DR, Riyadi NH, Anandito RBK. 2013. Kajian karakteristik bubur bayi instan berbahan dasar tepung millet kuning (*Panicum sp.*) dan tepung beras merah (*Oryza nivara*) dengan flavor alami pisang ambon (*Musa X paradisiaca L.*) sebagai makanan pendamping ASI (MP-ASI). *J Teknosains Pangan* 2: 88-96.
- Cahyaningtyas FI, Basito, Anam C. 2014. Kajian fisikokimia dan sensori tepung labu kuning (*Cucurbita maschuta Durch*) sebagai substitusi tepung terigu pada pembuatan eggroll. *J Teknosains Pangan* 3: 13-19.
- Diska AS. 2018. Pengembangan *Cookies* dari Tepung Labu Kuning, Tepung Biji Labu Kuning, Tepung Beras, dan Tepung Oncom Hitam yang Mengandung Omega-3. [Skripsi]. Bogor: Fakultas Ekologi Manusia, Institut Pertanian Bogor.
- Dewantara EC, Wijayanti I, Anggo AD. 2019. Karakteristik fisiko kimia dan sensori pasta makaroni dengan penambahan tepung ikan gabus (*Channa striata*). *J Ilmu Teknol Perikanan* 1: 22-29.
- Erawati CM, Khasanah TA. 2021. Pengaruh formulasi tepung ikan haruan, tepung buah dan biji labu kuning pada biskuit terhadap kandungan gizi dan daya terima. *J Nutr College* 10: 1-9. <https://doi.org/10.14710/jnc.v10i1.28486>
- Hidayat B, Hasanudin U, Nurdjanah S, Yuliana N, Akmal S, Muslihudin M. 2020. Optimasi karakteristik tepung komposit berbasis tepung ongok fermentasi menggunakan metode Response Surface Methodology (RSM). *J Aplikasi Teknol Pangan* 9: 126-132. <https://doi.org/10.17728/ja.tp.6005>
- Indriyani F, Nurhidajah, Suyanto A. 2013. Karakteristik fisik, kimia, dan sifat organoleptik tepung beras merah berdasarkan variasi lama pengeringan. *J Pangan Gizi* 04: 27-34.
- Jayadi YI, Rahman A. 2018. Analisis kandungan gizi makro pada ikan duo (penja) hitam dan putih sebagai pangan lokal Kota Palu. *Ghidza: J Gizi Kesehatan* 2: 31-38. <https://doi.org/10.22487/ghidza.v2i1.10421>
- Kaemba A, Suryanto E, Mamuja CF. 2017. Karakteristik fisiko-kimia dan aktivitas antioksidan beras analog dari sago baruk (*Arenga microcarpha*) dan ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L. Poiret*). *J Ilmu Teknol Pangan* 5: 1-8.
- Khan A, Saini CS. 2016. Effect of roasting on physicochemical and functional properties of flexseed flour. *Cogent Eng* 3: 1145566. <https://doi.org/10.1080/23311916.2016.1145566>
- Kustiyah L, Anwar F, Dewi M. 2011. Mikroenkapsulasi mineral besi dan seng dalam pembuatan makanan tambahan untuk balita gizi kurang. *J Ilmu Pertanian Indonesia* 13: 156-163.

- Murugaiah C, Constance LSL, Al-Talib H, Nisha M, Robin T, Chilek TZT, Baig AA, Guad RM, Soe MZ, Hossain AT, Salih FAM, al Shagga M. 2020. Zinc supplementation for respiratory illness and acute gastroenteritis as complement treatment for covid-19. *Int J Med Biomed Stud* 4: 79-81. <https://doi.org/10.32553/ijmbs.v4i6.1203>
- Nurilmala M, Safithri M, Pradita FT, Pertiwi RM. 2020. Profil protein ikan gabus (*Channa striata*), toman (*Channa micropeltes*), betutu (*Oxyeleotris marmorata*). *J Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* 23: 548-557. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v23i3.33924>
- Pal A, Squitti R, Picozza M, Pawar A, Rongioletti M, Dutta AK, Sahoo S, Goswami K, Sharma P, Prasat R. 2021. Zinc and COVID-19: Basis of current clinical trials. *Biol Trace Elem Res* 199: 2882-2892. <https://doi.org/10.1007/s12011-020-02437-9>
- Prastari C, Yasni S, Nurilmala M. 2017. Karakteristik protein ikan gabus yang berpotensi sebagai antihiperglikemik. *J Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* 20: 413-423. DOI: <https://doi.org/10.17844/jphpi.v20i2.18109>
- Prasetyo DYB, Darmanto YS, Swastawati F, Agustini TW, Wibisono G, Setyastuti AI. 2020. Analisa keamanan pangan secara *in vivo* ikan bandeng cabut duri dengan asap cair. *PENA Akuatika* 19: 11-20. <https://doi.org/10.31941/penaakuatika.v19i2.1162>
- Priastuti RC, Tamrin, Suhandy D. 2016. Pengaruh arah dan ketebalan irisan kunyit terhadap sifat fisik tepung kunyit yang dihasilkan. *J Teknik Pertanian Lampung* 5: 101-108.
- Rachma YA, Anggraeni DY, Surja LL, Susanti S, Pratama Y. 2018. Karakteristik fisik dan kimia tepung malt gabah beras merah dan malt beras merah dengan perlakuan malting pada lama germinasi yang berbeda. *J Aplikasi Teknol Pangan* 7: 104-110. <https://doi.org/10.17728/jatp.2707>
- Rauf R, Sarbini D. 2015. Daya serap air sebagai acuan untuk menentukan volume air dalam pembuatan adonan roti dari campuran tepung terigu dan tepung singkong. *Agritech* 35: 324-330. <https://doi.org/10.22146/agritech.9344>
- Ramdhiana RF, Jannah A, Wibaningwati DB. 2020. Pengaruh perlakuan perendaman terhadap karakteristik tepung talas Bogor (*Colocasia esculenta L.Schott*) pada klon yang berbeda. *J Agribusiness Agrotechnol* 1: 58-68. <https://doi.org/10.31938/agrisintech.v1i2.286>
- Santosa H, Handayani NA, Cahyono H, Arum W, Purbasari A, Kusumayanti H, Ariyanti D. 2016. Fortifikasi seng (Zn) pada beras analog berbahan dasar tepung dan pati ubi ungu. *Reaktor* 16: 183-188. <https://doi.org/10.14710/reaktor.16.4.183-188>
- Sari DK, Marliyanti SA, Kustiyah L, Khomsan A, Gantohe TM. 2014. Bioavailabilitas fortifikan, daya cerna protein, serta kontribusi gizi biskuit yang ditambah tepung ikan gabus (*Ophioccephalus striatus*) dan difortifikasi seng dan besi. *Agritech* 34: 359-364. <https://doi.org/10.22146/agritech.9429>
- Sharma P, Kaur G, Kehinde BA, Chhikara N, Panghal A, Kaur H. 2019. Pharmacological and biomedical uses of extracts of pumpkin and its relatives and applications in the food industry: a review. *Int J Vegetable Sci* 26: 79-95. <https://doi.org/10.1080/19315260.2019.1606130>
- Sugihartini N, Fajri MA. 2016. Gambaran histopatologi organ hati dan ginjal mencit BALB/ setelah pemberian krim ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis* L.). *J Farmasi Ilmu Kefarmasian Indonesia* 3: 32-38. <https://doi.org/10.20473/jfiki.v3i12016.32-38>
- Susetyowati, Lestari LA, Astuti H, Setyopranoto I, Probosuseno. 2020. Analisis mikroba dan organoleptik makanan cair instan berbasis pangan lokal untuk perbaikan status gizi pasien. *Amerta Nutr* 4: 225-230. <https://doi.org/10.20473/amnt.v4i3.2020.225-230>
- Taslim NA, Primana DA, Wijayanto, Rani NA, Marniar, Bamahry A, FARadillah A, Vlrani D. 2020. Panduan Praktis Penatalaksanaan Nutrisi Covid 19, (Versi 1), Perhimpunan Dokter Spesialis Gizi Klinik Indonesia. Jakarta.
- Triantoro DD, Suprpto D, Rudiyantri S. 2017. Kadar logam berat besi (Fe), seng (Zn) pada sedimen dan jaringan lunak kerang hijau (*Perna viridis*) di Perairan Tambak Lorok Semarang. *Manag Aquatic Resour J* 6: 173-180. <https://doi.org/10.14710/marj.v6i3.20573>
- Valentina V, Palupi NS, Andarwulan N. 2014. Asupan kalsium dan vitamin D pada anak Indonesia usia 2-12 tahun. *J Teknol Industri Pangan* 26: 83-89. <https://doi.org/10.6066/jtip.2014.25.1.83>
- Yohanes. 2013. Bioavailabilitas Besi dan Seng Produk Pangan Olahan Berbasis Terigu yang Ditambahkan Na₂EDTA dengan Kombinasi Berbagai Minuman. [Skripsi]. Bogor: Fakultas Ekologi Manusia, Institut Pertanian Bogor.