

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Brownies*

Brownies merupakan salah satu jenis cake yang berwarna coklat kehitaman. *Brownies* dapat dibagi menjadi dua macam, yakni *brownies* kukus dan *brownies* oven. Struktur *brownies* sama seperti cake yaitu ketika dipotong terlihat keseragaman pori remah, berwarna menarik, dan jika dimakan terasa lembut, lembab, dan menghasilkan citarasa yang baik (Sunaryo, 1985).

Tekstur yang dikehendaki dari *brownies* agak bantat sehingga ia tidak membutuhkan pengembangan gluten sebagaimana cake. Bahan penyusun utamanya antara lain telur, lemak, gula, dan terigu. Sebagai bahan tambahan dapat ditambahkan emulsifier dan bahan pengembang (Sulistiyo, 2006).

Brownies adalah makanan dengan bahan dasar tepung terigu, dimana kandungan protein, lemak dan karbohidratnya cukup tinggi. Dengan adanya substitusi tepung daluga dalam pembuatan *brownies* maka akan mempengaruhi ataupun akan merubah sifat-sifat organoleptik dan daya terima *brownies* tersebut, sehingga perlu dilakukan uji organoleptik.



Gambar 1. *Brownies*

2.1.1 Bahan Pembuatan *Browies*

Berikut bahan – bahan pembuatan *brownies* kukus menurut Nurapriyani (2010), bahan pembuatan *brownies* terdiri dari tepung terigu, gula, coklat, baking powder, garam, telur, mentega, *baking powder*.

A. Tepung Terigu

Tepung terigu dibuat dari pengolahan biji gandum. Pati dalam tepung terigu dengan adanya panas dan air akan tergelatinisasi yang berpengaruh pada pembentukan jaringan roti. Didalam pembuatan roti, tepung terigu diperlukan bersama bahan lainnya untuk adonan dan merupakan bahan dasar penting dalam pembuatan roti. Tepung terigu berfungsi sebagai pemberi volume, mempengaruhi bentuk, warna kulit, aroma, rasa dan tekstur roti (Koswara, 2009). Menurut Prihatiningrum (2012), kandungan kimia pada tepung terigu dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan kimia pada tepung terigu

No	Kandungan	Jumlah
1	Kalori (kkal)	365
2	Protein (g)	8.9
3	Lemak (g)	1.3
4	Karbohidrat (g)	77.3
5	Kalsium (mg)	16
6	Pospor (mg)	106
7	Besi (mg)	1.2
8	Vitamin A (m)	0
9	Vitamin C (m)	0
10	Vitamin B (m)	0.12
11	Air (g)	12

Sumber : Prihatiningrum (2012)

Tepung terigu merupakan bahan dasar utama dalam pembuatan produk biskuit. Secara garis besar ada dua jenis tepung yaitu tepung keras (*strong*

flour) dan tepung lunak (*soft flour*). Perbedaan utama dari kedua jenis tepung tersebut adalah glutennya, dimana tepung terigu keras mengandung gluten sekitar 13% sedangkan tepung terigu lunak kandungan glutennya 8,3%. (Apriyantono, 2006).

B. ***Baking powder***

Baking powder sebagai *leavening agent* (bahan pengembang) dipakai secara luas dalam produksi kue kering. *Baking powder* merupakan bahan pengembang hasil reaksi asam dengan natrium bicarbonat. Ketika pemanggangan berlangsung *baking powder* menghasilkan gas CO₂ dan residu yang tidak bersifat merugikan pada biskuit. Fungsi *baking powder* dalam pembuatan biskuit adalah mengembangkan adonan dengan sempurna, menyeragamkan remahan (*crumb*) dan menjaga kue agar tidak rusak (Aliem, 1995). Kandungan kimia dari *baking powder* dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kandungan kimia pada *baking powder*

No	Kandungan	Per 20 gram
1	Energi (kj) (kkal)	42 10
2	Lemak (g)	0
3	Protein (g)	0.02
4	Karbohidrat (g)	4.82
5	Sodium (mg)	1579
	Kalium (mg)	1

Sumber : Fatsecretindonesia, 2016

Baking Powder menurut Matz (1992), merupakan bahan pengembang kimia yang digunakan untuk meningkatkan volume dan meringankan tekstur makanan yang dipanggang. *Baking Power* digunakan untuk menggantikan ragi dimana pada produk akhir flavor fermentasi tidak diinginkan atau saat adonan akan kehilangan struktur elastisnya untuk menahan gelembung udara dari beberapa menit.

C. Gula

Gula digunakan sebagai bahan pemanis dalam pembuatan roti. Jenis gula yang paling banyak digunakan adalah sukrosa. Kegunaan gula terutama sebagai sumber makanan untuk pertumbuhan ragi selama proses fermentasi. Gula yang tersisa setelah proses fermentasi akan memberikan warna pada kulit dan rasa pada roti (Koswara, 2009). Menurut Marinih (2005), komposisi kimia yang terdapat pada gula pasir per 100 gram dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Komposisi kimia dalam 100 gram gula

No	Kandungan	Berat
1	Energi (kal)	304
2	Karbohidrat (g)	94.0
3	Kalsium (mg)	5
4	Fosfor (mg)	1
5	Besi (mg)	0.1
6	Air (g)	5.4

Sumber : marinih (2005)

Gula merupakan pengawet alami dan bahan pembuatan aneka ragam produk-produk makanan. Selain itu gula juga berfungsi mematangkan dan mengempukan susunan sel, dalam hal ini mengempukan protein tepung. Gula juga dapat memberi kerak yang diinginkan yang mulai terbentuk pada waktu temperatur rendah, dalam hal ini proses karamelisasi. Gula juga membantu dalam menjaga kualitas produk (Fatmawati, 2012).

D. Telur

Telur merupakan bahan pangan yang sempurna, karena mengandung zat-zat gizi yang lengkap bagi pertumbuhan makhluk hidup baru. Putih telur merupakan daya emulsi yang sedang, sedangkan kuning telur adalah emulsi yang kuat. Komponen pengemulsi kuning telur adalah posfolipid, lipoprotein dan protein (Koswara, 2009). Kandungan kimia pada beberapa telur dalam 100 gram dapat dilihat pada Tabel 4

Tabel 4. Kandungan kimia beberapa telur dalam 100 gram

No.	Kandungan	Telur Ayam	Telur Bebek
1	Kalori (kal)	162	189
2	Protein (g)	12.8	13.1
3	Lemak (g)	11.5	14.3
4	Karbohidrat (g)	0.7	0.8
5	Kalsium (g)	54	56
6	Fosfor (mg)	180	175
7	Besi (mg)	2.7	2.8
8	Vit. A (IU)	900	1230
9	Vit. B (mg)	0.1	0.18
10	Air (g)	74	70.8

Sumber : Melia dan Juliyarsi (2005)

Penggunaan telur dalam pembuatan biskuit, terutama berfungsi sebagai pengemulsi yang dapat membantu mempertahankan kestabilan adonan. Selain itu, juga berperan dalam meningkatkan dan menguatkan flavor, warna dan kelembutan, senyawa yang berfungsi sebagai emulsifier adalah lesitin dan sephalin yang merupakan lemak telur (Matz, 1978).

E. Coklat

Menurut Sultan (1969), coklat berperan penting dalam karakteristik rasa dan flavour dari produk bakery. Pada pembuatan *brownies* digunakan coklat masak yaitu coklat polos atau tanpa susu (*Plain / Dark Cooking Chocolate*). Warna dari coklat ini lebih hitam dan coklat ini lebih awet dibandingkan coklat yang mengandung susu. Dalam pembuatan *brownies* menggunakan coklat jenis ini dan coklat ini dapat memberikan warna coklat pada *brownies*.

F. Mentega

Penambahan lemak pada adonan bertujuan untuk memberikan rasa gurih, melembutkan, memberikan flavor dan meningkatkan nilai gizi (Anonymus, 1998; Cauvain dan Young, 2006). Penggunaan lemak dapat meningkatkan rasa, menyebabkan produk menjadi tidak cepat keras dan menjadikannya lebih empuk (Pomeranz dan Shellenberger, 1971 di dalam Sulistiyo, 2006).

Lemak yang biasa digunakan adalah *butter* atau margarin. *Butter* merupakan lemak hewani hasil separasi antar fraksi lemak dan non lemak dari susu. Berbeda dengan *butter*, margarin merupakan lemak plastis yang dibuat dari hidrogenasi parsial minyak nabati (Budijanto *et al.*, 2000).

2.1.2 Proses Pembuatan *Brownies*

Metode pembuatan yang digunakan dalam proses pembuatan *brownies* adalah metode buih (*foaming - sponge method*). Metode ini merupakan metode yang mengutamakan terbentuknya adonan pada pengocokan telur, baik kuning ataupun putih telur. Tujuan pengocokan ini adalah membentuk kantong udara dan memasukkan udara. Yang perlu diperhatikan saat pengocokan yaitu peralat yang digunakan harus bebas dari lemak, karena adanya lemak menyebabkan terbentuknya lapisan minyak diantara struktur telur dan menjadi gagal. Aduk telur dan gula agar diperoleh buih dengan konsistensi kental, pengocokan dimulai dengan kecepatan sedang. Bila menggunakan mentega atau lemak, lelehkan dahulu kemudian baru dituang kedalam adonan, aduk - aduk tetapi jangan berlebihan (Indriastuti, 2006).

Menurut penelitian (Febrial, 2009) Adonan dibagi menjadi tiga, yaitu : (1) telur, gula, dan valet; (2) tepung dan coklat bubuk; dan (3) margarin dan coklat batang. Margarin dan coklat batang dicairkan dengan cara dikukus. Telur, gula, dan valet diaduk rata dengan *mixer* sampai mengental, kemudian ditambahkan campuran tepung dan coklat bubuk dan diaduk hingga merata. Proses selanjutnya, margarin dan coklat batang yang telah dicairkan dimasukkan ke dalam adonan dan diaduk hingga merata. Pasta coklat dan bubuk vanilla kemudian ditambahkan ke dalam adonan sebagai penambah cita rasa. Adonan yang sudah jadi dituangkan ke dalam loyang kemudian dikukus.

2.1.3 Standart Mutu dan Nilai Gizi *Brownies*

Menurut Ismayani (2007) *brownies* adalah jenis cake coklat yang padat awalnya merupakan adonan gagal dan keras dimana adonan terbuat dari tepung terigu, telur, lemak, gula pasir dan coklat masak dengan cara dipanggang atau dioven. Sedangkan menurut Astawan (2009) *brownies* adalah salah satu jenis Cake yang berwarna coklat kehitaman dengan tekstur sedikit lebih keras dari pada cake karena *brownies* tidak membutuhkan pengembang atau gluten. sejenis kue yang termasuk kelompok cake yang berwarna coklat kehitaman dengan tekstur sedikit lebih keras dari pada cake. Bahannya terdiri dari tepung terigu, margarine, telur, gula, dan coklat (coklat bubuk dan coklat masak). Standar Syarat Mutu Cake Menurut SNI 01 - 3840 – 1995 dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Standar Syarat Mutu Cake Menurut SNI 01 - 3840 - 1995

1	Kriteria Uji	Satuan	Persyaratan	
			Roti tawar	Roti manis
2	3	4	5	
1.1	Keadaan : Kenampakan	–	Normal tidak berjamur	Normal tidak berjamur
1.2	Bau	–	Normal	Normal
1.3	Rasa	–	Normal	Normal
2	Air	% b/b	Maks. 40	Maks. 40
3.	Abu (tidak termasuk garam dihitung atas dasar bahan kering	%b/b	Maks. 1	Maks. 3
4	Abu yang tidak larut dalam asam	%b/b	Maks. 3	Maks. 3
5	Gula jumlah	%b/b	-	Maks. 8.0
6	Lemak	%b/b	-	Maks. 3.0
7	Serangga / belatung	–	Tidak boleh ada	Tidak

Sumber: SNI 01 3840 1995

2.2 Tempe

Tempe yang berbahan dasar kedele memungkinkan sebagai alternatif makanan untuk difortifikasi dengan besi. Hal ini karena untuk pembentukan kadar hemoglobin (merupakan penanda anemia defisiensi besi) tidak hanya diperlukan zat besi saja tetapi juga protein. Tempe merupakan sumber protein karena kandungan proteintempe cukup tinggi. Selain itu, protein tempe juga tergolong mudah dicerna sehingga protein dapat dipergunakan untuk membentuk hemoglobin bersama dengan besi atau senyawa lain (Astuti, M, 1996).

Tempe kedelai segar yang diiris tipis, dikukus dalam uap air panas pada suhu 105⁰C selama 10 menit, kemudian tiriskan untuk mengurangi kadar air dan dinginkan pada suhu kamar. Selanjutnya dilakukan pengeringan dengan oven pengering atau dengan sinar matahari ± 2 hari penjemuran. Tempe kering kemudian diblender. Tepung yang dihasilkan kemudian diayak dengan ayakan 80 mesh, dan pengayakan dilakukan berulang - ulang sampai memperoleh tepung tempe yang homogen (Rahmawati and Sumiyati, 2000)

Tempe mempunyai daya simpan yang singkat dan akan segera membusuk selama penyimpanan. Hal ini disebabkan oleh proses fermentasi lanjut, menyebabkan degradasi protein lebih lanjut sehingga terbentuk amoniak. Amoniak yang terbentuk menyebabkan munculnya aroma busuk. pengolahan lebih lanjut dari tempe untuk memperpanjang masa simpannya. Alternatif produk turunan tempe yaitu dibuat tepung tempe yang kemudian dikembangkan menjadi produk formula tepung tempe (Bastian, 2013).



Gambar 2. Tempe

2.2.1 Syarat Mutu dan Komposisi Kimia Tempe

Tepung tempe dapat dengan baik ditambahkan pada makanan lain tanpa mengurangi atau mengubah cita rasa makanan yang ditambahkan. Selain itu tepung tempe juga dapat digunakan sebagai sumber protein utama dalam makanan tambahan anak sapihan yang siap untuk dimasak (Sarwono, 1987)

Salah satu upaya untuk mengawetkan tempe adalah dengan pengeringan. Tepung merupakan salah satu bentuk makanan yang dapat meningkatkan masa simpan produk. Tepung memiliki sifat yang kering sehingga pertumbuhan mikroorganisme dan reaksi kimia dapat dihambat. Kelebihan bentuk tepung dibandingkan bentuk lain adalah mudah dicampurkan dengan bahan lain untuk meningkatkan nilai gizinya, mudah disimpan dan diolah menjadi makanan (Mardiah 1992).

Menurut Kasmidjo (1990) tempe yang baik harus memenuhi syarat mutu secara fisik dan kimiawi. Tempe dikatakan memiliki mutu fisik jika tempe itu sudah memenuhi ciri-ciri tertentu. Ciri-ciri tersebut adalah sebagai berikut :

- a. Warna Putih, Warna putih ini disebabkan adanya miselia kapang yang tumbuh pada permukaan biji kedelai.
- b. Tekstur tempe, kompak tempe yang baik mempunyai bentuk kompak yang terikat oleh miselium sehingga terlihat berwarna putih dan bila diiris terlihat keeping kedelainya.

- c. Aroma dan rasa khas, tempe terbentuk aroma dan rasa yang khas pada tempe disebabkan terjadinya degradasi komponen – komponen dalam tempe selama berlangsungnya proses fermentasi.

Syarat mutu tempe kedelai berdasarkan ketentuan SNI dapat dilihat pada table 6, dan komposisi kimia gizi kedelai dan tempe 100 gram bdd dapat dilihat pada tabel 7.

Table. 6. Syarat Mutu Tempe Kedelai

No.	Kriteria uji	Satuan	Persyaratan
1	Keadaan		
1.1	Tekstur	-	kompak, jika diiris tetap utuh (tidak mudah rontok)
1.2	Warna	-	putih merata pada seluruh permukaan
1.3	Bau	-	bau khas tempe tanpa adanya bau amoniak
2	Kadar air	fraksi massa, %	maks. 65
3	Kadar lemak	fraksi massa, %	min. 7
4	Kadar protein (N x 5,71)	fraksi massa, %	min. 15
5	Kadar serat kasar	fraksi massa, %	maks. 2,5
6	Cemaran logam		
6.1	Kadmium (Cd)	mg/kg	maks. 0,2
6.2	Timbal (Pb)	mg/kg	maks. 0,25
6.3	Timah (Sn)	mg/kg	maks. 40
6.4	Merkuri (Hg)	mg/kg	maks. 0,03
7	Cemaran Arsen (As)	mg/kg	maks. 0,25
8	Cemaran mikroba		
8.1	<i>Coliform</i>	APM/g	maks. 10
8.2	<i>Salmonella sp.</i>	-	negatif/25 g

Sumber: SNI Tempe, 2015

Tabel 7. Komposisi kimia Gizi Kedelai dan Tempe 100 gram bdd.

No	Zat Gizi	Kedelai	Tempe
1	Protein (g)	40,3	20,7
2	Lemak (g)	16,7	8,8
3	Karbohidrat (g)	24,9	13,5
4	Serat (mg)	3,2	3,2
5	Abu (mg)	5,3	1,6
6	Kalsium (mg)	221,7	155,1
7	Fosfor (mg)	681,1	323,6
8	Besi (mg)	9,6	4,0
9	Niasin (mg)	31	34
10	Tiamin (mg)	0,42	0,12
11	Riboflavin (mg)	0,13	0,29
12	Vitamin B 12 (mg)	0,13	1,7
13	Air (g)	12,7	55,3

Sumber:Depkes, 1996

*BDD = Berat yang dapat dimakan

2.2.2 Tepung Tempe

Tepung tempe merupakan makanan terolah dengan bahan utama tempe yang kemudian diformulasikan dengan bahan pendukung seperti tepung terigu, gula halus, garam, minyak, baking powder, dan ovalet. Bubuk formula tempe ini dirancang sebagai makanan bagi semua usia (bayi hingga lansia). Formula tempe efektif untuk bayi dan anak balita yang mengalami gangguan pencernaan (diare) serta dapat memperbaiki status gizi penderita gizi buruk (SNI, 2009).

Pengolahan tempe menjadi formula tempe memiliki banyak manfaat, antara lain formula tempe mudah dicampur dengan sumber karbohidrat untuk memperkaya nilai gizinya, mudah disimpan, ataupun diolah menjadi makanan cepat saji. Tepung tempe termasuk produk industri tempe generasi kedua. Produk akhir secara fisik tidak berwujud seperti tempe dan rasa khas tempe menjadi tidak terasa lagi (Anonim,2008).

Proses pembuatan tepung tempe dilakukan berdasarkan metode Inayati (1999). Tempe segar dipotong-potong membentuk dadu, dikukus selama 10 menit pada suhu 80°C. Setelah dikukus, dikeringkan dengan oven selama 6 jam pada suhu 60°C, digiling dengan *pin disc mill* dan diayak dengan *vibrating screen* ukuran 60 mesh. Komposisi kimia gizi kedelai, tempe an tepung tempe dapat dilihat pada Table 8.

Table 8. Komposisi kimia kedelai, tempe dan tepung tempe

Komponen	Kedelai	Tempe	Tepung tempe
Protein	46,2	46,5	48,0
Lemak	19,1	19,7	24,7
Karbohidrat	28,5	30,2	13,5
Serat	3,7	7,2	2,5
Abu	6,1	3,6	2,3

Sumber : Mardiah, 1994

2.3 *Spirulina*

Spirulina merupakan mikroorganisme autotrof berwarna hijau-kebiruan dengan sel berkolom membentuk filament terpilin menyerupai spiral (*helix*). Oleh sebab itu disebut alga biru-hijau berfilamen. Prospek *Spirulina* sangat banyak terutama di wiayah depok (Prasetyo dan Kusumaningrum, 2011).

Mikroalga spesies ini berserabut, filament bercabang, jarang soliter (mengambang bebas), biasanya dalam gugus yang bagus dan menutupi substrat, menyentuh satu sama lain atau dengan ruang-ruang kecil diantara sel. Proses pembelahan dirinya berbentuk melintang, tegak lurus terhadap sumbu panjang dari sebuah trikoma (Kawaroe *et al.*,1996).

Berdasarkan habitatnya, spirulina dapat berkembang dengan baik pada perairan tropis dan subtropis, baik pada perairan tawar maupun perairan laut (Budiardi, 2010).



Gambar 3. *Spirulina* dilihat dari mikroskop

Menurut (Kawaroe *et al.*, 1996), klasifikasi *Spirulina sp.* adalah sebagai

berikut :

- Kingdom : Bacteria
- Subkingdom : Negibacteria
- Phylum : Cynobacteria
- Class : Cynophyceae
- Family : Pseudababaenales
- Genus : *Spirulina*
- Spesies : *Spirulina sp.*

Spirulina menjadi salah satu yang sangat menjanjikan dikembangkan di Indonesia terkait dengan potensi mikroalga ini cukup besar untuk di manfaatkan sebagai bahan pangan dan sumber pewarna alami (Setyaningsih *et al.*, 2011). *Spirulina* merupakan mikroalga hijau biru yang termasuk kedalam kelompok *Cynobacteria* yang digolongkan kedalam kelas *Cyanophyceae*, mikroalga berfilamen dan multiseluler yang memiliki kandungan gizi yang bermanfaat bagi tubuh manusia antara lain, protein, vitamin, asam lemak esensial, mineral, betakaroten, klorofil a dan fikosianin (Agustian *et al.*, 2013).

2.3.1 Manfaat *Spirulina*

Kegunaannya untuk pangan diantaranya digunakan sebagai suplemen kesehatan. Salah satu jenis mikroalga laut adalah *Spirulina sp.* *Spirulina sp.* memiliki beberapa jenis antara lain, *Dunaliella salina* dan *Nannochloropsis sp.* Diantara jenis-jenis mikroalga tersebut, beberapa jenis mikroalga mudah diperoleh di Indonesia, mudah dipanen, dikultur dan tahan terhadap kontaminasi, misalnya *Spirulina sp.* dan *Nannochloropsis* (Amini *et al.*, 2011).

Dengan berlimpahkan sumberdaya *Spirulina sp.*, masyarakat sering memanfaatkannya sebagai bahan obat, ataupun makanan tambahan (*food supplement*). Kandungan gizi yang terkandung didalamnya juga cukup tinggi antara lain memiliki kandungan protein yang sebesar 63%-68%, karbohidrat sebesar 18-20% dan lemak sebesar 2-3 % (Prasetyo dan Elizabeth, 2011).

2.3.2 Komposisi Kimia *Spirulina*

Spirulina memiliki kandungan nutrisi tinggi sehingga digunakan sebagai bahan makanan kesehatan. Fikri (2006) menjelaskan, bahwa *spirulina* mengandung 5 zat gizi utama, yaitu: karbohidrat, protein, lemak (gama linoleat, omega 3, 6, dan 9), vitamin (B-kompleks, E), mineral (Fe, Ca, K), serta pigmen alami (beta karoten, klorofil, xantofil, fikosianin). Oleh karena itu, spirulina dapat berfungsi sebagai antioksidan (mencegah kanker dan radikal bebas), meningkatkan sistem imunitas tubuh (daya tahan terhadap fluktuasi lingkungan dan serangan penyakit), serta merendahkan kolesterol.

Spirulina mempunyai kandungan protein, asam amino, vitamin, mineral dan pigmen yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan makanan tambahan (suplemen) bagi manusia, hewan, dan akuakultur (Ono, 2004).

Spirulina memiliki beberapa karakteristik serta kandungan nutrisi yang cocok sebagai makanan fungsional. Protein, asam lemak esensial, vitamin,

mineral, danklorofil serta fikosianin adalah komponen yang terkandung di dalam *Spirulina*. Di yakini juga bahwa *Spirulina* bisa bertindak sebagai produk makanan penyembuh atau obat (Christwardana, 2014). Kandungan *Spirulina* dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Komposisi kimia *Spirulina*

No	Zat gizi	Satuan	100 gram
1	Air	G	4,68
2	Energi	Kcal	290
3	Protein	G	57,47
4	Lemak	G	7,72
5	Karbohidrat	G	23,90
6	Serat	G	3,6
7	Kalsium	Mg	120
8	Besi	Mg	28,50
9	Magnesium	Mg	195
10	Fosfor	Mg	118
11	Postasium	Mg	1363
12	Sodium	Mg	1048
13	Zink	mg	2,00

Sumber : USDA, 2016

2.4 Zat Besi (Fe)

Zat besi (Fe) adalah suatu komponen dari berbagai enzim yang mempengaruhi seluruh reaksi kimia yang penting di dalam tubuh. Besi (Fe) juga merupakan komponen dari hemoglobin, yang memungkinkan sel darah merah membawa oksigen dan mengantarkannya ke jaringan tubuh (Kacaribu, 2008). Zat besi merupakan microelemen yang esensial bagi tubuh. Zat ini terutama diperlukan dalam hemopobesis (pembentukan darah), yaitu dalam sintesa hemoglobin (Hb) (Djaeni, 2000).

Jumlah total besi dalam tubuh rata-rata 4-5 gram, lebih kurang 65 persennya dijumpai dalam bentuk hemoglobin. Sekitar 4 persennya dalam bentuk mioglobin, 1 persen dalam bentuk macam-macam senyawa heme yang

meningkatkan oksidasi intraseluler, 0,1 persen bergabung dengan protein transferin dalam plasma darah dan 15-30 persen terutama disimpan dalam sistem retikuloendotelial dan sel parenkim hati, khususnya dalam bentuk feritin (Guyton and Hall,1997).

Wanita cenderung mempunyai simpanan zat besi yang lebih rendah dibandingkan pria, membuat wanita lebih rentan mengalami defisiensi zat besi saat asupan zat besi kurang atau kebutuhan meningkat. Jika zat besi yang dikonsumsi terlalu sedikit atau bioavailabilitasnya rendah atau makanan berinteraksi dengan membatasi absorpsi yang dibutuhkan tubuh untuk memenuhi kebutuhan zat besi, cadangan zat besi dalam tubuh akan digunakan dan hal tersebut dalam menimbulkan defisiensi zat besi (Gleason and Scrimshaw 2007).

2.4.1 Fungsi Besi (Fe) dalam Tubuh

Besi mempunyai beberapa fungsi esensial di dalam tubuh : sebagai alat angkut oksigen dari paru-paru ke jaringan tubuh, sebagai alat angkut elektron di dalam sel, dan sebagai bagian terpadu berbagai reaksi enzim di dalam jaringan tubuh. Rata-rata kadar besi dalam tubuh sebesar 3-4 gram. Sebagian besar (\pm 2 gram) terdapat dalam bentuk hemoglobin dan sebagian kecil (\pm 130 mg) dalam bentuk mioglobin. Simpanan besi dalam tubuh terutama terdapat dalam hati dalam bentuk feritin dan hemosiderin. Dalam plasma, transferin mengangkut 3 mg besi untuk dibawa ke sumsum tulang untuk eritropoesis dan mencapai 24 mg per hari. Sistem retikuloendoplasma akan mendegradasi besi dari eritrosit untuk dibawa kembali ke sumsum tulang untuk eritropoesis. Zat besi adalah mineral yang dibutuhkan untuk membentuk sel darah merah (hemoglobin). Selain itu, mineral ini juga berperan sebagai komponen untuk membentuk mioglobin (protein yang membawa oksigen ke otot), kolagen

(protein yang terdapat di tulang, tulang rawan, dan jaringan penyambung), serta enzim. Zat besi juga berfungsi dalam sistem pertahanan tubuh.

2.4.2 Metabolisme Besi (Fe) dalam Tubuh

Kebanyakan besi tubuh adalah dalam hemoglobin dengan 1 ml sel darah merah mengandung 1 mg besi (2000 ml darah dengan hematokrit normal mengandung sekitar 2000 mg zat besi) (Ibister and Pittiglio, 1999)

Pertukaran zat besi dalam tubuh merupakan lingkaran yang tertutup. Besi yang diserap usus setiap hari kira-kira 1-2 mg, ekskresi besi melalui eksfoliasi sama dengan jumlah besi yang diserap usus yaitu 1-2 mg. Besi yang diserap oleh usus dalam bentuk transferin bersama dengan besi yang dibawa oleh makrofag sebesar 22 mg dengan jumlah total yang dibawa transferin yaitu 24 mg untuk dibawa ke sumsum tulang untuk eritropoiesis. Eritrosit yang terbentuk memerlukan besi sebesar 17 mg yang merupakan eritrosit yang beredar keseluruhan tubuh, sedangkan yang 7 mg akan dikembalikan ke makrofag karena berupa eritropoiesis inefektif (Bakta, 2007).

Secara umum, metabolisme besi ini menyeimbangkan antara absorpsi 1-2 mg/ hari dan kehilangan 1-2 mg/ hari. Kehamilan dapat meningkatkan keseimbangan besi, dimana dibutuhkan 2-5 mg besi perhari selama kehamilan dan laktasi. Diet besi normal tidak dapat memenuhi kebutuhan tersebut sehingga diperlukan suplemen besi (Waspadji, 1990).

2.4.3 Penyerapan Besi

Absorpsi dan Transportasi

Absorpsi besi dari bahan makanan terjadi di duodenum dan jejunum proksimal. Bioavailabilitas besi heme lebih besar dibandingkan besi non heme. Besi heme berasal dari proteolisis hemoglobin dan mioglobin dalam saluran

cerna. Besi heme akan berikatan dengan reseptor heme (heme binding protein/HasAh) pada membran apikal enterosit melalui mekanisme endositosis ke dalam endosom atau lisosom. Oleh enzim heme oksidase, besi heme dipecah menjadi ferro dan porfirin, namun mekanisme bagaimana ferro dibawa ke sitosol masih belum jelas dan diduga divalen metal ion transporter (DMT1) ikut berperan. Selanjutnya ferro disimpan dalam sitosol dalam bentuk feritin atau dibawa keluar enterosit melalui ferroportin (IRG1) ke darah dan diangkut oleh transferin plasma.

Absorpsi ferri dalam usus diawali dengan reduksi ferri menjadi ferro oleh asam askorbat dan *duodenal cytochrome B* (DcytB/ferrireduktase pada permukaan eritrosit). Proses ini terjadi setelah ferri menempel pada enterosit. Ferro yang terbentuk akan diabsorpsi melalui DMT1 dengan proton sebagai sumber energi. Selanjutnya ferro akan disimpan dalam dalam sitosol dalam bentuk feritin.

Ferri memiliki kelarutan lebih rendah pada pH normal sampai basa dibandingkan ferro sehingga ferri lebih sukar diabsorpsi. Absorpsi ferri terjadi melalui beta 3 integrin dengan dibantu oleh faktor yang meningkatkan kelarutan ferri yaitu musin, sitrat dan fumarat sehingga bioavailabilitasnya meningkat. Beberapa besi dalam sitosol disimpan beberapa waktu dalam bentuk paraferitin yang terdiri dari 4 polipeptida antara lain integrin, mobilferin (calretikulin/rho), dan flavin monooksigenase. Kompleks ini terdiri atas 24 subunit feritin dan ribuan atom ferri. Ferri yang terdapat dalam kompleks ini dapat direduksi kembali menjadi ferro untuk selanjutnya digunakan.

Bentuk simpanan besi dalam enterosit ini berperan dalam mengatur jumlah besi yang akan diabsorpsi mengingat umur enterosit hanya 2-3 hari. Absorpsi besi dari bahan makanan dipengaruhi oleh kondisi saluran cerna dan kandungan bahan dalam makanan tersebut. Keasaman lambung dapat

meningkatkan kelarutan besi sehingga akan meningkatkan bioavailabilitasnya. Dalam usus, absorpsi besi akan optimal pada pH 6.75. Bahan makanan yang mengandung polifenol atau pitat (inhibitor) dapat menghambat penyerapan besi, karena bahan tersebut akan mengikat besi dalam usus sehingga bersifat tidak larut dan menurunkan bioavailabilitasnya. Hal ini hanya terjadi pada besi non heme karena dalam bentuk besi bebas sehingga mudah diikat, sedangkan besi heme tidak dipengaruhi oleh inhibitor.

Disamping faktor yang mendorong penyerapan zat besi non hem, terdapat pula faktor yang menghambat penyerapan yaitu teh, kopi dan senyawa Ethylene 9 Diamine Tetraacetit Acid (EDTA) yang biasa digunakan sebagai pengawet makanan yang menyebabkan penurunan absorpsi zat besi non hem sebesar 50% (Wirakusumah, 1999).

Ekskresi besi

Berbeda dengan mineral lainnya, tubuh tidak dapat mengatur keseimbangan besi melalui ekskresi. Besi dikeluarkan dari tubuh relatif konstan berkisar antara 1,0 – 1,5 mg setiap hari melalui rambut, kuku, keringat, air kemih dan terbanyak melalui deskuamasi sel epitel saluran pencernaan. Lain halnya dengan wanita yang sedang menstruasi dan wanita hamil setiap hari kehilangan besi 0,5 – 1,0 mg atau 40 – 80 ml darah dan wanita yang sedang menyusui sebanyak 1,0 mg sehari. Wanita yang melahirkan dengan pendarahan normal akan kehilangan besi 500-550 mg (Soeparman, 1990).

Anemia Defisiensi besi adalah anemia yang terjadi akibat kekurangan zat besi dalam darah, artinya konsentrasi hemoglobin dalam darah berkurang karena terganggunya pembentukan sel-sel darah merah akibat kurangnya kadar zat besi dalam darah. Jika simpanan zat besi dalam tubuh seseorang sudah sangat rendah berarti orang tersebut mendekati anemia walaupun belum ditemukan gejala-gejala fisiologis. Simpanan zat besi yang

sangat rendah lambat laun tidak akan cukup untuk membentuk sel darah merah di dalam sumsum tulang sehinggakadar hemoglobin terus menurun di bawah batas normal, keadaan inilah yang disebut anemia gizi besi.

Kelebihan zat besi jarang terjadi karena makanan, tetapi dapat disebabkan oleh suplemen besi, gejalanya seperti rasa muntah, diare, denyut jantung meningkat, sakit kepala. Selain itu, kelebihan zat besi bisa dipakai oleh mikroorganisme untuk pertumbuhannya.

2.5 Proses Optimasi Dengan RSM (*Response Surface Methodology*)

Optimasi merupakan pendekatan normatif untuk mengidentifikasi penyelesaian terbaik dalam pengambilan keputusan suatu permasalahan. Unsur penting dalam permasalahan adalah fungsi tujuan yang dipengaruhi oleh sejumlah variabel, baik variabel bebas, maupun variabel yang saling bergantung. Secara umum, proses optimasi merupakan langkah meminimalisasi biaya atau penggunaan bahan baku dan memaksimalkan hasil atau efisiensi proses produksi (Box and Norman, 1987).

Optimisasi bertujuan menemukan nilai peubah dalam proses yang menghasilkan nilai terbaik pada syarat-syarat kondisi yang digunakan. Penyelesaian optimisasi terfokus pada pemilihan peubah terbaik di antara keseluruhan dan proses metode kuantitatif yang efisien termasuk komputer serta perangkat lunak program komputasi yang tepat dan hemat biaya. Konsep desain optimisasi adalah memperlihatkan semua kemungkinan analisis percobaan. Meta model Permukaan Respons (RSM) merupakan salah satu metode yang cukup menjanjikan dalam optimisasi ini. Metode ini telah dikenal dalam kimia dan teknik industri. RSM dapat memberikan hasil yang memuaskan untuk memilih data berdasarkan metode regresi standar berupa

model polinomial dengan memberikan masukan untuk mendapatkan luaran yang diinginkan (Umar, 2008)

Metode respon permukaan (*response surface methodology*) merupakan sekumpulan teknik matematika dan statistika yang berguna untuk menganalisis permasalahan dimana beberapa variabel independen mempengaruhi variabel respon dan tujuan akhirnya adalah untuk mengoptimalkan respon. Ide dasar metode ini adalah memanfaatkan desain eksperimen berbantuan statistika untuk mencari nilai optimal dari suatu respon (Nuryanti dan Djati, 2008).

Menurut Rakhmi (2013), Penggunaan RSM dalam kegiatan optimasi memiliki beberapa manfaat pada penerapannya, antara lain:

- Menunjukkan bagaimana variabel respon Y dipengaruhi oleh variabel bebas X di wilayah yang diperhatikan secara tertentu
- Menentukan pengaturan variabel bebas yang paling tepat dimana akan memberikan hasil yang memenuhi spesifikasi dari respon yang diharapkan
- Mengeksplorasi ruang dari variabel bebas X untuk mendapatkan hasil maksimum dan menentukan sifat dasar dari nilai maksimum.