

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pemenuhan gizi terhadap anak saat ini sangat penting untuk mendukung pertumbuhan anak-anak yang sehat. Secara umum, pemenuhan gizi yang diperlukan pada anak-anak yaitu pada usia dibawah umur 2 tahun, sehingga memerlukan kebutuhan gizi yang cukup dalam pertumbuhannya. Asupan gizi yang tidak tepat atau tidak memadai pada masa ini dapat menyebabkan gangguan tumbuh kembang yang dapat mempengaruhi anak-anak di usia tersebut (Ramlah, 2021). Selain itu, kekurangan gizi yang dihasilkan akan menyebabkan gangguan perkembangan otak dan sistem kekebalan tubuh anak, sehingga dapat meningkatkan risiko penyakit dan penurunan kinerja otak pada anak. Saat ini, Indonesia memiliki masalah dalam kebutuhan gizi pada anak-anak pada usia 0-24 bulan. Berdasarkan data Survey Status Gizi Indonesia (SSGI) pada tahun 2022 yang dilakukan oleh Kementerian Kesehatan Indonesia tercatat bahwa terdapat 21.6% kasus kekurangan gizi pada anak di Indonesia dan persentase tinggi tersebut menyebabkan permasalahan ini sangat perlu untuk diatasi. Penyebab kekurangan gizi pada anak-anak dapat disebabkan karena kurangnya konsumsi protein dalam makanan sehari-hari, sehingga memberikan dampak kesehatan pada anak dan dapat mengakibatkan terjadinya penghambatan pada pertumbuhan (Nugroho *et al.*, 2019). Kekurangan gizi ini biasanya dapat dicegah dengan memberikan anak-anak asupan berupa ASI (Air susu ibu) dan MP-ASI (Makanan pendamping air susu ibu).

Secara umum asupan gizi pada bayi yaitu dengan diberikan ASI yang dapat membantu pertumbuhan dan perkembangan bayi. Namun, pemberian ASI masih belum memungkinkan untuk memenuhi kebutuhan gizinya, sehingga dapat diberikan MP-ASI untuk memberikan kebutuhan energinya. MP-ASI merupakan salah satu makanan padatan tambahan yang penting dalam pertumbuhan dan perkembangan pada bayi ketika sudah mulai menginjak usia 6-24 bulan. Pemberian MP-ASI pada bayi dibawah umur 2 tahun sangat penting karena dapat memberikan dampak pada kesehatan fisik pada masa tumbuh kembangnya (Fatin & Rahmawati, 2023). Pemberian makanan tambahan pada bayi harus bervariasi dari bentuk bubur cair ke bentuk bubur bertekstur kental, sari buah, buah segar, makanan lembek, dan terakhir yaitu pada makanan padat. MP-ASI padat gizi menjadi kebutuhan pokok pada bayi yang harus terpenuhi pada saat ini, sehingga perlu dilakukan modifikasi pada MP-ASI untuk memberikan nilai gizi yang tinggi dan dapat diterima secara baik pada bayi serta memiliki karakteristik fisik yang baik. Salah satu bentuk makanan pendamping ASI yang telah banyak beredar dikalangan masyarakat yaitu bubur instan. Secara umum, bubur instan yang beredar secara komersial di Indonesia yaitu terbuat dari bahan sereal dan umbi-umbian, salah satu contohnya yaitu dari beras. Beras yang biasanya digunakan sebagai bahan utama dalam pembuatan bubur instan yaitu menggunakan beras putih dan beras merah yang telah diolah menjadi tepung. Beras putih dan beras merah memiliki kandungan gizi yang berbeda seperti sumber karbohidrat, energi, protein, dan vitamin B1. Berdasarkan Penelitian Kuszairi (2017) yang menyatakan bahwa beras merah mengandung karbohidrat yang lebih rendah yaitu 75.7 gram, sedangkan beras putih 78.9 gram, tapi energi yang dihasilkan dari beras merah justru lebih besar yaitu 353 kkal, sedangkan beras putih 349 kkal. Selain itu, beras merah mengandung lebih kaya protein sebesar 82 gram, sedangkan beras putih yaitu 6,8 gram. Mengonsumsi beras merah dapat tidak

menaikkan kadar gula darah dengan cepat dalam tubuh, karena mengandung serat yang tinggi sehingga dapat menstabilkan gula darah. Oleh karena itu, untuk membuat bubur instan bayi (MP-ASI) untuk memenuhi kebutuhan gizi bayi dengan menggunakan beras merah sebagai bahan utama.

Beras merah merupakan salah satu jenis beras yang memiliki lapisan dedak, karena tidak melalui proses penggilingan penuh seperti beras putih, sehingga lapisan ini membuat beras merah memiliki kandungan nutrisi yang tinggi jika dibandingkan dengan beras putih. Warna yang dihasilkan dari beras merah yaitu berasal dari pigmen antosianin, sehingga beras merah memiliki antioksidan yang baik bagi Kesehatan (Abdullah, 2017). Fungsi antioksidan terbagi menjadi beberapa macam yang diantaranya yaitu antioksidan primer yang berupa mineral, mangan, seng, tembaga, dan selenium, antioksidan sekunder diperoleh dari pigmen tanaman yaitu betakaroten dan antosianin, antioksidan tersier yaitu terbuat dari tubuh manusia berupa enzim, antioksidan yang mengikat oksigen berupa vitamin dan yang terakhir yaitu antioksidan yang mengikat logam yaitu senyawa asam amino (Kurniasih *et al.*, 2015). Kandungan gizi beras merah dalam 100 gram menurut Data Komposisi Pangan, (2018) yaitu mengandung 14.6 gram air, 352 kkal energi, 7.3 gram protein, 0.9 gram lemak, 76.2 gram karbohidrat, 0.8 gram serat, 15 mg kalsium, 257 mg fosfor, 4.2 mg besi, 10 mg natrium, 0.36 mg tembaga, 202.0 mg kalium, dan 1.9 mg seng. Beras merah memiliki aleuron yang mengandung antosianin dan memiliki sumber protein yang baik, mineral seperti selenium yang dapat meningkatkan daya tahan tubuh, sumber vitamin B yang dapat menyehatkan sel-sel saraf dan system pencernaan, serta memiliki kandungan serat yang tinggi yang dapat membantu Kesehatan pencernaan (Suliatini *et al.*, 2018). Saat ini, di pasaran telah banyak beredar varian beras merah yang biasanya disebut dengan beras merah germinasi. Germinasi atau perkecambahan merupakan salah satu proses munculnya tunas pada biji padi pada saat dilakukan perendaman pada biji padi hingga tumbuh tunas kecil dengan menggunakan suhu tertentu. Perkecambahan akan mengakibatkan terjadinya perubahan struktur pada karbohidrat menjadi gula sederhana yang mudah dicerna dan diserap oleh tubuh manusia, selain itu perombakan struktur karbohidrat menjadi gula sederhana akan menghasilkan rasa manis pada nasi beras merah (Yuliyana, 2021). Pada saat proses perkecambahan jumlah serat, magnesium, seng, kalium, vitamin B dan vitamin E akan mengalami peningkatan, sehingga dapat memberikan dampak baik bagi Kesehatan bayi. Penggunaan beras merah berkecambah dalam pembuatan MP-ASI dapat memberikan berbagai macam manfaat bagi Kesehatan pada bayi seperti mengandung mineral yang tinggi dan mengandung zat yang dapat membantu perkembangan otak, membantu pertumbuhan rambut, gigi, tulang, dan otot pada bayi. Beras merah juga mengandung kadar serat yang tinggi yang dapat membantu Kesehatan pencernaan pada bayi dan kandungan zat besi untuk memenuhi kandungan zat besi dalam pertumbuhan bayi. Konsumsi beras merah maka bayi akan memiliki pola tidur yang baik karena memiliki kandungan zat serotonin dan kandungan gula yang terdapat pada beras merah lebih stabil jika dibandingkan dengan beras putih, sehingga bayi akan tidak mudah lapar (Husain & Engelen. 2020). Selain kebutuhan serat dan mineral pada bayi, kandungan gizi yang penting untuk membantu pertumbuhan bayi adalah protein yang dapat diperoleh dari ikan gabus.

Ikan gabus merupakan salah satu jenis ikan air tawar yang digemari oleh masyarakat karena mempunyai tekstur daging yang tebal dan berwarna putih. Ikan gabus termasuk ikan yang dijadikan sebagai sumber protein karena mengandung protein albumin, asam amino esensial, asam lemak esensial, dan mineral berupa seng (Zn) yang dapat bermanfaat bagi kesehatan (Kawan *et al.*, 2022). Menurut penelitian Susilowati *et al.*, (2015) yang menyatakan bahwa ikan gabus memiliki asam amino esensial berupa leusin, lisin, dan fenilalanin, serta memiliki asam amino non esensial seperti alanin, glisina, prolin, dan asam aspartat yang lebih tinggi dibandingkan dengan ikan lainnya. Asam amino esensial yang dihasilkan dari ikan gabus dapat berfungsi untuk memperbaiki jaringan yang rusak, melindungi hati dari zat toksik, menurunkan tekanan darah, mengurangi kadar ammonia dalam darah, dan membantu mempercepat proses penyembuhan luka pada tubuh manusia. Berdasarkan Data Komposisi Pangan (2018) bahwa kandungan gizi ikan gabus dalam 100 gram yaitu mengandung 79.6 gram air, 80 kkal energi, 16.2 gram protein, 0.5 gram lemak, 2.6 gram karbohidrat, 170 mg kalsium, 139 mg fosfor, 0.1 mg zat besi, 65 mg natrium, 254.0 mg kalium, dan 0.4 mg seng. Dari beberapa penelitian, bahwa ikan gabus dapat digunakan sebagai komponen tambahan dalam bahan pangan karena memiliki kandungan protein yang tinggi. Menurut penelitian Sari *et al.*, (2017) yang menyatakan bahwa ikan gabus dapat digunakan sebagai sumber protein untuk bubur bayi instan. Bubur bayi instan beredar saat ini berasal dari sereal dan umbi-umbian serta dilengkapi dengan kandungan protein yang berasal dari nabati dan hewani. Protein hewani memiliki protein yang lengkap karena memiliki kandungan asam-asam amino esensial yang lengkap dan protein hewani memiliki daya cerna yang tinggi sehingga dapat dicerna dengan mudah dalam tubuh (Anam *et al.*, 2021). Menurut penelitian Suardi *et al.*, (2020) bahwa ikan gabus mengandung protein yang lebih tinggi dibandingkan dengan ikan lainnya, yaitu sekitar 25,5% dan sebagian besar yaitu protein albumin yakni sekitar 6,22%. Berdasarkan penelitian Sari *et al.*, (2014) yang menyatakan bahwa ikan gabus memiliki kandungan protein yang lebih tinggi dari pada telur, daging ayam, daging sapi dengan kadar protein secara berturut-turut sebesar 12,8%; 18,2%; dan 18,8%. Sehingga ikan gabus dapat dimanfaatkan sebagai bahan tambahan dalam pembuatan bubur instan bayi atau MP-ASI untuk meningkatkan nilai protein dengan mengolahnya menjadi tepung ikan gabus. Pengolahan ikan gabus menjadi tepung akan mempertahankan nilai gizi yang terkandung, karena proses pengolahan dengan perebusan dan penggorengan akan menghasilkan penurunan nilai gizi yang disebabkan terjadinya denaturasi (Kahar *et al.*, 2022). Pembuatan bubur instan bayi dengan menggunakan bahan baku berupa tepung beras merah berkecambah dengan tambahan tepung ikan gabus memiliki nilai protein yang cukup baik untuk membantu pertumbuhan bayi. Namun, untuk memperoleh nilai protein yang tinggi diperlukan proses fortifikasi pada bubur bayi instan dengan cara menambahkan protein albumin ikan gabus. Berdasarkan penelitian Prastari *et al.*, (2017) bahwa ikan gabus mengandung protein 90.43%. Oleh karena itu, penggunaan protein albumin yang dikombinasikan dengan tepung beras merah berkecambah dan tepung ikan gabus pada produk bubur instan bayi (MP-ASI) diharapkan dapat meningkatkan nilai gizi pada produk pangan yang dihasilkan. Berdasarkan uraian tersebut, maka dilakukan inovasi pembuatan bubur bayi instan (MP-ASI) berbahan dasar tepung beras merah berkecambah dan tepung ikan gabus, serta protein albumin ikan gabus yang diharapkan untuk meningkatkan nilai gizi untuk

membantu proses pertumbuhan bayi, meningkatkan kualitas bubur bayi instan lokal, dan meningkatkan nilai ekonomis pada ikan gabus.

1.2 Rumusan Masalah

Anak-anak usia dini memerlukan kebutuhan gizi dalam mendukung pertumbuhan dan perkembangan yang optimal, terutama pada usia 0–24 bulan. Usia ini, anak-anak membutuhkan asupan gizi yang cukup dan seimbang untuk mendukung perkembangan fisik, otak, dan sistem kekebalan tubuhnya. Namun, Indonesia masih menghadapi tantangan besar terkait kekurangan gizi pada anak-anak. Masalah kekurangan gizi pada anak-anak sering kali disebabkan oleh rendahnya asupan protein, vitamin, dan mineral dalam pola makan sehari-hari. Hal ini dapat menyebabkan gangguan pertumbuhan, dan menurunnya daya tahan tubuh, serta menghambat perkembangan otak. Oleh karena itu, untuk memenuhi kebutuhan gizi anak, dengan melakukan pemberian makanan pendamping air susu ibu (MP-ASI), menjadi sangat penting. Namun, produk MP-ASI yang tersedia di pasaran saat ini sering kali menggunakan bahan baku utama yang kurang optimal dalam memberikan asupan gizi yang cukup. Kebanyakan MP-ASI instan yang beredar berbahan dasar sereal seperti beras putih, yang meskipun kaya karbohidrat, cenderung kurang dalam kandungan protein, vitamin, mineral, dan senyawa bioaktif lainnya. Oleh karena itu, inovasi formulasi MP-ASI dengan bahan lokal yang kaya gizi seperti beras merah berkecambah dan ikan gabus menjadi sangat relevan untuk membantu kebutuhan gizi anak-anak.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu sebagai berikut:

1. Untuk mengembangkan formulasi MP-ASI berbahan dasar tepung beras merah berkecambah dengan penambahan tepung ikan gabus dan protein albumin ikan gabus.
2. Untuk mengetahui sifat fisiko-kimia dari produk MP-ASI yang dihasilkan

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini yaitu menyediakan alternatif bubur bayi instan atau MP-ASI yang dapat memenuhi kebutuhan nutrisi bayi untuk pertumbuhan dan perkembangannya dan meningkatkan pengetahuan serta pemahaman masyarakat tentang pentingnya pemenuhan gizi pada bayi melalui bahan pangan lokal.

BAB II. METODE PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari 2025 hingga Juni 2025, bertempat di Saraswanti Indo Genetech, Laboratorium Pengolahan Pangan dan Laboratorium Kimia dan Analisa Pangan, Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Hasanuddin, Makassar.

2.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu aluminium foil, ayakan 80 mesh, burret, blender, cawan petri, cawan porselen, corong *buchner*, desikator, destilator, erlenmeyer, *freeze drying*, gelas kimia, gelas ukur, *hotplate*, kalkulator, kertas saring, kondensor, labu ukur, labu kjeldhal, labu lemak, membrane filter GHP, mikropipet, oven, panci, penggaris, pipet tetes, pipet volume, plastik cetik, pisau, penampi beras, sarung tangan plastik, silica gel, sentrifus, soxhlet, stopwatch, tanur, timbangan analitik, tip mikropipet, talenan, tube, UPLC, vortex wadah organoleptik, dan wadah baskom.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu albumin ikan gabus, air, akuades, akuabides, asam borat (H_3BO_3), asam klorida (HCl) 0,02 N, asam sulfat (H_2SO_4), alumunium foil, daun kelor, gabah beras merah, beras merah, ikan gabus, karung, kertas saring whattman no. 41, kalium sulfat (K_2SO_4), klorofom, natrium hidroksida (NaOH), natrium tiosulfat ($Na_2S_2O_3$), standar AABA, Accq, seledri, tag reagent 2A, tisu, tepung beras merah berkecambah, tepung ikan gabus dan wortel.

2.3 Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan serta 3 kali ulangan. Adapun perlakuan yang digunakan pada penelitian ini yaitu :

A0 = Tepung Beras Merah Berkecambah 100% + Teoung ikan gabus 0%

A1 = Tepung Beras Merah Berkecambah 95% + Tepung ikan gabus 5%

A2 = Tepung Beras Merah Berkecambah 90% + Tepung ikan gabus 10%

A3 = Tepung Beras Merah Berkecambah 85% + Tepung ikan gabus 15%

Tabel 01. Formulasi Bahan

Bahan	A0	A1	A2	A3
Tepung Beras Merah Berkecambah (g)	100	95	90	85
Tepung ikan gabus (g)	0	5	10	15
Protein Albumin Ikan Gabus (mg)	0	250	250	250
Bahan Tambahan Daun Kelor dan Wortel kering (Sendok Makan)	0	2	2	2

Kemudian penelitian ini dilakukan pengujian organoleptik terhadap 25 panelis semi terlatih berupa mahasiswa untuk mengatehui penilaian pada mutu hedonik sampel dengan parameter yang diuji yaitu kenampakan, aroma, tekstur, dan rasa dengan menggunakan skala skor 1-5. Setelah didapatkan hasil dengan formulasi terbaik,

kemudian dilakukan pengujian organoleptik kembali dengan menilai mutu hedonik pada sampel yang dilakukan oleh panelis tidak terlatih yang terdiri dari 18 orang ibu yang memiliki bayi usia 9-12 bulan. Pemilihan panelis tidak terlatih pada ibu bayi ini dijadikan sebagai asumsi bahwa pada usia 9-12 bulan, merupakan penentu menu makanan yang dominan pada bayi. Setelah itu, parameter yang diukur pada ibu bayi yaitu tingkat kesukaan pada kenampakan, aroma, tekstur, dan rasa pada sampel bubur instan yang dihasilkan. Formulasi yang diperoleh kemudian dianalisis sifat fisiknya dengan pengujian daya serap air, serta dilakukan analisis sifat kimianya dengan analisis proksimat, kadar serat kasar, dan GABA (*Gamma-aminobutyric acid*).

2.4 Prosedur Penelitian

2.4.1 Perkecambahan Gabah Beras Merah

Perkecambahan gabah beras merah diawali dengan cara gabah beras merah sebanyak 5 kg direndam di dalam air dengan perbandingan gabah:air yaitu 1:2 selama 24 jam. Kemudian gabah ditiriskan lalu dilakukan proses germinasi dengan memasukkan gabah ke dalam karung goni, lalu diperam selama 24 jam hingga gabah memiliki kecambah dengan panjang 0,1-0,2 cm. Selanjutnya, gabah yang telah berkecambah kemudian dikeringkan dibawah sinar matahari hingga kadar air pada sampel mencapai 14%. Setelah itu, gabah digiling hingga menghasilkan sekam dan beras bebas kulit

2.4.2 Pembuatan Tepung Beras Merah Berkecambah (Sari *et al.*, 2022)

Pembuatan tepung beras merah berkecambah diawali dengan pencucian dan pembersihan beras dari kotoran. Setelah itu, beras merah dikering anginkan lalu dihaluskan menggunakan blender. Selanjutnya, beras merah berkecambah yang telah dihaluskan kemudian diayak 80 mesh hingga diperoleh tepung beras merah berkecambah

2.4.3 Pembuatan Tepung Ikan Gabus (Kahar *et al.*, 2022)

Pembuatan tepung ikan gabus diawali dari pencucian dan pembersihan ikan gabus dari kepala, ekor, isi perut, sisik, dan sirip. Selanjutnya ikan dipotong menjadi beberapa bagian, lalu dilakukan pengukusan selama 30 menit dengan suhu 85-90°C, lalu setelah pengukusan dilakukan pemisahan daging ikan dari tulang dan kulit. Kemudian daging ikan dipotong-potong kecil lalu di oven menggunakan suhu 50°C selama 4 jam. Selanjutnya daging yang sudah kering di haluskan menggunakan blender dan diayak dengan ukuran 60 *mesh* hingga diperoleh tepung ikan gabus.

2.4.4 Pengeringan Wortel, Seledri, dan Daun Kelor Menggunakan Freeze Drying (Prasetya dan Yastanto, 2023) yang Dimodifikasi

Sampel dicuci hingga bersih, kemudian wortel di potong kecil-kecil berbentuk dadu, sedangkan daun kelor dan seledri dipetik dari tangkainya. Selanjutnya, sampel dibekukan kurang lebih 24 jam di dalam *freezer*. Setelah itu, sampel dimasukkan ke dalam alat *freeze drying* dan diatur suhunya yaitu -40°C. Setelah suhu tercapai, kemudian vakum dinyalakan diangka 0.099 mbar dan ditunggu selama 36 jam hingga diperoleh sampel yang kering

2.4.5 Pembuatan Bubur Instan MP-ASI (Modifikasi Rafiony *et al.*, 2023)

Pembuatan bubur bayi instan diawali dengan menyiapkan beberapa bahan yang terdiri dari tepung beras merah berkecambah, tepung ikan gabus, bubuk albumin ikan gabus, wortel kering, daun kelor kering, dan seledri kering. Bubur bayi instan dibuat

dengan cara dengan menimbang bahan sesuai dengan perlakuan, kemudian semua bahan dicampur dan dimasak hingga menggumpal dan terbentuk adonan. Setelah itu, adonan diratakan pada loyang dan dikeringkan menggunakan oven selama 3 jam menggunakan suhu $\pm 100^{\circ}\text{C}$ lalu dihaluskan menggunakan blender dan diperoleh bubur bayi instan.

2.5 Parameter Pengujian

2.5.1 Uji Kadar Air Metode Oven (Tuapattinaya *et al.*, 2021)

Pengujian kadar air diawali dengan pengeringan cawan kosong selama 1 jam di oven dengan menggunakan suhu 105°C , kemudian didinginkan di desikator selama 10 menit dan ditimbang berat cawan kosong. Selanjutnya, sampel ditimbang sebanyak 2 gram, lalu dikeringkan menggunakan oven selama 5 jam pada suhu 105°C . Setelah itu, sampel didinginkan di desikator selama 10 menit dan ditimbang berat cawan pada sampel. Selanjutnya, sampel tersebut diulang menggunakan lama waktu 1-2 jam hingga diperoleh berat sampel konstan dengan selisih 0,005. Kemudian kadar air yang diperoleh dihitung menggunakan rumus :

$$\% \text{ Bobot Kering (BK)} = \frac{C-A}{B} \times 100$$

Keterangan :

A : Berat cawan porselen

B : Berat cawan porselen + sampel

C : Berat cawan porselen + sampel setelah dioven

2.5.2 Uji Kadar Abu Metode Tanur (Rahmada *et al.*, 2024)

Pengujian kadar abu diawali dengan cawan porselen untuk pengabuan dikeringkan di dalam tanur dengan menggunakan suhu 600°C selama 1 jam, lalu didinginkan di dalam desikator selama 15 menit. Selanjutnya, cawan ditimbang untuk memperoleh cawan kosong, lalu sampel ditimbang sebanyak 2 gram ke dalam cawan porselen. Setelah itu, cawan dan sampel dimasukkan ke dalam tanur menggunakan suhu 600°C selama 5 jam. Selanjutnya, cawan dan sampel didinginkan kembali di desikator selama 15 menit lalu ditimbang. Setelah itu, kadar abu yang diperoleh dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Kadar abu (\%)} = \frac{\text{Berat Abu}}{\text{Berat Sampel}} \times 100\%$$

2.5.3 Uji Kadar Protein Metode Kjeldahl (Bakhtra *et al.*, 2017)

Pengujian kadar protein bubur instan dilakukan dengan metode Kjeldahl. Pengujian dilakukan melalui beberapa tahapan yang diantaranya destruksi, destilasi, dan titrasi. Proses pengujian kadar protein bubur instan bayi diawali dengan penimbangan sampel sebanyak 0,2 gram, lalu dimasukkan ke dalam labu kjedahl 30 mL. Kemudian ditambahkan 0,9 gram K_2SO_4 , 40 mg HgO , dan 2,5 mL H_2SO_4 pekat. Setelah itu, sampel didestruksi dengan cara sampel di didihkan selama 1,5 jam sampai warna yang dihasilkan menjadi jernih. Kemudian larutan dimasukkan ke dalam alat destilasi dan dibilas dengan akuades lalu ditambahkan larutan $\text{NaOH-Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ sebanyak 10 mL. Selanjutnya gas NH_3 yang dihasilkan dari proses destilasi ditangkap oleh larutan H_3BO_3 sebanyak 5 mL didalam *Erlenmeyer* yang telah ditambahkan 3 tetes indikator. Setelah itu, kondensat yang diperoleh dititrasi dengan larutan HCl 0,02 N. Kadar protein yang diperoleh pada sampel dapat dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Kadar N (\%)} = \frac{mL \times N \times HCl \times fp}{mg \text{ sampel}} \times 100\%$$

$$\text{Kadar protein (\%)} = \%N \times FK$$

2.5.4 Uji Kadar Lemak Metode Soxhlet (AOAC, 2005)

Pengujian diawali dengan penimbangan sampel sebanyak 5 gram lalu dimasukkan ke dalam selonsong kertas yang telah dialasi kapas dan dimasukkan ke dalam alat ekstraksi soxhlet. Selanjutnya, alat kondensor dan labu disambungkan pada ujung alat ekstraksi. Kemudian pelarut heksana dimasukkan ke dalam alat dan sampel direfluks kurang lebih 5 jam. Setelah itu, pelarut didestilasi dan labu lemak yang berisi lemak dikeringkan menggunakan oven pengering dengan suhu 105°C. Selanjutnya, sampel didinginkan dan ditimbang kadar lemaknya menggunakan rumus :

$$\text{Kadar Lemak (\%)} = \frac{a-b}{c} \times 100\%$$

Keterangan :

A = Berat labu dan sampel akhir

B = Berat labu kosong

C = Berat sampel awal

2.5.5 Uji Kadar Karbohidrat by Difference (BeMiller, 2017)

Pengujian kadar karbohidrat ditentukan dengan menggunakan *by difference* dengan rumus sebagai berikut :

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

2.5.6 Analisis Kandungan GABA (Rohman dan Gadjar, 2007)

Pengujian penentuan kadar GABA pada sampel bubur bayi instan berbahan dasar tepung beras merah berkecambah dan tepung ikan gabus dilakukan dengan cara membuat larutan standar dalam *tube* 2 mL. Kemudian sampel ditimbang sebanyak 2 g lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL. Setelah itu, sampel dilarutkan menggunakan akuabides hingga tanda batas dan dihomogenkan. Selanjutnya, sampel disaring menggunakan membran filter GHP 0,2µm, lalu sampel dipipet sebanyak 500µL ke dalam *tube* 2 mL. Kemudian ditambahkan internal standar AABA 2,5 mM dan akuabides, lalu larutan dihomogenkan menggunakan vortex. Setelah itu, sampel yang telah ditambahkan larutan internal standar AABA dan larutan standar dipepet sebanyak 10 µL ke dalam inster vial lalu ditambahkan *Accq.Tag Flour Borrata Buffer* dan dihomogenkan. Selanjutnya, ditambahkan *Accq.Tag Flour Borrata Buffer* reagen 2A lalu dihomogenkan menggunakan vortex. Setelah itu, larutan dipanaskan menggunakan suhu 60°C lalu didinginkan hingga mencapai suhu ruang. Kemudian larutan diinjeksi ke sistem UPLC hingga diperoleh data hasil analisis kandungan GABA. Selanjutnya, kadar GABA dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Rasio standar atau sampel} = \frac{Aspl}{AIS}$$

$$\text{Kadar GABA} = \frac{\frac{\text{Rasio sampel}}{\text{Rasio Standar}} \times \frac{C \text{ std}}{1000000} \times BM \times Vp \times fp}{Wspl \text{ atau } Vspl}$$

Keterangan :

- A_{spl} = Luas area analit GABA
 AIS = Luas area internal standar AABA
 BM = Bobot molekul asam amino
 C_{std} = Konsentrasi larutan standar asam amino (pmol/ μ L)
 W_{spl} = Bobot penimbangan porsi uji (gram)
 V_{spl} = Volume pemipetan porsi uji (mL)
 V_p = Volume akhir larutan uji (μ L)
 F_p = Faktor pengenceran

2.5.7 Uji Kadar Serat (Ramdhani et al., 2019)

Pengujian kadar serat bubur MP-ASI instan diawali dengan penimbangan sampel sebanyak 1 gram, setelah itu, sampel dimasukkan ke dalam gelas kimia 250 mL lalu ditambahkan 50 mL H_2SO_4 0,3 N, lalu dipanaskan pada suhu 70°C selama 1 jam. Kemudian ditambahkan larutan NaOH 1,5 N sebanyak 25 mL lalu dipanaskan kembali selama 30 menit pada suhu 70°C. Selanjutnya, larutan disaring menggunakan corong buchner. Selama proses penyaringan, endapan dicuci berturut-turut dengan akuades panas, 50 mL H_2SO_4 0,3 N, dan 25 mL aseton. Kemudian endapan yang dihasilkan dimasukkan ke dalam cawan petri lalu dikeringkan menggunakan oven selama 1 jam dengan menggunakan suhu 105°C. Selanjutnya, sampel ditimbang hingga diperoleh berat konstan lalu dihitung kadar serat pada sampel menggunakan rumus :

$$\text{Kadar Serat (\%)} = \frac{B-A}{X} \times 100\%$$

Keterangan :

- B = Bobot kertas saring + sampel setelah di oven
 A = Bobot kertas saring
 C = Bobot sampel

2.5.8 Pengujian Daya Serap Air

Pengujian daya serap air diawali bubur instan ditimbang sebanyak 3 gram. Selanjutnya, ditambahkan dengan air sebanyak 30 mL lalu ditunggu selama 5 menit. Selanjutnya larutan sampel disentrifus selama 30 menit dengan kecepatan 3500 rpm. Setelah itu, dihitung nilai daya serap air menggunakan rumus :

$$DSA \text{ (mL/g)} = \frac{\text{Vol. air awal} - \text{Vol. supernatan}}{\text{bobot sampel}}$$

2.5.9 Pengujian Waktu Rehidrasi

Pengujian diawali dengan menimbang sampel sebanyak 20 gram. Selanjutnya, bubur instan ditambahkan air panas sebanyak 20 mL secara bertahap. Kemudian sampel di aduk merata hingga menjadi bubur kental. Waktu yang dibutuhkan pada saat sampel diberi air panas hingga menjadi kental dihitung sebagai waktu rehidrasi

2.5.10 Pengujian Organoleptik (Novita et al., 2017)

Pengujian organoleptik dimulai dengan menyiapkan sampel dari setiap perlakuan di atas wadah organoleptik yang telah diberi kode. Selanjutnya, panelis mencicipi sampel dan menilai sifat sensori sampel mencakup aroma, rasa, tekstur dan kenampakan. Setelah itu, penilaian dituliskan pada kuisioner yang telah diberikan skala:

- 1 = Sangat tidak suka
- 2 = Tidak suka
- 3 = Agak suka
- 4 = Suka
- 5 = Sangat suka

2.5.11 Analisis Tingkat Kecukupan Gizi (Perdana dan Hardinsyah, 2013)

Perhitungan data kecukupan gizi didasarkan pada Angka Kecukupan Gizi (AKG) sesuai dengan jenis kelamin dan usia pada bayi. Kandungan gizi yang dihitung yaitu protein, lemak, karbohidrat, dan serat. Berdasarkan data konsumsi zat gizi, dapat diperoleh data tingkat kecukupan gizi yang dikonsumsi dengan kebutuhan gizi pada bayi. Rumus perhitungan tingkat kecukupan gizi yaitu :

$$\text{TKG}(\%) = \frac{\text{Asumsi zat gizi}}{\text{kebutuhan zat gizi}} \times 100\%$$

2.6 Analisis Data

Hasil pengujian organoleptik akan diolah menggunakan metode *Analysis of Variance* (ANOVA) pada aplikasi SPSS dan jika terdapat perbedaan yang signifikan, maka akan dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Test* (DMRT), sedangkan data pengujian fisik dan kimia yang diperoleh akan dianalisis dengan metode *Independent Samples T-Test*.