

ALTERNATIF COOKIES PREBIOTIK KACANG HIJAU PISANG UNTUK ANAK AUTISM SPECTRUM DISORDER KAJIAN ANALISIS PROTEIN DAN ZINC

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Ilmu Gizi**



Oleh :

Weny Aulina Rohmatul Ilmi

145070301111039

PROGRAM STUDI S1 ILMU GIZI

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2018

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN ii

HALAMAN PERUNTUKAN iii

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN iv

KATA PENGANTAR v

ABSTRAK vii

ABSTRACT viii

DAFTAR ISI ix

DAFTAR TABEL xii

DAFTAR GAMBAR xiii

DAFTAR LAMPIRAN 7

DAFTAR SINGKATAN 8

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang 1

1.2 Rumusan Masalah 4

1.3 Tujuan Penelitian 5

1.4 Manfaat Penelitian 5

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Autism Spectrum Disorder (ASD)* 6

2.2 Diet pada Anak ASD 6

2.3 Kasein 8

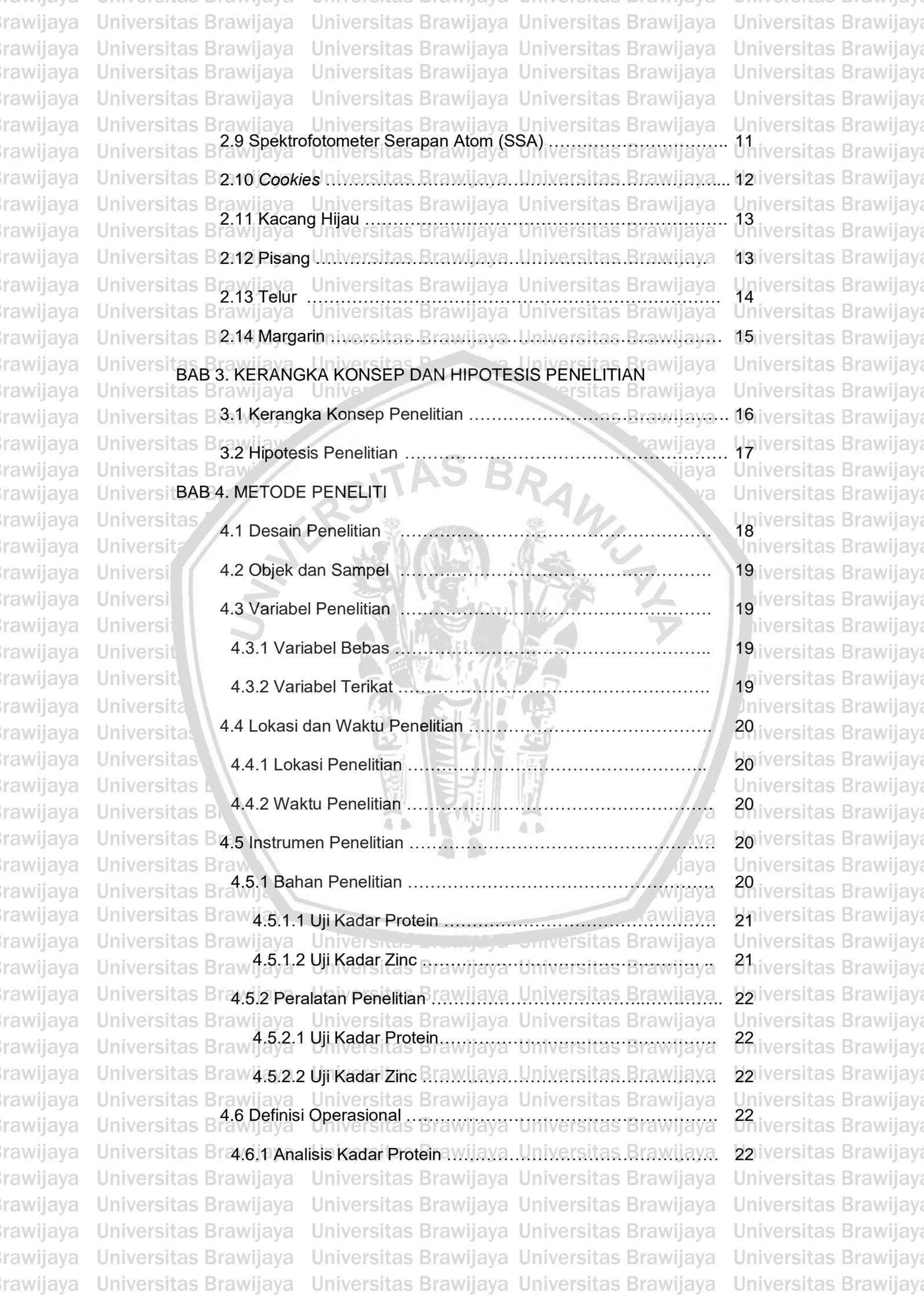
2.4 Gluten 9

2.5 Prebiotik 9

2.6 Protein 10

2.7 Zinc 10

2.8 Kjeldahl 11



2.9 Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) 11

2.10 Cookies 12

2.11 Kacang Hijau 13

2.12 Pisang 13

2.13 Telur 14

2.14 Margarin 15

BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep Penelitian 16

3.2 Hipotesis Penelitian 17

BAB 4. METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian 18

4.2 Objek dan Sampel 19

4.3 Variabel Penelitian 19

4.3.1 Variabel Bebas 19

4.3.2 Variabel Terikat 19

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian 20

4.4.1 Lokasi Penelitian 20

4.4.2 Waktu Penelitian 20

4.5 Instrumen Penelitian 20

4.5.1 Bahan Penelitian 20

4.5.1.1 Uji Kadar Protein 21

4.5.1.2 Uji Kadar Zinc 21

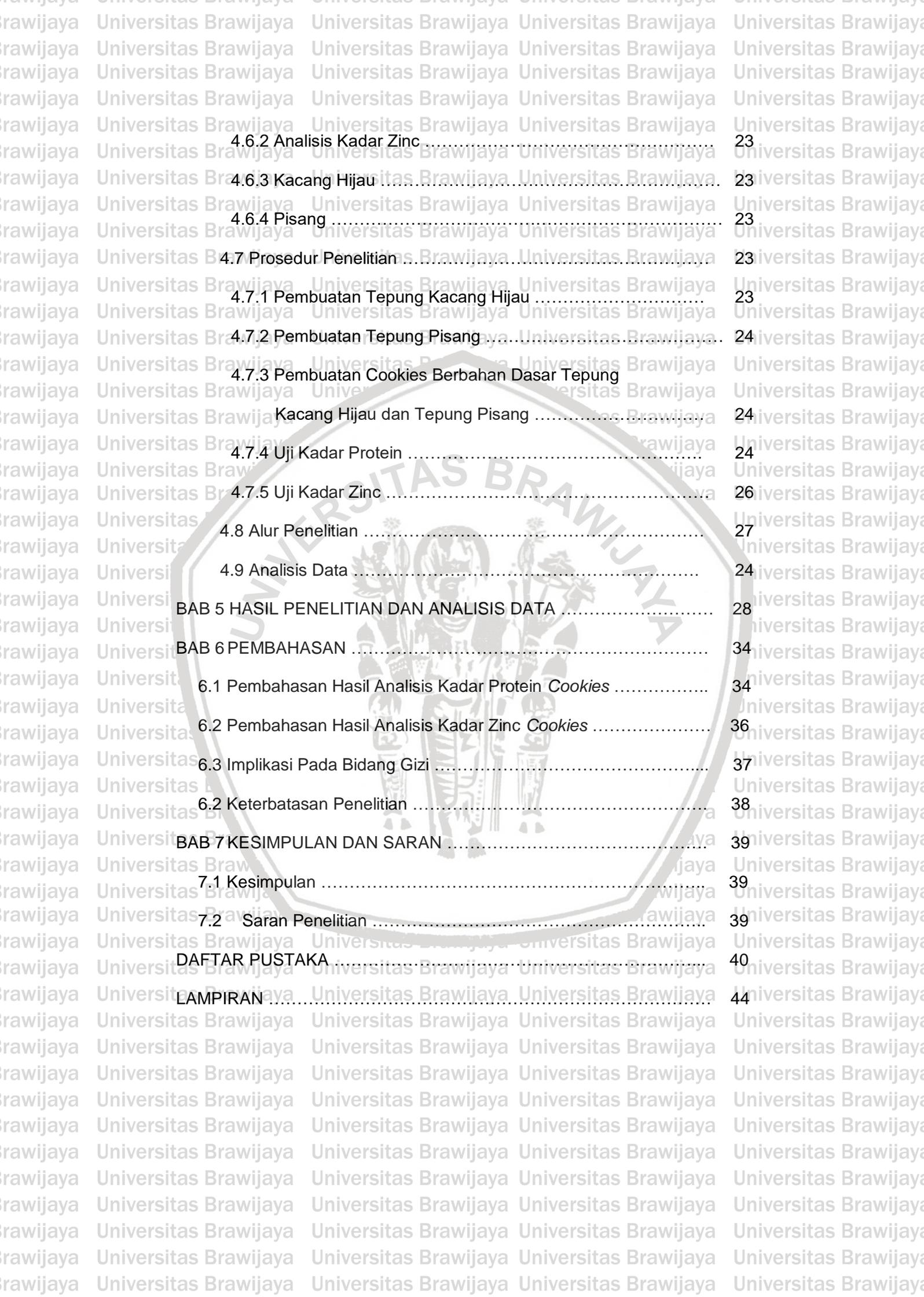
4.5.2 Peralatan Penelitian 22

4.5.2.1 Uji Kadar Protein 22

4.5.2.2 Uji Kadar Zinc 22

4.6 Definisi Operasional 22

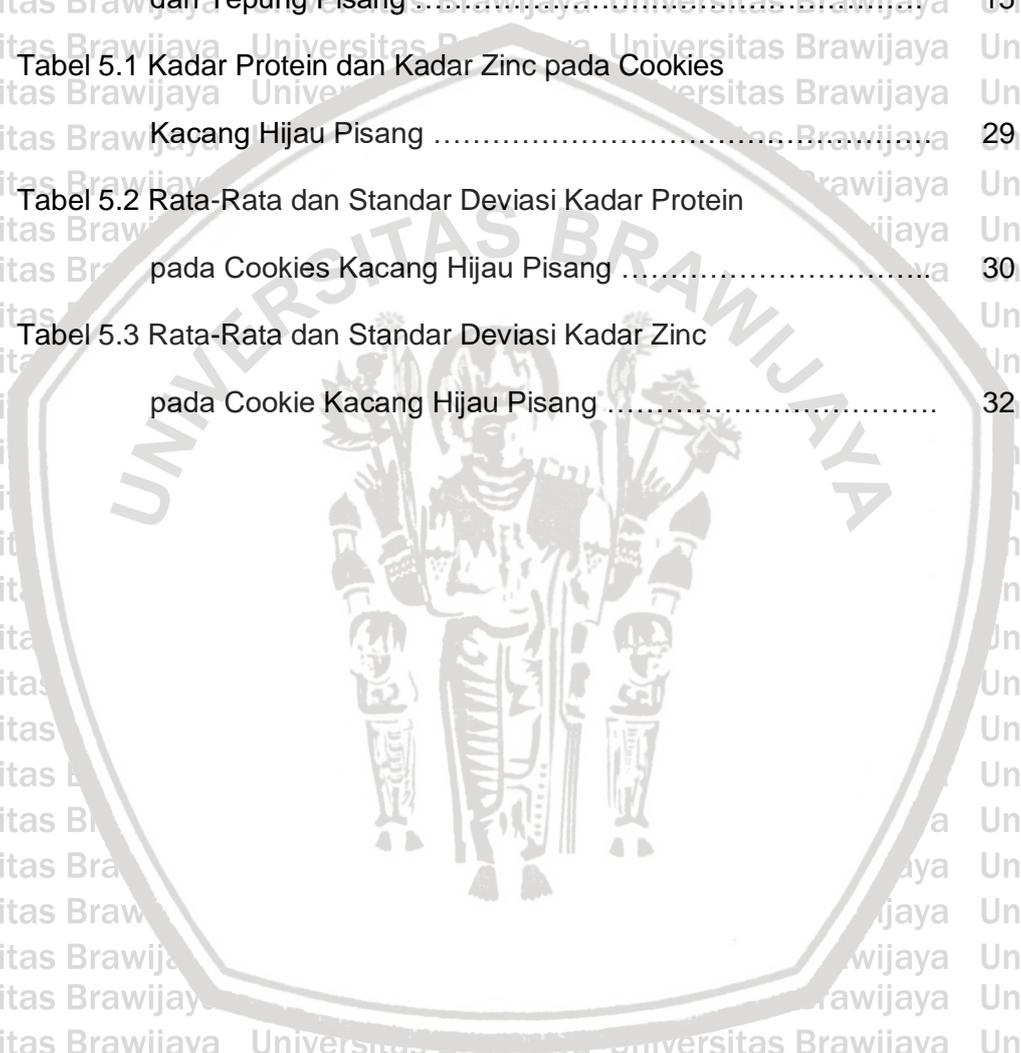
4.6.1 Analisis Kadar Protein 22



4.6.2 Analisis Kadar Zinc	23
4.6.3 Kacang Hijau	23
4.6.4 Pisang	23
4.7 Prosedur Penelitian	23
4.7.1 Pembuatan Tepung Kacang Hijau	23
4.7.2 Pembuatan Tepung Pisang	24
4.7.3 Pembuatan Cookies Berbahan Dasar Tepung Kacang Hijau dan Tepung Pisang	24
4.7.4 Uji Kadar Protein	24
4.7.5 Uji Kadar Zinc	26
4.8 Alur Penelitian	27
4.9 Analisis Data	24
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	28
BAB 6 PEMBAHASAN	34
6.1 Pembahasan Hasil Analisis Kadar Protein Cookies	34
6.2 Pembahasan Hasil Analisis Kadar Zinc Cookies	36
6.3 Implikasi Pada Bidang Gizi	37
6.2 Keterbatasan Penelitian	38
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	39
7.1 Kesimpulan	39
7.2 Saran Penelitian	39
DAFTAR PUSTAKA	40
LAMPIRAN	44

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Syarat Mutu Biskuit	7
Tabel 4.1 Perlakuan dan Pengulangan pada Sampel	14
Tabel 4.2 Proporsi Penambahan Tepung Kacang Hijau dan Tepung Pisang	15
Tabel 5.1 Kadar Protein dan Kadar Zinc pada Cookies Kacang Hijau Pisang	29
Tabel 5.2 Rata-Rata dan Standar Deviasi Kadar Protein pada Cookies Kacang Hijau Pisang	30
Tabel 5.3 Rata-Rata dan Standar Deviasi Kadar Zinc pada Cookie Kacang Hijau Pisang	32



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Kacang Hijau Vima 1 13

Gambar 2.2 Pisang Tanduk 13

Gambar 3.1 Kerangka Konsep 15

Gambar 4.1 Diagram Alur Penelitian 27

Gambar 5.1 Grafik Rata-Rata Kandungan Protein Cookies 31

Gambar 5.2 Grafik Rata-Rata Kandungan Zinc Cookies Kacang Hijau Pisang 33



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Pembuatan Tepung Kacang Hijau 44

Lampiran 2. Pembuatan Tepung Pisang 45

Lampiran 3. Pembuatan Cookies Berbahan Dasar Tepung
Kacang Hijau dan Tepung Pisang 46

Lampiran 4. Hasil Laboratorium 51

Lampiran 5. Hasil Analisis SPSS 52



DAFTAR SINGKATAN

ASD = Autism Spectrum Disorder

CFGF = Casein Free Gluten Free

MT = Metallothionein

SCD = Specific Carbohydrate Diet



HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

ALTERNATIF COOKIES PREBIOTIK KACANG HIJAU PISANG UNTUK ANAK

AUTISM SPECTRUM DISORDER KAJIAN ANALISIS PROTEIN DAN ZINC

Oleh:

Weny Aulina Rohmatul Ilmi

145070301111039

Telah diuji pada

Hari : Selasa

Tanggal : 24 Juli 2018

dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji I

Yosfi Rahmi S.Gz, M.Sc.

NIP. 197912032006042002

Pembimbing I/Penguji II,

Titis Sari Kusuma S.Gz, MP

NIP. 198007022006042001

Pembimbing II/Penguji III

Ilzamha Hadjah R S.TP, M.Sc

NIP. 2016078907172001

Mengetahui

Ketua Program Studi Ilmu Gizi,

Dian Handayani, SKM, M.Kes, PhD

NIP. 197404022003122002



ABSTRAK

Ilimi, Weny Aulina Rohmatul. 2018. **Alternatif Cookies Prebiotik Kacang Hijau Pisang untuk Anak Autism Spectrum Disorder Kajian Analisis Protein dan Zinc.** Tugas Akhir, Program Studi Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Titis Sari Kusuma, S.Gz, MP, (2) Ilzamha Hadijah R., S.TP.,M.Sc

Autism Spectrum Disorder (ASD) adalah suatu gangguan perkembangan yang dapat menyebabkan hambatan dalam kemampuan sosialisasi, komunikasi, dan perilaku anak. Anak ASD mengalami ketidaksempurnaan dalam pencernaannya. Salah satunya adalah kurang dapat mencerna gluten dan kasein. Selain itu, Pada anak ASD juga ditemukan adanya kekurangan zinc disebabkan oleh terjadinya disregulasi *metallothionein*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar protein dan zinc dalam cookies yang akan dijadikan alternatif makanan selingan untuk anak ASD. Penelitian ini merupakan penelitian kuasi eksperimental dengan objek cookies yang terbuat dari tepung kacang hijau dan tepung pisang. Ada 6 perlakuan yang diberikan dengan 1 kontrol cookies berbahan dasar tepung terigu. Penelitian dilakukan dengan 3 kali pengulangan pengujian. Kadar protein didapatkan dari hasil uji kjeldahl dan kadar zinc dari hasil uji SSA. Berdasarkan hasil analisis, diketahui bahwa terdapat perbedaan kadar protein yang signifikan antar masing-masing perlakuan ($p=0.00$ One Way Anova). Sedangkan pada kadar zinc bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar masing-masing perlakuan ($p=0.296$ One Way Anova). Cookies yang memiliki kadar protein dan kadar zinc paling tinggi adalah cookies dengan perlakuan P2 yang bahan utamanya hanya tepung kacang hijau. Cookies dengan perlakuan terbaik adalah P5 yang memiliki komposisi 50:50 antara tepung terigu dan tepung pisang.

Kata kunci: ASD, kacang hijau, pisang, protein, zinc

ABSTRACT

Ilmi, Weny Aulina Rohmatul. 2018. **Alternative Cookies Prebiotics from Green Beans and Banana for Children with Autism Spectrum Disorder in Protein and Zinc Analysis**. Final Assignment, Nutrition Science, Medical Faculty, Brawijaya University. Supervisors: (1) Titis Sari Kusuma, S.Gz, MP; (2) Ilzamha Hadijah R., S.TP., M.Sc

Autism Spectrum Disorder (ASD) is a developmental disorder that can cause the obstacles in the ability of socialization, communication, and manners of children.

The child with ASD has an imperfection in digestive. One example is the less ability to digest gluten and casein. Moreover, in ASD children also found the lack/deficiency of zinc which caused by the dysregulation of *metallothionein*. The objective of this study is to find out the level of protein and zinc in the cookies as the alternative snack for ASD children. This study is a quasi experimental research with the cookies made from green beans flour and banana flour as the object.

There are six treatments are given to 1 control cookies which made from wheat flour only. The research is done by repeating the test three times. The result of kjeldahl test is for the protein levels, while the result of AAS test is for the zinc level.

Based on the analysis, the protein level has a significant difference between each treatment ($p=0.00$ One Way Anova). Meanwhile for the zinc level, there is no significant difference between each treatment ($p=0.296$ One Way Anova). Cookies have the highest level of protein and zinc in the treatment P2. The main ingredient of the cookies in this treatment is made from green bean flour only. In the treatment P5, cookies have the best treatment which contains 50:50 compositions between the white flour and banana flour.

Keywords: ASD, green beans, bananas, protein, zinc

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Autism Spectrum Disorder (ASD) adalah suatu gangguan perkembangan yang dapat menyebabkan hambatan dalam kemampuan sosialisasi, komunikasi, dan perilaku anak. Gejala gangguan ini biasanya muncul sebelum anak berusia 3 tahun (Rahayu, 2014). *Autism* diambil dari bahasa Yunani yaitu *autos* yang berarti diri sendiri. Sehingga pada dasarnya seseorang dengan ASD akan cenderung lebih menikmati kegiatan yang hanya melibatkan dirinya sendiri (Mulyadi, 2011)

Data Centre of Disease Control (CDC) di Amerika pada bulan Maret 2014, prevalensi (angka kejadian) Autisme adalah 1 dari 68 anak. Secara lebih spesifik 1 dari 42 anak laki-laki dan 1 dari 189 anak perempuan (Kemenkes RI, 2016). Hal tersebut bukan hanya terjadi di negara-negara maju seperti Inggris, Australia, Jerman dan Amerika namun juga terjadi di negara berkembang seperti Indonesia. Prevalensi autis di dunia saat ini mencapai 15-20 kasus per 10.000 anak atau berkisar 0,15-0,20%. Jika angka kelahiran di Indonesia 6 juta per tahun maka jumlah penyandang autis di Indonesia bertambah 0,15% atau 6.900 anak per tahunnya (Pratiwi dan Diény, 2014).

Anak ASD mengalami ketidaksempurnaan fungsi enzim sulfotransferase. Kekurangan enzim tersebut dapat mengakibatkan gangguan terhadap metabolisme makanan yang mengandung fenol dan amin contohnya seperti tomat. Gangguan fungsi enzim sulfotransferasi juga dapat menyebabkan kebocoran dinding usus yang akibatnya adalah protein kompleks seperti gluten dan kasein tidak dapat dipecah dan diabsorpsi dengan sempurna. Protein yang masih dalam bentuk peptida

dapat menembus sawar darah (Puspitha dan Berawi, 2016) dan masuk ke dalam reseptor opioid di otak. Apabila aktivitasnya meningkat maka dapat mempengaruhi persepsi, emosi, dan perilaku anak ASD. Oleh karena itu, diet yang tepat diberikan untuk anak autis adalah Diet CFGF (*Casein Free Gluten Free*) yaitu meniadakan bahan makanan sumber kasein dan gluten pada makanan yang dikonsumsi anak ASD (McCandless, 2003).

Ketidaktepatan fungsi enzim sulfotransferase juga dapat menyebabkan fenol yang masuk ke dalam tubuh berikatan dengan sulfat yang ada di dalam darah. Akibatnya, kemampuan detoksifikasi racun semakin menurun dan terjadi penumpukan toksik yang berlebihan dalam darah. Kadar fenol yang tinggi dalam darah juga mengakibatkan terjadinya gangguan pada sistem neurotransmitter (James *et al*, 2009; Newman 2009). Akibat konsumsi makanan sumber fenol pada anak ASD akan muncul gejala baik fisik maupun perilaku. Gejala fisik meliputi sakit kepala, gatal – gatal pada kulit terutama perut, dan mengompol. Sementara gejala perilaku yang timbul adalah hiperaktif dan penurunan konsentrasi (Strickland *et al*, 2009).

Selain diet *free gluten*, *free casein*, dan *low fenol*, pemberian karbohidrat kompleks (disakarida dan polisakarida) pada anak ASD sebaiknya lebih dibatasi. Karena pada anak ASD ditemukan kondisi kurangnya aktivitas enzimatis disakaridase yang berkaitan dengan ekspresi faktor transkripsi usus CDX2 dan menimbulkan penurunan jalur pencernaan karbohidrat yang menyebabkan pencernaan karbohidrat menjadi kurang sempurna (Williams *et al*, 2011). Karbohidrat yang tidak dicerna sempurna menjadi makanan bagi bakteri, dan pupuk bagi jamur karena karbohidrat merupakan sumber karbon dan energi utama untuk mikroba kolon (Conlon and Bird, 2015). Oleh karena itu, anak dengan ASD direkomendasikan diet

SCD (*Specific Carbohydrate Diet*) yaitu membatasi penggunaan gula yang dapat dikonsumsi, yang hanya dari golongan monosakarida (Kessick, 2009).

Kandungan zinc dalam tubuh akan sangat mempengaruhi fungsi kekebalan tubuh, sehingga berperan penting dalam pencegahan infeksi oleh berbagai jenis bakteri patogen (Rahman *et al*, 2014). Zinc umumnya terdapat di dalam otak, dimana zinc bertugas mengikat protein. Kekurangan zinc akan berakibat fatal terutama pada pembentukan struktur otak, fungsi otak dan mengganggu respon tingkah laku dan emosi (Black, 1998). Pada anak ASD kekurangan zinc disebabkan oleh terjadinya disregulasi *metallothionein* atau MT (McCandless, 2003). Pemberian suplementasi zinc biasanya diberikan untuk mengurangi efek disfungsi MT pada anak ASD (Santosa, 2003)

Kacang hijau adalah salah satu bahan pangan yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber protein nabati dimana kacang hijau mengandung protein sebesar 24-28% (Nair *et al*, 2013). Menurut Balai Pengelola Alih Teknologi Pertanian (BPATP), salah satu varietas unggulan yaitu kacang hijau varietas Vima-1. Keunggulannya salah satunya yaitu kandungan protein yang mencapai 28%. Untuk mempermudah dalam pemanfaatannya dan memperpanjang umur simpannya, kacang hijau dapat diolah menjadi tepung. Kacang hijau yang sudah diolah menjadi tepung memiliki kadar zinc 0.2 mg/100g (Ratnasari dan Yuniarta, 2015).

Pisang dapat dijumpai di banyak daerah di Indonesia. Pisang merupakan buah yang mempunyai kandungan gizi yang cukup lengkap, antara lain menyediakan energi dari karbohidrat cukup tinggi. Pada pisang juga terdapat vitamin dan mineral seperti vitamin C, vitamin B kompleks, zinc dan kalsium. (Triyono, 2010). Pisang memiliki kadar zinc sebesar 0.146% (Adeyemi and Oladiji, 2009). Buah pisang cukup sesuai untuk

diproses menjadi tepung karena komponen utama yang menyusun buah pisang adalah karbohidrat yaitu sebesar 17,2-38% Salah satu pisang yang sesuai untuk dijadikan tepung adalah pisang tanduk karena memiliki pati resisten 2.50 %1bk (Abdillah, 2010).

Konsumsi rata-rata kue kering termasuk cukup di Indonesia, tahun 2011-2015 memiliki perkembangan konsumsi rata-rata sekitar 24,22% lebih tinggi dibandingkan rata-rata konsumsi kue basah 17,78% (Statistik Konsumen Pangan, 2015). *Cookies* merupakan

salah satu produk makanan kering yang cukup terkenal di masyarakat.

Cookies termasuk dalam makanan yang tidak mudah rusak dan memiliki umur simpan yang relatif panjang. (Isnaini dan Marliyati, 2015). Pada penelitian ini, pembuatan *cookies* menggunakan bahan baku tepung kacang hijau sebagai alternatif sumber *free gluten, free casein, low fenol* dan *specific carbohydrate diet*. Pada pembuatan *cookies* ini juga ditambahkan tepung pisang untuk meningkatkan cita rasa agar bisa lebih diterima masyarakat khususnya anak-anak.

Berdasarkan hal tersebut, peneliti tertarik untuk mengetahui kandungan protein dan zinc pada *cookies* berbahan dasar tepung kacang hijau dan tepung pisang sebagai alternatif snack untuk anak ASD.

1.2 Rumusan Masalah

1.2.1 Apa beda kandungan protein pada *cookies* berbahan dasar tepung kacang hijau dan tepung pisang?

1.2.2 Apa beda kandungan zinc pada *cookies* berbahan dasar tepung kacang hijau dan tepung pisang?

1.3 Tujuan

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui kandungan protein dan zinc pada *cookies* berbahan dasar tepung kacang hijau dan tepung pisang

1.3.2 Tujuan Khusus

1.3.2.1 Menganalisis kandungan protein pada *cookies* berbahan dasar

tepung kacang hijau dan tepung pisang

1.3.2.2 Menganalisis kandungan zinc pada *cookies* berbahan dasar tepung

kacang hijau dan tepung pisang

1.3.2.3 Mengetahui formulasi *cookies* yang memiliki kadar protein paling

tinggi

1.3.2.3 Mengetahui formulasi *cookies* yang memiliki kadar zinc paling tinggi

1.4 Manfaat

1.4.1 Manfaat Akademis

Memberikan informasi tentang hasil penelitian kandungan protein dan zinc pada *cookies* berbahan dasar tepung kacang hijau dan tepung pisang serta dapat menjadi bahan rujukan penelitian berikutnya.

1.4.2 Manfaat Praktis

Memberikan informasi yang bermanfaat kepada masyarakat tentang alternatif pemberian snack *free gluten, free casein, low fenol,* dan *specific carbohydrate diet* dengan kandungan protein dan zinc untuk anak ASD.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Autism Spectrum Disorder (ASD)*

2.1.1 *Pengertian Autism Spectrum Disorder (ASD)*

ASD atau autisme adalah suatu gangguan perkembangan yang biasanya akan muncul gejalanya sebelum anak berusia 3 tahun. Gangguan tersebut dapat menyebabkan hambatan dalam kemampuan sosialisasi, komunikasi, dan perilaku anak (Rahayu, 2014). Arti istilah autisme sendiri diambil dari bahasa Yunani yaitu *autos* yang berarti diri sendiri. Sehingga pada dasarnya seseorang dengan ASD akan cenderung lebih menikmati kegiatan yang hanya melibatkan dirinya sendiri seperti *auto-activity*, *auto-imagine*, *auto-interested*, dan lain sebagainya (Mulyadi, 2011)

ASD disebabkan salah satunya oleh penyimpangan genetik yang membuat ketidaksempurnaan fungsi metallothionein (MT). Adanya ketidaksempurnaan tersebut dan didukung oleh adanya pengaruh lingkungan pada saat masa perkembangan menyebabkan disregulasi MT. Disregulasi MT yang terjadi akan berakibat pada terganggunya keseimbangan kadar zinc dalam tubuh serta terhentinya perkembangan sistem syaraf yang menjadi awal penyebab terjadinya ASD pada anak. (McCandless, 2003)

2.1.2 *Masalah Pencernaan dan Diet pada Anak ASD*

Masalah pencernaan pada anak dengan ASD disebabkan oleh beberapa faktor. Beberapa diantaranya adalah ketidakseimbangan kadar zinc dalam tubuh yang dikarenakan disregulasi metallothionein, keadaan *"leaky gut"* atau kebocoran usus yang menyebabkan protein kurang mampu diserap oleh usus (McCandless, 2003), serta kurangnya enzim sulfotransferase sebagai pencerna kasein, gluten, dan fenol sehingga

menyebabkan kasein, gluten dan fenol tidak dapat dicerna dengan baik oleh anak dengan ASD (Puspitha dan Berawi, 2016). Pada anak ASD juga ditemukan kondisi kurangnya aktivitas enzimatis disakaridase yang berkaitan dengan ekspresi faktor transkripsi usus CDX2 dan menimbulkan penurunan jalur pencernaan karbohidrat yang menyebabkan pencernaan karbohidrat menjadi kurang sempurna (Williams *et al*, 2011). Oleh karena itu, diet yang sebaiknya diberikan untuk anak autisme adalah Diet CFGF (*Casein Free Gluten Free*) yaitu meniadakan bahan makanan sumber casein dan gluten pada makanan yang dikonsumsi anak ASD, diet *low fenol* yaitu membatasi konsumsi makanan tinggi fenol, dan *specific carbohydrate diet* yaitu membatasi konsumsi karbohidrat hanya pada karbohidrat sederhana (McCandless, 2003).

2.2 Diet Pada Anak ASD

Anak ASD pada umumnya mendapatkan gangguan pencernaan seperti konstipasi dan diare sebagai akibat dari makanan yang tidak dapat diurai dengan sempurna. Hal ini disebabkan karena sel pada mukosa usus mengalami kerusakan dan menghambat produksi hormon sekretin (hormone untuk merangsang sekresi enzim pencernaan di pankreas) sehingga tubuh kekurangan enzim utama pendegradasi DPP-IV (dipeptidylpeptidase IV) untuk mencerna gluten dan kasein (McCandless, 2003). Akibatnya adalah, protein yang ada dalam susu sapi atau biasa disebut casein dan yang ada dalam gandum atau biasa disebut gluten tidak mampu dicerna oleh tubuh dengan sempurna. Bersamaan dengan keadaan leaky gut dan hipermeabilitas usus maka peptide ini akhirnya diserap dan masuk ke sirkulasi darah sehingga menimbulkan alergi (Ratnawati, 2003). Jika peptide tadi mampu menembus blood brain barrier (BBB) kemudian masuk ke dalam otak, maka ia dapat menempel di reseptor opioid dan beralih fungsi menjadi

morphin hingga memberikan efek seperti opioid atau biasa disebut dengan *opioids peptides* (McCandless, 2003). Peptide tersebut berubah menjadi gluteomorphin (dari gluten) dan caseomorphin (dari casein). Kedua zat tersebut mengganggu fungsi dari syaraf pusat dan menimbulkan gangguan perilaku. Jika peptide melekat di reseptor opioid pada lobus temporal maka dapat menimbulkan gangguan bahasa dan pendengaran (Ratnawati, 2003)

2.3 Kasein

Kasein protein yang banyak terdapat dalam susu dan produk olahannya yang memiliki karakteristik khas sebagai penggumpal dan membentuk massa yang kompak (Mashabi NA, dan Tajudin NR, 2009).

Pada anak ASD, kasein tidak dapat dicerna secara sempurna dikarenakan mengalami ketidaksempurnaan fungsi enzim sulfotransferase. Kasein pada anak ASD dapat menimbulkan reaksi alergi. Pada penderita alergi didapatkan kondisi penurunan hormone seperti kortisol. Hormone progesterone dan adrenalin juga cenderung mengalami peningkatan saat proses alergi terjadi. Adanya perubahan hormonal tersebut mampu mempengaruhi fungsi dari susunan saraf pusat atau otak pada anak ASD.

Kasein adalah peptida yang mampu mempengaruhi neurotransmitter di susunan saraf pusat dengan menembus sawar darah akibat terabsorbsinya kasein dari usus yang mengalami defisiensi enzim sulfotransfase. Kasein yang beredar di sirkulasi menduduki reseptor opioid, menyebabkan serabut saraf pusat terganggu. Serabut saraf pusat ini mengatur fungsi persepsi, kognitif, emosi dan tingkah laku. Sehingga, mengakibatkan penderita ASD akan mengalami hiperaktif atau terlalu senang akibat diet kasein yang tidak terkontrol (Puspitha dan Berawi, 2016).

2.4 Gluten

Gluten adalah salah satu jenis protein yang terdiri dari glutein dan gliadin yang banyak terdapat dalam tepung terigu dan tepung sereal lainnya namun dengan jumlah yang lebih sedikit (Mashabi NA, dan Tajudin NR, 2009). Pada anak ASD, kasein tidak dapat dicerna secara sempurna dikarenakan mengalami ketidaksempurnaan fungsi enzim sulfotransferase. Kasein pada anak ASD dapat menimbulkan reaksi alergi. Pada penderita alergi didapatkan kondisi penurunan hormone seperti kortisol. Hormone progesterone dan adrenalin juga cenderung mengalami peningkatan saat proses alergi terjadi. Adanya perubahan hormonal tersebut mampu mempengaruhi fungsi dari susunan saraf pusat atau otak pada anak ASD.

2.5 Prebiotik

Prebiotik merupakan makanan bagi bakteri baik yang hidup dalam saluran pencernaan manusia yaitu merupakan serat pangan yang bisa digunakan sebagai substrat untuk mikroba dalam menghasilkan SCFA (Short Chain Fatty Acid). (Soeharsono, 2010). Produk prebiotik yang banyak dikomersilkan adalah dari golongan oligosakarida misalnya Frukto-Oligosakarida (FOS), Galakto-Oligosakarida (GOS), rafinosa dan inulin. Produk tersebut biasanya sering ditambahkan dalam produk susu formula untuk menstimulasi pertumbuhan bakteri probiotik (Setiarto, 2015). Prebiotik adalah nutrisi yang cocok bagi bakteri probiotik tetapi tidak disukai oleh bakteri patogen. Senyawa prebiotik banyak terdapat pada makanan kaya serat seperti sayuran, buah-buahan, biji-bijian maupun umbi-umbian (Kurniasih *et al*, 2013)

Berdasarkan penelitian manfaat prebiotik juga dapat terlihat dalam menumbuhkan bakteri probiotik yang memang dikhususkan untuk saluran

pencernaan penyandang ASD, jenis prebiotik yang digunakan adalah Xyloligosakarida (XOS) yang ditambahkan dalam pengolahan cookies, dari hasil didapatkan kesimpulan semakin meningkat jumlah prebiotik yang digunakan, maka pertumbuhan bakteri probiotik juga meningkat (Isnaini dan Marlyanti, 2015)

2.6 Protein

Protein dibentuk dari molekul-molekul asam amino yang saling berkaitan. Asam amino adalah penyusun utama dari jaringan otot dan otak, juga hormone, neurotransmitter, serta enzim pencernaan (McCandless, 2003). Pada anak dengan ASD kekurangan enzim untuk mencerna gluten dan kasein sehingga protein dalam bentuk gluten dan kasein tidak dapat dipecah menjadi asam amino tunggal dan masih dalam bentuk peptida. Asam amino yang masih tertahan dalam bentuk peptida dapat masuk ke dalam reseptor opioid di otak dan bila aktivitasnya meningkat maka dapat mempengaruhi persepsi, emosi, dan perilaku pada anak ASD. Menurut BPOM Nomor (2016) Tentang Pengawasan Klaim pada Label dan Iklan Pangan Olahan, sebuah makanan dikatakan sebagai sumber protein apabila memenuhi 20% ALG per 100 g (dalam bentuk padat) atau 10% ALG per 100 ml (dalam bentuk cair) dan dapat dikatakan sebagai tinggi protein apabila 35% ALG per 100 g (dalam bentuk padat) atau 17,5% ALG per 100 ml (dalam bentuk cair).

2.7 Zinc

Zinc adalah zat gizi mikro esensial yang dibutuhkan oleh sistem imun tubuh manusia untuk dapat berfungsi secara optimal. Sebagian besar anak dengan ASD mengalami kekurangan zinc. Kekurangan zinc dapat menyebabkan melemahnya sistem imun tubuh, serta menurunnya serangkaian fungsi termasuk pertumbuhan dan perkembangan otak

(McCandless, 2003). Menurut BPOM Nomor 13 (2016) Tentang Pengawasan Klaim pada Label dan Iklan Pangan Olahan, sebuah makanan dikatakan sebagai sumber protein apabila memenuhi 15% ALG per 100 g (dalam bentuk padat) atau 7,5% ALG per 100 ml (dalam bentuk cair) dan dapat dikatakan sebagai tinggi protein apabila mencapai nilai 2 kali dari "sumber". Kebutuhan zinc pada anak usia 7-9 tahun adalah 11 mg/hari dan untuk anak usia 10-12 tahun adalah 14 mg/hari (Permenkes, 2013).

2.8 Kjeldahl

Metode Kjeldahl merupakan metode yang sederhana untuk penetapan nitrogen total. Pada metode ini memiliki 3 tahap yaitu destruksi, destilasi, dan titrasi. Kelebihan dari metode ini diantaranya adalah dapat diaplikasikan pada semua jenis makanan dan sifatnya yang universal, presisi tinggi dan reproduktibilitas baik membuat metode ini banyak digunakan untuk penetapan kadar protein dibandingkan metode lain. Namun metode ini juga memiliki kelemahan diantaranya memakan waktu yang lama, dan karena metode ini prinsipnya adalah menghitung N total, maka seluruh N akan dihitung termasuk yang bukan protein.

2.9 Spektrofotometer Serapan Atom (SSA)

Spektrofotometer serapan atom merupakan alat untuk menganalisa unsur-unsur logam dan semi logam dalam jumlah renik (trace). Prinsip kerja dari AAS adalah adanya interaksi antara energi (sinar) dan materi (atom). Jumlah radiasi yang terserap tergantung pada jumlah atom-atom bebas yang terlibat dan kemampuannya untuk menyerap radiasi. Metode ini memiliki beberapa kelebihan yaitu kepekaan lebih tinggi, sistemnya relatif mudah, dan dapat memilih temperatur yang dikehendaki. Namun metode SSA ini juga memiliki kekurangan diantaranya hanya dapat digunakan untuk larutan dengan konsentrasi rendah sehingga memerlukan jumlah larutan

yang relatif besar serta sistem atomisasi yang tidak mampu mengatomkan secara langsung sampel padat.

2.10 Cookies

Cookies merupakan jenis biskuit yang terbuat dari adonan lunak, renyah, dan bila dipatahkan akan tampak tekstur kurang padat pada penampangnya. Biskuit sendiri adalah produk bakeri kering yang dibuat dengan cara memanggang adonan yang terbuat dari tepung terigu atau substitusinya, minyak/lemak, dengan atau tanpa penambahan bahan pangan lain dan bahan tambahan pangan yang diizinkan. Syarat mutu biskuit yaitu seperti yang ditampilkan pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Standar Mutu Cookies

No	Kriteria Uji	SNI
1.	Kadar Air	Maks 5%
2.	Kadar Protein	Min 9%
3.	Kadar Lemak	Min 9,5 %
4.	Kadar karbohidrat	Min 70 %
5.	Kadar Abu	Maks 1.5 %
6.	Logam berbahaya	-
	Timbal (Pb)	-
	Tembaga (Cu)	-
7.	Kadar serat kasar	Maks 0.5 %
8.	Kalori (per 100 g)	Min 400
9.	Jeni Tepung	Terigu
10.	Bau dan Rasa	Normal dan tidak tengik
11.	Warna	Normal

Sumber : BSN (2011)

2.11 Kacang Hijau



Gambar 2.1 Kacang Hijau Vima 1

Sumber : (BPATP, 2010)

Menurut Badan Pusat Statistik (2017), pada tahun 2015 produksi kacang hijau sebanyak 271.463 ton. Kacang hijau adalah salah satu bahan pangan yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber protein nabati dimana kacang hijau yang mengandung protein sebesar 24-28% (Nair *et al*, 2013) serta zinc sebesar 0,2 mg/100 gr. Untuk mempermudah dalam pemanfaatannya dan memperpanjang umur simpannya, kacang hijau dapat diolah menjadi tepung (Ratnasari dan Yunianta, 2015). Varietas Vima-1 merupakan salah satu varietas unggul karena memiliki kandungan protein mencapai 28%. Kacang hijau varietas Vima-1 seperti yang ditampilkan pada

Gambar 2.1

2.12 Pisang



Gambar 2.2 Pisang Tanduk

Sumber : (beritaorganik.com, 2017)

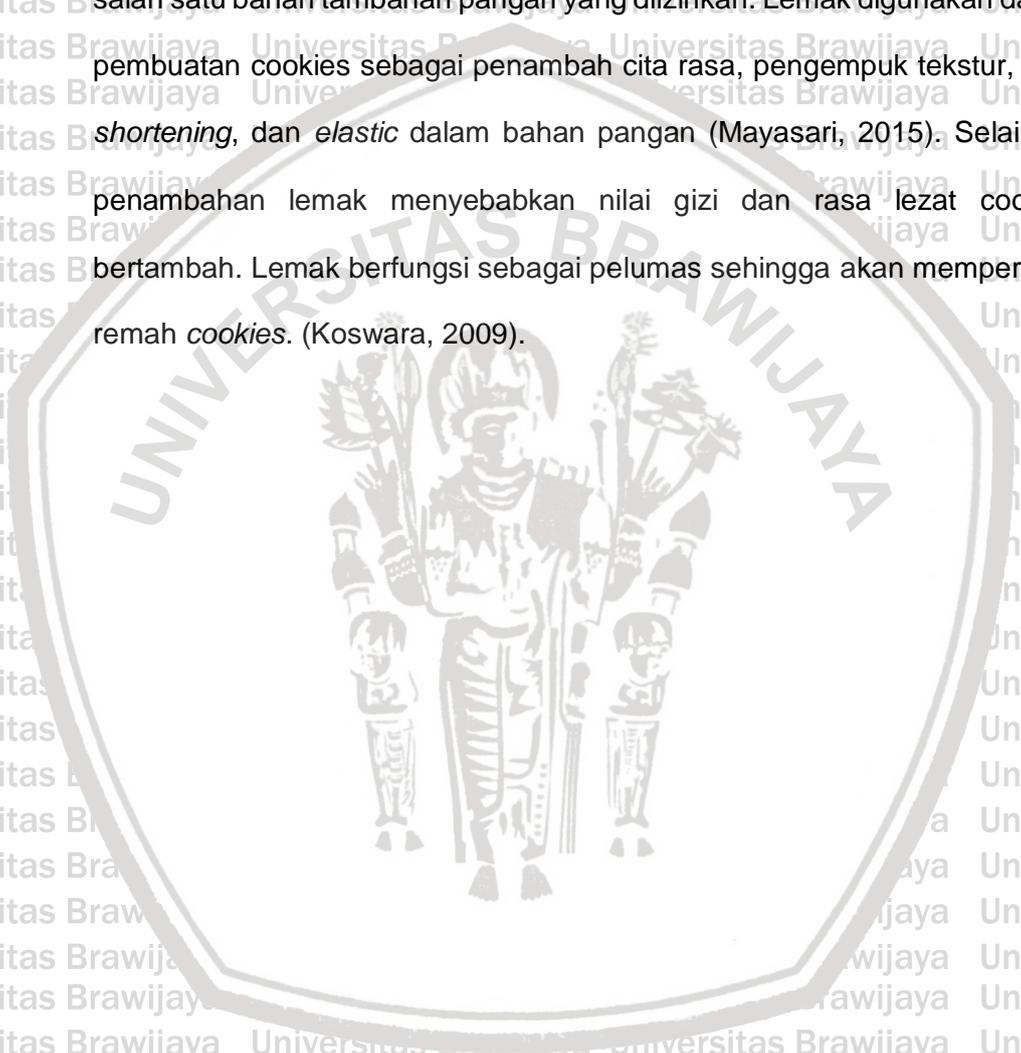
Pisang dapat dijumpai di banyak daerah di Indonesia. Pisang merupakan buah yang mempunyai kandungan gizi cukup lengkap, antara lain menyediakan energi dari karbohidrat cukup tinggi. Pada pisang juga terdapat vitamin dan mineral seperti vitamin C, vitamin B kompleks, zinc dan kalsium. (Triyono, 2010). Buah pisang cukup sesuai untuk diproses menjadi tepung karena komponen utama yang menyusun buah pisang adalah karbohidrat (17,2-38%) (Abdillah, 2010 dalam Isnaini dan Marliyati, 2015). Pisang juga memiliki kandungan zat gizi lain yaitu zinc sebesar kurang lebih 0,18% (Adeyemi and Oladiji, 2009) dan protein sebesar kurang lebih 1%. Salah satu pisang yang sesuai untuk dijadikan tepung adalah pisang tanduk karena memiliki pati resisten 2.50 %1bk (Abdillah, 2010). Pisang tanduk juga memiliki total kandungan fenol sebesar 1.03 ± 0.26 mg TAE/100 gram dalam basis kering dan 0.43 ± 0.26 mg TAE/100 gram dalam basis basah (Musthafavi, 2014). Contoh pisang tanduk seperti yang ditampilkan pada **Gambar 2.2**

2.13 Telur

Telur adalah bahan makanan dengan harga yang ekonomis dibandingkan dengan sumber protein hewani lain, namun bergizi tinggi dan mudah dalam pengolahannya. Menurut Badan Pusat Statistik (2017), tingkat konsumsi telur di Indonesia pada tahun 2015 mencapai 1,940 kg/kapita/minggu. Telur digunakan baik bagian putih dan kuningnya sebagai bahan untuk mengompakkan adonan serta membuat *cookies* tidak terlalu keras. Pada snack untuk anak ASD dapat menggunakan penambahan telur selama anak tidak memiliki alergi (Ayu, 2011). Telur yang baik untuk dikonsumsi anak ASD usia 2-6 tahun adalah 1-2 butir perhari, sementara usia 7-12 tahun adalah 1-2 butir perhari (Strickland, 2009).

2.14 Margarin

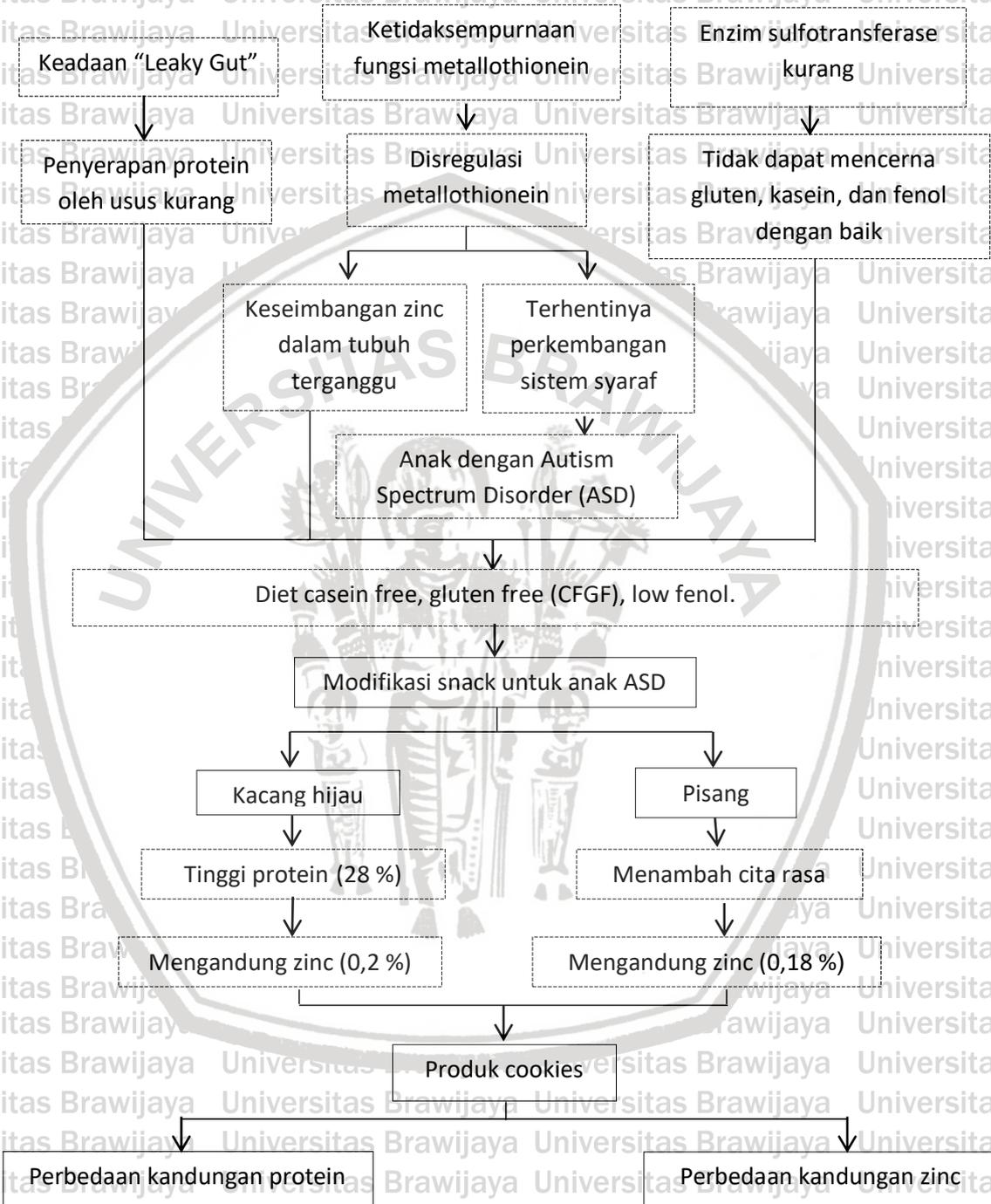
Menurut SNI (2002), margarin adalah produk makanan berbentuk emulsi, yang bahan pembuatannya adalah lemak atau minyak makan nabati, dengan atau tanpa perubahan kimiawi termasuk hidrogenasi, interesterifikasi, dan telah melalui proses pemurnian. Margarin merupakan salah satu bahan tambahan pangan yang diizinkan. Lemak digunakan dalam pembuatan cookies sebagai penambah cita rasa, pengempuk tekstur, efek *shortening*, dan *elastic* dalam bahan pangan (Mayasari, 2015). Selain itu penambahan lemak menyebabkan nilai gizi dan rasa lezat cookies bertambah. Lemak berfungsi sebagai pelumas sehingga akan memperbaiki remah cookies. (Koswara, 2009).



BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA PENELITIAN

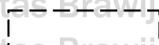
3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 3.1 Kerangka Konsep

Keterangan :

 Variabel yang diteliti

 Variabel yang tidak diteliti

Penelitian ini berawal dari keadaan anak dengan ASD yang disebabkan oleh *disregulasi metallothionein*. Pada anak ASD didapatkan kondisi penyerapan protein yang kurang oleh usus dikarenakan "*leaky gut*", keseimbangan zinc dalam tubuh yang terganggu, serta kurangnya enzim sulfotransferase sehingga menyebabkan pencernaan gluten, kasein, dan fenol kurang baik. Dari kondisi-kondisi tersebut, maka diberikanlah diet *casein free, gluten free (CFGF), low fenol,* dan *specific carbohydrate diet*. Namun, untuk mendapatkan makanan selingan (*snack*) yang sesuai untuk kebutuhan anak ASD masih sulit. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk membuat *snack* bagi anak dengan ASD yang sesuai dengan syarat diet mereka. *Snack* ini menggabungkan dua bahan pangan yaitu tepung kacang hijau dan tepung pisang yang diolah dan disajikan dalam bentuk *cookies*. Tepung kacang hijau dipilih karena memiliki kandungan protein yang tinggi serta mengandung mineral zinc. Tepung pisang juga mengandung protein dan zinc yang juga dapat berperan sebagai penambah cita rasa pada *cookies*. Setelah *cookies* diproduksi, *cookies* akan dianalisa kandungan protein dan zinc dalam *cookies* berbahan dasar tepung kacang hijau dan tepung pisang

3.2 Hipotesis Penelitian

3.2.1 *Cookies* dengan proporsi tepung kacang hijau yang semakin banyak dan tepung pisang yang semakin sedikit memiliki kandungan protein yang semakin tinggi.

3.2.2 *Cookies* dengan proporsi tepung kacang hijau yang semakin banyak dan tepung pisang yang semakin sedikit memiliki kandungan zinc yang semakin tinggi.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1. Desain Penelitian

Penelitian ini bersifat studi kuasi eksperimental yaitu sebuah studi eksperimental yang dalam mengontrol situasi penelitian menggunakan cara non random. Desain penelitian ini digunakan karena tidak dilakukan pengacakan pada sampel yang akan diuji. Pada penelitian digunakan satu faktorial yaitu perbandingan proporsi tepung kacang hijau dengan tepung pisang dengan dilakukan 3 kali pengulangan pengujian.

4.2. Objek dan Sampel

Objek penelitian ini adalah *cookies* dengan bahan dasar tepung kacang hijau dan tepung pisang. Terdapat 6 perlakuan yang diberikan dengan 1 perlakuan kontrol yang kemudian dilakukan pengujian sebanyak 3 kali pengulangan.

Perlakuan dan pengulangan pada sampel penelitian disajikan dalam

Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Perlakuan dan Pengulangan pada Sampel

Perlakuan	Pengulangan		
	1	2	3
1	P1U1	P1U2	P1U3
2	P2U1	P2U2	P2U3
3	P3U1	P3U2	P3U3
4	P4U1	P4U2	P4U3
5	P5U1	P5U2	P5U3
6	P6U1	P6U2	P6U3

Keterangan :

P1: 160g tepung terigu

P2: 160g tepung kacang hijau

P3: 160g tepung pisang

P4: 120g tepung pisang dan 40g tepung kacang hijau

P5: 80g tepung pisang dan 80g tepung kacang hijau

P6: 40g tepung pisang dan 120g tepung kacang hijau

4.3. Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah cookies dengan bahan dasar tepung kacang hijau dan tepung pisang

4.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah kandungan protein dan zinc pada cookies berbahan dasar tepung kacang hijau dan tepung pisang.

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

4.4.1 Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di:

1. Laboratorium Penyelenggaraan Makanan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang untuk membuat tepung kacang hijau, tepung pisang dan cookies berbahan dasar tepung kacang hijau dan tepung pisang
2. Laboratorium Pangan, Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi, Kendalpayak, Kabupaten Malang untuk pengujian kandungan protein pada cookies berbahan dasar tepung kacang hijau dan tepung pisang
3. Laboratorium Chemmix Pratama, Yogyakarta untuk pengujian kandungan zinc pada cookies berbahan dasar tepung kacang hijau dan tepung pisang

4.4.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada awal bulan Agustus tahun 2017 hingga Juli 2018.

4.5 Instrumen Penelitian

4.5.1 Bahan Penelitian

Bahan utama yang dibutuhkan dalam penelitian untuk pembuatan cookies adalah kacang hijau varietas Vima-1 yang diperoleh dari Balitkabi Malang dan pisang tanduk yang diperoleh dari Pasar Besar Malang.

Bahan-bahan lain yang dibutuhkan adalah margarin, dan telur sebagai bahan pembuatan cookies.

Tabel 4.3 Proporsi Penambahan Tepung Kacang Hijau dan Tepung Pisang

Bahan	P1 (0:0)	P2 (0:100)	P3 (100:0)	P4 (25:75)	P5 (50:50)	P6 (75:25)
Tepung Terigu	160g	0g	0g	0g	0g	0g
Tepung Pisang	0g	0g	160g	120g	80g	40g
Tepung K. Hijau	0g	160g	0g	40g	80g	120g
Margarine	42g	42g	42g	42g	42g	42g
Telur	50g	50g	50g	50g	50g	50g

4.5.1.1 Uji Kadar Protein

Bahan yang digunakan terdiri atas air suling; larutan H_3BO_3 dengan konsentrasi 4%; katalis campuran selen, dibuat dengan cara mencampurkan 1.55 gr $CuSO_4$ anhidrus, 96.9 gr Na_2SO_4 anhidrus serta 1.55 gr selen dan dihaluskan; indikator campuran, dibuat dengan cara (1) melarutkan 200 mg metil merah dalam 100 ml alcohol, (2) melarutkan 200 mg methylene blue dalam 100 ml alcohol, (3) mencampurkan larutan (1) dan (2) dengan perbandingan 1 : 2; larutan NaOH dengan konsentrasi 45%; H_2SO_4 pekat; larutan baku H_2SO_4 dengan konsentrasi 0.1 N; serbuk seng yang berukuran butir 30 mesh atau batu didih.

4.5.1.2 Uji Kadar Zinc

Bahan yang digunakan adalah larutan induk seng Zn 1000 $\mu\text{g/ml}$, asam nitrat p.a, HNO_3 pekat (65%), asam nitrat, HNO_3 1,0 N (ambil 142,5 ml asam nitrat, HNO_3 pekat ke dalam labu ukur 1000 ml yang telah berisi

250 ml air suling, lalu tepatkan menjadi 1000 ml lalu kocok sampai homogen), asam nitrat, HNO₃ 10%; (ambil 153,8 ml asam nitrat, HNO₃ pekat ke dalam labu ukur 1000 ml yang telah berisi 250 ml air suling, lalu tepatkan menjadi 1000 ml. Kocok sampai homogen), asam perklorat p.a pekat, HClO₄ pekat (air suling yang bebas bahan analit atau mengandung seng dengan kadar lebih rendah dari batas deteksi dan daya hantar listrik (DHL) < 2,00 µS/cm), batu didih, kertas saring kuantitatif dengan ukuran pori 8,0 µm.

4.5.2 Peralatan Penelitian

4.5.2.1 Uji Kadar Protein

Peralatan yang digunakan adalah alat destilasi Kjeldahl, alat destruksi, neraca analitik, labu Kjeldahl, oven, tanur, desikator, cawan porselen, alat penjepit cawan, labu Erlenmeyer, tabung pengendap, buret, labu ukur, ayakan baja nir karat, gelas ukur.

4.5.2.2 Uji Kadar Zinc

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini adalah Spektrofotometer Serapan Atom (SSA), timbangan analitik dengan ketelitian sampai dengan 0,0001 g, cawan porselin, desikator, oven, gelas ukur 100 ml, pipet volumetri 2,0 ml; 5,0 ml; 10,0 ml; 15,0 ml; 20,0 ml; dan 10 ml, pipet komagome 3 ml dan 5 ml, gelas piala 100 ml, penangas listrik (hot plate), corong, kaca arloji, batang pengaduk, spatula, erlenmeyer 250 ml, mortar dan alu, botol gelas atau polietilen bertutup, labu ukur 50 ml; 100 ml dan 1000 ml, pipet ukur 10 ml.

4.6 Definisi Operasional

4.6.1 Analisis kadar protein

Tujuannya adalah menganalisa kadar protein dalam cookies berbahan dasar tepung kacang hijau dan tepung pisang menggunakan

metode Kjeldahl dengan parameter kadar protein dalam cookies dan disajikan dalam angka dengan satuan persen (%)

4.6.2 Analisis Kadar Zinc

Tujuannya adalah untuk menganalisa kadar zinc dalam cookies berbahan dasar tepung kacang hijau dan tepung pisang menggunakan metode AAS dengan parameter kadar zinc dalam cookies dan disajikan dalam angka dengan satuan ppm.

4.6.3 Kacang Hijau

Kacang hijau yang digunakan untuk penelitian didapatkan dari Balitkabi, Malang. Kacang hijau dipilih yang bersih dan terlihat masih bagus penampakannya. Kacang hijau yang telah dibeli kemudian diproses untuk dijadikan tepung terlebih dahulu sebelum nantinya diolah menjadi cookies.

4.6.4 Pisang

Pisang yang digunakan untuk penelitian ini adalah jenis pisang tanduk. Pisang ini didapatkan dari Pasar Besar, Malang. Pisang dipilih yang belum terlalu matang. Pisang yang telah dibeli kemudian diproses untuk dijadikan tepung terlebih dahulu sebelum nantinya diolah menjadi cookies.

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Pembuatan Tepung Kacang Hijau (Ratnasari dan Yuniarta, 2015)

Biji kacang hijau dibersihkan lalu ditiriskan. Biji kacang hijau yang sudah dibersihkan kemudian diberikan perlakuan *steam blanching* selama 10 menit. Setelah itu, kulit biji kacang hijau dikupas. Sesudah dikupas bijinya, kacang hijau dikeringkan dengan cabinet dryer suhu 60°C selama 18 jam. Biji kacang hijau yang sudah kering diblender dan

diayak menggunakan ayakan 80 mesh hingga menjadi tepung kacang hijau yang siap digunakan.

4.7.2 Pembuatan Tepung Pisang (Isnaini, 2015)

Buah pisang dijemur dibawah sinar matahari hingga kulitnya layu. Kemudian buah pisang dikupas kulitnya, diiris, dan ditiriskan. Buah pisang lalu dikeringkan menggunakan cabinet dryer dengan suhu 60°C selama 5-6 jam. Buah pisang yang telah kering dihaluskan menggunakan disc mill dan diayak menggunakan ayakan 60 mesh hingga menjadi tepung pisang yang siap digunakan.

4.7.3 Pembuatan Cookies Berbahan Dasar Tepung Kacang Hijau dan Tepung Pisang (Nurani dan Yuwono, 2014)

Bahan pendukung untuk pembuatan cookies ini adalah margarin dan telur. Homogenisasi margarin dan telur menggunakan mixer dengan kecepatan sedang selama 5 menit hingga tercampur rata. Kemudian tambahkan campuran tepung kacang hijau dan tepung pisang dengan perbandingan 50 : 50, lalu homogenisasi menggunakan mixer dengan kecepatan rendah. Adonan didiamkan selama 15 menit lalu cetak dengan berat masing-masing 5 gram. Setelah itu, panggang adonan yang sudah dicetak dengan suhu 180°C selama 30 menit. Cookies siap disajikan.

4.7.4 Uji Kadar Protein (BSN, 1996)

- 1) Timbang benda uji secara duplo sebanyak 10 g dengan ketelitian 1 mg
- 2) Masukkan benda uji ke dalam labu Kjeldahl
- 3) Tambahkan ± 10 g katalis campuran selen
- 4) Tambahkan 35 mL H_2SO_4 pekat
- 5) Didihkan sampai larutan jernih pada alat destruksi lanjutkan pendidihan selama 30 menit

- 6) Tambahkan 300 ml air suling, dinginkan pada suhu dibawah 25°C
- 7) Tambahkan serbuk seng atau batu didih untuk menghindari letupan
- 8) Siapkan Erlenmeyer 250 ml yang berisi 50 ml larutan H_3BO_3 dengan konsentrasi 4% untuk penampung sulingan
- 9) Tambahkan 150 ml larutan NaOH pada larutan yang sudah ditambahkan serbung seng atau batu dididh untuk menjadikan larutan lebih alkali
- 10) Sulingkan sampai NH_4 tersuling
- 11) Tampung sulingan kedalam larutan H_3BO_3 dengan konsentrasi 4%
- 12) Hentikan penyulingan bila hasil sulingan sudah menunjukkan ± 150 ml
- 13) Titrasi hasil sulingan dengan larutan baku H_2SO_4 yang berkonsentrasi 0.1 N dengan menggunakan indikator campuran hingga titik akhir titrasi berwarna violet
- 14) Catat ml H_2SO_4 yang digunakan
- 15) Ulangi pengujian apabila pemakaian H_2SO_4 secara duplo lebih dari 0.1 ml, apabila kurang atau sama dengan 0.1 ml rata-ratakan hasilnya untuk dimasukkan dalam perhitungan
- 16) Lakukan penetapan blanko tanpa beda uji dengan pengerjaan yang sama pada poin 3 sampai 15
- 17) Hitung kadarnya berdasarkan rumus :

$$\text{Nitrogen (total) \%} = \frac{(a_1 - a_2) \times b \times 14}{c} \times 100 \%$$

Keterangan :

a_1 = standar 0.1 N H_2SO_4 rata-rata yang digunakan dalam titrasi sampel (ml)

a_2 = standar 0.1 N H_2SO_4 rata-rata yang digunakan dalam titrasi blanko (ml)

b = normalitas H_2SO_4

c = berat rata-rata sampel kering mutlak $105^\circ C$ (mg)

4.7.5 Uji Kadar Zinc (BSN, 2009)

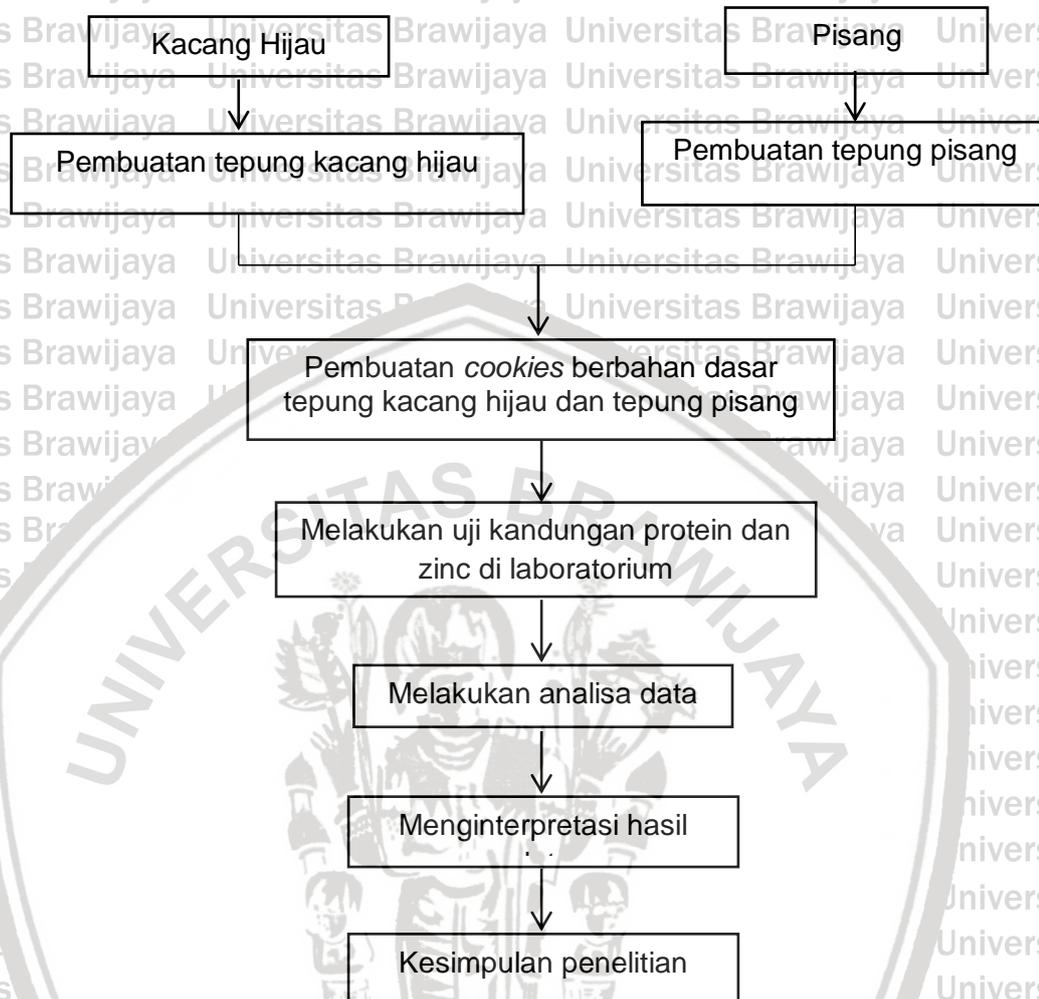
1. Pembuatan larutan standar logam seng (Zn)

- Dengan menggunakan pipet diambil 0 ml; 0,5 ml; 1 ml; 2 ml; 5 ml dan 10 ml larutan baku seng (Zn) 10 mg/l ke dalam labu ukur 100 ml .
- Tambahkan larutan pengencer sampai tepat tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi logam seng (Zn) 0,0 mg/l; 0,05 mg/l; 0,1 mg/l; 0,2 mg/l; 0,5 mg/l dan 1,0 mg/l

2. Pengukuran konsentrasi logam seng (Zn) dengan SSA

- Nilai diukur dengan menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) pada panjang gelombang 213,90 nm.
- Mengoptimalkan Alat SSA sesuai petunjuk penggunaan alat.
- Beberapa parameter pengukur untuk logam seng (Zn)
- Kemudian mengukur masing – masing larutan standar (larutan kerja) yang telah dibuat pada panjang gelombang 213,9 nm. Nilai absorbansinya akan terlihat .
- Buat kurva kalibrasi untuk mendapatkan persamaan garis regresi
- Dilanjutkan dengan pengukuran contoh uji yang sudah dipersiapkan .

4.8 Alur Penelitian



4.9 Analisis Data

Seluruh teknis pengolahan data dianalisis secara komputerisasi dengan menggunakan *software* SPSS 16.0 untuk melihat pengaruh perlakuan terhadap perbedaan kadar protein dan kadar zinc cookies. Apabila data hasil uji kadar protein dan kadar zinc terdistribusi normal dan homogen maka digunakan analisa menggunakan One Way ANOVA dan dilanjutkan Pos Hoc Tukey. Namun apabila data hasil uji kadar protein dan kadar zinc tidak terdistribusi normal maka analisis menggunakan Kruskal-Wallis dan Mann Whitney.

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Cookies Kacang Hijau Pisang

Cookies Kacang Hijau Pisang merupakan cookies yang terbuat dari tepung pisang dan tepung kacang hijau. Pada penelitian ini, terdapat enam perlakuan yang berbeda terdiri dari P1 yang berbahan dasar tepung terigu, P2 yang berbahan dasar tepung kacang hijau, P3 yang berbahan dasar tepung pisang, dan campuran tepung kacang hijau dan tepung pisang pada P4 hingga P6 dengan perbandingan yang berbeda-beda. Setiap perlakuan terdiri dari 3 replikasi atau pengulangan. Analisis yang dilakukan meliputi analisis kandungan gizi yaitu kadar protein dan kadar zinc.

5.2 Kandungan Gizi Cookies Kacang Hijau Pisang

Seluruh perlakuan beserta dengan pengulangannya yang berjumlah 18 sampel dianalisis mutu gizi yang terdapat di dalamnya yaitu kadar protein dan kadar zinc. Hasil analisis kandungan zat gizi berupa kadar protein dan kadar zinc ditampilkan pada **Tabel 5.1**

Tabel 5.1 Kadar Protein dan Kadar Zinc pada Cookies Kacang Hijau Pisang

Perlakuan	Pengulangan	Protein (%)	Zinc (ppm)
P1 (100% tepung terigu)	1	11.28	15.6973
	2	10.81	31.4872
	3	10.94	28.5794
P2 (100% tepung kacang hijau)	1	22.11	18.4693
	2	21.55	33.3212
	3	21.64	41.2543
P3 (100% tepung pisang)	1	6.67	14.8712
	2	6.18	12.4766
	3	6.53	15.4713
P4 (25% tepung kacang hijau, 75% tepung pisang)	1	9.91	24.2094
	2	10.18	24.9797
	3	10.8	18.9631
P5 (50% tepung kacang hijau, 50% tepung pisang)	1	13.45	22.1666
	2	13.17	21.4763
	3	13.51	18.6931
P6 (75% tepung kacang hijau, 25% tepung pisang)	1	16.88	11.5873
	2	17.34	38.5418
	3	17.2	25.6472

5.2.1 Kadar Protein pada Cookies Kacang Hijau Pisang

Uji kadar protein yang digunakan adalah metode AOAC. Hasil

analisis kadar protein pada cookies kacang hijau pisang disajikan pada

Tabel 5.2.

Tabel 5.2 Rata-Rata dan Standar Deviasi Kadar Protein pada Cookies**Kacang Hijau Pisang**

Perlakuan	Rata-rata kadar protein (%) ± SD	One Way Anova
P1	11.0100 ± 0.24269	p = 0.000
P2	21.7667 ± 0.30072	
P3	6.4600 ± 0.25239	
P4	10.2967 ± 0.45633	
P5	13.3767 ± 0.18148	
P6	17.1400 ± 0.23580	

Keterangan :

- P1 : Kelompok perlakuan dengan bahan dasar tepung terigu 100%.
- P2 : Kelompok perlakuan dengan bahan dasar tepung kacang hijau 100%
- P3 : Kelompok perlakuan dengan bahan dasar tepung pisang 100%.
- P4 : Kelompok perlakuan dengan bahan dasar tepung kacang hijau 25% dan tepung pisang 75%.
- P5 : Kelompok perlakuan dengan bahan dasar tepung kacang hijau 50% dan tepung pisang 50%.
- P6 : Kelompok perlakuan dengan bahan dasar tepung kacang hijau 75% dan tepung pisang 25%.

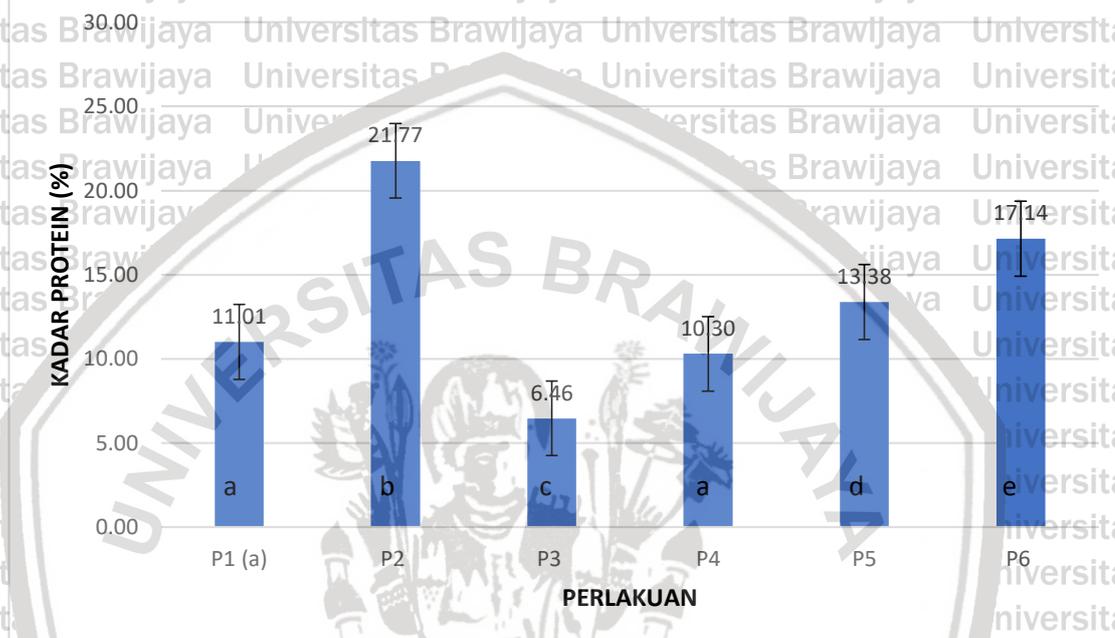
Berdasarkan Tabel 5.4 dapat diketahui bahwa kadar protein yang paling tinggi terdapat pada sampel dengan perlakuan P2. Sampel perlakuan P2 adalah cookies dengan bahan dasar tepung kacang hijau 100%. Dari data yang ada dapat dilihat bahwa kadar protein semua perlakuan memiliki standar deviasi di bawah mean. Hal tersebut menunjukkan data yang presisi karena variasi antar nilai minimum dan maksimum tergolong rendah (Wahyudi, 2011).

Data hasil analisis mutu gizi yaitu kadar protein diolah dengan menggunakan software SPSS 16 dengan menggunakan uji *One Way Anova* dilanjutkan dengan *Post Hoc Tukey* dikarenakan data terdistribusi normal dan homogen yaitu lebih dari 0.05. Hasil uji statistik *One Way Anova* dengan tingkat kepercayaan 95% ($p < 0.05$) $p = 0.000$ yaitu $p < 0.05$ menunjukkan bahwa adanya

perbedaan kadar protein dalam sampel cookies yang diuji. Adanya perbedaan signifikan antar perlakuan pada cookies dinyatakan dengan huruf *superscript* yang berbeda. Perbedaan yang signifikan terdapat pada sampel P2, P3, P5, dan P6.

Grafik nilai kadar protein ditampilkan pada Gambar 5.2

Gambar 5.1 Grafik Rata-Rata Kandungan Protein Cookies



Keterangan :

- P1 : Kelompok perlakuan dengan bahan dasar tepung terigu 100%.
- P2 : Kelompok perlakuan dengan bahan dasar tepung kacang hijau 100%
- P3 : Kelompok perlakuan dengan bahan dasar tepung pisang 100%.
- P4 : Kelompok perlakuan dengan bahan dasar tepung kacang hijau 25% dan tepung pisang 75%.
- P5 : Kelompok perlakuan dengan bahan dasar tepung kacang hijau 50% dan tepung pisang 50%.
- P6 : Kelompok perlakuan dengan bahan dasar tepung kacang hijau 75% dan tepung pisang 25%.

5.2.2 Kadar Zinc pada Cookie Kacang Hijau Pisang

Hasil analisis kadar zinc pada cookie kacang hijau pisang ditampilkan pada **Tabel 5.3**.

Tabel 5.3 Rata-Rata dan Standar Deviasi Kadar Zinc pada Cookie Kacang Hijau Pisang

Perlakuan	Rata-rata kadar zinc (ppm) ± SD	One Way Anova
P1	14.2730 ± 1.58443	p = 0.296
P2	31.0149 ± 11.56625	
P3	14.2730 ± 1.58443	
P4	20.7787 ± 1.83884	
P5	22.7174 ± 3.27405	
P6	25.2588 ± 13.48145	

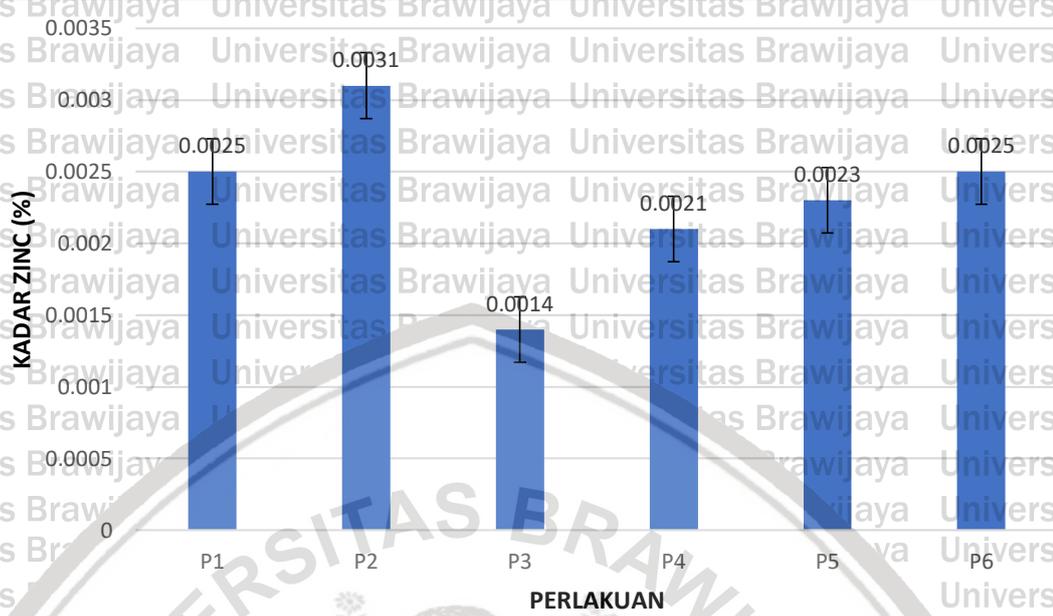
Keterangan :

- P1 : Kelompok perlakuan dengan bahan dasar tepung terigu 100%.
- P2 : Kelompok perlakuan dengan bahan dasar tepung kacang hijau 100%
- P3 : Kelompok perlakuan dengan bahan dasar tepung pisang 100%.
- P4 : Kelompok perlakuan dengan bahan dasar tepung kacang hijau 25% dan tepung pisang 75%.
- P5 : Kelompok perlakuan dengan bahan dasar tepung kacang hijau 50% dan tepung pisang 50%.
- P6 : Kelompok perlakuan dengan bahan dasar tepung kacang hijau 75% dan tepung pisang 25%.

Berdasarkan Tabel 5.5 dapat diketahui bahwa kadar zinc yang paling tinggi terdapat pada sampel dengan perlakuan P2. Sampel perlakuan P2 adalah cookies dengan bahan dasar tepung kacang hijau 100%. Dari data yang ada dapat dilihat bahwa kadar protein semua perlakuan memiliki standar deviasi di bawah mean. Hal tersebut menunjukkan data yang presisi karena variasi antar nilai minimum dan maksimum tergolong rendah (Wahyudi, 2011).

Data hasil analisis mutu gizi yaitu kadar protein diolah dengan menggunakan software SPSS 16 dengan menggunakan uji *One Way Anova* dikarenakan data terdistribusi normal dan homogen yaitu lebih dari 0,05. Hasil uji statistik *One Way Anova* dengan tingkat kepercayaan 95% ($p < 0.05$) $p = 0.296$ yaitu $p > 0.05$ menunjukkan bahwa tidak adanya perbedaan kadar protein dalam sampel cookies yang diuji. Grafik nilai kadar protein ditampilkan pada Gambar 5.2

Gambar 5.2 Grafik Rata-Rata Kandungan Zinc Cookies Kacang Hijau Pisang



Keterangan :

- P1 : Kelompok perlakuan dengan bahan dasar tepung terigu 100%.
- P2 : Kelompok perlakuan dengan bahan dasar tepung kacang hijau 100%.
- P3 : Kelompok perlakuan dengan bahan dasar tepung pisang 100%.
- P4 : Kelompok perlakuan dengan bahan dasar tepung kacang hijau 25% dan tepung pisang 75%.
- P5 : Kelompok perlakuan dengan bahan dasar tepung kacang hijau 50% dan tepung pisang 50%.
- P6 : Kelompok perlakuan dengan bahan dasar tepung kacang hijau 75% dan tepung pisang 25%.

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Pembahasan Hasil Analisis Kadar Protein Cookies

Berdasarkan hasil uji beda menggunakan uji Tukey, ditemukan adanya perbedaan pada data kandungan protein cookies. Perbedaan yang signifikan terdapat pada setiap perlakuan ($p < 0.05$) kecuali P1 dengan P4. Di antara semua cookies yang diujikan, cookies P2 yang berbahan dasar 100% tepung kacang hijau memiliki kadar protein yang paling tinggi. Kandungan protein pada P1 (11.01%) lebih rendah dari P2 (21.77%). Hal ini disebabkan karena cookies P1 terbuat dari tepung terigu protein rendah yang memiliki kadar protein lebih rendah dibandingkan kacang hijau varietas Vima-1. Kandungan protein pada tepung terigu protein rendah adalah 8-9% sedangkan kadar protein pada kacang hijau dengan varietas Vima-1 adalah 28% (Shaumi, 2016; BPATP, 2010). Kadar protein pada cookies P3 lebih rendah dibandingkan dengan P2 disebabkan karena tepung yang digunakan pada adonan P3 100% hanya tepung pisang. Sementara P2 adonannya terbuat hanya dari tepung kacang hijau. Kadar protein pada tepung pisang lebih kecil dibandingkan dengan tepung kacang hijau, 4.40% dengan 18.19% (Nurhayati dan Andayani, 2014) sehingga kadar protein cookies P2 lebih tinggi. Cookies P4, P5, dan P6 memiliki kadar protein yang lebih rendah dibandingkan kadar protein dalam cookies pada perlakuan P2. Hal ini disebabkan karena pada cookies P4, P5, dan P6 digunakan bahan utama berupa campuran tepung kacang hijau dan tepung pisang sedangkan pada cookies P2 yang digunakan hanya tepung kacang kacang hijau sehingga kadar protein dalam cookies tersebut meningkat lebih jauh. Pada cookies P4, P5, dan P6 kadar protein dalam masing-masing cookies semakin meningkat. Kadar protein pada P4 adalah 10.01%, P5 13.38%, dan P6 7.14%. Peningkatan kadar protein

disebabkan penggunaan proporsi tepung kacang hijau yang ditingkatkan untuk setiap perlakuannya. Cookies P4 terbuat dari komposisi campuran tepung kacang hijau dan tepung pisang dengan perbandingan 25 : 75 atau 40 g : 120 g. Cookies P5 terbuat dari komposisi campuran tepung kacang hijau dan tepung pisang dengan perbandingan 50 : 50 atau 80 g : 80 g. Cookies P6 terbuat dari komposisi campuran tepung kacang hijau dan tepung pisang dengan perbandingan 75 : 25 atau 120 g : 40 g.

Suatu makanan dikatakan sebagai makanan tinggi protein apabila memenuhi 35% ALG (Permenkes, 2013). Acuan Label Gizi (ALG) adalah acuan untuk pencantuman keterangan tentang kandungan gizi pada label produk pangan. ALG yang digunakan adalah untuk kelompok usia 1-3 tahun yaitu 26 g yang berarti 35% dari 26g adalah 9.1g (BPOM, 2016). Menurut daftar bahan makanan penakar, 1 porsi biskuit adalah seberat 50g atau sebanyak 5 keping (Persagi, 2009). Cookies pada penelitian ini memiliki berat matang sebesar 11g sehingga dalam satu sajian terdapat 5 cookies. Kadar protein tertinggi pada cookies P2 adalah sebesar 21.77%. Dalam 100g cookies terdapat 21.77g protein. Dalam 1 sajian yang berisi 5 keping cookies seberat 55 g terdapat protein sebesar 12g. Sehingga dapat dikatakan cookies dengan perlakuan P2 adalah makanan tinggi protein.

Kadar protein tertinggi kedua adalah pada cookies P6 adalah sebesar 17.14%. Artinya, dalam 100g cookies terdapat 17.14g protein. Dalam 1 sajian yang berisi 5 keping cookies seberat 55 g terdapat protein sebesar 9.4g. Sehingga dapat dikatakan cookies dengan perlakuan P6 juga merupakan makanan tinggi protein.

Selain itu, Suatu makanan dikatakan sebagai makanan sumber protein apabila memenuhi 17.5% ALG (Permenkes, 2013). ALG yang digunakan adalah untuk kelompok usia 1-3 tahun yaitu 26 g yang berarti 17.5% dari 26g

adalah 4.55g (BPOM, 2016). Kadar protein tertinggi ketiga adalah pada cookies P5 dan P4 sebesar 13.38%. Artinya, dalam 100g cookies terdapat 13.38g protein. Dalam 1 sajian yang berisi 5 keping cookies seberat 55 g terdapat protein sebesar 7.36g. Sehingga dapat dikatakan cookies dengan perlakuan P6 juga merupakan makanan sumber protein.

Dilihat dari standar cookies dalam SNI yaitu protein minimal adalah 5%, juga dapat dikatakan bahwa cookies kacang hijau pisang ini memenuhi standar. Karena pada semua perlakuan nilai kadar protein yang dihasilkan >5%.

Protein terbentuk dari susunan asam amino-asam amino. Pada kacang hijau, proteinnya terdiri dari beberapa macam asam amino. Dalam kacang hijau, asam amino yang memiliki nilai terbesar ialah asam glutamat yakni sebesar 2,66%. Asam glutamat digolongkan pada asam amino non esensial karena tubuh manusia sendiri dapat menghasilkan asam glutamat. Di dalam tubuh manusia, asam glutamate adalah salah satu asam amino yang memegang peranan penting di dalam produksi energi, sintesis urea, sintesis glutation dan sebagai neurotransmiter.

6.2 Pembahasan Hasil Analisis Kadar Zinc Cookies

Berdasarkan hasil uji beda menggunakan uji Post-hoc Tukey, ditemukan bahwa tidak terdapat perbedaan pada data kandungan zinc dalam cookies yang diuji. Kadar zinc yang paling tinggi adalah pada cookies P2 karena hanya terbuat dari bahan tepung kacang hijau. Tidak terdapat perbedaan pada data hasil uji kadar zinc dikarenakan formulasi bahan selain tepung seperti lemak dan telur yang digunakan pada semua perlakuan sama. Akan tetapi kadar zinc memiliki kecenderungan mengalami peningkatan seiring bertambahnya proporsi tepung kacang hijau. Hal tersebut disebabkan karena tepung kacang hijau memiliki kadar zinc yang sedikit lebih tinggi yaitu

0.2 mg/100g (Ratnasari dan Yuniarta, 2015) dan pisang memiliki kadar zinc sebesar 0.18 mg/100g (Adeyemi and Oladiji, 2009). Mineral pada makanan dapat berubah struktur kimianya pada waktu proses pemasakan atau akibat interaksi dengan bahan lain (Ella dkk, 2012) contohnya yaitu fitat, polifenol, tannin, dan serat (Vina dan Binar, 2016).

Suatu makanan dikatakan sebagai makanan sumber zinc apabila memenuhi 15% ALG (Permenkes, 2013). ALG yang digunakan adalah untuk kelompok usia 1-3 tahun yaitu 4 mg yang berarti 15%-nya adalah 0.6 mg (BPOM, 2016). Menurut daftar bahan makanan penunjang, 1 porsi biskuit adalah seberat 50g atau sebanyak 5 keping (Persagi, 2009). Cookies pada penelitian ini memiliki berat matang sebesar 11g sehingga dalam satu sajian terdapat 5 cookies. Kadar zinc tertinggi pada cookies P2 adalah sebesar 31.0149 ppm atau 0.031 mg/g. Dalam 1 sajian yang berisi 5 keping cookies seberat 55 g terdapat zinc sebesar 0.017 mg. Sehingga dapat dikatakan cookies dengan perlakuan P2 bukan merupakan makanan sumber zinc.

6.3 Implikasi Pada Bidang Gizi

Prinsip diet pada anak dengan ASD berbeda dengan diet pada umumnya. Anak ASD harus menghindari makanan yang mengandung gluten, kasein, tinggi gula, dan tinggi fenol karena dapat mengganggu beberapa sistem pada tubuh (James *et al*, 2009; Zahra *et al*, 2013; Rahayu, 2014). ASD disebabkan salah satunya oleh penyimpangan genetik yang membuat ketidaksempurnaan fungsi metallothionein (MT). Disregulasi MT menyebabkan terganggunya keseimbangan kadar zinc dalam tubuh serta terhentinya perkembangan sistem syaraf yang menjadi awal penyebab terjadinya ASD pada anak. (McCandless, 2003). Selain makanan yang sesuai dengan prinsip diet anak dengan ASD anak dengan ASD memerlukan makanan bergizi yang mampu memenuhi kebutuhannya.

Protein dalam kacang hijau tidak memiliki kandungan gluten dan kasein sehingga dalam pencernaan anak ASD, proteinnya akan lebih mudah dicerna.

Cookies ini juga menyumbang sedikit asupan zinc walaupun zinc pada cookies ini belum dapat dikatakan sebagai tinggi zinc maupun sumber zinc.

Apabila dilihat dari beberapa aspek selain protein dan zinc seperti pati resisten dan kekerasan produk, cookies dengan komposisi terbaik adalah yang mendapatkan perlakuan P5. P5 adalah cookies yang dibuat dengan bahan dasar tepung kacang hijau dan tepung pisang dengan perbandingan 50 : 50 atau lebih spesifiknya 80g : 80g. P5 menjadi cookies dengan komposisi terbaik arena cookies P5 memiliki nilai kekerasan yang baik, mengandung zinc sebesar 0.0023%, merupakan makanan olahan tinggi protein dan tinggi pati resisten.

6.2 Keterbatasan Penelitian

Terdapat keterbatasan dalam penelitian ini yaitu pembuatan cookies yang tidak menggunakan cetakan sehingga bentuk cookies tidak seragam dan mempengaruhi hasil analisa. Serta kemungkinan dari rasa yang dihasilkan pada cookies ini masih belum dapat diterima oleh konsumen terutama anak-anak.

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

7.1 Kesimpulan

1. Cookies P2 dengan tepung kacang hijau 100% memiliki kadar protein tertinggi dengan nilai 11.97g protein persajian sebesar 55g cookies dan memenuhi syarat sebagai makanan tinggi protein yaitu dengan nilai yang mampu memenuhi 35% dari ALG.

2. Tidak ditemukan perbedaan terhadap kadar zinc. Dalam 1 sajian yang berisi 5 keping cookies seberat 55 g terdapat zinc sebesar 0.017 mg.

Sehingga dapat dikatakan cookies dengan perlakuan P2 yang memiliki kadar zinc tertinggi, belum dapat dikatakan makanan sumber zinc.

3. P5 adalah cookies yang dibuat dengan bahan dasar tepung kacang hijau dan tepung pisang dengan perbandingan 50 : 50. P5 menjadi cookies dengan komposisi terbaik arena cookies P5 memiliki nilai kekerasan yang baik, mengandung zinc sebesar 0.0023%, merupakan makanan olahan tinggi protein dan tinggi pati resisten.

1.3 Saran Penelitian

1. Untuk peneliti yang ingin melanjutkan penelitian ini, bisa menggunakan bahan lainnya yang kaya akan protein yang dapat dicerna oleh anak dengan ASD selain pisang dan kacang hijau.

2. Pengolahan makanan bisa divariasikan selain dalam bentuk cookies yang aman, menarik, dan rasa yang disukai anak dengan ASD sehingga bisa menambah keragaman makanan selingan bagi anak dengan ASD.

DAFTAR PUSTAKA

Abdillah, Fatimah. 2010. Modifikasi Tepung Pisang Tanduk (*Musa paradisiaca* Formatypica) Melalui proses Fermentasi Spontan dan Pemanasan Otoklaf untuk Meningkatkan Kadar Pati Resisten. Tesis. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor.

Adeyemi, O. S, and Oladiji, A. T. Compositional Changes in Banana (*Musa ssp.*) Fruits During Ripening. *African Journal of Biotechnology*, 2009, 8 (5), pp. 858-859

Badan Pusat Statistik. (2017). Produksi Kacang Hijau Menurut Provinsi (ton), 1993-2015. Diakses pada 1 Mei 2017. <https://www.bps.go.id/linkTableDinamis/view/id/877>

Badan Pusat Statistik. (2017). Rata-Rata Konsumsi per Kapita Seminggu Beberapa Macam bahan Makanan Penting, 2007-2015. Diakses pada 11 Juni 2017. <https://www.bps.go.id/linkTableStatis/view/id/950>

Balai Pengelola Alih Teknologi Pertanian. Kacang Hijau Varietas Vima-1. Diakses pada 30 Mei 2017. <http://bpatp.litbang.pertanian.go.id/ind/index.php/teknologi-pertanian/55-teknologi-inovatif-badan-litbang-pertanian/613-kacang-hijau-varietas-vima-1>

Black, M.M. 1998. *Zinc Deficiency and Child Development*. Am J Clin Nutr. ; 68 (Suppl) : 464S -9S.

BPOM. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 13 Tahun 2016 tentang Pengawasam Klaim pada Label dan Iklan Pangan Olahan. Jakarta

BSN. 1996. *Metode Pengujian Kadar Nitrogen Total Layang dengan Alat Destilasi Kjeldahl secara Titrasi*. SNI 03-4146-1996. Jakarta. hal. 4-9

BSN. 2002. Margarin. SNI 01-3541-2002. Jakarta. hal. 1

BSN. 2009. *Air dan Air Limbah-Bagian 7: Cara Uji Seng (Zn) secara Spektrofotometri Serapan Atom (SSA)-nyala*. SNI 6989.7:2009. Jakarta. hal. 6-8

BSN. 2011. *Biskuit*. SNI 2973-2011. Jakarta. hal. 2-8

Conlon, Michael A dan Bird, Anthony R. The Impact of Diet and Lifestyle on Gut Microbiota and Human Health. *Nutrients* 2015, 7, 17-44; doi:10.3390/nu7010017

Isnaini, Cahyuning dan Marliyati, Sri A. Pemanfaatan Prebiotik Xylooligosakarida (XOS) dalam Pengolahan Cookies Fungsional untuk Kesehatan Saluran Pencernaan Penyandang Autis. *Jurnal Gizi Pangan*, 2015, 10 (2): 141-148.

James, SJ, et al. Efficacy of Methylcobalamin and Folinic Acid Treatment on Glutathione Redox Status in Children with Autism. *Am J Clin Nutr*, 2009, 89: 425-30

Kementerian Kesehatan RI. (2016). Kenali dan Deteksi Dini Individu dengan Spektrum Autisme Melalui Pendekatan Keluarga untuk Tingkatkan Kualitas Hidupnya. Diakses pada 26 Juli 2018. <http://www.depkes.go.id/article/view/16041300001/kenali-dan-deteksi-dini-individu-dengan-spektrum-autisme-melalui-pendekatan-keluarga-untuk-tingkatka.html>

Kurniasih, N. Rosahdi D, Rahman R N. 2013. Efektivitas Sari Kedelai Hitam (Glycine soja seib) sebagai Bahan Pangan Fungsional. *ISSN 1979-9811 Edisi 2013 Vol VII No 1*

Koswara, Sutrisno. Teknologi Pengolahan Roti. *Seri Teknologi Pangan Populer (Teori dan Praktek)*, 2009: 6.

Mashabi NA, dan Tajudin NR. Hubungan Antara Pengetahuan Gizi Ibu dengan Pola Makan Anak Autis. *Makara, Kesehatan*. 2009; 13(2): 84–6.

Mayasari, Rani. 2015. Apriani, RN. 2009. Mempelajari Pengaruh Ukuran Partikel dan Kadar Air Tepung Jagung Serta Kecepatan Ulir Ekstruder Terhadap Karakteristik Snack Ekstrusi. *Skripsi. Program Pasca Sarjana*. Institut Pertanian Bogor.. Bandung: Universitas Pasundan

Menteri Kesehatan Republik Indonesia. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 75 Tahun 2013 tentang Angka Kecukupan Gizi yang Dianjurkan bagi Bangsa Indonesia. Jakarta

McCandless, Jaquelyn. Children with Starving Brain, A Medical Treatment Guide for Autism Syndrome Disorder. 2002. Anak-Anak dengan Otak yang "Lapar", Panduan Penanganan Medis untuk Penyandang Gangguan Spektrum Autisme. Ferdina Siregar. 2003. PT Grasindo, Jakarta, Indonesia

Mulyadi, Kresno. 2011. Autisme is Treatable. PT Elex Media Komputindo. Jakarta

Musthafavi, Zahra. 2014. Analisis Kapasitas Antioksidan dan Kandungan Total Fenol pada Buah. Institut Pertanian Bogor

Nair, Ramakrishnan M et al. Biofortification of Mungbean (*Vigna radiata*) as A Whole Food to Enhance Human Health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2013, 93 (8): 1805-13

Newman, L. 2009. What You Should Know – Facts About Methylation, Sulfation and Oxidative Stress.

Nurani, Suprihartini dan Yuwono, SS. Pemanfaatan Tepung Kimpul (*Xanthosoma sagittifolium*) sebagai Bahan Baku Cookies (Kajian Proporsi Tepung dan Penambahan Margarin). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 2012, 2 (2): 3-5

Palupi, Hapsari T., Zainul, A., Nugroho, M., *Teknologi Pangan*, 2011, 1 (1).

Pratiwi RA, Dieny, FF. Hubungan skor frekuensi diet bebas gluten bebas kasein dengan skor perilaku autisme. *Journal of Nutrition College*. 2014; 3(1): 40-47.

Puspitha, Farras C dan Berawi, Khairun N. Terapi Diet Bebas Gluten dan Bebas Casein pada Autism Spectrum Disorder (ASD). *Majority*, 2016, 5(1)

Rahayu, Sri M. Deteksi dan Intervensi Dini pada Anak Autis. *Jurnal Pendidikan Anak*, 2014, III (1): 2-3.

Ratnasari, Diah dan Yuniarta. Pengaruh Tepung Kacang Hijau, Tepung Labu Kuning, Margarin terhadap Fisikokimia dan Organoleptik Biskuit. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 2015, 3 (4): 2-5.

Santosa, Slamet. Peran Metallothionein pada Autisme. *JKM*, 2003, 2(2)

Setiarto Bimo Haryo. 2015. *Peningkatan Pati Resisten Tepung Talas melalui Fermentasi dan Pemanasan Bertekanan Pendinginan serta Evaluasi Sifat Prebiotiknya*. Thesis. Institut Pertanian Bogor

Setjen Pertanian. (2015). *Statistik Konsumsi Pangan*. Diambil 21 April 2017. <http://epublikasi.setjen.pertanian.go.id/epublikasi/StatistikPertanian/2015/STATISTIK%20KONSUMSI%20PANGAN%202015/files/assets/basic-html/page126.html>

Setyowati, Weny Tri dan Nisa, Choirun Fithri. Formulasi Biskuit Tinggi Serat (Kajian Proporsi Bekatul Jagung: Tepung Terigu dan Penambahan Baking Powder). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 2014, 2(3): p.224-231

Soeharsono. 2010. *Probiotik. Basis Ilmiah, Aplikasi, dan Aspek Praktis*. Bandung. Widya Padjajaran

Strickland, Elizabeth; McCloskey, Suzanne; and Ryberg, Roben. 2009. Eating for Autism The 10 - Step Nutrition Plan to Help Treat Your Child's Autism, Asperger's, or ADHD. De Capo Press

Triyono, Agus. 2010. *Pengaruh Konsentrasi Ragi terhadap Karakteristik Sari Buah dari Beberapa Varietas Pisang (*Musa Paradisiaca L.*)*. Pengembangan

Teknologi Kimia untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia.
Yogyakarta.

Williams, Brent L, Mady Hornig, Timothy Buie, Margaret L. Bauman, Myunghee Cho Paik, Ivan Wick, Ashlee Bennett, *et al.* Impaired Carbohydrate Digestion and Transport and Mucosal Dysbiosis in the Intestines of Children with Autism and Gastrointestinal Disturbances. PLoS ONE, 2011, Volume 6, Issue 9, e24585

