



KARAKTERISTIK KIMIA, MIKROB DAN DAYA TERIMA KUKIS SAGU YANG DIPERKAYA SPIRULINA DAN RUMPUT LAUT

Rizfi Fariz Pari^{*}, Iriani Setyaningsih, Wahyu Ramadhan, Kustiariyah Tarmen, Safrina Dyah Hardiningtyas, Tati Nurhayati, Desniar, Uju, Khusnul Aini

Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB University, Jalan Agatis, Kabupaten Bogor, Jawa Barat, Indonesia 16680

Dikirim: 15 Desember 2022/Disetujui: 22 Juli 2024

*Korespondensi: rizfi-fp@apps.ipb.ac.id

Cara sitasi (APA Style 7th): Pari, R. F., Setyaningsih, I., Ramadhan, W., Tarmen, K., Hardiningtyas, S. D., Nurhayati, T., Desniar, Uju, & Aini, K. (2024). Karakteristik kimia, mikrob dan daya terima kukis sagu yang diperkaya spirulina dan rumput laut. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 27(9), 782-797. <http://dx.doi.org/10.17844/jphpi.v27i9.44664>

Abstrak

Kukis merupakan makanan ringan bergluten yang digemari banyak kalangan, dengan kandungan serat dan protein yang rendah. Peningkatan kualitas kukis dengan mengganti terigu menjadi tepung sagu, penambahan spirulina dan rumput laut merah *Eucheuma cottonii* dapat mengurangi kadar gluten, meningkatkan kandungan protein dan serat, serta meningkatkan daya tarik. Tujuan penelitian ini menentukan pengaruh penambahan *E. cottonii* terhadap mutu kukis sagu spirulina berdasarkan karakteristik kimia, mikrob dan daya terima. Kukis dibuat dengan mencampurkan bahan menggunakan metode *creaming* (margarin dan gula), *whisking* (penambahan kuning telur) dan *all in* (penambahan tepung sagu, spirulina dan rumput laut). Kukis diuji proksimat, *total plate count* (TPC), aktivitas air (a_w), senyawa bioaktif, angka kecukupan gizi (AKG) dan uji hedonik. Hasil analisis kimia kukis menunjukkan kandungan air dan serat kasar meningkat sebesar 4,32% dan 0,56%. Hasil TPC dalam batas aman berdasarkan SNI ($<10^5$). Kukis tergolong makanan kering dengan a_w 0,5 dan mengandung senyawa aktif flavonoid, steroid dan saponin. Hasil perhitungan AKG, konsumsi sebanyak 15 g kukis menghasilkan energi total 76 kcal. Hasil penilaian hedonik menunjukkan kukis dengan penambahan *E. cottonii* dan spirulina dapat diterima. Secara keseluruhan, penambahan rumput laut dan spirulina pada kukis meningkatkan gizi dan dapat diterima oleh panelis.

Kata kunci: bioaktif, *E. cottonii*, hedonik, kukis, spirulina

Sago Cookies Enriched with Spirulina and Seaweed: Chemical, Microbial Characteristics, and Acceptability

Abstract

Cookies are popular gluten-free snacks with low fiber and protein contents. Improving the quality of cookies by replacing wheat flour with sago flour and adding spirulina and red seaweed *Eucheuma cottonii* reduced gluten levels, increased protein and fiber content, and enhanced appeal. The aim of this study was to determine the effect of adding *E. cottonii* on the quality of spirulina cookies based on chemical, microbiological, and acceptability characteristics. Cookies were prepared by mixing ingredients using *creaming* (margarine and sugar), *whisking* (adding egg yolks), and *all-in* (adding sago flour, spirulina, and seaweed). Cookies were tested for proximate analysis, total plate count, water activity, bioactive compounds, nutritional adequacy score (NAS), and hedonic test analysis were conducted. The chemical compositions of the cookies increased by 4.32% and 0.56% in moisture and crude fiber contents, respectively. The microorganism content was within safe limits according to the Indonesian National Standard ($<10^5$). The cookies were classified as dry food with a water activity of 0.5 and contained active compounds such as flavonoids, steroids, and saponins. Based on the NAS calculations, consuming 15 g of cookies provided a total energy of 76 kcal. The hedonic value results indicate that the addition of *E. cottonii* and spirulina was

acceptable. Overall, the addition of seaweed and spirulina to cookies improved their nutritional value and acceptability.

Keywords: bioactive, cookies, *E. cotonii*, hedonic, spirulina

PENDAHULUAN

Perkembangan industri kukis di Indonesia cenderung meningkat dengan persentase volume distribusi 85% (1,087 juta kg) di antara industri makanan ringan. Demografi konsumen penggemar kukis didominasi oleh milenial dan gen Z. Angka kecukupan gizi (AKG) pada *butter cookies* yang populer beredar di pasaran menunjukkan kandungan gula 7 g yang dapat memenuhi 10% kebutuhan harian. Anjuran konsumsi gula per orang dalam satu hari adalah 50 g (Permenkes RI, 2013). Kukis yang sudah beredar kaya akan kandungan pemanis buatan dan lemak yang berasosiasi positif dapat meningkatkan resiko penyakit diabetes tipe 2 (Duan *et al.*, 2022). Oleh karena itu, diperlukan strategi seperti fortifikasi untuk meningkatkan nutrisi karbohidrat, protein dan serat pada kukis yang sudah beredar (Lasaji *et al.*, 2023). Fortifikasi kukis telah dilaporkan diantaranya kukis dengan cangkang kerang, fortifikasi ikan baung dan patin, kukis ikan gabus (Agustini *et al.*, 2011; Dewita *et al.*, 2012; Dewita *et al.*, 2015; Salampessy *et al.*, 2024)

Kukis termasuk dalam jenis biskuit yang terbuat dari adonan lunak, renyah, dan memiliki tekstur yang kurang rapat. Kukis maupun biskuit dibuat dengan cara memanggang adonan yang terbuat dari tepung terigu dengan atau tanpa substitusinya, minyak/lemak, dengan atau tanpa penambahan bahan pangan lain dan bahan tambahan pangan yang diizinkan (BSN, 2022). Tepung terigu mengandung gluten, yang berfungsi untuk pembentukan matriks protein yang menghasilkan rongga untuk menahan lelehan lemak, gula, dan air pada proses pembakaran, sehingga menghasilkan bentuk, rasa dan tekstur pada kukis (Pareyt *et al.*, 2008). Akan tetapi, penggunaan tepung terigu mulai dihindari karena dapat meningkatkan resiko penyakit kardiovaskular, diabetes tipe 2, obesitas dan kandungan gluten yang memicu alergi (Gaesser, 2019). Oleh karena itu, pengembangan produk kukis dengan bahan pangan rendah gluten

dilakukan dengan cara mensubstitusi tepung terigu dengan tepung lain yang bergizi dan mudah diperoleh.

Tepung yang dapat digunakan untuk mengganti tepung terigu adalah tepung sagu. Tepung sagu memiliki kadar air $13,13\pm0,04\%$, pati $87,12\pm0,22\%$, protein $0,17\pm0,00\%$, lemak $0,29\pm0,00\%$, abu $0,08\pm0,00\%$, dan amilase $26,11\pm0,21\%$ (Du *et al.*, 2018). Tepung sagu merupakan tepung yang bebas gluten dan berdampak positif bagi kesehatan (Setiawan *et al.*, 2022). Penggunaan tepung sagu dalam kukis sudah beredar dipasaran, yang dikenal dengan kukis sagu. Kelemahan tepung sagu adalah kandungan protein yang rendah, sehingga perlu dilakukan fortifikasi dengan bahan lainnya, yaitu spirulina dan rumput laut.

Spirulina merupakan sianobakter yang memiliki kandungan protein tinggi. Hasil penelitian Setyaningsih *et al.* (2011) menunjukkan biomassa kering spirulina mengandung protein 52,72%, karbohidrat 17,19%, lemak 8,47%, dan kadar abu 6,24% dengan profil asam amino yang lengkap. Donato *et al.* (2019) melaporkan bahwa spirulina memiliki komposisi biokimia yang beragam, serta asam amino esensial, vitamin (terutama B12), garam mineral, pigmen (karotenoid, fikosianin dan klorofil), dan asam lemak tak jenuh ganda. Warna hijau pada spirulina dapat menambah daya tarik produk (Trilaksani *et al.*, 2015; Nakib *et al.*, 2019). Spirulina juga memiliki fungsi fisiologis dan bioaktif antara lain antioksidan (Firdiyani *et al.*, 2015; Safithri *et al.*, 2022), antidiabetik (Setyaningsih *et al.*, 2015; Windari *et al.*, 2019), antimalarial (Wulandari *et al.*, 2016), antiplasmodial (Wulandari *et al.*, 2017), antikanker (Sirait *et al.*, 2019; Czerwonka *et al.*, 2018), inhibitor tyrosinase (Pannindriya *et al.*, 2021) dan inhibitor TMPRSS2 pencegah Infeksi SARS-COV-2 (Kalontong *et al.*, 2022).

Rumput laut merupakan hasil perairan dengan kandungan serat yang tinggi. *Euchema cotonii* merupakan salah satu rumput laut dengan kandungan serat mencapai 9,62%



(Anggraini *et al.*, 2020). Hasil penelitian Safia *et al.* (2020) menunjukkan *E. cottonii* mengandung air 76,15%, abu 5,62%, protein 2,32%, lemak 0,11%, dan karbohidrat 15,8% dengan senyawa bioaktif yang terdiri dari flavonoid, fenol, hidrokuinon triterpenoid. *E. cottonii* mengandung fenolik 141,00 mg GAE/g, dan flavonoid 35,1771 mg QE/g. Penelitian tentang kandungan *E. cottonii* yaitu senyawa bioaktif, profil fenolik, aktivitas antioksidan, dan antibakteri (Maharany *et al.*, 2017; Dolorosa *et al.*, 2017; Yanuarti *et al.*, 2017; Nurjanah *et al.*, 2018). Fortifikasi 10% tepung *E. cottonii* pada kukis meningkatkan sifat fisikokimia, sehingga meningkatkan daya terima kukis (Yusup *et al.* 2022). Penggunaan *E. cottonii* pada kukis menghasilkan mutu yang lebih baik dibandingkan *Porphyra* sp. dan *Gracilaria* sp. dari segi kadar serat, tingkat kerenyahan, warna, dan rasa (Sandrasari & Chusna, 2020).

Berdasarkan potensi tepung sagu, spirulina dan rumput laut *E. cottonii* tersebut dilakukan penelitian kukis dengan mengkaji karakteristik fisiko-kimiawi dan mutu. Produk kukis yang layak harus memenuhi Standar Nasional Indonesia (SNI) (BSN, 2022) dengan kandungan kimia, total mikrob, kadar air dan keadaan fisik menjadi syarat mutu kukis. Tujuan penelitian ini menentukan pengaruh penambahan *E. cottonii* terhadap mutu kukis sagu spirulina berdasarkan karakteristik

kimia, mikrob dan daya terima. Kukis dengan bahan tepung sagu yang diperkaya dengan spirulina dan rumput laut diharapkan dapat berkontribusi pada penyediaan makanan ringan bergizi, berserat, dan bebas gluten.

BAHAN DAN METODE

Pembuatan Kukis

Bahan dipisahkan menjadi dua bagian, yaitu bahan untuk membuat krim dan bahan yang dicampur setelah pembuatan krim. Bahan untuk membuat krim yaitu margarin, gula dan kuning telur, sedangkan untuk bahan campuran pada krim, yaitu tepung sagu, garam, vanili, rumput laut, dan tepung spirulina. Formula pembuatan kukis (*Table 1*) dengan penambahan 3% spirulina yang diperkaya 13% rumput laut (CSIS) dan kukis sagu spirulina yang tidak diperkaya rumput laut (CS). Rumput laut *E. cottonii* kering direndam air (1:10 b/v) selama 12 jam, ditiriskan, dipotong ukurannya menjadi sekitar 2 cm dan dihaluskan menggunakan blender.

Prosedur pembuatan kukis dilakukan dengan tiga tahap, *creaming*, *whisking* dan *all in*. Tahap pertama adalah *creaming*. Mentega dan gula halus dicampurkan dengan kecepatan tinggi hingga mengembang dan berwarna putih. Tahap kedua, *whisking*, penambahan kuning telur hingga membentuk krim yang mengembang dengan kecepatan

Table 1 Formula of the cookies sago Spirulina
Tabel 1 Formula pembuatan kukis

Ingredient (g)	Formula	
	with addition of spirulina	Cookies sago without addition of spirulina
<i>Eucheuma cottonii</i>	50	-
Spirulina powder*	13	9
Sago flour	150	150
Margarine	90	90
Egg yolk	14	14
Salt	0.6	0.6
Sugar	80	80
Vanilla essense	0.6	0.6

*represented 3% from total all material

mixer. Tahapan terakhir, *all in*, yaitu krim yang dihasilkan kemudian dicampurkan dengan tepung sagu lalu ditambahkan garam dan esens vanila serta tepung *S. platensis* dan rumput laut sesuai dengan perlakuan hingga adonan terbentuk dan tercampur secara merata seluruhnya. Adonan dicetak, lalu dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 150°C selama 20 menit. Kukis yang telah matang dikeluarkan dari oven, kemudian didiinginkan. Kukis yang dihasilkan disimpan dalam wadah kedap udara untuk selanjutnya dianalisis karakteristik fisik, kimiawi dan mikrobiologis kukis sagu spirulina.

Prosedur Analisis

Prosedur analisis yang dilakukan pada kukis yang dihasilkan meliputi uji kadar air, kadar abu, kadar protein, kadar lemak, kadar karbohidrat (*by difference*), uji *total plate count*, uji aktivitas air (a_w), uji kandungan komponen aktif, perhitungan angka kecukupan gizi, dan uji hedonik.

Uji proksimat

Uji proksimat meliputi kadar air, abu, protein, lemak dan karbohidrat. Uji kadar air, abu, protein, lemak, dan protein mengikuti petunjuk dari Association of Official Analytical Chemists [AOAC] (2005). Penetapan kadar karbohidrat dilakukan dengan menggunakan metode selisih (Saprudin *et al.*, 2019). Kadar karbohidrat dihitung secara manual dengan memperoleh data dari analisis kadar proksimat yang lain (*by difference*).

Uji kadar serat kasar

Uji kadar serat kasar mengikuti petunjuk dari BSN (1992). Uji serat kasar menggunakan metode gravimetri dengan perlakuan asam dan alkali mendidih. Sampel dalam bentuk halus dimasukkan 2-4 g ke dalam erlenmeyer 500 mL setelah dibebaskan dari lemak. Sampel ditambahkan asam sulfat 1,25% 50 mL dan asam sulfat kemudian direfluks 30 menit lalu disaring. Hasil larutan dicampur akuades untuk menetralkan pH lalu ditambahkan NaOH 3,25% 50 mL lalu direfluks 30 menit. Sampel lalu disaring dengan kertas saring whatman dan residunya dicuci dengan 25 mL akuades lalu dicuci

dengan etanol 96%, air panas dan H₂SO₄ 1,25%. Hasil akhir dikeringkan pada suhu 105°C kemudian ditimbang. Kadar serat kasar sampel dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kadar serat} < 1\% = \frac{W}{W_2} \times 100\%$$

$$\text{Kadar serat} > 1\% = \frac{W-W_1}{W_2} \times 100\%$$

Keterangan:

W = Bobot cuplikan (g)

W₁ = Bobot abu (g)

W₂ = Bobot endapan pada kertas saring (g)

Penghitungan *total plate count* (TPC)

Penghitungan *total plate count* (TPC) mengikuti petunjuk dari BSN (2008). Analisis yang digunakan dalam perhitungan total mikrob adalah analisis TPC dengan metode agar tuang. Sampel sebanyak 10 g dihaluskan, lalu dicampurkan dalam 90 mL larutan garam fisiologis hingga diperoleh pengenceran 10⁻¹. Pengenceran sampel dilakukan hingga 10⁻⁵. Sampel sebanyak 1 mL sampel dari masing-masing pengenceran dimasukkan ke dalam cawan petri steril secara duplo, lalu ditambahkan 15-20 mL media *plate count agar* steril dengan suhu 45-55°C. Cawan petri tersebut digoyang-goyangkan agar sampel menyebar secara merata. Cawan petri disimpan pada suhu kamar hingga membeku, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam dalam keadaan cawan petri terbalik. Selanjutnya jumlah koloni dihitung.

Uji aktivitas air (a_w)

Uji aktivitas air (a_w) diukur dengan alat a_w meter (Labuza *et al.*, 1985). Nilai a_w diukur dengan menempatkan sampel dalam wadah yang terdapat pada alat a_w meter. Sampel sebanyak 2 g diletakkan pada cawan pengukur. Alat a_w dioperasikan sampai selesai, nilai a_w akan terbaca pada alat pengukur.

Ekstraksi komponen aktif

Ekstraksi komponen aktif mengikuti metode Harborne (1987). Biomassa kering *S. platensis* diekstraksi menggunakan pelarut etanol dengan perbandingan sampel dan



pelarut 1:10 (b/v). Sampel dimaserasi selama 24 jam kemudian disaring. Filtratnya diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40–48°C selama 30 menit. Ekstraknya digunakan untuk analisis komponen aktif, termasuk alkaloid, fenol hidrokuinon, steroid, flavonoid dan saponin.

Uji kandungan alkaloid

Ekstrak (± 10 mg) diteteskan dengan H_2SO_4 2N dan dikocok hingga terbentuk lapisan atas dan bawah. Solusinya dibagi menjadi 3 bagian. Tabung pertama ditambahkan 1 tetes pereaksi Mayer, adanya alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya endapan. Tabung kedua ditambahkan 1 tetes pereaksi Dragendorff dan terbentuknya endapan menunjukkan adanya alkaloid. Tabung ketiga ditambahkan 1 tetes pereaksi Wagner dan terbentuknya endapan berwarna cokelat menunjukkan adanya alkaloid.

Uji fenol hidrokuinon

Ekstrak (± 1 g) diekstraksi dengan 20 mL etanol 70%. Larutan tersebut diambil 1 mL kemudian ditambahkan 2 tetes larutan $FeCl_3$ 5%. Warna hijau atau biru hijau menunjukkan adanya senyawa fenolik.

Uji steroid

Ekstrak (± 10 mg) ditambahkan 2 mL kloroform, 10 tetes asetat anhidrida, dan 3 tetes asam sulfat pekat. Terbentuknya warna biru atau hijau menunjukkan adanya steroid.

Uji saponin

Ekstrak (± 10 mg) ditambahkan ke dalam air panas, dikocok dan didiamkan selama 30 menit. Sekitar 1 tetes HCl 2N ditambahkan ke dalam larutan. Terbentuknya saponin ditunjukkan dengan adanya busa yang stabil setelah inkubasi 30 menit dan penambahan HCl 2N.

Analisis total fenol

Kandungan total fenol ditentukan dengan metode reagen Folin-Ciocalteu yang dimodifikasi dari Hossain *et al.* (2013). Ekstrak (1 mg) dilarutkan dalam metanol (1 mL). Reagen Folin-Ciocalteu 10% dibuat

dengan menambahkan 10 mL Folin Ciocalteu ke dalam 90 mL air. Pembuatan Na_2CO_3 5% dilakukan dengan melarutkan 3 g Na_2CO_3 dalam 50 mL air. Larutan ekstrak dalam metanol (200 μ L) ditambahkan 1,5 mL reagen Folin-Ciocalteu 10%, dan diinkubasi dalam tempat gelap selama 5 menit. Tahap terakhir ditambahkan 1,5 mL Na_2CO_3 5%, dan inkubasi dalam gelap dilanjutkan selama 2 jam. Absorbansi diukur untuk semua larutan menggunakan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 750 nm. Total fenol dihitung menggunakan kurva standar asam galat dengan mengubah nilai serapan menjadi total fenol. Perhitungan kandungan total fenol dapat dihitung dengan rumus:

$$\frac{C \cdot V \cdot F_p}{g}$$

Keterangan:

- C = konsentrasi fenol (nilai x)
- V = volume total (mL)
- Fp = faktor pengenceran
- g = berat ekstrak (g)
- W2 = Bobot endapan pada kertas saring (g)

Analisis angka kecukupan gizi (AKG)

Angka kecukupan gizi (AKG) adalah kecukupan rata-rata zat gizi semua orang menurut golongan umur, jenis kelamin, berat badan, dan aktivitas untuk mencapai derajat kesehatan yang optimal. AKG bertujuan untuk melihat tingkat konsumsi meliputi kecukupan energi, protein, lemak, karbohidrat, serat, air, vitamin dan mineral. Perhitungan nilai energi makanan diperoleh menggunakan faktor atwater menurut komposisi karbohidrat, lemak, protein dan nilai energi faali makanan tersebut. Faktor atwater merupakan angka konversi karbohidrat, lemak, dan protein tiap gramnya dalam menghasilkan energi (Almatsier 2006). Faktor atwater untuk karbohidrat yaitu 4 kkal/g, lemak 9 kkal/g, protein 4 kkal/g dan alkohol 7 kkal/g.

Nilai energi (kkal) = faktor atwater (kkal/g) \times gram gizi bahan pangan (g)

Uji sensori

Mutu sensori sampel dinilai secara subyektif oleh panelis dengan menggunakan uji kesukaan atau afektif (hedonik), modifikasi dari Ramadhan *et al.* (2024). Uji dilakukan dengan mengevaluasi sensori yang terdiri dari menilai kukis yang telah diformulasikan dengan rumput laut dan tanpa rumput laut sebagai pembanding. Evaluasi dilakukan dengan menganalisis kualitas sensori secara keseluruhan, yaitu rasa, aroma, tektrur, ketampakan dan warna kukis. Uji sensori ini dilakukan terhadap 18 orang naive panelis atau panelis konsumen. Uji hedonik dinyatakan dengan 5 tingkatan skala numerik, yaitu 1) sangat tidak suka, 2) tidak suka, 3) netral, 4) suka, dan 5) sangat suka.

Analisis Data

Penelitian ini menggunakan metode uji statistik *independent samples T-test* (uji T sampel bebas). Uji *independent samples T-test* digunakan untuk mengetahui signifikansi perbedaan nilai rata-rata dari dua kelompok yang tidak berhubungan. Perlakuan yang digunakan berupa perbedaan formulasi kukis sagu spirulina, yaitu kukis sagu spirulina tanpa penambahan rumput laut (A) dan kukis sagu spirulina dengan penambahan rumput laut (B). Percobaan dilakukan sebanyak dua ulangan. Data yang diperoleh diuji normalitas dan homogenitas terlebih dahulu. Data yang menyebar normal dan bersifat homogen maka dilanjutkan analisis *independent samples T-test*

menggunakan selang kepercayaan 95% untuk mengetahui perbedaan nyata.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kandungan Kimia Kukis Sagu Spirulina

Kukis merupakan kue kering yang diperoleh dari hasil pemanggangan yang dibuat dari bahan dasar tepung yang merupakan makanan praktis dan dapat dimakan kapan saja. Salah satu bahan tambahan alami yang dapat meningkatkan nilai gizi kukis yaitu *S. platensis*. Kukis sagu spirulina dengan tambahan rumput laut, dilakukan uji proksimat untuk mengetahui kandungan gizi kukis sagu spirulina (*Table 2*).

Kadar air

Air merupakan komponen yang berada di dalam pangan yang dapat memengaruhi karakteristik pangan. Kandungan air di dalam bahan makanan tidak memiliki jumlah yang sama sehingga memengaruhi reaksi biokimia yang menentukan karakteristik lain dalam bahan makanan (Sugiyono, 2004). Analisis penetapan kadar air kukis sagu spirulina dilakukan menggunakan metode oven. Hasil analisis kadar air pada kukis sagu spirulina menunjukkan penambahan *E. cottonii* menghasilkan perbedaan yang signifikan ($p<0,05$). Kukis sagu tanpa spirulina dengan penambahan *E. cottonii* mengandung kadar air sebesar 2,2% (Purba, 2021). Penambahan *E. cottonii* dan spirulina meningkatkan kadar

Table 2 Nutrient content of cookies sago spirulina (%)

Tabel 2 Kandungan gizi kukis sagu spirulina (%)

Parameter	Formula			SNI (BSN, 2022)
	CSIS (%)	CS (%)	Purba (2021)	
Moisture	4.32±0.113 ^a	2.77±0.007 ^b	2.2±0.001 ^c	Max. 5
Ash	2.13±0.007 ^a	1.28±0.028 ^c	1.83±0.0002 ^b	-
Acid insoluble ash	-	-	-	Max. 0.1
Protein	4.08±0.007 ^b	4.56±0.113 ^a	1.07±0.008 ^c	Min. 4.5
Fat	26.41±0.297 ^a	25.26±0.580 ^b	24.93±0.09 ^b	-
Carbohydrate	63.06±0.396 ^c	66.13±0.672 ^b	69.97±0.04 ^a	-
Fiber	0.56±0.141 ^b	0.18±0.042 ^c	2.17±0.001 ^a	-

Average value in one column with different letter shows significance with $p<0.05$.

CSIS=cookies sago spirulina with the addition of seaweed; CS=cookies sago spirulina without the addition of seaweed.



air pada kukis sagu spirulina sebesar dua kali lipat dibandingkan tanpa penambahan *E. cottonii*. Berdasarkan kelayakan mutunya, kadar air kukis sagu dengan penambahan spirulina dan *E. cottonii* telah memenuhi syarat mutu kukis yang ditetapkan dalam SNI (BSN, 2022).

Hasil penelitian tentang kukis dengan penambahan *E. cottonii* memiliki kadar air yang bervariasi, dengan kadar air cenderung lebih tinggi dari kukis tanpa *E. cottonii*. Hal ini terjadi karena rumput laut mengandung senyawa hidrokoloid yang bersifat hidrofilik, sehingga meningkatkan kadar air pada kukis. Peningkatan kadar air juga terjadi pada kukis yang ditambahkan rumput laut kering *Gracillaria* sp. dan *Euchema cottonii*, yaitu 3,47% dan 4,81% (Surya & Sipahutar, 2022; Salman *et al.*, 2018). Peningkatan yang lebih tinggi pada kadar air juga terjadi pada kukis yang tepungnya disubstitusi dengan tepung rumput laut dengan kadar air 7,8% (Supriadi, 2004).

Kadar abu

Abu merupakan sisa pembakaran dari bahan pangan yang dilakukan di dalam tanur dengan suhu tinggi. Abu memiliki komponen yang terdiri dari zat anorganik atau mineral (Pomeranz, 1994). Analisis penetapan kadar abu kukis sagu spirulina dilakukan menggunakan metode pengukuran abu total. Hasil analisis kadar abu menunjukkan, penambahan *E. cottonii* pada kukis sagu Spirulina berbeda signifikan ($p<0,05$) terhadap kandungan kukis sagu spirulina tanpa *E. cottonii*. Kadar abu kukis sagu spirulina tanpa penambahan *E. cottonii* memiliki kadar abu yang telah memenuhi syarat mutu kukis yang ditetapkan dalam SNI (BSN, 2022) yaitu 1,28%, namun kukis sagu spirulina yang ditambah dengan *E. cottonii* memiliki kadar abu yang melampaui standar mutu kukis (2,13%).

Penambahan *E. cottonii* meningkatkan kadar abu yang terkandung dalam kukis. Perbedaan signifikan pada kadar abu, yaitu kukis sagu spirulina tanpa *E. cottonii* lebih rendah dibandingkan penelitian pada kukis rumput laut pada penelitian Purba (2021). Rumput laut mengandung mineral yang berperan dalam peningkatan kadar abu

pada kukis, seperti pada hasil penelitian sebelumnya, yaitu peningkatan kadar abu sebesar 2,6% pada kukis yang disubstitusi tepung rumput laut (Supriadi, 2004), dan 3,80% pada kukis yang dibuat dengan penambahan *E. cottonii* kering (Salman *et al.*, 2018). Peningkatan kadar abu pada produk makanan sejalan dengan peningkatan kadar rumput laut yang ditambahkan (Mamat *et al.*, 2018)

Kadar protein

Protein merupakan penyusun yang penting yang mengandung ikatan C, H, O, N serta kandungan zat yang bervariasi. Protein terutama dibentuk oleh kumpulan asam amino sehingga membentuk protein yang utuh (Sugiyono, 2004). Analisis penetapan kadar protein kukis sagu spirulina dilakukan dengan menggunakan metode Kjedahl. Hasil analisis kadar protein menunjukkan berbeda sangat nyata ($p<0,05$) terhadap kandungan kukis sagu spirulina antar formula kukis. Kukis spirulina memiliki kadar protein yang lebih tinggi dibandingkan kadar protein pada kukis rumput laut pada penelitian Purba (2021). Spirulina berperan penting dalam peningkatan kadar protein pada kukis. Penambahan spirulina meningkatkan kadar protein menjadi 4,56%, sehingga memenuhi syarat mutu kukis yang ditetapkan pada SNI (BSN, 2022).

Spirulina menjadi bagian dari sumber protein pada produk kukis ini. Kandungan protein *E. cottonii* mencapai 4% (Safia *et al.*, 2020), dan spirulina mencapai 62% (Setyaningsih *et al.*, 2022). Kandungan protein pada rumput laut cenderung rendah, sehingga tidak meningkatkan komposisi protein pada kukis. Kandungan protein pada tepung sagu sangat rendah yaitu 0,2% (Du *et al.*, 2018), sehingga dalam penelitian ini, spirulina dengan kandungan protein tinggi yang memberikan efek positif terhadap kandungan protein pada kukis sagu spirulina. Kukis sagu tanpa spirulina mengandung protein 2,2% (Mayasari *et al.*, 2023), lebih rendah dibandingkan kandungan protein pada kukis sagu spirulina. Kandungan protein kukis berbahan dasar tepung terigu yang ditambahkan 9% tepung rumput (9,3%)

lebih rendah dari kukis tanpa rumput laut (13,4%) (Supriadi, 2004). Kadar protein yang rendah disebabkan oleh jumlah bahan sebagai sumber protein yang masih rendah. Hal ini bisa ditingkatkan dengan meningkatkan dan substitusi jumlah bahan sebagai sumber protein. Penambahan 5-15% spirulina pada kukis berbahan tepung terigu meningkatkan kandungan protein dari 11% menjadi 13-15% (Donato *et al.*, 2019).

Kadar lemak

Lemak merupakan substansi pada bahan pangan yang tidak larut dalam air tetapi larut dalam pelarut organik. Lemak merupakan unsur yang penting karena memiliki energi yang tinggi dan kandungan vitamin yang larut dalam lemak. Penyusun lemak umumnya terdiri dari asam lemak rantai panjang dengan gliserol yang berbentuk padat pada suhu kamar (Sugiyono, 2004). Analisis penetapan kadar lemak kukis sagu spirulina dilakukan dengan menggunakan metode ekstraksi langsung dengan alat soxhlet. Hasil analisis kadar lemak menunjukkan berbeda sangat nyata ($p<0,05$) terhadap kandungan gizi kukis sagu spirulina. Kombinasi rumput laut dan spirulina pada kukis meningkatkan kadar lemak menjadi 26,41%. Kadar lemak kukis pada penelitian ini telah memenuhi SNI (BSN, 2022).

Rumput laut dan spirulina mengandung sedikit lemak, namun kombinasi keduanya berpengaruh terhadap rendemen kukis. Peningkatan kadar lemak juga terjadi pada kukis yang disubstitusi dengan tepung rumput laut (20,4%) (Supriadi, 2004), dan kukis yang diperkaya dengan spirulina (26,54%) (Sahin, 2020). Hal ini sejalan dengan hasil penelitian ini, dimana penambahan rumput laut dan spirulina meningkatkan kadar lemak kukis sagu.

Kadar karbohidrat

Karbohidrat merupakan senyawa organik yang banyak terdapat bahan pangan. Karbohidrat disimpan dan dibentuk menjadi senyawa dan teroksidasi sehingga mampu menghasilkan energi. Karbohidrat dapat diklasifikasikan sebagai dua golongan yaitu gula sederhana dan gula majemuk (Sugiyono,

2004). Analisis penetapan karbohidrat kukis sagu spirulina dilakukan dengan menggunakan metode *by difference*. Hasil analisis karbohidrat menunjukkan berbeda nyata ($p<0,05$) terhadap kandungan gizi kukis sagu spirulina. Hasil karbohidrat tertinggi diperoleh dengan formula tanpa penambahan rumput laut sebesar 66,13% sedangkan karbohidrat terendah diperoleh dengan formula pemberian rumput laut (63,06%). Kadar karbohidrat dari kedua formula masih dibawah dari standar yang ditetapkan dalam SNI (BSN, 2022).

Produkkukis, mengandung karbohidrat terbesar dari tepung. Sumber karbohidrat utama dalam kukis adalah tepung sagu, dengan nilai lebih rendah dibandingkan tepung terigu (Du *et al.*, 2018). Purba (2021) menyatakan bahwa kukis sagu tanpa spirulina dengan penambahan *E. cottonii* memiliki kandungan karbohidrat yang tinggi. Kombinasi spirulina dengan rumput laut menurunkan persentase kandungan karbohidrat dalam produk kukis. Penurunan kadar karbohidrat ini dikarenakan peningkatan kadar protein yang menggeser komposisi karbohidrat dalam kukis sagu. Kukis yang disubstitusi tepung rumput laut, terjadi peningkatan kadar karbohidrat sebesar 5%, sehingga kadar karbohidrat akhirnya adalah 59,8% (Supriadi, 2004).

Kadar serat kasar

Serat kasar merupakan fraksi dari karbohidrat yang tidak larut dalam basa dan asam encer. Komponen serat kasar meliputi campuran hemiselulosa, selulosa, dan lignin yang tidak larut (Mudgil & Barak, 2019). Analisis penetapan serat kasar kukis sagu spirulina dilakukan dengan menggunakan metode eksstraksi dengan asam dan basa. Hasil analisis serat kasar menunjukkan berbeda nyata ($p<0,05$) terhadap kandungan serat kukis sagu spirulina antara kukis yang diperkaya rumput laut dengan yang tidak diperkaya rumput laut. Hasil serat kasar diperoleh pada kukis sagu spirulina yang diperkaya dengan rumput laut ($0,56 \pm 0,14$). Rumput laut merupakan kelompok tanaman yang memiliki kandungan serat yang tinggi. Kandungan serat pada rumput laut *E. cottonii* berkisar 9,62% (Anggraini *et al.*, 2020). Kadar



serat kasar telah memenuhi standar yang ditetapkan dalam SNI (BSN, 2022).

Penambahan rumput laut meningkatkan kandungan serat kasar pada kukis. Penggunaan rumput laut semi kering menghasilkan kukis kadar serat 1,43% (Salman *et al.*, 2018). Kadar serat meningkat lebih tinggi pada penggunaan tepung rumput laut sebanyak 9%, yang menghasilkan kukis dengan kadar serat 13,8% (Supriadi, 2004). Peningkatan kadar serat kasar yang diiringi dengan penurunan kadar karbohidrat akan menghasilkan dampak positif terhadap kesehatan karena serat yang lebih tinggi sehat untuk usus besar dalam pencegahan konstipasi (Ikuomola *et al.*, 2017).

Kandungan Mikrobiologis Kukis Sagu Spirulina

Kukis sagu spirulina yang telah diuji hedonik dan proksimat selanjutnya dilakukan uji *total plate count* (TPC) untuk mengetahui jumlah mikrob yang terdapat dalam kukis. Mikrob merupakan pencemar dalam makanan, sehingga keberadaannya dibatasi sebagai syarat mutu (BSN, 2008). Keberadaan mikrob yang tidak sesuai dengan standar mutu dalam makanan dapat menyebabkan timbulnya penyakit seperti diare (Castro *et al.*, 2018). Mikrob patogen seperti *Salmonella* dan *Staphylococcus aureus* memiliki spora yang dapat bertahan dalam kukis dalam jangka waktu yang lama (Lathrop *et al.*, 2014). Hasil TPC dari kukis sagu spirulina dengan penambahan *E. cottonii* adalah 3,87 Log CFU/g dan tanpa penambahan *E. cottonii* yaitu 3,08 Log CFU/g. Hasil TPC pada kukis sagu spirulina menunjukkan jumlah koloni kurang dari batas ambang SNI. Menurut SNI (BSN, 2022) TPC dalam suatu produk kukis harus memiliki batas mikrob yaitu 4 Log CFU/g.

Pembuatan kukis sagu spirulina, terdapat proses pembakaran pada suhu 150°C selama 20 menit yang dapat menghilangkan mikrob dari bahan baku. Setelah pembakaran, kukis sagu spirulina didinginkan dalam keadaan yang tidak steril, sehingga memungkinkan adanya kontaminasi dari lingkungan. Hasil TPC pada kukis sagu spirulina dengan penambahan *E. cottonii* lebih banyak dibandingkan dengan kukis sagu

spirulina tanpa penambahan *E. cottonii*, dengan perbedaan yang tidak signifikan ($p>0,05$). Hal ini dipengaruhi oleh penambahan *E. cottonii* yang juga meningkatkan kadar air pada kukis (Yusup *et al.*, 2022). Penambahan *E. cottonii* meningkatkan TPC pada produk kukis, dibandingkan dengan *Sargassum* (Zainuri *et al.*, 2020). Kadar air terikat dan kadar air bebas terkandung dalam kukis. Kadar air bebas pada suatu bahan berpengaruh positif pada pertumbuhan mikrob (Panjagari *et al.*, 2015).

Aktivitas Air (a_w)

Aktivitas air (a_w) menunjukkan kadar air bebas yang terkandung dalam suatu bahan pangan yang dapat digunakan mikrob untuk berkembang biak. Aktivitas air adalah rasio tekanan uap air ketika berada dalam keseimbangan yang tidak terganggu sama sekali dengan media udara di sekitarnya, dan tekanan uap air sulingan dalam kondisi yang sama (FDA, 2014). Makanan sebagian besar memiliki aktivitas air di atas 0,95 dan akan memberikan kelembapan yang cukup untuk mendukung pertumbuhan bakteri, ragi, dan jamur (Matz, 1965). a_w makanan dikontrol kurang dari 0,7 dalam produk jadi, maka hal tersebut menghambat pertumbuhan mikrob (Peleg, 2022). Oleh karena itu, a_w dapat digunakan sebagai salah satu parameter penentuan kualitas bahan pangan (Sakti *et al.*, 2016).

Nilai a_w kukis sagu spirulina yang diperkaya *E. cottonii* sebesar 0,5 sedangkan a_w kukis sagu spirulina tanpa diperkaya *E. cottonii* memiliki a_w sebesar 0,42. Perbedaan nilai ini signifikan ($p<0,05$). Nilai a_w pada kukis dengan penambahan *E. cottonii* yang lebih tinggi dari kukis tanpa penambahan *E. cottonii* selaras dengan kadar air dan TPC. Rumput laut mengandung hidrokoloid yang dapat mengikat air (Yusup *et al.*, 2022), sehingga meningkatkan a_w pada kukis. Namun demikian, berdasarkan nilai a_w yang diperoleh menunjukkan bahwa produk ini termasuk ke dalam kategori makanan kering.

Kandungan Fitokimia

Kandungan fitokimia merupakan senyawa kimia metabolit sekunder yang

terkandung di dalam tumbuhan. Senyawa fitokimia berperan aktif menghasilkan aktifitas dalam sistem biologis, sehingga disebut juga sebagai komponen/senyawa aktif. Potensi kandungan senyawa aktif berada pada spirulina yang mengandung komponen fenol hidroquinon, steroid, flavonoid dan saponin (Gabr *et al.*, 2020). Rumput laut *E. cottonii* mengandung senyawa aktif fenol, flavonoid, steroid dan saponin (Purbosari *et al.*, 2022). Uji senyawa aktif pada kukis sagu spirulina ditunjukkan pada *Table 3*. Komponen aktif yang terkandung didalam kukis adalah flavonoid, steroid dan saponin. Senyawa aktif flavonoid dan saponin dapat ditemukan pada spirulina dan *E. cottonii*. Senyawa steroid pada kukis berasal dari *E. cottonii* (Madjid *et al.*, 2020). Senyawa flavonoid dari spirulina berkhasiat untuk kulit (Dianursanti *et al.*, 2020). Senyawa steroid saponin pada spirulina memiliki aktivitas antikanker (Akbarizare *et al.*, 2019). Keberadaan senyawa aktif pada kukis meningkatkan kualitasnya.

Angka Kecukupan Gizi

Angka kecukupan gizi (AKG) berfungsi sebagai nilai rujukan terutama dalam perencanaan dan penilaian konsumsi gizi dan pangan bagi orang sehat, agar terhindar dari kekurangan atau kelebihan gizi. AKG untuk kukis dengan penambahan rumput laut ditunjukkan pada *Figure 1*. Nilai AKG pada kemasan pangan ini dicantumkan

sebagai informasi nilai gizi (ING), walaupun kebutuhan energi tiap individu dan jenis kelamin berbeda, label ING dihitung berdasarkan rata-rata kecukupan energi bagi penduduk Indonesia sebesar 2150 kilokalori per orang per hari (BPOM, 2016). Informasi nilai gizi produk spirulina dengan takaran saji 15 g (3 keping) adalah mampu menyumbang energi total 76 kkal, lemak 6%, protein 1% dan karbohidrat total sebesar 3%.

Hasil Uji Sensori

Analisis terhadap mutu sensori dilakukan dengan uji hedonik oleh panelis terhadap kukis dengan dua perlakuan formula. Uji sensori dilakukan untuk menentukan dampak dari penambahan spirulina dan *E. cottonii* pada kukis sagu terhadap lima atribut sensori, yaitu ketampakan, aroma, warna, rasa, dan tekstur. Hasil uji hedonik kukis sagu spirulina dapat dilihat pada *Figure 2*.

Ketampakan merupakan atribut sensori yang memiliki peran sangat penting dalam suatu produk pangan sebagai penilaian awal oleh konsumen (Tarwendah, 2017). Hasil uji sensori terhadap ketampakan kukis sagu spirulina dengan atau tanpa penambahan *E. cottonii* menunjukkan nilai ketampakan yang hampir sama dengan nilai ~3,50 pada skala 3 yang artinya panelis menyukai kedua jenis kukis. Panelis memberikan respons yang sedikit lebih tinggi pada sampel dengan penambahan *E. cottonii*. Kukis sagu spirulina

Table 3 Phytochemical characteristic of cookies sago spirulina
Tabel 3 Karakteristik fitokimia kukis sagu spirulina

Parameter	CSIS	CS
Alkaloid		
Dragendorf	-	-
Meyer	-	-
Wegner	-	-
Flavonoid	+	+
Tannin	-	-
Steroid	+	+
Saponin	+	+
Phenol hydroquinone	-	-

CSIS=cookies sago spirulina with the addition of seaweed; CS=cookies sago spirulina without the addition of seaweed.



Nutrition Facts		
Serving size		3 pieces (15 g)
Amount Per Serving		
Total Energy		76 kcal
Energy from fat		35 kcal
%AKG*/Percent Daily value		
Total Fat	4 g	6 %
Protein	1 g	1 %
Total Carbohydrate	10 g	3 %
Dietary Fiber	0.1 g	0 %
Sugar	0.6 g	
Sodium	0.1 mg	0 %

*Percent daily value are based on 2150 kcal diet. Your daily value may be higher or lower depending on your calorie needs.

Figure 1 Nutrition facts of cookies sago spirulina with the addition of *E. cottonii*
 Gambar 1 Kandungan gizi kukis sagu spirulina dengan penambahan *E. cottonii*

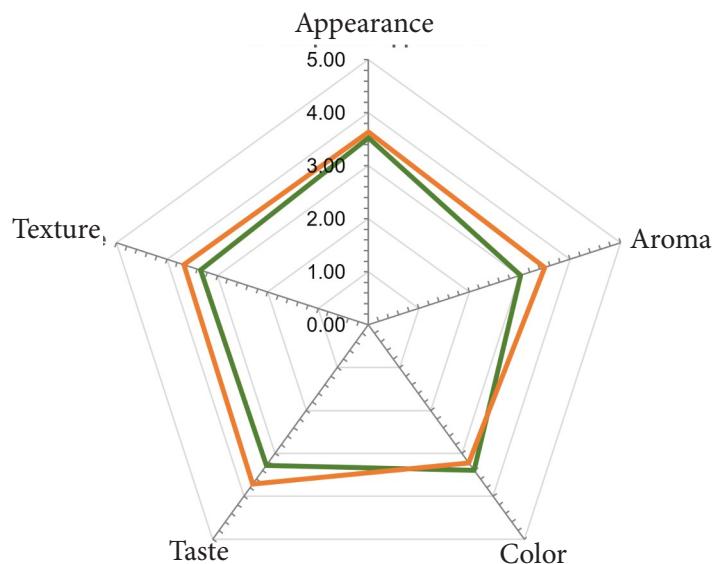


Figure 2 The Sensory hedonic acceptance results of cookies sago spirulina with the addition of seaweed (green) and cookies sago spirulina without the addition of seaweed (orange)
 Gambar 2 Hasil penerimaan sensori hedonik (B) kukis sagu spirulina dengan penambahan rumput laut (hijau) dan kukis sagu Spirulina tanpa penambahan rumput laut (oranye)

dengan penambahan *E. cottonii* memiliki warna yang cenderung lebih hijau akibat pengaruh penambahan *E. cottonii*. Rumput laut *E. cottonii* (kondisi kering) berwarna putih, namun rumput laut ini mengandung klorofil sebagai pigment hijau sebanyak 63,57

mg/g (Luthfiah *et al.*, 2017) yang cukup untuk meningkatkan warna hijau pada kukis sagu. Secara keseluruhan kedua perlakuan memiliki nilai yang hampir sama, yaitu lebih dari nilai skala 3. Hal ini berarti, penambahan *E. cottonii* pada kukis sagu spirulina tidak mengurangi kesukaan panelis terhadap produk.

Atribut sensori yang cukup kuat adalah terkait dengan aroma, rasa, dan tekstur. Atribut warna tampak lebih menonjol pada kukis spirulina yang diberi penambahan rumput laut. Hal ini disebabkan oleh warna pada kukis sagu spirulina yang diberi *E. cottonii* berwarna hijau lebih gelap dan menjadi lebih menarik. Sebaliknya, rasa kukis sagu spirulina yang tanpa diberi *E. cottonii* menunjukkan penerimaan lebih menonjol (nilai sensori lebih tinggi). Hal ini disebabkan oleh rasa kukis sagu spirulina yang diberi *E. cottonii* masih memiliki tendensi aroma laut yang dimungkinkan kurang disukai oleh panelis. Rumput laut pada kukis sagu spirulina juga memberikan tekstur yang lebih lunak dan agak basah karena kandungan air yang terdapat pada *E. cottonii* meningkatkan kadar air pada produk tersebut sehingga memiliki nilai sensori yang lebih rendah. Hal utama yang perlu menjadi pertimbangan adalah rentang penerimaan kedua sampel tersebut masih dalam skala ~3, sehingga tidak terdapat perbedaan yang signifikan terhadap kesukaan panelis antara kedua perlakuan tersebut. Penambahan *E. cottonii* didasari oleh pertimbangan pemenuhan angka kecukupan serat, sehingga sedikit penurunan pada penerimaan sensori dapat diatasi dengan penambahan bahan tambahan pangan lainnya seperti perisa atau komponen lain sebagai *masking* aroma dan rasa khas dari rumput laut (Trilaksani *et al.*, 2015).

Mohibullah *et al.* (2023) melaporkan preferensi untuk kukis yang diperkaya *Ulva intestinalis* memiliki skor penerimaan sensori yang menurun seiring dengan peningkatan penambahan konsentrasi rumput laut ke dalam kukis. Penelitian senada dilaporkan oleh Oh *et al.* (2020), dimana pemanfaatan empat rumput laut dari perairan Korea, yaitu *Sargassum fulvellum*, *Enteromorpha linza*, *Codium fragile*, and *Hizikia fusiforme* di dalam produk kukis memberikan sedikit penurunan pada preferensi sensori produk akhir yang dihasilkan. Hal ini diungkapkan oleh Figueroa *et al.* (2023), bahwa salah satu tantangan dalam pengembangan produk pangan yang diperkaya dengan rumput laut adalah terpengaruhnya penerimaan panelist konsumen atau *naïve*

panelist terhadap kehadiran rumput laut yang setting diasosiasikan dengan atribut ‘marine’, *iodized*, dan sedikit pahit dan *fishy*.

KESIMPULAN

Penambahan rumput laut pada kukis sagu spirulina meningkatkan kadar air, mineral dan serat. Mikroorganisme yang terkandung pada kukis dengan penambahan *E. cottonii* memenuhi persyaratan SNI dengan komponen aktif yaitu flavonoid, steroid dan saponin. Kukis sebanyak 3 keping mampu menyumbangkan energi total 76 kkal. Kukis sagu *E. cottonii* dengan penambahan rumput laut memiliki daya terima yang baik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih terima kasih kami sampaikan atas pendanaan yang diberikan oleh LPPM-IPB dalam kegiatan Dosen Mengabdi Reguler 2022 dengan ketua peneliti atas nama Prof. Iriani Setyaningsih.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustini, T.W., Fahmi, A.S., Widowati, I., Sarwono, A. (2011). Pemanfaatan limbah cangkang kerang simping (*Amusium pleuronectes*) dalam pembuatan *cookies* kaya kalsium. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 14(1): 8-13.
- Akbarizare, M., Ofoghi, H., & Hadizadeh, M. (2019). In vitro Anticancer Evaluation of Saponins Obtained from *Spirulina platensis* on MDA, HepG2, and MCF7 Cell Lines. *Multidisciplinary Cancer Investigation*, 3(4), 25-32.
- Almatsier, S. (2006). Prinsip Dasar Ilmu Gizi. Jakarta (ID): Gramedia Pustaka Utama
- Anggraini, F.N., Suryaningsih, L., & Putranto, W.S. (2020). Pengaruh penambahan rumput laut (*Eucheuma cottonii*) pada pembuatan bakso puyuh terhadap sifat fisik dan akseptabilitas. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 1(2), 55-66.
- [AOAC] Association of Official Analytical Chemists. (2005). *Official Methods of AOAC International*. Arlington (US): The Association of Official Analytical Chemist. Inc.
- [BPOM] Badan Pengawas Obat dan Makanan.



- (2016). Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 9 Tahun 2016 Tentang Acuan Label Gizi.
- [BSN] Bada Standarisasi Nasional. (1992). Standar Nasional Indonesia: Analisa serat kasar berdasarkan. SNI 01-2891-1992. Jakarta, Indonesia. Badan Standarisasi Nasional.
- [BSN] Badan Standarisasi Nasional. (2008). Standar Nasional Indonesia: Metode Pengujian Cemaran Mikrob dalam Daging, Telur, dan Susu serta Hasil Olahannya. SNI 01-2897-2008. Jakarta, Indonesia. Badan Standarisasi Nasional.
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. (2022). Standar Nasional Indonesia: Biskuit. SNI 2973:2022. Jakarta, Indonesia. Badan Standardisasi Nasional
- Budiyanti, & Emu, S. (2021). Kandungan nutrisi rumput laut (*Eucheuma cottonii*) dengan metode rakit gantung pada kedalaman berbeda. *Aquamarine*, 8 (1), 27-33.
- Castro, A., Silva, J., & Teixeira, P. (2018). *Staphylococcus aureus*, a food pathogen: virulence factors and antibiotic resistance. In A.M. Holban, A.M., Grumezescu, *Foodborne Diseases*. (pp. 213-238). Amsterdão: Elsevier
- Czerwonkaa, A., Kaławaja, K., Ślawińska-Brychb, A., Lemieszekc, M.K., Bartnikd, M., Wojtanowskid, K.K., Zdzisińskaa, B., & Rzeskia, W. (2018). Anticancer effect of the water extract of a commercial Spirulina (*Arthrospira platensis*) product on the human lung cancer A549 cell line. *Biomedicine & Pharmacotherapy Biomedicine & Pharmacotherapy*, 106, 292–302
- Dianursanti, M.B., Prakasa, P., & Nugroho. (2020). The effect of adding microalgae extract *Spirulina platensis* containing flavonoid in the formation of Sunscreen towards cream stability and SPF values. *AIP Conf. Proc.*, 2255 (1), 040022.
- Dewita, Syahrul, & Febriansyah, R. (2012). Pola penerimaan siswa sekolah dasar terhadap produk makanan jajanan berbahan baku konsentrat protein ikan baung (*Hemibagrus nemurus*) di Kabupaten Kampar. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 15(3), 216-222.
- Dewita, Syahrul, Desmelati, Lukman, S. (2015). Inovasi bubur instan dan *cookies* berbasis konsentrat protein ikan patin yang difortifikasi minyak sawit merah dan minyak ikan patin terenkapsulasi. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 18(3), 315-320.
- Dolorosa, M.T., Nurjanah, Purwaningsih, S, Anwar, E., & Hidayat T. (2017). Kandungan senyawa bioaktif bubur rumput laut *Sargassum plagyophyllum* dan *Eucheuma cottonii* sebagai bahan baku krim pencerah kulit. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 20(3), 633-644
- Donato, N.R., Queiroz, A.J.M., Figueirêdo, R.M.F., Feitosa R.M., Moreira I.S., & Lima J.F. (2019). Production of cookies enriched with *Spirulina platensis* biomass. *Journal of Agricultural Studies*, 7(4), 324-342.
- Du, C., Jiang, F., Jiang, W., Ge, W., & Du, S. (2018). Physicochemical and structural properties of sago starch. *International Journal of Biological Macromolecules*, 164, 1785-1793.
- Duan, M.J., Vinke, P.C., Navis, G., Corpeleijn, E., & Dekker, L.H. (2022). Ultra-processed food and incident type 2 diabetes: studying the underlying consumption patterns to unravel the health effects of this heterogeneous food category in the prospective Lifelines cohort. *BMC Med*, 20(1), 7.
- [FDA] U.S. Food and Drug Administration. (2014). Water Activity (aw) in Foods. Dept. of Health, Education, and Welfare Public Health Service. Food and Drug Administration. USA
- Figueroa, V., Farfán, M., & Aguilera, J.M. (2023). Seaweeds as Novel Foods and Source of Culinary Flavors. *Food Reviews International*, 39(1), 1-26.
- Firdiyani, F., Agustini, T.W., Ma'ruf, W.F. (2015). Ekstraksi senyawa bioaktif sebagai antioksidan alami *Spirulina platensis* segar dengan pelarut yang berbeda. *Jurnal Pengolahan Hasil*

- Perikanan Indonesia*, 18(1), 28-37.
- Gabr, G. A., El-Sayed, S. M., & Hikal, M. S. (2020). Antioxidant activities of phycocyanin: a bioactive compound from *Spirulina platensis*. *Journal of Pharmaceutical Research International*, 32(2), 73–85.
- Gaesser, G. A. (2019). Perspective: refined grains and health: genuine risk, or guilt by association?. *Advances in Nutrition*, 10(3), 361–371.
- Ikuomola, D.S., Otutu, O.L., & Oluniran, D.D. (2017). Quality assessment of cookies produced from wheat flour and malted barley (*Hordeum vulgare*) bran blends. *Cogent Food & Agriculture*, 3(1), 1-12.
- [Permenkes RI] Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia. (2013). Permenkes Nomor 30 Tahun 2013 tentang Pencantuman Informasi Kandungan Gula, Garam dan Lemak Serta Pesan Kesehatan Pada Pangan Olahan dan Pangan Siap Saji.
- Kalontong, P.K., Safithri, M., & Tarman, K. (2022). Penambatan molekul senyawa aktif *Spirulina platensis* sebagai Inhibitor TMPRSS2 untuk mencegah infeksi SARS-COV-2. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 25(2), 253-267.
- Labuza, T.P., Kaanane, A., & Chen, J.Y. (1985). Effect of temperature on the moisture sorption isotherms and water activity shift of two dehydrated foods. *Journal of Food Science*, 50, 385–397.
- Lasaji, H., Assa, J.R., & Taroreh, M.I.R. (2023). Kandungan protein, kekerasan dan daya terima cookies tepung komposit sagu baruk (*Arenga microcarpa*) dan kacang hijau (*Vigna radiata*). *Jurnal Teknologi Pertanian*, 14 (1), 57-71.
- Lathrop, A.A., Taylor, T., & Schnepf, J. (2014). Survival of salmonella during baking of peanut butter cookies. *Journal of Food Protection*, 77(4), 635–639.
- Luthfiah, Fattah N., Saleh R., & Nurlaylah (2017). Chlorophyll-a analysis of *Eucheuma cottonii* that added to the brownies. *Asian Journal of Microbiology, Biotechnology & Environmental Sciences Paper*, 19(4), 801-805.
- Maharany, F., Nurjanah, Suwandi, R., Anwar, E., & Hidayat, T. (2017). Kandungan senyawa bioaktif rumput laut *Padina australis* dan *Euchema cottonii* sebagai bahan baku krim tabir surya. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 20(1), 10-17.
- Mamat, H., Akanda, J.M.H., Zainol, M.K., Ling, Y.A. (2018). The influence of seaweed composite flour on the physicochemical properties of muffin. *Jurnal of Aquatic Food Product Technology*, 27(5), 635-642.
- Matz, S.A. (1965). Water in Foods. Avi Publishing Company. Michigan.
- Mayasari, A., Widiany, F.L., Astriana, K. (2023). Acceptability and energy protein content of sago cookies with mackerel substitution as an additional food for the malnourished toddlers. *Adv Obes Weight Manag Control*, 13(4), 97-101.
- Mohibbullah, M., Amin, A., Talha, M.A., Baten, M.A., Rana, M.M., Sabuz, A.A., Newaz, A.W., & Choi, J.S. (2023). Physicochemical and nutritional characteristics of cookies prepared with untapped seaweed *Ulva intestinalis*: an approach to value addition as a functional food. *Foods*, 12(1), 205.
- Mudgil, D., & Barak, S. (2019). Chapter 2 - Classification, Technological Properties, and Sustainable Sources. In Galanakis C.M. (Ed.) Dietary Fiber: Properties, Recovery, and Applications (pp. 27-58). Academic Press.
- Nakib, D.M., Ibrahim, M., Mahmoud, N., Rahman, E., & Ghaly, A. (2019). Incorporation of *Spirulina (Athrospira platensis)* in traditional egyptian cookies as a source of natural bioactive molecules and functional ingredients: preparation and sensory evaluation of nutrition snack for school children. *European Journal of Nutrition & Food Safety*, 9(4): 372-397.
- Nurjanah, Aprilia, B.E., Fransiskayana, A., Rahmawati, M., & Nurhayati, T. (2018). Senyawa bioaktif rumput laut dan ampas teh sebagai antibakteri dalam formula masker wajah. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 20(2): 304-316.
- Oh, H., Lee, P., Kim, S.Y., & Kim, Y.S. (2020). Preparation of cookies with various



- native seaweeds found on the Korean coast. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 29(2), 167-174
- Panjagari, N.R., Singh, A.K., Ganguly, S., & Indumati, K.P. (2015). Beta-glucan rich composite flour biscuits: modelling of moisture sorption isotherms and determination of sorption heat. *Journal of Food Science and Technology*, 52(9), 5497-5509.
- Pareyt, B., Wilderjans, E., Goesaert, H., Brijs, K., & Delcour, J.A. (2008). The role of gluten in a sugar-snap cookie system: A model approach based on gluten-starch blends. *Journal of Cereal Scienc*, 48(3), 863-869.
- Peleg, M. (2022). A new look at models of the combined effect of temperature, pH, water activity, or other factors on microbial growth rate. *Food Engineering Reviews*, 14, 31-44.
- Pomeranz, Y., Meloan, C.E. (1994). Ash and Minerals. In: *Food Analysis*. Springer, Boston, MA.
- Pannindriya, P., Safithri, M., & Tarman, K. (2021). Analisis in silico senyawa aktif *Spirulina platensis* sebagai inhibitor tirosinase. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 24(1), 70-77.
- Purba, K.N., (2021). Karakterisasi dan Screening Fitokimia Cookies *Spirulina platensis* dan *Eucheuma cottonii* dengan Konsentrasi Biomassa *Spirulina* Berbeda. [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor.
- Purbosari, N., Warsiki, E., Syamsu, K., & Santoso, J. (2022). The potential of *Eucheuma cottonii* extract as a candidate for fish anesthetic agent. *Aquaculture and Fisheries*, 7(4), 427-432.
- Ramadhan, W., Purwaningsih, S., & Nafisah, S. (2024). Effects of microwave cooking on the physicochemical and sensory properties of seaweed-based analogue rice. *International Journal of Food Science Technology*, 59, 1770-1780.
- Safia, W., Budiyanti, & Musrif. (2020). Kandungan nutrisi dan senyawa bioaktif rumput laut (*Eucheuma cottonii*) yang dibudidayakan dengan teknik rakit gantung pada kedalaman berbeda. *Jurnal Pengolahan Hasil Perairan Indonesia*, 23(2), 262-271.
- Safithri, M., Tarman, K., Setyaningsih, I., & Zhafira, A.G. (2020). Peredaman radikal DPPH oleh ekstrak metanol *Spirulina platensis* dan teripang emas (*Stichopus hermanii*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 23(3), 513-522.
- Sahin, O.I. (2020). Functional and sensorial properties of cookies enriched with *Spirulina* and *dunaliella* biomass. *Journal of Food Science and Technology*, 57(10), 3639-3646.
- Sakti, H., Lestari, S., & Supriadi, A. (2016). Perubahan mutu ikan gabus (*Channa striata*) asap selama penyimpanan. *Jurnal Teknologi Hasil Perikanan*, 5(1), 11-18.
- Salampessy, R.B.S., Susanto, A., & Irianto, H.E. (2024). Pengembangan produk kukis ikan gabus (*Channa striata*) menggunakan mixture design. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 27(1), 37-48. <http://dx.doi.org/10.17844/jphpi.v27i1.45733>
- Salman, S.A., Slamet, & Isamu, K.T. (2018). Subtitusi tepung rumput laut (*Eucheuma cottonii*) pada pembuatan cookies. *Jurnal Sains dan Teknologi Pangan*, 3(5), 1713-1723.
- Sandrasari, D.A., & Chusna, A.C. (2020). Karakteristik *crispy cookies* kaya serat berbahan dasar rumput laut. *Jurnal Teknologi Pangan dan Kesehatan*, 2(2), 105-114.
- Saprudin, D., Palupi, C.A., & Rohaeti, E. (2019). Evaluasi pemberian unsur hara besi pada kandungan asam amino dan mineral dalam biji jagung. *Jurnal Kimia Riset*, 4(1), 49-61.
- Setiawan, B., Fetriyuna, Letsoin, S.M.A., Purwestari, R.C., Jati I.R.A.P. (2022). A sago positive character: a literature review. *Jurnal Ilmiah Kedokteran Wijaya Kusuma*, 11(2), 145-155.
- Setyaningsih, I., Saputro, A.T., & Uju. (2011). Komposisi kimia dan kandungan pigmen *Spirulina fusiformis* pada umur panen yang berbeda dalam media pupuk. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 14(1), 63-69.
- Setyaningsih, I., Bintang, M., & Madina, N. Masyarakat Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia

- (2015). Potentially antihyperglycemic from biomass and phycocyanin of *Spirulina fusiformis* V. by in vivo test. *Procedia Chemistry*, 14, 211-215
- Sirait, S.P., Setyaningsih, I., & Tarman, K. (2019). Anticancer activity of Spirulina extract cultivated in walne and organic media. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 22(1), 50-59.
- Sugiyono. (2004). Kimia Pangan. Yogyakarta (ID): Universitas Negeri Yogyakarta.
- Supriadi, C. (2004). Suplemantasi tepung rumput laut *Euchema cottonii* pada Pembuatan Roti Tawar dan Cookies. [Skripsi]. ID:Bogor, Indonesia.
- Surya, P.I., & Sipahutar, Y.H. (2022). Pengolahan biskuit dengan penambahan rumput laut (*Gracilaria* sp.). *Prosiding Simposium Nasional IX Kelautan dan Perikanan Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin, Makassar, 4 Juni 2022*, 93-100.
- Tarwendah, I.P. (2017). Jurnal review: studi komparasi atribut sensoris dan kesadaran merek produk pangan. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 5(2), 66-73.
- Trilaksani, W., Setyaningsih, I., & Masluha, D. (2015). Formulasi jelly drink berbasis rumput laut merah dan *Spirulina platensis*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 18(1), 74-82.
- Windari, H.A.S., Tarman, K., Safithri, M., & Setyaningsih, I. (2019). Antioxidant activity of *Spirulina platensis* and sea cucumber *Stichopus hermanii* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Tropical Life Sciences Research*, 30(2), 119-129.
- Wulandari, D.A., Setyaningsih, I., & Asih, P.B.S. (2016). Ekstraksi dan aktivitas antimalaria fikosianin dari *Spirulina platensis* secara in vitro. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 19(1), 17-25.
- Wulandari, D.A., Sidharta, E., Setyaningsih, I., Marbun, J.M., Syafruddin, D., & Asih, P.B.S. (2017). Evaluation of antiplasmodial properties of a cyanobacterium *Spirulina platensis*, and its mechanism of action. *Natural Product Research*, 1-4.
- Yanuarti, R., Nurjanah, Anwar, E., & Hidayat, T. (2017). Profil fenolik dan aktivitas antioksidan dari ekstrak rumput laut *Turbinaria conoides* dan *Eucheuma cottonii*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 20(2), 230-237.
- Yusup, M.B.M., Samad, N.A., & Zaidel, D.N.A. (2022). Formulation of Biscuits Containing *Eucheuma Cottonii* Powder and Physicochemical Properties Analysis of the Biscuits. *Bioprocessing and Biomass Technology*, 1(1), 7-11.
- Zainuri, M., Endrawati, H., Winarni, S., Arifan, F., Setyawan, A., & Hapsari, H.P. (2020). Analysis total plate count (tpc) and organoleptic test on seaweed chips. *IOP: Journal of Physics: Conference Series*, 1524 012056