

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr.) adalah salah satu tanaman yang tumbuh melimpah di Indonesia. Katuk termasuk jenis tumbuhan famili *Euphorbiaceae* yang tergolong dalam jenis sayur-sayuran dan dapat diproduksi sepanjang tahun. Daun katuk yang ditemui di masyarakat biasanya dimanfaatkan sebagai obat dan sayuran karena memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dengan kandungan 20 komponen aktif, termasuk vitamin C sebagai komponen utama (Bose et al., 2018). Selain itu, Nurdin et al. (2009) menemukan bahwa daun katuk juga dimanfaatkan sebagai pewarna makanan karena kandungan klorofilnya yang tinggi, yaitu sekitar 1136,6 mg/kg klorofil-a dan klorofil-b sebanyak 37,5 mg/kg.

Secara tradisional, daun katuk banyak dimanfaatkan untuk memperlancar produksi ASI. Hasil penelitian Bunawan et al. (2015) tentang efek samping dan segudang manfaat dari daun katuk menyatakan bahwa daun katuk telah banyak dimanfaatkan dan populer di masyarakat Malaysia, terutama kalangan wanita yang sedang menyusui karena tanaman tersebut dapat meningkatkan produksi ASI. Daun katuk mengandung senyawa fitosterol, seperti stigmasterol dan sitosterol. Stigmasterol dan sitosterol merupakan jenis fitosterol yang mendominasi senyawa sterol pada tanaman. Kedua senyawa ini diyakini mampu memberikan efek laktagogum yang berperan penting dalam menstimulasi hormon prolaktin untuk memproduksi ASI. Total kandungan fitosterol dalam daun katuk kering yaitu sebanyak 2433,4 mg/100 g (Subekti et al., 2006). Fitosterol merupakan salah satu senyawa yang memiliki daya laktagogum. Senyawa dengan efek laktagogum mampu menstimulasi kerja hormon prolaktin pada sel-sel epitelium alveolar kelenjar *mammæ* (Penagos et al., 2014). Selain itu, Hotimah (2023) menyatakan bahwa fitosterol, yang termasuk dalam golongan steroid, dapat menstimulasi reseptor hormon prolaktin (PRLR) pada sel laktotrof kelenjar hipofisis, tepatnya di pituitari anterior. Stimulasi ini mendorong peningkatan pelepasan hormon prolaktin melalui PRLR, yang berperan dalam produksi ASI. Senyawa sterol dalam daun katuk juga dapat meningkatkan produktivitas ASI dengan menstimulasi proses metabolisme glukosa dalam tubuh untuk menghasilkan laktosa sebagai komponen utama ASI (Rahmanisa dan Tara, 2016).

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Nurjanah et al. (2017) menemukan bahwa konsumsi ekstrak daun katuk sebanyak 2-3 kali sehari mampu memberikan pengaruh signifikan terhadap hormon prolaktin ibu menyusui. Menurut Suwanti dan Kuswati (2016) ibu menyusui yang mengkonsumsi ekstrak daun katuk selama 30 hari dengan takaran 2 kali sehari memiliki tingkat produktivitas ASI yang tinggi. Hal ini juga sejalan dengan hasil penelitian Sadjiman et al. (2004) tentang khasiat ekstrak daun *Sauropus androgynus* (L.) Merr. dalam meningkatkan produksi ASI menunjukkan bahwa ibu menyusui yang mengkonsumsi ekstrak daun katuk dengan dosis 3 x 300 mg/hari selama 15 hari berturut-turut terbukti dapat meningkatkan produktivitas ASI hingga 50,7%.

Selain daun katuk, kacang hijau juga memiliki potensi sebagai agen laktagogum untuk meningkatkan produksi ASI. Kandungan protein kacang hijau yang cukup tinggi, yakni sekitar 20-25% bermanfaat dalam peningkatan produktivitas ASI bagi ibu menyusui. Berdasarkan hasil penelitian Prihatiningsih et al. (2015) menyatakan bahwa

tingkat asupan protein berkorelasi positif dengan produksi laktosa dan susu. Namun, terdapat beberapa kekurangan dari daun katuk, dan kacang hijau, terutama dari segi pemanfaatannya sebagai bahan pangan. Daun katuk dan kacang hijau memiliki aroma dan rasa khas alami yang kurang diminati oleh masyarakat. Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk meningkatkan pemanfaatan kedua tanaman ini yaitu dengan pengolahan menjadi tepung sebagai bahan baku, penambah nutrisi, dan sebagai pangan fungsional, seperti *cookies*.

Cookies adalah cemilan yang populer di banyak kalangan usia. *Cookies* menjadi salah satu produk pangan yang praktis dan memiliki masa simpan cukup lama. Selain itu, karakteristik *cookies* yang renyah dan lembut menjadikannya produk pangan yang banyak diminati. Berdasarkan data statistik konsumsi pangan tahun 2020, rata-rata konsumsi *cookies* dalam waktu seminggu dari tahun 2016 yaitu 0,373 ons hingga pada tahun 2020 yaitu 0,438 ons. Hal ini menunjukkan terjadi peningkatan konsumsi *cookies* dengan rata-rata pertumbuhan sebesar 4,25% dari tahun 2016-2020 (Kementerian Pertanian Republik Indonesia, 2020). Tingginya minat masyarakat dalam mengonsumsi *cookies*, dapat menjadi peluang pengembangan produk *cookies*. Salah satunya sebagai produk pangan fungsional, seperti *cookies* laktasi. Namun, proses produksi *cookies* yang membutuhkan waktu yang cukup lama juga menjadi salah satu kekurangannya. Salah satu alternatif solusi yang dapat dilakukan adalah dengan memproduksi tepung *premix*.

Tepung *premix* merupakan campuran beberapa jenis tepung dengan formulasi terbaik sebagai bahan baku suatu produk pangan (Santosa, 2013). Penelitian tentang pengaplikasian tepung *premix* pada berbagai produk pangan telah banyak dilakukan, seperti pada produk *brownies*, stik, bolu kukus, dan *cookies*. Tepung *premix cookies* berbahan tepung daun katuk dan tepung kacang hijau memiliki senyawa dan zat gizi dengan efek laktagogum sehingga dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan *cookies* laktasi.

Cookies laktasi komersial umumnya berbahan dasar tepung terigu, sehingga perlu adanya alternatif lain untuk mengurangi tingkat ketergantungan masyarakat dalam mengonsumsi tepung terigu dan tepung beras. Salah satu bahan baku yang dapat menggantikan tepung terigu dan tepung beras adalah tepung jagung. Penggunaan tepung jagung telah banyak diaplikasikan pada berbagai produk, seperti roti, wafel, biskuit, dan *cookies* (Siska et al., 2022). *Cookies* umumnya memiliki tekstur renyah karena kandungan serat yang tinggi pada bahan baku yang digunakan. Tepung jagung memiliki kadar serat yang cukup tinggi, yaitu 2,4 gram/100 gram tepung jagung (Siska et al., 2022), sehingga dapat memberikan tekstur padat dan renyah pada *cookies*. Penggunaan tepung jagung sebagai pengganti terigu dan beras juga sejalan dengan program pemerintah, yaitu diversifikasi pangan dan meminimalisir ketergantungan masyarakat dalam penggunaan tepung terigu. Penggunaan bahan-bahan dasar non-terigu ini juga akan menghasilkan *cookies free gluten* sehingga aman untuk dikonsumsi oleh ibu menyusui yang alergi gluten. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui formulasi terbaik dari tepung *premix* yang akan digunakan dalam pembuatan *cookies* laktasi sebagai PMT (Pemberian Makanan Tambahan) untuk ibu menyusui.

1.2 Rumusan Masalah

Daun katuk dan kacang hijau merupakan tanaman yang tumbuh melimpah di Indonesia. Kandungan gizi daun katuk dan kacang hijau cukup tinggi dan mampu memberikan manfaat kesehatan, terutama bagi ibu menyusui karena adanya senyawa fitosterol pada daun katuk, serta protein pada kacang hijau. Namun, pemanfaatan kedua bahan ini, terutama daun katuk, masih minim karena aroma dan rasanya yang kurang diminati. Maka dibutuhkan proses pengolahan menjadi suatu produk, seperti pembuatan *cookies* laktasi untuk ibu menyusui.

Produksi *cookies* yang menggunakan banyak bahan tentunya akan membutuhkan waktu yang cukup lama. Seiring dengan perkembangan zaman masyarakat menyadari pentingnya efisiensi produksi karena keterbatasan waktu oleh kehidupan modern yang serba sibuk, khususnya bagi ibu menyusui. Maka dari itu, perlu adanya inovasi seperti pembuatan tepung *premix* sebagai bahan baku *cookies* laktasi. Tepung *premix cookies* laktasi ini dapat menjadi alternatif solusi dan bermanfaat bagi ibu menyusui.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini, yaitu:

1. Untuk memperoleh formulasi tepung *premix* terbaik sebagai bahan baku dalam pembuatan *cookies* laktasi.
2. Untuk menganalisis karakteristik fisiko-kimia *cookies* laktasi yang dihasilkan dari bahan berupa tepung *premix* jagung dengan penambahan daun katuk dan kacang hijau.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil yang didapatkan dari penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi dan pengetahuan kepada penulis dan masyarakat tentang pemanfaatan bahan pangan lokal menjadi tepung *premix* yang terdiri dari tepung jagung, tepung daun katuk, dan tepung kacang hijau untuk bahan baku dalam pembuatan *cookies* laktasi sebagai makanan selingan bagi ibu menyusui.

BAB II. METODE PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April hingga November 2024 yang bertempat di Kec. Marioriwawo, Kab. Soppeng, Laboratorium Pengembangan Produk, Laboratorium Kimia Analisa dan Pengawasan Mutu Pangan, Laboratorium Pengolahan Pangan, Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Laboratorium Kimia Pakan, Fakultas Peternakan, Universitas Hasanuddin, Makassar, serta Laboratorium Pengujian Tanaman Rempah dan Obat, BSIP, Bogor.

2.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari alat-alat pengolahan dan alat-alat pengujian. Alat-alat pengolahan yaitu, oven kue, baskom, sendok, pisau, gunting, loyang, cetakan, penggilas adonan, *mixer*, dan timbangan. Adapun alat-alat pengujian yang digunakan yaitu, alat-alat gelas, oven pengering, timbangan analitik, penjepit cawan, desikator, tanur, pendingin balik, soxhlet ekstraktor, *texture analyzer*, dan *chamber KLT (TLC Chamber)*.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari bahan-bahan pengolahan dan bahan-bahan pengujian. Bahan-bahan untuk pengolahan, yaitu tepung jagung, tepung daun katuk, tepung kacang hijau, margarin, kuning telur, susu bubuk, garam, gula halus, vanili bubuk, dan *baking powder*. Adapun bahan-bahan untuk pengujian, yaitu kertas saring, *aluminium foil*, dan bahan-bahan kimia.

2.3 Rancangan Penelitian

2.3.1 Tahap I

Penelitian tahap I dilakukan untuk menentukan formulasi terbaik *cookies* laktasi yang akan diproduksi melalui uji organoleptik metode hedonik. Formulasi terbaik *cookies* laktasi yang diperoleh selanjutnya akan digunakan dalam menentukan perlakuan terbaik tepung *premix cookies* laktasi. Formulasi *cookies* laktasi pada penelitian ini mengacu pada hasil penelitian Nu'man dan Bahar (2021). Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) satu faktor yang melibatkan perlakuan konsentrasi tepung kacang hijau dan tepung daun katuk dengan 3 perlakuan:

C0 = Kontrol (*Cookies* Komersial)

C1 = 90% Tepung Kacang Hijau + 10% Tepung Daun Katuk

C2 = 70% Tepung Kacang Hijau + 30% Tepung Daun Katuk

C3 = 50% Tepung Kacang Hijau + 50% Tepung Daun Katuk

Cookies komersial yang digunakan pada penelitian ini adalah *cookies* berbahan dasar tepung terigu dengan tambahan gandum dan kacang hijau. Alasan penggunaan *cookies* komersial sebagai sampel kontrol adalah sebagai tolok ukur untuk mengevaluasi dan membandingkan daya terima panelis dan karakteristik fisiko-kimia *cookies* laktasi yang diproduksi pada penelitian ini. Formulasi yang digunakan dalam pembuatan *cookies* laktasi pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Formulasi Bahan pada Pembuatan *Cookies* Laktasi

Bahan	Perlakuan					
	C1		C2		C3	
	gram	%	gram	%	gram	%
Tepung Jagung	40	51,95	40	51,95	40	51,95
Tepung Kacang Hijau	9	11,69	7	9,09	5	6,49
Tepung Daun Katuk	1	1,29	3	3,89	5	6,49
Gula Halus	20	25,97	20	25,97	20	25,97
Susu bubuk	5	6,49	5	6,49	5	6,49
<i>Baking Powder</i>	1	1,29	1	1,29	1	1,29
Garam	0,50	0,64	0,50	0,64	0,50	0,64
Vanili bubuk	0,50	0,64	0,50	0,64	0,50	0,64
Total	77	100	77	100	77	100
Bahan-bahan basah yang ditambahkan saat proses produksi <i>cookies</i> , yaitu:						
Bahan			Jumlah (g)			
Kuning Telur			18			
Margarin			20			

2.3.2 Tahap II

Cookies laktasi dengan tepung *premix* perlakuan terbaik yang telah diperoleh selanjutnya diuji untuk mengetahui karakteristik fisiko-kimianya melalui uji kerenyahan dan uji proksimat, yaitu kadar air, kadar protein, kadar abu, kadar lemak, dan kadar karbohidrat, serta kadar serat kasar, total kalori, kadar sitosterol, dan kadar stigmasterol.

2.4 Prosedur Penelitian

2.4.1 Pembuatan Tepung Daun Katuk (Nu'man et al., 2021) yang Dimodifikasi

Pembuatan tepung daun katuk dilakukan dengan cara daun katuk segar terlebih dahulu disortir. Selanjutnya, daun katuk dicuci menggunakan air yang mengalir hingga bersih. Setelah itu ditiriskan. Selanjutnya, daun katuk dikeringkan pada suhu ruang selama 120 jam. Setelah itu, daun katuk kering dihaluskan menggunakan *grinder* dan diayak menggunakan ayakan 80 mesh untuk memperoleh tekstur tepung yang halus, kemudian tepung disimpan dalam wadah kedap udara.

2.4.2 Pembuatan Tepung Kacang Hijau (Ratnasari et al., 2015)

Pembuatan tepung kacang hijau dilakukan dengan cara kacang hijau dicuci hingga bersih, lalu direndam selama 8 jam dengan perbandingan kacang hijau dan air yaitu 1 : 3. Selanjutnya, ditiriskan selama 1 jam. Setelah itu, kacang hijau dikeringkan menggunakan oven *blower* selama 7 jam menggunakan suhu 60°C. Setelah kering, kacang hijau dihaluskan menggunakan alat penepung *disk mill*, lalu disaring menggunakan ayakan 60 mesh. Tepung yang tidak lolos ayakan,

dihaluskan kembali menggunakan *grinder* dan disaring menggunakan ayakan 60 mesh. Hasil tepung kacang hijau yang telah halus disimpan dalam wadah tertutup.

2.4.3 Pembuatan Tepung *Premix* (Kurniawati dan Agustina, 2024) yang Dimodifikasi

Pembuatan Tepung *premix* dilakukan dengan cara tepung jagung, tepung daun katuk, dan tepung kacang hijau dicampurkan sesuai dengan formulasi yang telah ditentukan, lalu ditambahkan gula halus, garam, vanili bubuk, *baking powder*, dan susu bubuk. Selanjutnya, dihomogenkan hingga merata dan dihaluskan menggunakan ayakan 80 mesh. Setelah itu, tepung *premix* disimpan dalam wadah *standing pouch*.

2.4.4 Pembuatan *Cookies* (Wulandari et al., 2016) yang Dimodifikasi

Pembuatan *cookies* laktasi dilakukan dengan cara mencampurkan kuning telur dan margarin menggunakan *mixer* hingga adonan berwarna pucat dan mengembang. Selanjutnya, tepung *premix* sesuai formulasi ditambahkan, kemudian dicampur menggunakan spatula hingga adonan merata. Setelah itu, adonan dicetak, lalu dipanggang menggunakan oven selama 40 menit pada suhu 150°C.

2.5 Parameter Pengujian

2.5.1 Uji Organoleptik (Setyaningsih et al., 2010)

Uji organoleptik dilakukan dengan metode uji hedonik berdasarkan tingkat kesukaan panelis. Panelis terdiri dari 30 orang ibu menyusui berusia 19-43 tahun. Dalam pengujian ini, disajikan beberapa sampel *cookies* yang terbuat dari beberapa variasi tepung *premix* dan *cookies* komersial sebagai sampel kontrol. Pengujian yang dilakukan menggunakan parameter warna, rasa, aroma, dan tekstur, dengan skala penilaian 1-3. 1 = tidak suka, 2 = agak suka, 3 = suka.

2.5.2 Uji Kerenyahan (Lasaji et al., 2023)

Uji kerenyahan *cookies* dilakukan menggunakan alat *texture analyzer*. Sampel *cookies* diletakkan di atas meja objek. Selanjutnya, alat *texture analyzer* dinyalakan. Setelah itu, bagian *probe* pada *texture analyzer* dikalibrasi dengan nilai *trigger* 5.0 g, *deformation* 2.0 mm, dan *speed* 2.0 mm/s, serta nilai *distance* 9 mm. Selanjutnya, *probe* diturunkan hingga memotong sampel *cookies* dengan menekan tombol pada komputer. Proses pengukuran selesai ketika *probe* telah memotong sampel hingga bagian dasar meja. Selanjutnya, hasil pengukuran akan muncul pada komputer.

2.5.3 Uji Kadar Air (AOAC, 2005)

Uji kadar air dilakukan menggunakan metode oven. Cawan porselen dikeringkan dalam oven menggunakan suhu 105°C selama 1 jam, lalu didinginkan dalam desikator selama 15 menit. Setelah itu, cawan porselen ditimbang untuk memperoleh berat cawan kosong. Selanjutnya, sampel sebanyak 2 gram ditimbang dengan cawan porselen untuk memperoleh berat cawan porselen dan sampel, lalu dikeringkan menggunakan oven pada suhu 105°C selama 5 jam, kemudian didinginkan menggunakan desikator selama 5 menit. Setelah itu, berat akhir sampel ditimbang hingga mencapai berat yang konstan. Kadar air sampel dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kadar Air (\%)} = \frac{M1 - M2}{M1 - M0} \times 100\%$$

Keterangan:

M0 = Berat cawan kosong

M1 = Berat cawan kosong + sampel

M2 = Berat cawan kosong + sampel setelah pengeringan

2.5.4 Uji Kadar Abu (AOAC, 2005)

Uji kadar abu dilakukan dengan cara cawan porselen dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 105°C selama 1 jam. Setelah itu, didinginkan dalam desikator selama 15 menit. Selanjutnya, cawan porselen ditimbang untuk mengetahui berat cawan porselen kosong. Setelah itu, sampel sebanyak 2 gram ditimbang bersama cawan porselen. Selanjutnya, sampel dipanaskan menggunakan tanur selama 5 jam pada suhu 600°C. Kadar abu sampel dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kadar Abu (\%)} = \frac{W2 - W0}{M1 - W0} \times 100\%$$

Keterangan:

W0 = Berat cawan kosong

W1 = Berat cawan + sampel

W2 = Berat cawan + abu

2.5.5 Uji Kadar Lemak (AOAC, 2005)

Uji kadar lemak dilakukan dengan Metode Soxhlet. Sampel diekstraksi menggunakan pelarut organik dengan pemanasan pada suhu titik didih pelarut selama 8 jam untuk mengeluarkan lemak. Selanjutnya, dilakukan proses penguapan (evaporasi) untuk memisahkan pelarut organik yang mengikat lemak dan menghasilkan lemak dalam labu. Kadar lemak sampel dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kadar Lemak (\%)} = \frac{W3 - W4}{W2 - W1} \times 100\%$$

Keterangan:

W1 = Berat kertas saring

W2 = Berat kertas saring + sampel

W3 = Berat kertas saring + sampel setelah pengeringan

W4 = Berat kertas saring + sampel setelah refluksi

2.5.6 Uji Kadar Protein (AOAC, 2005)

Sampel ditimbang 0,5 gram lalu dimasukkan ke dalam labu kjeldahl, lalu ditambahkan 1 butir selenium. Selanjutnya, ditambahkan H₂SO₄ sebanyak 3 mL, kemudian larutan dipanaskan menggunakan suhu 410°C di dalam alat pemanas dan ditambahkan air sebanyak 10 mL. Tahap ini dilakukan hingga larutan jernih. Selanjutnya, larutan jernih didinginkan lalu ditambahkan akuades sebanyak 50 mL dan 20 mL NaOH 40% dan dilanjutkan dengan tahap destilasi. Larutan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 125 mL berisi asam borat (H₃BO₃) 2% sebanyak 25 mL. Setelah itu, dilanjutkan tahap titrasi menggunakan HCl hingga larutan berubah

warna menjadi merah muda. Volume akhir titrasi dicatat, lalu dihitung menggunakan rumus berikut:

$$\text{Nitrogen (\%)} = \frac{(\text{ml HCl sampel} - \text{ml HCl blanko}) \times \text{N HCl} \times 14}{\text{sampel (mg)}} \times 100\%$$

$$\text{Kadar Protein (\%)} = \text{Nitrogen (\%)} \times \text{faktor konversi (6,25)}$$

2.5.7 Uji Kadar Karbohidrat (Wulandari et al., 2023)

Uji kadar karbohidrat dilakukan dengan menggunakan Metode *by Differences*. Analisis kadar karbohidrat *cookies* metode *by difference* dengan cara mengurangkan 100% dengan total kadar air, kadar abu, kadar lemak, dan kadar protein. Rumus yang digunakan sebagai berikut:

$$\text{Kadar Karbohidrat (\%)} = 100\% - (\text{kadar air} + \text{kadar abu} + \text{kadar lemak} + \text{kadar protein (\%)})$$

2.5.8 Uji Kadar Serat Kasar (AOAC, 2005)

Uji kadar serat dilakukan dengan kertas saring dikeringkan menggunakan oven selama 1 jam menggunakan suhu 105 °C. setelah itu, kertas saring didinginkan di dalam desikator selama 15 menit, lalu ditimbang. Selanjutnya, sampel ditimbang sebanyak 2 gram, lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 mL. Setelah itu, sampel ditambahkan H₂SO₄ 0,255 N sebanyak 50 mL, kemudian dipanaskan pada pendingin balik selama 30 menit. Selanjutnya, ditambahkan NaOH 0,313 N sebanyak 50 mL, lalu dipanaskan kembali selama 30 menit. Campuran tersebut disaring menggunakan corong berisi kertas saring. Selanjutnya, endapan pada kertas saring dicuci menggunakan akuades panas hingga filtrat berwarna bening, lalu dilanjutkan dengan pencucian menggunakan alkohol 96% sebanyak 15 mL. Setelah itu, kertas saring berisi residu dikeringkan menggunakan oven pada suhu 105°C selama 1 jam, lalu didinginkan dan ditimbang. Kadar serat sampel dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kadar Serat Kasar (\%)} = \frac{M1 + \text{residu} - M2}{M1} \times 100\%$$

Keterangan:

M1 = Berat sampel

M2 = Berat kertas saring kosong

2.5.9 Uji Total Kalori (Almatsier, 2009)

Total kalori *cookies* diukur menggunakan faktor Atwater. Perhitungan total kalori dapat menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Total Kalori} = (4 \times \text{kadar protein}) + (4 \times \text{kadar karbohidrat}) + (9 \times \text{kadar lemak})$$

2.5.10 Uji Kadar Stigmasterol (BSIP TROA Bogor)

Analisis kadar stigmasterol dilakukan dengan metode KLT (Kromatografi Lapis Tipis). Prosedur KLT yaitu, sampel ditimbang sebanyak 0,25 g, lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL. Setelah itu, ditambahkan alkohol sebanyak 1/3 volume labu ukur, lalu dihomogenkan selama 2 jam. Selanjutnya, disaring dan filtrat yang dihasilkan kemudian ditotolkan pada lempeng TLC sebanyak 5 µl, lalu standar stigmasterol 100 ppm ditotolkan sebanyak sebanyak 5 µl. Setelah itu, dilakukan elusi selama 45 menit menggunakan eluen CHCl₃, etanol, dan etil asetat. Selanjutnya, diukur menggunakan alat TLC *scanner* dengan λ = 285 nm.

2.5.11 Uji Kadar Sitosterol (BSIP TROA Bogor)

Analisis kadar sitosterol dilakukan dengan metode KLT (Kromatografi Lapis Tipis). Prosedur KLT yaitu, sampel ditimbang sebanyak 0,25 g, lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL. Setelah itu, ditambahkan alkohol sebanyak 1/3 volume labu ukur, lalu dihomogenkan selama 2 jam. Selanjutnya, disaring dan filtrat yang dihasilkan kemudian ditotolkan pada lempeng TLC sebanyak 5 µl, lalu standar sitosterol 100 ppm ditotolkan sebanyak sebanyak 5 µl. Setelah itu, dilakukan elusi selama 45 menit menggunakan eluen CHCl_3 , etanol, dan etil asetat. Selanjutnya, diukur menggunakan alat TLC scanner dengan $\lambda = 263 \text{ nm}$.

2.5.12 Analisis Data

Analisis data hasil pengujian dilakukan menggunakan aplikasi SPSS. Data hasil pengujian organoleptik dianalisis menggunakan metode ANOVA (*Analysis of Variance*) dan jika hasilnya berbeda nyata, maka dilanjutkan dengan uji lanjut DMRT (*Duncan Multiple Range Test*). Adapun untuk data hasil uji kerenyahan, uji proksimat, kadar serat, kadar stigmasterol, dan kadar sitosterol menggunakan metode uji pembandingan, yaitu *T-Test*. Jika data terdistribusi normal, maka yang digunakan adalah *Independent T-test*. Sedangkan jika data tidak terdistribusi normal, maka yang digunakan adalah *Mann Whitney Test*.