

PROTEKSI ISI LAPORAN KEMAJUAN PENELITIAN

Dilarang menyalin, menyimpan, memperbanyak sebagian atau seluruh isi laporan ini dalam bentuk apapun kecuali oleh peneliti dan pengelola administrasi penelitian

LAPORAN KEMAJUAN PENELITIAN MULTI TAHUN

ID Proposal: 0563dd6a-eebf-4960-b173-ecafef20ab35
Laporan Kemajuan Penelitian: tahun ke-1 dari 3 tahun

1. IDENTITAS PENELITIAN

A. JUDUL PENELITIAN

Mempelajari Teknik Pengolahan Tanpa Panas High Pressure CO₂ Sebagai Alternatif Pengawetan Udang

B. BIDANG, TEMA, TOPIK, DAN RUMPUN BIDANG ILMU

Bidang Fokus RIRN / Bidang Unggulan Perguruan Tinggi	Tema	Topik (jika ada)	Rumpun Bidang Ilmu
Pangan	Teknologi pascapanen dan rekayasa teknologi pengolahan pangan	Diversifikasi dan hilirisasi produk pertanian, perkebunan, peternakan, dan perikanan	Teknologi Hasil Pertanian

C. KATEGORI, SKEMA, SBK, TARGET TKT DAN LAMA PENELITIAN

Kategori (Kompetitif Nasional/ Desentralisasi/ Penugasan)	Skema Penelitian	Strata (Dasar/ Terapan/ Pengembangan)	SBK (Dasar, Terapan, Pengembangan)	Target Akhir TKT	Lama Penelitian (Tahun)
Penelitian Kompetitif Nasional	Penelitian Dasar	SBK Riset Dasar	SBK Riset Dasar	3	3

2. IDENTITAS PENGUSUL

Nama, Peran	Perguruan Tinggi/ Institusi	Program Studi/ Bagian	Bidang Tugas	ID Sinta	H-Index
MARIA ERNA KUSTYAWATI Ketua Pengusul	Universitas Lampung	Teknologi Industri Pertanian		6007836	1
Ir SAMSUL RIZAL M.Si Anggota Pengusul 1	Universitas Lampung	Teknologi Hasil Pertanian		5979539	1

3. MITRA KERJASAMA PENELITIAN (JIKA ADA)

Pelaksanaan penelitian dapat melibatkan mitra kerjasama, yaitu mitra kerjasama dalam melaksanakan penelitian, mitra sebagai calon pengguna hasil penelitian, atau mitra investor

Mitra	Nama Mitra
-------	------------

4. LUARAN DAN TARGET CAPAIAN

Luaran Wajib

Tahun Luaran	Jenis Luaran	Status target capaian (<i>accepted, published, terdaftar atau granted, atau status lainnya</i>)	Keterangan (<i>url dan nama jurnal, penerbit, url paten, keterangan sejenis lainnya</i>)
1	Buku Hasil Penelitian	sudah terbit	Buku ajar

Luaran Tambahan

Tahun Luaran	Jenis Luaran	Status target capaian (<i>accepted, published, terdaftar atau granted, atau status lainnya</i>)	Keterangan (<i>url dan nama jurnal, penerbit, url paten, keterangan sejenis lainnya</i>)
--------------	--------------	---	--

5. ANGGARAN

Rencana anggaran biaya penelitian mengacu pada PMK yang berlaku dengan besaran minimum dan maksimum sebagaimana diatur pada buku Panduan Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Edisi 12.

Total RAB 3 Tahun Rp. 291,495,000

Tahun 1 Total Rp. 95,500,000

Jenis Pembelanjaan	Item	Satuan	Vol.	Biaya Satuan	Total
Analisis Data	Penginapan	OH	1	400,000	400,000
Analisis Data	Tiket	OK (kali)	2	1,000,000	2,000,000
Analisis Data	HR Pengolah Data	P (penelitian)	40	15,000	600,000
Analisis Data	Biaya analisis sampel	Unit	123	400,000	49,200,000
Bahan	Barang Persediaan	Unit	5	480,000	2,400,000
Bahan	ATK	Paket	10	150,000	1,500,000
Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Unit	10	1,100,000	11,000,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya penyusunan buku termasuk book chapter	Paket	1	10,000,000	10,000,000
Pengumpulan Data	FGD persiapan penelitian	Paket	2	500,000	1,000,000
Pengumpulan Data	Tiket	OK (kali)	2	700,000	1,400,000
Pengumpulan Data	Penginapan	OH	6	300,000	1,800,000
Pengumpulan Data	Transport	OK (kali)	7	200,000	1,400,000
Pengumpulan Data	Uang Harian	OH	7	200,000	1,400,000
Pengumpulan Data	HR Sekretariat/Administrasi Peneliti	OB	40	15,000	600,000
Pengumpulan Data	HR Pembantu Lapangan	OH	40	15,000	600,000
Pengumpulan Data	HR Pembantu Peneliti	OJ	60	20,000	1,200,000
Sewa Peralatan	Peralatan penelitian	Unit	6	1,000,000	6,000,000
Sewa Peralatan	Ruang penunjang penelitian	Unit	6	200,000	1,200,000

Jenis Pembelanjaan	Item	Satuan	Vol.	Biaya Satuan	Total
Sewa Peralatan	Transport penelitian	OK (kali)	6	300,000	1,800,000

Tahun 2 Total Rp. 98,000,000

Jenis Pembelanjaan	Item	Satuan	Vol.	Biaya Satuan	Total
Analisis Data	Transport Lokal	OK (kali)	1	500,000	500,000
Analisis Data	Penginapan	OH	1	400,000	400,000
Analisis Data	Tiket	OK (kali)	2	1,000,000	2,000,000
Analisis Data	HR Pengolah Data	P (penelitian)	40	15,000	600,000
Analisis Data	Biaya analisis sampel	Unit	100	510,000	51,000,000
Bahan	Barang Persediaan	Unit	5	240,000	1,200,000
Bahan	ATK	Paket	10	150,000	1,500,000
Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Unit	10	1,028,000	10,280,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya Publikasi artikel di Jurnal Nasional	Paket	1	5,000,000	5,000,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya penyusunan buku termasuk book chapter	Paket	1	10,000,000	10,000,000
Pengumpulan Data	FGD persiapan penelitian	Paket	2	500,000	1,000,000
Pengumpulan Data	HR Sekretariat/Administrasi Peneliti	OB	40	15,000	600,000
Pengumpulan Data	HR Pembantu Lapangan	OH	48	15,000	720,000
Pengumpulan Data	HR Pembantu Peneliti	OJ	60	20,000	1,200,000
Sewa Peralatan	Ruang penunjang penelitian	Unit	4	250,000	1,000,000
Sewa Peralatan	Peralatan penelitian	Unit	5	1,000,000	5,000,000
Sewa Peralatan	Transport penelitian	OK (kali)	6	1,000,000	6,000,000

Tahun 3 Total Rp. 97,995,000

Jenis Pembelanjaan	Item	Satuan	Vol.	Biaya Satuan	Total
Analisis Data	Uang Harian	OH	1	300,000	300,000
Analisis Data	Transport Lokal	OK (kali)	1	500,000	500,000
Analisis Data	Penginapan	OH	1	400,000	400,000
Analisis Data	Tiket	OK (kali)	2	1,000,000	2,000,000
Analisis Data	HR Pengolah Data	P (penelitian)	40	15,000	600,000
Analisis Data	Biaya analisis sampel	Unit	84	300,000	25,200,000
Bahan	Barang Persediaan	Unit	1	8,000,000	8,000,000

Jenis Pembelanjaan	Item	Satuan	Vol.	Biaya Satuan	Total
Bahan	ATK	Paket	10	150,000	1,500,000
Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Unit	10	1,150,000	11,500,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Publikasi artikel di Jurnal Internasional	Paket	1	25,000,000	25,000,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	HR Sekretariat/Administrasi Peneliti	OB	24	15,000	360,000
Pengumpulan Data	FGD persiapan penelitian	Paket	2	500,000	1,000,000
Pengumpulan Data	Tiket	OK (kali)	2	1,000,000	2,000,000
Pengumpulan Data	Transport	OK (kali)	5	383,000	1,915,000
Pengumpulan Data	Uang Harian	OH	7	300,000	2,100,000
Pengumpulan Data	Penginapan	OH	7	300,000	2,100,000
Pengumpulan Data	HR Sekretariat/Administrasi Peneliti	OB	40	15,000	600,000
Pengumpulan Data	HR Pembantu Lapangan	OH	48	15,000	720,000
Pengumpulan Data	HR Pembantu Peneliti	OJ	60	20,000	1,200,000
Sewa Peralatan	Peralatan penelitian	Unit	5	1,000,000	5,000,000
Sewa Peralatan	Ruang penunjang penelitian	Unit	5	200,000	1,000,000
Sewa Peralatan	Transport penelitian	OK (kali)	5	1,000,000	5,000,000

6. KEMAJUAN PENELITIAN

A. RINGKASAN: Tuliskan secara ringkas latar belakang penelitian, tujuan dan tahapan metode penelitian, luaran yang ditargetkan, serta uraian TKT penelitian.

B. Udang sebagai komoditas nasional bernilai tinggi dari segi gizi dan nilai ekonomi. Penanganan paska panen menjadi sangat penting, karena udang termasuk pangan yang mudah rusak dan tidak tahan terhadap pengolahan menggunakan panas. Hal ini disebabkan antara lain dua hal utama yaitu nilai gizi protein tinggi yang mudah rusak oleh proses pemanasan, nutrisi yang tinggi menjadikan udang sebagai media yang sangat cocok bagi pertumbuhan mikroorganisme. Oleh karena itu inovasi teknik pengawetan sangat perlu dilakukan. Salah satu prinsip pengawetan yaitu untuk mencegah atau memperlambat pertumbuhan mikroorganisme. Mengingat udang mengandung protein tinggi, maka inaktivasi mikroorganisme memerlukan teknik pengolahan tanpa melibatkan panas. Teknologi karbondioksida bertekanan tinggi (HPCD) merupakan salah satu teknologi pengolahan tanpa menggunakan panas yang mempunyai keuntungan mampu mengolah makanan pada suhu ambient atau lebih rendah. Karbondioksida menjadi fluida superkritis pada suhu ambient dan tekanan (31,1oC dan 73,8 MPa atau 1099 psi) yang mempunyai keuntungan yaitu memiliki sifat kelarutan seperti gas, kerapatan seperti cairan, difusifitas lebih tinggi dari pada bentuk cairan, dan tegangan permukaan nol. Sifat keuntungan ini mampu mengeliminasi mikroba, mengurangi kadar air, dan berinteraksi dengan ikatan kovalen dalam bahan pangan serta menarik antibiotik dalam udang. Teknik CO₂ bertekanan tinggi sangat sesuai diaplikasikan untuk bahan pangan karena ramah lingkungan dan tidak meninggalkan residu, disamping ketersediaan CO₂ yang melimpah dan aman. Tujuan penelitian untuk (1) mengetahui sifat fisik kimia dan sensori udang yang diolah dengan teknologi karbondioksida bertekanan tinggi; (2) mengetahui masa simpan udang pada berbagai tingkatan suhu; (3) mengetahui

teknik pengemasan yang sesuai dan melakukan analisis produksi.

C. Untuk mencapai tujuan tersebut penelitian terdiri dari 3 tahap. Tahap 1 melakukan pemrosesan pengolahan udang menggunakan teknik HPCD dengan percobaan Rancangan Acak Kelompok dengan perlakuan Fase CO₂ superkritik dan sub superkritik, dan lama waktu pemrosesan. Untuk mengetahui efek teknik HPCD terhadap perubahan sifat udang dilakukan serangkaian uji fisik, kimia, sensory dan daya terima konsumen. Hasil uji analisis statistik parameter uji akan memperoleh perlakuan yang terbaik untuk pengolahan udang. Tahap II penelitian meliputi optimalisasi pemrosesan perlakuan terbaik. Kemudian dilanjutkan dengan penyimpanan udang pada suhu bertingkat 5, 15, dan 25oC. Pendugaan masa simpan menggunakan uji Arrhenius. Tahap III melakukan pengujian terhadap penggunaan bahan pengemas dan masa simpan, dan dilanjutkan dengan pengujian preferensi terhadap masyarakat serta analisis usaha.

D. Luaran yang ditargetkan adalah teknik alternative pengawetan udang. Temuan akan ditulis dalam draf buku Referensi penerbit Unila LP2M sebagai Luaran Tahun I. Luaran Tahun II adalah buku referensi dengan penerbit Unila LP2M, dan Luaran Tahun ke III adalah artikel untuk jurnal internasional penerbit Hindawi-Intern Journal of Food Sci and Technology. TKT 2. Target nilai TKT pada tahun pertama adalah 3.

B. KATA KUNCI: Tuliskan maksimal 5 kata kunci.

udang; superkritik CO₂; subkritik CO₂; perubahan fisik kimia.

Pengisian poin C sampai dengan poin H mengikuti template berikut dan tidak dibatasi jumlah kata atau halaman namun disarankan ringkas mungkin. Dilarang menghapus/modifikasi template ataupun menghapus penjelasan di setiap poin.

C. HASIL PELAKSANAAN PENELITIAN: Tuliskan secara ringkas hasil pelaksanaan penelitian yang telah dicapai sesuai tahun pelaksanaan penelitian. Penyajian dapat berupa data, hasil analisis, dan capaian luaran (wajib dan atau tambahan). Seluruh hasil atau capaian yang dilaporkan harus berkaitan dengan tahapan pelaksanaan penelitian sebagaimana direncanakan pada proposal. Penyajian data dapat berupa gambar, tabel, grafik, dan sejenisnya, serta analisis didukung dengan sumber pustaka primer yang relevan dan terkini.

Pengisian poin C sampai dengan poin H mengikuti template berikut dan tidak dibatasi jumlah kata atau halaman namun disarankan ringkas mungkin. Dilarang menghapus/modifikasi template ataupun menghapus penjelasan di setiap poin.

C. HASIL PELAKSANAAN PENELITIAN: Tuliskan secara ringkas hasil pelaksanaan penelitian yang telah dicapai sesuai tahun pelaksanaan penelitian. Penyajian meliputi data, hasil analisis, dan capaian luaran (wajib dan atau tambahan). Seluruh hasil atau capaian yang dilaporkan harus berkaitan dengan tahapan pelaksanaan penelitian sebagaimana direncanakan pada proposal. Penyajian data dapat berupa gambar, tabel, grafik, dan sejenisnya, serta analisis didukung dengan sumber pustaka primer yang relevan dan terkini.

Teknologi karbondioksida bertekanan tinggi pada variasi tekanan, suhu dan lama waktu proses yaitu 1100psi/ suhu 35°C, 950psi/ 29°C, dan 900psi/25°C dengan lama waktu proses 5, 10, 15, dan 20 menit dapat diaplikasikan dalam pengolahan udang.

Udang makanan asal laut yang bernilai gizi tinggi dan sebagai sumber asam lemak omega-3, omega-6, protein dan antioksidan yang berasal dari senyawa karotenoid astaxanthin. Namun sebagian kekhawatiran sebagian orang akan kandungan kolesterol udang. Oleh karena itu, udang perlu diolah menggunakan pengolahan tanpa panas untuk mempertahankan nilai gizi dan fungsionalnya disamping keamanan mikrobiologinya. Kolesterol udang yang diolah pada pengolahan subkritis CO₂ pada tekanan 900psi/25°C selama 10 menit menurun dibanding udang tanpa pengolahan karena terlarut dalam fluida CO₂ cair. Kandungan asam lemak udang menurun berbeda tidak nyata dibanding kontrol. Karotenoid terlarut selama proses dan menyebabkan warna udang yang diolah dengan subkritis CO₂ berubah menjadi sedikit merah. Disamping itu juga timbul senyawa pirazin yang mengindikasikan bahwa udang menjadi masak (cooked). Oleh karena itu pengolahan dengan subkritis CO₂ menghasilkan udang dengan kolesterol rendah dan udang menjadi setengah masak (half cooked).

Karbon dioksida pada tekanan 900 psi/25°C berupa fluida cair yang mempunyai sifat polaritas yang polar. sementara CO₂ pada tekanan 950psi/29°C berupa fluida mendekati superkritis mempunyai polaritas yang non polar dan sedikit polar. CO₂ pada tekanan 1100psi/35°C adalah fluida superkritis dan mempunyai polaritas yang non polar. Kemungkinan teknologi pengolahan CO₂ superkritis sebagai alternative pengawetan udang sangat perlu dikembangkan mengingat dapat mengurangi mikroorganisme dalam pangan, dan mempertahankan fungsi protein sekaligus menurunkan kadar kolesterol udang.

Tabel 1. Pengaruh tekanan dan lama waktu proses pengolahan CO₂ superkritis terhadap warna udang

Pressure (MPa)/ processing time (min)	<i>L</i> *	<i>a</i> *	Color <i>b</i> *	<i>C</i>	<i>H</i>
Control	51.55±0.77a	4.15± 0.07a	4.65± 0.49c	3.95±0.91a	20.15±2.05a
6.21/5	51.65±0.77a	5.55± 1.62bc	7.6± 1.55e	7.5± 0.84cd	45.65± 0.77cd
6.21/10	54.15±1.10ab	5.15± 0.49ab	4.5± 0.71c	9.0± 1.14d	45.55± 1.20cd
6.21/15	59.1±2.96cd	5.25 ±2.05b	8.0± 2.12ef	8.75± 1.48d	45.8 ±11.8cd
6.55/5	53.75±0.71ab	5.0± 0.71ab	9.55± 0.21g	8.85 ±0.07d	45.2 ±8.90cd
6.55/10	52.05±1.34a	4.05± 0.07a	2.05± 0.35a	4.7± 0.28b	36.35± 4.31b
6.55/15	54.9±6.64ab	5.6± 0.14bc	8.75± 0.21f	9.05± 0.35d	56.75± 0.49
7.58/5	59.75±4.45cd	5.25± 0.91b	3.85± 1.34b	6.5 ±0.28c	43.15± 2.19c
7.58/10	56.75±3.88c	5.85± 1.20c	6.65± 1.76d	6.55 ±0.35c	45.05 ±3.60cd.
7.58/15	61.35± 0.21d	7.1± 0.71d	7.75± 2.19ef	8.05± 0.63cd	48.05± 2.47d

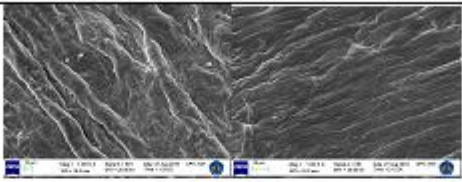
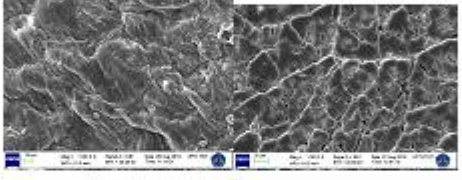
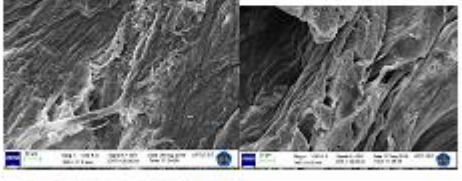
Data in the table represent the means ± S.D. of measurement for three replicates.

Duncan's test was used to determine the significance, and the means with different lowercase letters in the same row were significantly different at $p < 0.05$.

Tabel 2. Pengaruh tekanan dan lama waktu proses pengolahan CO₂ superkritik terhadap total bakteri dan tekstur udang.

Pressure (MPa)/ processing time (min)	Number of bacteria (CFU/g)	Tekstur (gf)
Control	$2.0 \times 10^2 \pm 1.2b$	$24.4 \pm 1.5ab$
6.21/5	$2.1 \times 10^2 \pm 1.1b$	$28.2 \pm 4.24c$
6.21/10	$8.5 \times 10^4 \pm 2.1a$	$28.7 \pm 6.08c$
6.21/15	$3.3 \times 10^4 \pm 1.4a$	$26.4 \pm 1.5b$
6.55/5	$1.3 \times 10^2 \pm 1.3b$	$35.9 \pm 7.2d$
6.55/10	$1.1 \times 10^2 \pm 1.1b$	$27.7 \pm 9.7bc$
6.55/15	$5.5 \times 10^2 \pm 1.3c$	$45.7 \pm 1.2e$
7.58/5	$1.6 \times 10^2 \pm 2.1b$	$31.8 \pm 1.6cd$
7.58/10	$8.6 \times 10^4 \pm 1.3a$	$30.8 \pm 9.6cd$
7.58/15	$1.9 \times 10^2 \pm 1.4bc$	$20.4 \pm 1.4a$

Tabel 3. Pengaruh tekanan dan lama waktu proses pengolahan CO₂ superkritik terhadap mikrostruktur daging udang.

Pressure (MPa)/ processing time (min)	Tekstur (gf)	SEM
Control	$24.4 \pm 1.5ab$	
6.21/10	$28.7 \pm 6.08c$	
6.55/10	$27.7 \pm 9.7bc$	
7.58/10	$30.8 \pm 9.6cd$	

Tabel. 4. Jenis dan konsentrasi Asam lemak tidak jenuh pada udang dengan pengolahan CO₂ tekanan tinggi.

Jenis asam lemak	Kontrol	Udang A 900psi/10men	Udang B 950psi/10men	Udang C 1100psi/10men
Konsentrasi (%) BK				
1. Methyl palmitat (C:15)	52,85	55,33	49,38	29,81
2. Methyl stearat (C:17)	21,09	17,82	19,94	19,08
3. Methyl oktadek-9-enoat(C:9)	15,68	16,54	18,58	td
4. Methyl linoleat (C:17:2)	10,38	10,31	12,10	12,75
5. Stearaldehid	td	td	td	0,81
6. Methyl heptadekanoat	td	td	td	1,56
7. Methyl oleat	td	td	td	17,51
8. Ethyl	td	td	td	2,14
9. Tricyclo Pentadekadiena	td	td	td	2,27
10. Methyl 11-eicosenoat	td	td	td	0,51

Keterangan: td = tidak terdeteksi

Tabel 5. Cholesterol and total carotene of the shrimps processed with supercritical CO₂ at various pressure and processing time.

Pressure(psi)/time (min)	Cholesterol (mg/g)	Total carotene (mg/g)
Control	1.629±0.01	4.237±0.1
900/5	1.393±0.01	-
900/10	1.271±0.02	3.784±0.1
900/15	1.464±0.09	-
950/5	1.465±0.1	-
950/10	1.398±0.1	3.764±0.09
950/15	1.357±0.1	-
1100/5	1.456±0.09	-
1100/10	1.481±0.09	2.365±0.09
1100/15	1.341±0.01	-

Table 6. Volatile compounds identified from the shrimps processed with supercritical CO₂ at various pressures.

Volatile compounds	Control	900psi/ 10min	950psi/ 10min	1070psi/ 5min
Dimethylamine	*	0.97	1.59	*
Butanal,3-methyl-	*	0.91	*	*
2-Hydroxyethylhydrazine	*	*	2.65	1.45
Pentane,2,2,4,4-tetramethyl	*	25.77	1.05	*
Silanediol, dimethyl-	*	17.81	26.11	18.28
Cyclopentanol,2-methyl-,trans	*	4.07	*	1.48
Oxine, Methoxy-phenyl-	*	8.60	7.62	7.77
Cycloheptasiloxane,octamethyl-	*	6.75	4.14	2.98
Octanal	*	2.39	6.62	8.50
2-Nonen-1-ol-E-	*	5.12	9.63	*
Cyclodecanol	<u>1.60</u>	<u>2.19</u>	<u>3.87</u>	<u>3.80</u>
Cyclohexasiloxane,dodecamethyl-	*	5.85	5.37	3.21
Cycloheptasiloxane,octamethyl-	*	6.75	4.14	2.98
1-Hexanol,2-ethyl-	*	*	6.30	1.75
2-Pentene,1-bromo-3,4-dimethyl-	*	*	1.15	1.50
3-Dodecene,E-	*	*	2.54	2.23
2-Butanone,4-Cyclohexyl-	*	*	1.20	*
Benzaldehyde,2,5-bis(trimethylsilyl)oxy-	*	*	1.91	*
Cyclohexane,bromo	*	*	3.23	4.35
Terbutaline,N-trifluoroacetyl-o,o,p-tris(trimethylsilyl)	*	*	2.43	*
Azulene	*	*	1.05	*
2-Hydroxyethylhydrazine-	*	*	2.65	1.45
2-Decene,5-methyl-,Z-	*	*	*	1.15
Cis-9,10-Epoxyoctadecan-1-ol	*	*	*	24.26
Hexaborane	14.17	*	*	*
Benzene,1-ethenyl-3-ethyl-	<u>9.15</u>	*	*	*
Benzene,1-ethenyl-4-ethyl-	8.36	*	*	*
Benzene,1,3-dithienyl-	<u>1.83</u>	*	*	*
Benzaldehyde,4-ethyl-	2.59	*	*	*
2,6-Dimethylbenzaldehyde	<u>3.26</u>	*	*	*
Isophthalaldehyde	2.49	*	*	*
Ethanone,1-(4-ethylphenyl)	<u>3.40</u>	*	*	*
1-(2,4-Dimethyl-phenyl)-2-(4H-[1,2,4]triazol-3-ylsulfanyl)-ethanone	<u>3.87</u>	*	*	*

Note: * is not detected. ** Expressed as peak areas (%), arbitrary scale.

Tabel 7. Pengaruh tekanan dan lama waktu proses pengolahan CO₂ superkritik terhadap Proximate udang.

Pressure (MPa) /processing time (min)	Protein (% DB)	Fat (% DB)	Ash (%DB)	Fiber (%DB)	Water content (%)
Control	87.97 ±8.2	1.25± 0.18	2.31± 3.26	0.76± 0.1	79.74 ±0.93
6.21/5	84.9± 6.7	1.19± 0.98	4.84 ±1.87	2.38 ±0.01	80.86 ±1.23
6.21/10	83.51± 12.2	1.88± 0.1	5.57± 0.1	0.88 ±0.1	77.59± 3.80
6.21/15	81.96 ±2.3	1.56± 0.15	7.35 ±1.37	0.56± 0.02	81.03± 1.5
6.55/5	86.84± 4.7	1.42 ±0.15	6.77 ±0.08	4.33 ±0.03	78.52 ±1.8
6.55/10	84.41± 0.12	1.36± 0.05	5.77 ±1.01	2.52± 0.02	80.40± 2.7
6.55/15	75.75 ±2.1	1.43± 0.16	6.43 ±0.46	4.87± 0.03	79.43 ±1.6
7.58/5	80.29± 4.5	1.77 ±0.7	6.1 ±0.42	1.2± 0.01	78.96± 1.49
7.58/10	80.74± 0.73	1.73 ±0.3	6.18± 0.16	0.93± 0.01	77.06 ±2.9
7.58/15	75.40± 4.9	1.73± 0.6	4.87± 0.31	0.87 ±0.02	76.89± 3.5

D. STATUS LUARAN: Tuliskan jenis, identitas dan status ketercapaian setiap luaran wajib dan luaran tambahan (jika ada) yang dijanjikan. Jenis luaran dapat berupa publikasi, perolehan kekayaan intelektual, hasil pengujian atau luaran lainnya yang telah dijanjikan pada proposal. Uraian status luaran harus didukung dengan bukti kemajuan ketercapaian luaran sesuai dengan luaran yang dijanjikan. Lengkapi isian jenis luaran yang dijanjikan serta mengunggah bukti dokumen ketercapaian luaran wajib dan luaran tambahan melalui Simlitabmas.

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Tidak
ada.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

G. RENCANA TAHAPAN SELANJUTNYA: Tuliskan dan uraikan rencana penelitian di tahun berikutnya berdasarkan indikator luaran yang telah dicapai, rencana realisasi luaran wajib yang dijanjikan dan tambahan (jika ada) di tahun berikutnya serta *roadmap* penelitian keseluruhan. Pada bagian ini diperbolehkan untuk melengkapi penjelasan dari setiap tahapan dalam metoda yang akan direncanakan termasuk jadwal berkaitan dengan strategi untuk mencapai luaran seperti yang telah dijanjikan dalam proposal. Jika diperlukan, penjelasan dapat juga dilengkapi dengan gambar, tabel, diagram, serta pustaka yang relevan. Jika laporan kemajuan merupakan laporan pelaksanaan tahun terakhir, pada bagian ini dapat dituliskan rencana penyelesaian target yang belum tercapai.

Melakukan analisis perlakuan CO₂ superkritis terbaik dengan karakteristik bahwa udang mempunyai sifat sensory warna tidak putih/timbul warna merah, nilai gizi berbeda tidak nyata, aroma berbeda nyata, tekstur berbeda nyata, kolesterol berbeda nyata, karoten berbeda nyata, penurunan total mikroba berbeda nyata. Udang terbaik dilanjutkan dengan teknik penyimpanan pada tahun ke dua untuk mengetahui apakah proses CO₂ superkritis dapat merupakan pengolahan udang menjadi half cook.....

H. DAFTAR PUSTAKA: Penyusunan Daftar Pustaka berdasarkan sistem nomor sesuai dengan urutan pengutipan. Hanya pustaka yang disitasi pada laporan kemajuan yang dicantumkan dalam Daftar Pustaka.

1. Bao, H., Berlanga, M.L., Xue, M., Hapip, S.M., Daniels, R.W., Mendenhall, J.M., Alcantara, A.A., Zhang, B. (2007). The atypical cadherin flamingo regulates synaptogenesis and helps prevent axonal and synaptic degeneration in *Drosophila*. [Mol. Cell. Neurosci. 34\(4\): 662--678.](#)
2. Beckman, E.J. 2004. Supercritical and near-critical CO₂ in green chemical synthesis and processing. *J. Supercrit Fluid.* 28 : 121 – 191.
3. Belitz, H.-D., W. Grosch, and P. Schieberle. 2009. Cereals and cereal products. Pp. 670–745 in H.-D. Belitz, W. Grosch and P. Schieberle, eds. Food chemistry. 4th ed. Springer,
4. Besbes N, Joffraud Jean-J, Khemis IB, Sadok S., 2017, Bio-preservation of refrigerated peeled shrimp (*Parapenaeus longirostris*) using cactus fruit peels polyphenolic extract, Doi: 10.9790/264X-03033647.
5. Brown, Z.K., Fryer, P.J., Norton, I.T., Bridson, R.H. 2010. Drying of agar gels using supercritical carbon dioxide. *J. Supercrit Fluid.* 54 : 89 – 95.
6. Calvo, L. dan Torres, E. 2010. Microbial inactivation of paprika using high – pressure CO₂. *Journal of Supercritical Fluids.* 52 (1) : 134 – 141.
7. Dayal JS, Ponniah AG, Imran- Khan H, Madhu-Babu EP, Ambasankar Kand
8. Vasagam KPK, 2013. Shrimps – a Nutritional perspective, *Current Science* (june) 2013.
9. Dillow, A., Dehgani, F., Hrkach, J.S., Foster N.R., Langer, R. 2008. Bacterial inactivation by using near-and supercritical CO₂. *Proc Nat Acad Sci USA* 96 : 10344 – 10348
10. Ferrentino, G., dan Spilimbergo, S. 2011. High pressure CO₂ pasteurization of solid food : Current knowledge and future outlooks. *Trends in Food Science and Technology.* 22 : 427 – 441.
11. Gomez, K.A., dan Gomez, A.A. 1995. Statistical Procedures for Agriculture Research.

- Ed. 2. An International Rice Research Institute Book. John Wiley and Sons. New York
12. Guo,M., Wu,J., Xu,Y., Xiao,G., Zhang,M., Chen,Y. 2011. Effects on microbial inactivation and quality attributes in frozen lychee juice treated by supercritical carbon dioxide. *Eur Food Res Technol.* 232 : 803 – 811.
 13. Hong,S., dan Pyun,Y. 1999. Inactivation Kinetics of *Lactobacillus plantarum* by High Pressure Carbon Dioxide. *Journal of Food Science.* 64(4) : 728 – 733.
 14. Jelen,H., Majchar,M., Ginja,A., Kuligowski,M. 2012. Determination of compounds responsible for tempeh aroma. *Food Chem.* 141 : 459 – 465.
 15. Kadam PS, Jadhav BA, Salve RV and Machewad GM. 2012. Review on the High Pressure Technology (HPT) for Food Preservation. *J Food Process Tech* 3(1): 1-5.
 16. Klensporf,D., dan Jelen,H.K. 2012. Analysis of volatile aldehydes in oat flakes by SMPE-GC/MS. *Pol J Food Nutr Sci.* 14 : 389 – 395.
 17. Kustyawati,M.E., Pratama,F., Saputra,D., Wijaya,A. 2014. Modifikasi warna, tekstur dan aroma tempe setelah diproses dengan karbon dioksida superkritik. *J.Teknologi dan Industri Pangan.* 25 (2) : 168 – 175.
 18. Kustyawati,M.E., Pratama,F., Saputra,D., Wijaya,A. 2015. Karakteristik Kimia dan Tekstur Tempe Setelah Diproses dengan Karbon Dioksida Bertekanan Tinggi. *Agritech.* 35 (2) : 185 – 191.
 19. Kustyawati ME, Nawansih O, and Nurjanah S., 2017, Profil of aroma compounds and acceptability of modified tempeh, *International Food Research Journal*, 24(2):734-740.
 20. Kustyawati ME, Pratama F, Saputra D, and Wijaya A. 2018, Viability of molds and bacteria in tempeh processed with supercritical CO₂, *International Journal Food Science*, 2018:8591015, doi: 10.1155/2018/8591015.
 21. Labouteur L, Ollero M, and Touboul D. 2015. Lipidomics by supercritical fluid chromatography, *International Journal Molecules Sci.* 16(6):13868-13884.
 22. Liao,H., Zhang,L., Hu,X., Liao,X. 2010. Effect of high pressure CO₂ and mild heat processing on natural microorganisms in apple juice. *Int J Food Microbiol.* 137 : 81 – 87.
 23. 137 : 81 – 87.
 24. Madigan,M.T., Martinko, J.M., Stahl,D.A., Clark,D.P. 2012. Brock Biology of microorganisms. 25 – 30. Pearson Education Inc. San Francisco.
 25. Mathias,O., Kablan,T., Joseph,A. 2010. Inactivation of *Bacillus Subtilis* spores with pressurized CO₂ and influence of O₂, N₂O and CH₂CH₂OH on its sporicidal activity. *European Journal of Scientific Research.* 40 (1) : 6 – 14.
 26. Ngginak J, SemangunH, Mangimbulude JC, Rondonuwu FS. 2013. Komponen senyawa aktif pada udang serta aplikasinya dalam pangan, *Sains Medika*, 5(2):128-132.
 27. Akonor PT, Ofori H, Dziedzoave NT, and Kortei NK. 2016. Drying characteristics and physical and nutritional properties of shrimp meat as affected by different traditional drying techniques, *International Journal of food science*, 2016, <http://dx.doi.org/10.1155/2016/7879097>.
 28. Park,H.S., Choi,H.J., Kim,K.H. 2013. Effect of supercritical CO₂ modified with water cosolvent on the sterilization of fungal spore-contaminated barley seeds and the germination of barley seeds. *Journal of Safety.* 33 : 1 – 18.
 29. Pratama,F., Saputra,D., Yulianti,K. 2007. Metode pencucian udang segar yang mengandung kloramfenikol dengan menggunakan karbon dioksida fase superkritik. Pate ID 0020002 (29-10-2007). Fata Granted Paten Lembaga Penelitian Universitas Sriwijaya, Palembang.
 30. Rastogi,N.K., Raghavaro,K.S., Balasubramaniam,V.M., Niranjana K., Knoor,D. 2007. Opportunities and challenges in high pressure processing of foods. *Crit Rev Food Scie*

Nutr. 47 : 69 – 112.

31. Spilimbergo, S., Ferrentino, G., Balzan, S., Bertucco, A. 2012. Supercritical carbon dioxide inactivation of solid materials. University of Trento, Dept. of Material Eng. And Indus. Technol. Messiano, Trento Italy.
32. Valverde,M.T., Marin-Iniesta,F., Calvo,L. 2010. Inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* in conference pear with high pressure carbon dioxide and effects on pear quality. *J Food Eng.* 98 : 421 - 480
33. Xu,Z., Zhang, L., Wanga,Y., Bi,X., Buckow,R., Liao,X. 2011. Effects of high pressure CO₂ treatments on microflora, enzymes and some quality attributes of apple juice. *J Food Eng.* 104 : 577 – 584.
34. Bin Zhang, Lu-kai Ma, Shang-gui Deng, Chao Xie , Xiao-hua Qiu, Shelf-life of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) as affected by weakly acidic electrolyzed water ice-glazing and modified atmosphere packaging.
35. Food Control 51 (2015) 114-121).
36.
37.
38. dst.

Dokumen pendukung luaran Wajib #1

Luaran dijanjikan: Buku Hasil Penelitian

Target: sudah terbit

Dicapai: Review

Dokumen wajib diunggah:

1. Naskah buku hasil penelitian meliputi lembar yg memuat nama penulis dan daftar isi
2. Bukti sedang dalam proses review

Dokumen sudah diunggah:

1. Naskah buku hasil penelitian meliputi lembar yg memuat nama penulis dan daftar isi

Dokumen belum diunggah:

1. Bukti sedang dalam proses review

Judul Buku: Teknologi CO₂ Superkritis untuk Pengolahan Udang

Nama Penerbit: Pusaka Media

Website Penerbit:

ISBN:

Tahun Terbit:

Jumlah Halaman:

URL Buku:

Teknologi CO_2 Superkritis Untuk Pengolahan Udang

Teknologi pengolahan menggunakan karbondioksida superkritis merupakan teknologi tanpa panas, karena pada tekanan 1099 psi (7,4 MPa) dan suhu 31,1°C karbon dioksida berada dalam kondisi superkritis yang dicirikan dengan memiliki tegangan permukaan nol, kerapatan rendah seperti gas dan memiliki kelarutan tinggi sehingga mudah berdifusi dan terlarut dalam padatan dan mengakibatkan perubahan struktur senyawa penyusun suatu produk. Teknologi ini dapat diaplikasikan untuk mengolah udang mengingat udang mempunyai nilai keutamaan bagi kesehatan manusia terutama adanya asam lemak tidak jenuh, tinggi protein dan karotenoid (astaxantin) sebagai antioksidan, yang rentan terhadap proses pengolahan terutama penggunaan panas. Buku ini mengulas perubahan terhadap sifat kimia, fisik, dan fungsional udang yang diolah menggunakan CO_2 superkritis agar dapat diupayakan teknologi yang tepat untuk memperpanjang masa simpannya.



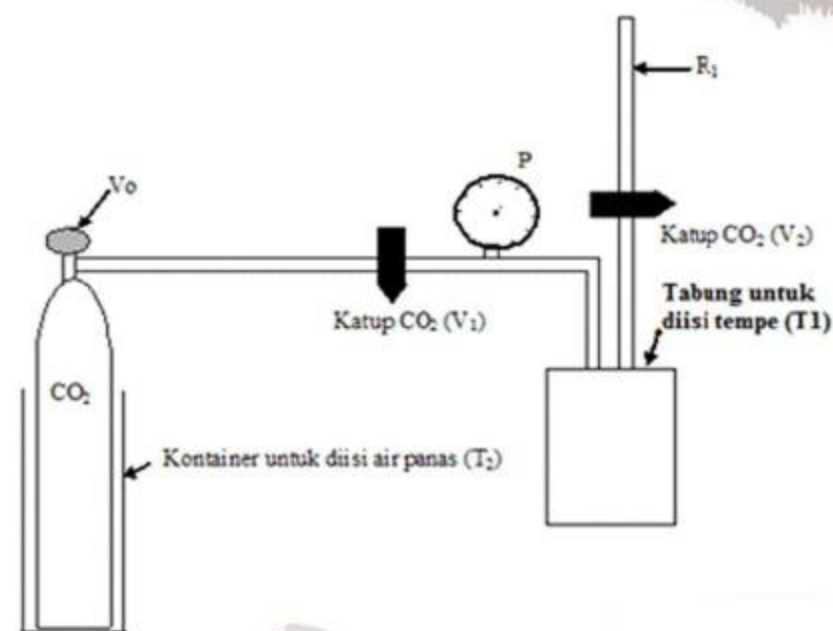
Dr. Dra. Maria Erna Kustyawati, M.Sc. adalah dosen di Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung. Ia telah menyelesaikan pendidikan S3 pada tahun 2014 bidang Teknologi Industri Pertanian di Universitas Sriwijaya Palembang dan bidang Food Microbiology di New South Wales University Sydney Australia. Pendidikan S2 tahun 1991 diperoleh dari Kansas State University Mahattan Kansas Amerika Serikat di bidang Food Microbiology setelah menyelesaikan pendidikan Sarjana S1 di Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta bidang kajian Endokrinologi-Histologi.

Fokus penelitian yang ditekuni antara lain aplikasi metode bacterial -like catalase untuk menghitung jumlah mikroba pembusuk pada makanan segar dan terfermentasi, aplikasi khamir sebagai agensia modifikasi dalam pengolahan produk pangan misalnya pada tempe, tapioca, kakao, kopi dan teknik pengolahan pangan menggunakan high pressure carbon dioxide.

Teknologi CO_2 Superkritis Untuk Pengolahan Udang

Maria Erna Kustyawati

Teknologi CO_2 Superkritis Untuk Pengolahan Udang



Maria Erna Kustyawati

Teknologi Co₂ Superkritis Untuk Pengolahan Udang

Hak cipta pada penulis
Hak penerbitan pada penerbit
Tidak boleh diproduksi sebagian atau seluruhnya dalam bentuk apapun
Tanpa izin tertulis dari pengarang dan/atau penerbit

Kutipan Pasal 72 :

Sanksi pelanggaran Undang-undang Hak Cipta (UU No. 10 Tahun 2012)

1. Barang siapa dengan sengaja dan tanpa hak melakukan perbuatan sebagaimana dimaksud dalam Pasal 2 ayat (1) atau Pasal (49) ayat (1) dan ayat (2) dipidana dengan pidana penjara masing-masing paling singkat 1 (satu) bulan dan/atau denda paling sedikit Rp. 1.000.000,00 (satu juta rupiah), atau pidana penjara paling lama 7 (tujuh) tahun dan atau denda paling banyak Rp. 5.000.000.000,00 (lima miliar rupiah)
2. Barang siapa dengan sengaja menyiarkan, memamerkan, mengedarkan, atau menjual kepada umum suatu Ciptaan atau hasil barang hasil pelanggaran Hak Cipta atau Hak Terkait sebagaimana dimaksud ayat (1) dipidana dengan pidana penjara paling lama 5 (lima) tahun dan/atau denda paling banyak Rp. 500.000.000,00 (lima ratus juta rupiah)

Teknologi Co₂ Superkritis Untuk Pengolahan Udang

Maria Erna Kustyawati



PUSAKA MEDIA

Perpustakaan Nasional RI:
Katalog Dalam Terbitan (KDT)

**TEKNOLOGI CO₂ SUPERKRITIS
UNTUK PENGOLAHAN UDANG**

Penulis

Maria Erna Kustyawati

Desain Cover & Layout
PusakaMedia Design

x + 73 hal : 15.5 x 23.5 cm
Cetakan November 2019

ISBN: 978-623-7560-16-6

Penerbit

Pusaka Media

Jl. Endro Suratmin, Pandawa Raya. No. 100
Korpri Jaya Sukarama Bandarlampung
082280035489

email : cspusakamedia@yahoo.com

Website : www.pusakamedia.com

Dilarang mengutip atau memperbanyak sebagian
atau seluruh isi buku ini tanpa izin tertulis dari penerbit

KATA PENGANTAR

Buku berjudul “TEKNOLOGI CO₂ SUPERKRITIS UNTUK PENGOLAHAN UDANG”, merupakan kumpulan hasil penelitian penulis dan diperkaya oleh beberapa penelitian lain yang berkaitan. Penelitian ini telah dilakukan sejak tahun 2010 hingga buku ini diterbitkan.

Teknologi CO₂ superkritis sebagai alternative teknologi pengolahan belum banyak diaplikasikan, walaupun teknologi ini telah lama digunakan untuk ekstraksi bahan terutama bahan alami yang mudah rusak oleh suhu tinggi dan yang bersifat non polar. Buku ini mengulas tentang inovasi teknologi CO₂ superkritis untuk pengolahan udang tanpa panas untuk meminimalkan kehilangan nilai nutrisi dan fungsional mempertahankan sifat kesegaran sehingga meningkatkan nilai konsumen. Fokus tulisan pada bab 1 dan 2 mengenai udang dan permasalahannya, bab 3 mengenai solusi permasalahan dan inovasi, bab 4 dan 5 perubahan fisik, kimia, mikrobiologi udang oleh CO₂ superkritis dan bab 6 kesimpulan. Buku ini diharapkan menjadi buku acuan bagi yang ingin mempelajari teknologi superkritis CO₂ lebih lanjut dan dapat menambah wawasan untuk memperkaya ilmu pengetahuan. Penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Kemenristekdikti untuk Hibah Penelitian Dasar DRPM-RistekDikti dengan No kontrak:065/SP2H/LT/DRPM/2019, untuk penulisan buku ini.
2. Laboratorium Teknologi Undustri Pangan, Universitas Sriwijaya, Palembang dan sodari Hapsah, ST., M.Sc yang meminjami unit alat CO₂ superkritis dan membantu proses penelitian.

3. Prof. Filli Pratama, MS.Hon., Ph.D dan Prof. Daniel Saputra, M.Sc., Ph.D yang telah memberi saran dan diskusi dalam penelitian.
4. Prof. Drs. Ag. Bambang Setiyadi, Ph.D dari LP2M Unila yang telah mereview format penulisan buku.

Buku ini belum sempurna, sehingga saran untuk perbaikan sangat diharapkan.

Penulis

TEKNOLOGI CO₂ SUPERKRITIS UNTUK PENGOLAHAN UDANG

ABSTRAK

Pada era kini pengolahan tanpa panas menjadi pusat perhatian bagi pelaku industri pangan, ilmuwan maupun konsumen yang mengutamakan sifat alami produk meliputi kesegaran, nilai gizi, dan sifat fungsionalnya. Teknologi pengolahan menggunakan karbondioksida superkritis merupakan teknologi tanpa panas, karena pada tekanan 1099 psi (7,4 MPa) dan suhu 31,1°C karbon dioksida berada dalam kondisi superkritis yang dicirikan dengan memiliki tegangan permukaan nol, kerapatan rendah seperti gas dan memiliki kelarutan tinggi sehingga mudah berdifusi dan terlarut dalam padatan dan mengakibatkan perubahan struktur senyawa penyusun suatu produk. Semula, teknologi karbon dioksida superkritis digunakan sebagai metode ekstraksi untuk memisahkan komponen-komponen dalam suatu cairan atau padatan menggunakan CO₂ sebagai pelarut. Namun, baru baru ini telah ditemukan bahwa teknologi CO₂ superkritis maupun subkritis CO₂ dapat diterapkan sebagai metode pengolahan tanpa panas untuk produk pangan maupun minuman. Udang mempunyai nilai keutamaan bagi kesehatan manusia terutama adanya asam lemak tidak jenuh, tinggi protein dan karotenoid (astaxantin) sebagai antioksidan, sehingga sangat rentan terhadap proses pengolahan terutama penggunaan panas. Aplikasi teknologi superkritis dan subkritis CO₂ sebagai pengolahan tanpa panas pada udang dikaji di dalam buku ini meliputi perubahan terhadap sifat kimia, fisik, dan fungsional agar dapat diupayakan teknologi yang tepat untuk memperpanjang masa simpannya.

Kata kunci: CO₂ superkritis, CO₂ subkritis, perubahan fisik, kimia, aroma udang.

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
Bab 1. PENDAHULUAN	1
Bab 2. KEMUNDURAN MUTU UDANG	3
2.1. Kerusakan Mutu Udang	3
2.2. Kerusakan Nilai Gizi Udang	5
Bab 3. TEKNOLOGI KARBON DIOKSIDA SUPERKRITIS	7
3.1. Proses Pengolahan CO ₂ Superkritis	8
3.2. Mekanisme CO ₂ Bertekanan Tinggi	9
3.3. Sistem Dalam Pengolahan CO ₂ Bertekanan Tinggi	10
Bab 4. KEUTAMAAN UDANG	12
4.1. Nilai Gizi Udang	12
4.2. Senyawa Bioaktif Udang	13
4.3. Pengolahan Pangan	18
4.4. Pengolahan dengan CO ₂ Superkritis	20
4.5. Sifat Karbon Dioksida Superkritis	23
4.6. Prinsip dan Mekanisme Pengolahan CO ₂ Superkritis	28
4.7. Pengawetan Udang	29
Bab 5. APLIKASI TEKNOLOGI KARBON DIOKSIDA SUPERKRITIS UNTUK PENGOLAHAN UDANG	33
5.1. Perubahan Sifat Fisik, Kimia, Mikrobiologi Udang oleh Pengolahan CO ₂ Superkritis Warn Tekstur Aroma Mikrobiologi Proksimat Kolesterol	33
BAB 6. RINGKASAN	66
DAFTAR PUSTAKA	68
GLOSARIUM	72

DAFTAR TABEL

1.	Sifat fisik gas, cair dan fluida superkritis karbon dioksida...	25
2.	Suhu dan tekanan kritis beberapa pelarut dalam fluida superkritis	25
3.	Senyawa volatile aroma pada udang tanpa pengolahan dan Udang dengan pengolahan CO ₂ superkritis	42
4.	Penurunan jumlah bakteri dan kapang dipengaruhi oleh tekanan dan lama waktu proses	48
5.	Kadar proksimat bahan pangan tempe yang diolah menggunakan CO ₂ tekanan tinggi.....	57
6.	Perubahan nilai kadar proksimat udang (<i>Litopenaeus vannamei</i>) setelah diproses dengan CO ₂ tekanan tinggi.....	57
7.	Efek tekanan dan suhu pengolahan CO ₂ subkritis terhadap kolesterol udang.....	60
8.	Nilai gizi udang per 100g daging udang yang bisa dimakan	61
9.	Efek Tekanan dan lama proses pengolahan CO ₂ superkritis terhadap kadar vitamin B pada tempe	64

DAFTAR GAMBAR

1.	Unit alat untuk pemrosesan udang menggunakan superkritis karbon dioksida	8
2.	Rumusan masalah dan novelty:	
	a. Diagram karbondioksida pada suhu dan tekanan berbeda.....	26
	b. Diagram Fase CO ₂ pada Tekanan dan Suhu yang berbeda.....	26
3.	Perubahan struktur udang setelah pengolahan menggunakan CO ₂ tekanan tinggi, A. Udang kontrol (tanpa pengolahan), B. Udang dengan pengoahan pada tekanan 900psi selama 10 menit,C. Udang dengan pengolahan pada tekanan 950psi selama 10 menit, D. Udang dengan pengolahan pada tekanan 1100psi selama 10 menit.....	35
4.	Warna tempe yang diolah dengan subkritis CO ₂ (6,3MPa, 10menit) memiliki miselium dan warna kedelai yang menonjol dibanding warna tempe biasa putih	40
5.	Perbedaan mikrostruktur matrik tempe tanpa dan dengan pengolahan subkritis CO ₂ yang ditunjukkan dengan SEM pada pembesaran 5000x irisan melintang tempe	40
6.	Perubahan senyawa dalam tempe dengan pengolahan CO ₂ superkritis	47
7.	Perbedaan penampang melintang dinding sel hifa R.oligosporus pada Tempe tanpa dan dengan pengolahan CO ₂ superkritis	53

BAB I

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara kepulauan yang memiliki hasil laut yang melimpah. Udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) merupakan salah satu jenis komoditi hasil laut utama yang sangat disukai oleh masyarakat dalam dan luar negeri. Udang sangat cocok untuk perairan Indonesia karena kondisi habitat terumbu karang yang tumbuh subur serta suhu rata-rata 28°C yang memungkinkan udang untuk bertumbuh dan berkembangbiak, seperti udang karang. Beberapa jenis udang yang telah diidentifikasi adalah udang Kentangan (*Panulirus ornatus*), udang batu (*Panulirus penicillatus*), udang Pantung (*Panulirus homarus*) udang Kendal (*Panulirus versicolor*). Udang dikatakan segar dilihat berdasarkan warnanya yang cerah, mata bulat, hitam, mengkilat, kulitnya melekat kuat pada daging, tidak berlendir, daging padat, elastis dan tidak berbau busuk. Udang memiliki nilai gizi tinggi dan fungsional penting bagi kesehatan manusia, sehingga mudah rusak dan mengalami penurunan kualitas serta mempunyai umur simpan yang singkat. Penurunan kualitas udang menyebabkan penurunan penerimaan konsumen karena adanya penurunan nilai-nilai sensori, meliputi warna, tekstur, bau, dan kenampakan.

Udang sebagai salah satu organisme dari famili Crustacea yang kaya senyawa bioaktif penting bagi kesehatan manusia. Udang mengandung senyawa bioaktif seperti omega-3, mineral, lemak, kitin, karotenoid (astaksantin) serta vitamin. Senyawa bioaktif ini mempunyai kemampuan mencegah penyakit pada tubuh serta dapat memenuhi kebutuhan nutrisi. Protein adalah makromolekul yang tersusun atas asam amino yang terdapat dalam semua makhluk

hidup baik tingkat rendah maupun tinggi dengan fungsi sebagai katalisator, pengangkut, dan penyimpan molekul lain. Makanan laut seperti ikan dan udang merupakan sumber makanan yang kaya akan asam amino. Asam amino yang umumnya terdapat pada udang adalah asam glutamat, asam aspartat, arginin, lisin, leusin, glisin dan alanin. Udang mengandung banyak nutrisi, sehingga mudah rusak dan akan mengalami penurunan kualitas serta mempunyai umur simpan yang singkat. Kemunduran mutu menyebabkan penurunan penerimaan konsumen karena adanya penurunan nilai-nilai sensori, misalnya warna, tekstur, bau, dan kenampakan. Udang dikonsumsi setelah mengalami pemasakan dan penambahan bumbu kecuali bila dikonsumsi sebagai sushi dan sashimi. Pemasakan atau perebusan bahan makanan akan mempengaruhi kelarutan nilai gizi bahan makanan tersebut, termasuk kandungan protein, vitamin, dan komponen bioaktifnya. Memperhatikan semua proses dan tahap pengolahan merupakan suatu langkah efektif untuk menghindarkan produk dari berbagai kemungkinan yang merusak kualitas produk. Oleh karena itu, perlu pengetahuan tentang perubahan komponen makromolekul dan mikromolekul udang yang dapat diakibatkan oleh adanya proses pengolahan. Hal ini penting dilakukan dalam upaya menentukan metode pengolahan yang tepat untuk meningkatkan masa simpan udang dan daya terima konsumen.

BAB II

KEMUNDURAN MUTU UDANG

2.1. Kerusakan Mutu Udang

Udang mengandung banyak nutrisi, sehingga mudah rusak dan akan mengalami penurunan kualitas serta mempunyai umur simpan yang singkat. Kemunduran mutu menyebabkan penurunan penerimaan konsumen karena adanya penurunan nilai-nilai sensori, misalnya warna, tekstur, bau, dan kenampakan. Udang dikonsumsi setelah mengalami pemasakan dan penambahan bumbu kecuali bila dikonsumsi sebagai sushi dan sashimi. Pemasakan atau perebusan bahan makanan akan mempengaruhi kelarutan nilai gizi bahan makanan tersebut, termasuk kandungan protein, vitamin, dan komponen bioaktifnya.

Di dalam bahan pangan zat gizi makro dan mikro tidak berdiri sendiri melainkan saling berdampingan dan berkaitan, misalnya pada daging, selain terkandung protein juga lemak dan karbohidrat serta beberapa mikro nutrient lainnya seperti vitamin dan mineral. Semua bahan mentah merupakan komoditas yang mudah rusak, sejak dipanen, bahan pangan mentah baik tanaman maupun hewan akan mengalami kerusakan melalui serangkaian reaksi biokimiawi. Salah satu faktor utama kerusakan bahan pangan adalah kandungan air aktif secara biologis dalam jaringan.

Kerusakan pada udang meliputi kerusakan fisik yaitu kaki dan punggung yang patah, kerusakan kimiawi karena adanya aktivitas enzim polifenolase yang menyebabkan black spot dan kerusakan mikrobiologis yang disebabkan oleh mikroorganisme seperti *Salmonella* sp, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan sebagainya. Kemunduran mutu pada udang sangat erat kaitannya dengan melanosis atau blackspot dan mikroba pembusuk. Pembentukan melanosis atau blackspot merupakan perubahan

warna yang terjadi karena adanya reaksi enzimatik oleh enzim polyphenoloxidase. Pembentukan melanosis atau blackspot dapat mempengaruhi parameter warna dan mempengaruhi penerimaan konsumen. Proses kemunduran mutu udang dapat disebabkan oleh adanya reaksi autolisis yaitu dapat dipengaruhi oleh adanya aktivitas enzim, aktivitas bakteri, dan reaksi kimiawi pada saat penyimpanan. Proses kemunduran mutu udang secara kimiawi dapat dilihat melalui nilai derajat keasaman (pH), nilai total volatile base (TVB), dan kandungan indol. Proses kemunduran mutu secara mikrobiologis berkaitan dengan jumlah total mikroba dan bakteri pembusuk atau bakteri kontaminan penyebab kerusakan pada udang.

Pengolahan bahan pangan merupakan perubahan bentuk asli kedalam bentuk yang mendekati bentuk untuk dapat segera dimakan. Salah satu proses pengolahan bahan pangan adalah menggunakan pemanasan. Pengolahan pangan dengan menggunakan pemanasan dikenal dengan proses pemasakan yaitu proses pemanasan bahan pangan dengan suhu 100°C atau lebih dengan tujuan utama adalah memperoleh rasa yang lebih enak, aroma yang lebih baik, tekstur yang lebih lunak, untuk membunuh mikroba dan menginaktifkan semua enzim. Dalam banyak hal, proses pemasakan diperlukan sebelum kita mengonsumsi suatu makanan. Pemasakan dapat dilakukan dengan perebusan dan pengukusan (boiling dan steaming pada suhu 100°C), broiling (pemanggangan daging), baking (pemanggangan roti), roasting (pengsangraian) dan frying (penggorengan dengan minyak) dengan suhu antara 150°C - 300°C . Penggunaan panas dalam proses pemasakan sangat berpengaruh pada nilai gizi bahan pangan tersebut.

Proses pengolahan udang dengan panas dapat mengakibatkan kerusakan pada protein, senyawa bioaktif dan kinerja enzim udang. Proses pemasakan bahan pangan dengan menggunakan panas menyebabkan penurunan kadar zat gizi bahan pangan tersebut dibandingkan bahan mentahnya. Tinggi atau rendahnya penurunan kandungan gizi suatu bahan pangan akibat pemasakan tergantung dari jenis bahan pangan, suhu yang digunakan dan lamanya proses

pemasakan. Proses menggoreng menyebabkan penurunan kandungan gizi yang sangat signifikan karena penggorengan menggunakan suhu yang tinggi sehingga zat gizi seperti protein mengalami kerusakan. Sedangkan proses perebusan menyebabkan berkurangnya kandungan zat gizi karena banyak zat gizi terlarut dalam air rebusan. Semua cara masak atau pengolahan makanan juga dapat mengurangi kandungan gizi makanan. Secara khusus, memaparkan bahan makanan kepada panas yang tinggi, cahaya, dan atau oksigen akan menyebabkan kehilangan zat gizi yang besar pada makanan. Zat gizi juga dapat tercuci keluar oleh air yang digunakan untuk memasak. Proses pemasakan dengan menggoreng termasuk paling sering dilakukan. Suhu menggoreng biasanya mencapai 160⁰ C, oleh karena itu sebagian zat gizi diperkirakan akan rusak, diantaranya vitamin dan protein. Penurunan mineral berkisar antara 5-40%, terutama kalsium, yodium, seng, selenium dan zat besi.

Oleh karena itu suatu metode alternative pengolahan udang tanpa merusak nilai gizi dan komponen bioaktif, namun memberikan keamanan produk dan mempertahankan citarasa sebagaimana yang diharapkan konsumen perlu dikembangkan.

2.2. Kerusakan Nilai Gizi Udang

Pengolahan pangan menggunakan teknologi superkritis karbon dioksida merupakan sebuah novelty terhadap perkembangan teknologi pengolahan udang, hal ini karena tanpa keterlibatan panas dalam proses. Salah satu teknologi pengolahan tanpa menggunakan panas adalah penggunaan karbon dioksida bertekanan tinggi. Teknologi tanpa panas karbon dioksida bertekanan tinggi merupakan pengolahan untuk dapat mempertahankan kualitas kesegaran, gizi, dan fungsional produk walaupun dapat mempengaruhi senyawa nonpolar dan senyawa dengan ikatan non kovalen pada komponen makro dan mikromolekul produk. Teknologi superkritis karbondioksida menjadi salah satu alternatif metode pengolahan karena mempunyai kelebihan yaitu antara dapat mematikan mikroorganisme dan menginaktifkan enzim dalam pangan tanpa menggunakan panas sehingga karakteristik kesegaran, nutrisii terutama protein dan komponen bioaktif lemak tidak jenuh

serta komponen volatile aroma yang mudah rusak oleh panas dapat dipertahankan, sekaligus diharapkan dapat memperpanjang masa simpan. Teknologi superkritis CO₂ menjadi salah satu solusi untuk mengatasi pangan maupun bahan pangan yang mudah rusak selama pengolahan sehingga dapat memperpanjang masa simpan pangan tersebut pada kondisi tertentu. Kebutuhan konsumen akan pangan tidak hanya dari segi kesehatan dan keamanan pangan saja tetapi pangan dengan pengolahan minimal (*minimally processed foods*) yang dapat mempertahankan kualitas kesegaran dan cita rasa pada lama penyimpanan tertentu juga menjadi perhatian konsumen.

Beberapa penelitian Calvo and Torres (2010; Valverde et al. (2010) telah menerapkan teknologi karbon dioksida bertekanan tinggi untuk mengawetkan produk buah, sayur dan susu segar. Pengawetan dengan karbon dioksida bertekanan tinggi dapat mempertahankan warna, tekstur, dan aroma produk sekaligus mengurangi jumlah bakteri, sehingga masa simpan produk dapat diperpanjang (Kadam et al., 2012). Disamping itu, penerapan karbon dioksida bertekanan tinggi dalam produk pangan tidak berbahaya, tidak beracun dan tidak meninggalkan residu. Teknologi karbondioksida superkritis menjadi salah satu alternatif metode pengolahan karena mempunyai kelebihan dapat mematikan mikroorganisme dan menginaktifkan enzim dalam udang tanpa menggunakan panas, sehingga karakteristik kesegaran, nutrisi terutama protein dan asam lemak tidak jenuh yang mudah rusak oleh panas dapat dipertahankan. Oleh karena itu aplikasi pengolahan CO₂ superkritis untuk udang dapat dilakukan pada tekanan, suhu, dan lama waktu pengolahan tertentu dalam upaya meminimalkan perubahan dalam komponen pangan udang. Perubahan dapat terjadi terhadap sifat fisik terutama warna dan tekstur serta aroma udang setelah pengolahan tanpa panas, sifat kimia terutama kadar air, protein dan lemak, serta komponen bioaktif udang seperti karotenoid (*astaxanthin*) dan asam lemak omega 3, serta kandungan kolesterol udang. Mengingat CO₂ superkritis memiliki sifat non polar dan sedikit polar maka hanya terdapat perubahan yang tidak signifikan terhadap komponen pangan polar.

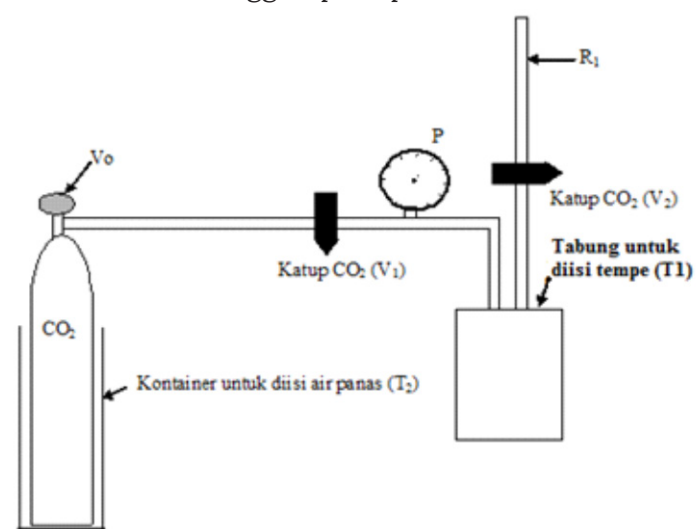
BAB III

TEKNOLOGI KARBON DIOKSIDA SUPERKRITIS

Teknologi karbon dioksida bertekanan tinggi berpotensi sebagai teknologi untuk mempertahankan kesegaran disamping keamanan pangan mudah rusak merupakan salah satu solusi pengolahan udang. Kelebihan utama dari teknologi bertekanan tinggi CO₂ adalah mampu mengolah makanan pada suhu ambient atau lebih rendah, mampu memancarkan tekanan secara cepat dan seragam keseluruh sistem tanpa memperhatikan ukuran dan geometri, dan dapat digunakan untuk membuat inovasi ingredien pangan yang bersifat fungsional. Perlakuan bertekanan tinggi pada umumnya akan merusak ikatan kovalen di dalam molekul jika diberi tekanan yang besar. Oleh karena itu berbeda dengan perlakuan yang mendayagunakan panas, penerapan karbondioksida bertekanan tinggi tidak merusak kandungan nutrisi, flavor, rasa, warna, dan kandungan vitamin, dan bahan pangan. Komponen mikromolekul bahan pangan meliputi asam amino, vitamin, dan komponen aroma tidak rusak oleh karbondioksida bertekanan tinggi, tetapi protein, enzim, polisakarida, dan asam nukleat yang tergolong komponen makromolekul pangan akan mengalami perubahan struktur. Mengingat CO₂ superkritis memiliki sifat non polar dan sedikit polar maka hanya terdapat perubahan yang tidak signifikan terhadap komponen pangan polar.

Unit peralatan karbon dioksida bertekanan tinggi untuk prosesing bahan pangan (tempe, udang) yaitu terdiri dari tabung baja tahan tekanan tinggi, tabung gas karbon dioksida, jaket pemanas, dan pipa baja tahan tekanan tinggi.

Diagram peralatan untuk proses perlakuan dengan karbon dioksida bertekanan tinggi seperti pada Gambar



Gambar 1. Satu unit alat untuk pemrosesan udang menggunakan superkritik karbon dioksida.

3.1. Proses Pengolahan CO₂ Superkritik

Proses pengolahan pangan dengan gas CO₂ bertekanan tinggi seperti yang diterangkan oleh Kustyawati et al. (2015) adalah sebagai berikut: udang ukuran 25 diletakkan ke dalam tabung tekan secara aseptis yaitu menggunakan alkohol 70% sebagai desinfeksi peralatan dan tempat pemrosesan udang. Tabung tekan ditutup rapat dengan memperhatikan karet seal pada tutup tabung yang berfungsi menciptakan kondisi tabung rapat vakum. Selanjutnya, aliran gas CO₂ dimasukkan sampai tekanan mencapai tekanan 900, 950 dan 1100 psi dengan mengatur suhu. Tekanan dilakukan selama 5, 10, dan 15 menit, kemudian gas dilepas dari tabung dengan membuka katup secara perlahan-lahan untuk menghindari kerusakan tempe dan menahan aroma tempe. Tempe kemudian dikeluarkan dari tabung tekan dan dianalisis. Dalam penelitian ini diperlukan waktu 2 hingga 3 menit untuk membebaskan tekanan dari dalam tabung. Tempe kemudian dikeluarkan dari tabung tekan dan disimpan dalam suhu refrigerator untuk dianalisa kimia, sedangkan tempe segera diamati

untuk analisa warna, tekstur, mikrobiologi, mikrostruktur, dan proksimat, serta organoleptik. Suhu dan tekanan karbon dioksida bertekanan tinggi diatur dengan menambahkan air panas atau es sebagai berikut: pada suhu $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, tekanan gas CO_2 pada 900 psi (6,3MPa), suhu $27\pm 2^{\circ}\text{C}$ tekanan gas CO_2 950 psi (6,6MPa) dan untuk mencapai tekanan 1100 Psi (7,6MPa) suhu dinaikkan sampai $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ dengan menambahkan air panas ke dalam kontainer. Sebaliknya untuk menurunkan suhu ditambahkan es ke dalam kontainer.

Penentuan tekanan pada suhu tertentu dan waktu perlakuan berdasarkan pada beberapa penelitian yang dilakukan pada pengolahan tempeh (Kustyawati et al., 2016). Karbon dioksida dalam fase superkritis pada tekanan 7,35 MPa/1099psi, suhu $31,1^{\circ}\text{C}$, sementara pada tekanan dan suhu di bawah fase superkritis adalah subkritis (Gambar 1). Pada pengolahan udang menggunakan beberapa variasi tekanan dan suhu yaitu 1100 psi/7,6 MPa dengan suhu 35°C , 950 psi dengan suhu 29°C , dan 900 psi/ 6,3 MPa dengan suhu 25°C .

3.2. Mekanisme Pengolahan CO_2 Superkritis

Mekanisme proses CO_2 bertekanan tinggi melibatkan sebuah tahapan pasturisasi menggunakan CO_2 dengan mengatur lama waktu penetrasi CO_2 ke dalam sel mikroorganisme, dan diikuti suatu dekompresi secara tiba tiba sehingga menimbulkan suatu ledakan. Dekompresi ledakan ini hasil dari ekspansi gas yang cepat dalam sel mikroba. Suhu untuk proses pasturisasi dengan CO_2 tekanan tinggi berkisar 20°C hingga 60°C untuk menghindari kerusakan termal terhadap makanan olahan, sementara rentang tekanan proses antara 7,0 MPa untuk 40,06 MPa. Kenaikan suhu yang disebabkan oleh tekanan yang ditingkatkan hampir nol karena tekanan yang relatif rendah yang terlibat dalam proses. Lama waktu perlakuan pengolahan berkisar dari sekitar 3 dan 9 menit hingga sekitar 120 dan 140 menit tergantung pada tipe peralatan HPCD, yaitu tipe kontinyu, semi-kontinyu atau batch. Lama waktu perlakuan juga tergantung pada jenis makanan yang sedang diproses.

Beberapa tahapan/langkah dalam proses inaktivasi sel mikroorganisme dengan CO_2 tekanan tinggi dapat disederhanakan

seperti di bawah ini. Langkah-langkah ini tidak terjadi secara berurutan selama proses tetapi akan berlangsung serentak dalam kompleks dan dengan cara yang saling terkait. (1) Pelarutan CO_2 bertekanan di luar fase cair, (2) Modifikasi membran sel, (3) Penurunan pH intraseluler, (4) Inaktivasi enzim kunci/ penghambatan metabolisme sel karena penurunan pH internal, (5) efek (penghambatan) langsung CO_2 molekuler dan HCO_3^- pada metabolisme, (6) Gangguan keseimbangan elektrolit intraseluler, (7) pemindahan konstituen vital dari sel dan sel membrane.

Pelarutan CO_2 bertekanan di luar fase cair, dalam makanan dengan kadar air tinggi, CO_2 (yang terdapat dalam headspace reactor) dapat terlarut dalam air untuk membentuk asam karbonat (H_2CO_3) yang berdisosiasi menjadi bikarbonat, karbonat dan spesies ion hidrogen. Air bersentuhan dengan CO_2 bertekanan umumnya menjadi asam karena pembentukan dan disosiasi H_2CO_3 , yang membebaskan H^+ ion. Menurunnya pH ekstraseluler dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Hal ini juga dapat menurunkan resistensi mikroba terhadap inaktivasi karena konsumsi energi meningkat mempertahankan pH homeostasis.

3.3. Sistem dalam Pengolahan CO_2 Superkritis

Beberapa system untuk pengolahan menggunakan CO_2 bertekanan tinggi adalah meliputi system batch, dan system Continuous micro-bubble.

System Batch. Pada system Batch, sampel diletakkan ke dalam tabung bertekanan dan dilakukan pengaturan suhu gas CO_2 sesuai yang diperlukan. Selanjutnya, gas CO_2 dialirkan ke dalam tabung bertekanan melalui pipa baja hingga seluruh sampel berada pada kondisi jenuh dengan cara mengatur suhu dan tekanan pada instrument atau unit pengolahan CO_2 bertekanan tinggi. Sampel dibiarkan di dalam tabung bertekanan selama periode waktu tertentu sesuai yang diperlukan, selanjutnya pipa outlet dibuka untuk membebaskan gas CO_2 . Beberapa instrument CO_2 bertekanan tinggi memiliki agitator untuk mengurangi waktu yang diperlukan sampel hingga mencapai jenuh dengan CO_2 .

Sistem Continuous micro-buble. Pada system ini larutan campuran CO₂ dan garam dialirkan ke dalam tabung bertekanan melalui pipa baja. Sebuah evaporator digunakan untuk mengkonversi CO₂ liquid menjadi gas dan kemudian didispersikan ke dalam larutan garam dari filter baja dengan ukuran pori pori 10µm. Gelembung mikro bergerak ke atas bersamaan dengan proses pelarutan ke dalam larutan garam. Kemudian, larutan garam yang telah jenuh dengan CO₂ dialirkan melalui pemanas hingga mencapai suhu yang diinginkan dan suspensi mikroorganisme dipompa ke tabung berisi larutan garam jenuh CO₂. Sebuah kumparan lain dengan pemanas digunakan untuk menyesuaikan waktu tinggal.

BAB IV

KEUTAMAAN UDANG

4.1. Nilai Gizi Udang

Udang sebagai salah satu organisme dari kelompok crustacea yang kaya senyawa aktif, penting bagi kesehatan manusia. Udang mengandung senyawa aktif seperti omega-3, mineral, lemak, sitin, karotenoid (astaksantin) serta vitamin. Senyawa aktif ini mempunyai kemampuan mencegah penyakit pada tubuh serta dapat memenuhi kebutuhan nutrisi tubuh. Omega-3 dan astaksantin misalnya adalah dua senyawa aktif yang sebagian besar terkandung dalam udang. Senyawa tersebut berperan sebagai antioksidan serta penangkal radikal bebas, sebagai suplemen penting untuk ibu hamil dan bayi. Omega-3 dan astaksantin tersedia dalam berbagai jenis udang serta ikan. Dengan adanya senyawa aktif yang tersedia terutama dalam udang maka dalam pengembangan produk pangan, senyawa dan organisme ini diambil untuk pembuatan berbagai produk pangan seperti suplemen, margarin, yogurt, kue, saos, roti, kerupuk, tepung, serta garam.

Pada udang terkandung senyawa aktif yang bermanfaat bagi manusia. Senyawa aktif memiliki peran penting untuk kesehatan, pertumbuhan dan perkembangan tubuh manusia. Senyawa aktif seperti asam lemak (omega-3 dan omega-6) pada udang dan ikan bermanfaat untuk perkembangan otak anak, untuk bayi, untuk ibu hamil. Dalam udang terkandung senyawa aktif yang dapat ditemukan adalah kitosan, mineral, lipid, karotenoid, protein memiliki nilai ekonomis yang tinggi dan sumber senyawa aktif tertinggi untuk golongan asam amino. Diantara senyawa aktif seperti omega-3, omega-6 serta kitosa, dalam udang terdapat senyawa astaksantin sebagai protein karotenoid yang terkandung dalam kulit udang.

Astaksantin adalah jenis karotenoid yang banyak terkandung dalam salmon dan krustacea dengan memberikan karakteristik warna merah muda pada spesies itu. Astaksantin juga dapat diperoleh dalam *Haematococcus pluvialis* merupakan spesies air tawar dari ganggang hijau yang banyak mengandung astaksantin dengan memiliki sifat sebagai antioksidan yang kuat, serta aplikasinya luas dalam akuakultur, berbagai obatobatan, pakan dan kosmetik (Wayama et al., 2013). Pemanfaatan senyawa aktif udang sebagai penunjang kebutuhan pangan dapat diketahui oleh adanya berbagai macam produk olahan udang seperti suplemen, kosmetik, bioteknologi dan obat obatan. Senyawa aktif pada udang meliputi asam amino esensial, komposisi lemak, makro mineral, dan mikro mineral, karotenoid (β -karoten, astaksantin).

4.2. Senyawa Bioaktif Udang

Definisi senyawa aktif. Senyawa aktif merupakan zat yang menunjukkan aktivitas biologis, memiliki kemampuan untuk mencegah masalah kesehatan dan menjaga kesehatan manusia misalnya antioksi dan inhibitor. Senyawa aktif dalam udang merupakan komponen yang memiliki peran penting dalam metabolisme organism tidak hanya bagi udang, namun untuk organisme secara keseluruhan. Senyawa aktif dari udang memiliki nilai kesehatan dan gizi yang sangat baik untuk tubuh manusia.

Asam Lemak Omega-3 (Ω -3 (Pufa)

Asam lemak (omega-3) adalah golongan penting dari asam lemak tak jenuh ganda esensial yang sangat penting untuk kesehatan. Omega-3 adalah asam eicosapentaenoic yang memiliki efek baik bagi kesehatan, dibutuhkan tubuh untuk pertumbuhan otak, kesehatan mata, dan perkembangan janin. Asam lemak ini banyak terdapat dalam salmon, sarden, trout, herring, kenari, minyak biji rami, udang, kerang, tuna, lele, dan bayam (Qi et al. (2010). Dalam sebuah penelitian baru, menemukan bahwa sumber omega-3 terdapat pada genus *Schizochytrium*, *Thraustochytrium* dan *Ulkenia* organisme bersel satu (Armenta et al., 2013). Namun perlu digaris bawahi bahwa belum diketahui secara detail tentang

dosis atau batas konsumsi udang bagi penderita penyakit jantungan, dan kolesterol. Hal ini sangat perlu dijelaskan karena dalam Bergmann et al. (2007) mengatakan bahwa asam lemak tak jenuh (DHA) mampu menurunkan resiko obesitas serta mampu mengatur pertumbuhan dan perkembangan organ, jaringan anak dengan maksimal terutama untuk perkembangan otak anak serta turut berperan dalam mengatur dan menurunkan LDL. Disisi lain Silva et al. (2007) bahwa asam lemak tak jenuh ini dapat menyebabkan tinggi kolesterol. Oleh karena itu diperlukan adanya penetapan dosis konsumsi bagi masing-masing manusia berdasarkan kondisi kesehatannya. Omega-3 Asam docosahexaenoic (DHA) dan Asam eicosapentaenoic (EPA) dapat meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan kognitif bayi, anak-anak, ibu hamil, serta mengurangi risiko penyakit kardiovaskular. Omega3 dari ikan dan udang meningkatkan neurodevelopment janin. Asam lemak tak jenuh eicosapentanoic acid (EPA) dan asam docosahexanoic (DHA) juga mampu menghambat agregasi trombosit, berperan besar dalam sistem reproduksi organisme jantan. Omega-3 memiliki andil dalam kepadatan, motilitas, pengembangan testis, struktur morfologi sperma sehingga meningkatkan kinerja reproduksi, yang mungkin akan terkait dengan perubahan dalam metabolisme hormon. Selain itu, Omega-3 juga menunjukkan potensi melindungi kulit dari radiasi sinar ultraviolet. n-3 PUFA mengatur proses seluler dan akhirnya menjaga kesehatan kulit manusia (Pilkington et al., 2011). Omega-3 memiliki fungsi biologis dimana DHA dan EPA dapat membantu proses tumbuh-kembangnya otak (kecerdasan), perkembangan indra penglihatan, dan sistim kekebalan tubuh bayi, balita. Lafourcade et al. (2011) mengemukakan omega-3 sebagai sumber nutrisi memiliki peran menjaga keseimbangan reaksi biokimia dalam tubuh seperti kekurangan omega-3 yang dapat memicu penyakit neuropsikiatri. Omega-3 juga mempunyai peran biologis sebagai anti inflamasi (Mobraten et al., 2013). Asam lemak tak jenuh ganda (LCPFA) dari krill bermanfaat bagi kesehatan seperti mekanisme anti trombotik, anti arhythmic, dan anti-inflamasi yang terkait dengan asam eicosapentaenoic tinggi (EPA) dan docosahexaenoic acid (DHA) yang efek sampingnya perut kembung, diare. Ada dua hal

yang ingin disampaikan dalam kaitan dengan peran serta tingkat konsumsi omega-3 dari laut sebagai sumber nutrisi. Yang pertama sangat benar asam lemak tak jenuh (omega-3 dan omega-6) dari makanan laut sangat penting atau peran vital untuk kesehatan, ibu hamil, bayi, serta anak-anak. Dampak kekurangan asupan asam lemak omega tiga adalah meningkatnya angka kekurangan gizi bagi anak dan ibu hamil bahkan menyebabkan terjadi kematian. Hal kedua yang ingin disampaikan bahwa pemanfaatan hasil laut untuk pangan dalam kategori udang dan ikan secara prosedur belum berpatokan pada standar mutu yang mungkin terjadi di Indonesia saat ini. Peristiwa ini jika dibiarkan berlanjut akan terjadi akumulasi bahan kimia beracun dalam hasil tangkapan laut yang dapat menyebabkan masalah kesehatan bagi konsumen. Penulis ingin menekankan bahwa para konsumen harus jeli saat memilih udang. Sebab sebagian udang mungkin terkontaminasi dengan limbah. Pengaruh buruk ini semakin menjadi lebih berbahaya apabila dalam organisme yang dijadikan bahan makanan terkontaminasi dengan (Hg) dalam konsentrasi tinggi. Jika terkontaminasi dengan (Hg) dalam konsentrasi tinggi, sangat jelas berbahaya untuk kesehatan manusia. Walaupun omega-3 PUFA mampu menetralkan (Hg) namun kadar pencemaran perairan dapat diukur pada udang.

Astaksantin

Karotenoid merupakan suatu kelompok pikmen organik bewarna kuning orange, atau merah orange yang terjadi secara alamiah dalam tumbuhan fotosintesis, ganggang. Menurut Yang et al. (2011) astaksantin adalah pikmen karotenoid dengan rantai molekul (3,3'-dihidroksi- β , β -karoten-4, 4'-dion) yang ditemukan di seluruh hewan, terutama di spesies laut seperti di lobster, kepiting, udang, ikan trout, serta salmon, dapat ditemukan juga pada mikroalga (*Haematococcus pluvialis*). Astaksantin dikenal pula sebagai pikmen pemberi warna orange pada tubuh udang. Namun tentunya satu hal yang menjadi kekurangan dari senyawa yang satu ini adalah mudah rusak, rentan terhadap oksidasi. Sifat oksidatif dari senyawa ini dapat dilihat pada bagian sifat dari senyawa astaksantin. Untuk udang bagian yang paling banyak dikonsumsi adalah otot. Jika

bagian yang sering dikonsumsi adalah bagian otot, maka ketersediaan astaksantin pada otot untuk kebutuhan manusia tidak tercukupi, karena yang banyak mengandung senyawa karotenoid dan astaksantin adalah bagian cangkang.

Mineral merupakan salah satu senyawa yang terkandung dalam udang. Secara umum mineral adalah unsur pokok yang terdapat dalam eksoskeleton (berperan dalam pembentukan kulit dan krapas) (Zainuddin, 2012). Mineral memainkan peran vital pada reaksi biokimia dalam tubuh dengan sebagai ko-faktor enzim. Mineral memiliki manfaat penting bagi kesehatan manusia, sebagai salah satu komponen yang sangat dibutuhkan makhluk hidup untuk proses fisiologis tubuh. Kekurangan mineral dapat menyebabkan gangguan kesehatan seperti gondok, anemia, serta osteoporosis. Dari banyaknya komponen gizi dalam bahan pangan, salah satunya mineral, yang memiliki pengaruh penting dalam memelihara kelangsungan hidup organisme secara sehat dan normal. Mineral memiliki peran vital dalam proses metabolisme tubuh udang. Dengan demikian maka metabolisme astaksantin dalam tubuh udang tentunya melibatkan kerja atau bantuan dari mineral. Kekurangan mineral akan mempengaruhi kerja normal metabolisme tubuh yang berimbas pula pada keberadaan astaksantin.

Protein

Protein adalah makromolekul yang tersusun atas bahan dasar asam amino. Asam amino sebagai penyusun protein dalam semua makhluk hidup baik tingkat rendah maupun tinggi dengan fungsi sebagai katalisator, pengangkut, dan penyimpan molekul lain. Makanan laut seperti ikan dan udang merupakan sumber makanan yang kaya akan asam amino. Asam amino yang umumnya terdapat pada udang adalah asam glutamat, asam aspartat, arginin, lisin, leusin, glisin dan alanin. Kandungan asam amino pada udang berbeda tiap musim. Dalam artian bahwa musim turut mempengaruhi akumulasi kadar asam amino dalam tubuh udang.

Berhubungan dengan aplikasi dalam industri pangan, satu hal yang perlu diperhatikan bahwa dengan sifat kimia dari protein yang mudah berubah maka dalam aplikasi untuk pangan perlu memperhatikan sifat kimia dari protein. Memperhatikan semua proses dan tahap pengolahan merupakan suatu langkah efektif untuk menghindarkan produk dari berbagai kemungkinan buruk yang merusak kualitas produk. Jika dalam pengolahan proses penanganan yang kurang efektif dapat menyebabkan kerusakan pada produk pangan berbasis senyawa aktif dalam hal ini protein. Faktor musiman yang mempengaruhi kualitas nutrisi udang bisa menjadi kendala dalam proses pengembangan produk pangan. Sebab jika dalam musim yang mengurangi nutrisi udang, kualitas produk pun semakin menurun, dan keperluan bahan baku untuk mendapatkan kualitas produk yang baik tentunya akan membutuhkan udang dalam jumlah yang banyak. Hal ini bila terjadi maka populasi udang akan terancam.

Vitamin

Udang mengandung vitamin E, B12, B6, serta senyawa lain yang sangat dominan yaitu asam folat (Yuniati et al., 2012). Dari data analisis yang dilakukan pada udang menunjukkan untuk golongan vitamin, vitamin E yang paling dominan diikuti vitamin B12 dan vitamin B6, vitamin E banyak terkandung dalam udang yang berusia muda.. Dalam tubuh lobster vitamin E berperan mencegah terjadinya degradasi asam lemak atau omega-3 pada tubuh lobster. Keberadaan vitamin E dalam udang yang berusia muda dapat meningkatkan daya tahan tubuh udang, serta meningkatkan berat badan tubuh udang. Dengan kata lain turut serta mendukung pertumbuhan dan perkembangan udang. Vitamin E juga dalam kaitan dengan astaksantin mampu melindungi astaksantin dari proses degradasi yang berlebihan.

4.3. Pengolahan Pangan

Pengolahan makanan adalah kumpulan metode dan teknik yang digunakan untuk mengubah bahan-bahan mentah menjadi makanan atau mengubah makanan menjadi bentuk lain untuk konsumsi oleh manusia atau oleh industri pengolahan makanan. Pangan adalah segala sesuatu yang berasal dari sumber hayati dan air, baik yang diolah maupun yang tidak diolah diperuntukkan sebagai makanan atau minuman untuk dikonsumsi manusia. Sangatlah penting untuk menghasilkan bahan pangan dengan kualitas tinggi sampai di tangan konsumen agar aman dikonsumsi. Keamanan pangan telah menjadi salah satu isu sentral dalam perdagangan produk pangan. Karakteristik bahan pangan hasil pertanian tidak bertahan lama (*perishable*). Hal itu disebabkan oleh masih hidupnya bahan tersebut dapat melakukan fungsi metabolisme atau akibat adanya mikroorganisme yang merusak. Keamanan pangan adalah kondisi dan upaya yang diperlukan untuk mencegah pangan dari kemungkinan cemaran biologis, kimia, dan benda lain yang dapat mengganggu, merugikan, dan membahayakan kesehatan manusia. Setiap jenis bahan pangan yang diambil dan dimanfaatkan berbeda-beda kandungan gizi dan termasuk umur simpannya. Umur simpan menjadi hal yang sangat penting di dalam industri makanan, sebab berkaitan dengan ketersediaan pangan untuk memenuhi kebutuhan manusia agar terus dapat bertahan hidup. Demi menjaga keamanan pangan, meningkatkan nilai ekonomis dan nilai gizi yang jauh lebih banyak dari nutrisi alamiahnya. Bahan pangan hasil pertanian, peternakan, dan perikanan dapat diolah menjadi produk makanan atau minuman melalui pengolahan dengan cara atau metode tertentu, seperti pengawetan, pengeringan, pengasapan, pemberian suhu tinggi atau rendah, dan fermentasi agar tahan lama dan jauh lebih enak dimakan. Konservasi yaitu upaya untuk mencegah kerusakan setelah lewat panen ataupun pascapanen (*pengawetan*). Konversi yaitu upaya untuk merubah bentuk, rasa, warna, aroma sehingga siap untuk dikonsumsi (*pengolahan*). Distribusi yaitu upaya untuk memindahkan produk sampai ke konsumen meliputi penyimpanan, transportasi, penjualan atau retail.

Perkembangan Teknologi pengolahan pangan akhir akhir ini tidak hanya melibatkan teknik maju atau teknologi yang dapat meningkatkan keamanan pangan, namun yang lebih penting yaitu bahwa pangan yang diolah tetap memiliki sifat kesegaran, citarasa, disamping mempertahankan nilai gizinya. Perkembangan teknologi pangan dipengaruhi oleh beberapa faktor mengikuti tuntutan konsumen yang mendorong tren baru dibidang pengolahan, pengawetan, dan formulasi pangan. Teknologi baru ini harus menghasilkan produk pangan dengan kualitas lebih baik dan bentuk sajian yang memikat, dengan harga rendah agar dapat diterima oleh baik industri maupun konsumen. Misalnya, adanya peningkatan kesadaran masyarakat akan bahaya kesehatan, lingkungan, dan keselamatan yang terkait dengan penggunaan pelarut organik dalam pangan, dalam produksi ingredient dan kemungkinan kontaminasi produk akhir oleh pelarut organik tersebut. Mahalnya harga pelarut organik dan peraturan kesehatan lingkungan yang semakin ketat bersamaan dengan persyaratan industri makanan untuk bahan tambahan makanan bernilai tinggi telah mendorong kebutuhan untuk pengembangan teknologi pengolahan pangan baru yang lebih ramah lingkungan.

1. Pengolahan Tradisional dan Modern

Pengolahan secara tradisional menggunakan panas dapat merusak nutrisi yang sensitif terhadap panas dan kualitas produk pangan seperti tekstur, cita rasa dan warna. Pada pangan yang tidak tahan terhadap panas, pengolahan tradisional menghasilkan produk akhir yang tidak diinginkan misalnya terjadi perubahan organoleptik di samping beberapa efek yang merusak kualitas gizi makanan. Adanya peningkatan permintaan konsumen dan kesadarannya akan kebutuhan produk makanan yang segar, bergizi, kualitas organoleptik maksimum dengan umur simpan yang lebih lama, maka pengolahan tanpa panas menjadi alternative pengolahan pangan yang potensial.

Berbagai metodologi pengolahan pangan tanpa panas telah dikaji sebagai pertimbangan dalam mengembangkan teknologi pengolahan sebagai alternative pengolahan tradisional dalam upaya

mengawetkan makanan dan menjaga serta meningkatkan masa simpan produk. Metode pengolahan tanpa panas ini antara lain meliputi teknologi Pulse Electric Field (PEF), High pressure processing (HPP), dehidrasi osmotik, High intensity pulsed light technology, pengolahan non-termal dengan radio frequency electric field, USG, iradiasi, dan pemanasan microwave.

4.4. Pengolahan dengan CO₂ Superkritis

Karbon dioksida (CO₂) adalah gas tidak beracun, memiliki sifat anti-mikroba, dan penggunaan CO₂ sebagai ingredient diterima oleh industri makanan maupun minuman. CO₂ efektif untuk memperpanjang umur simpan makanan yang mudah rusak dengan memperlambat pertumbuhan mikroba. Efek keseluruhan dari CO₂ adalah untuk meningkatkan baik fase lag dan waktu generasi (t) mikroorganisme pembusuk dan pada tekanan tertentu CO₂ dapat membunuh bakteri, khamir dan kapang. Efek CO₂ terhadap kematian mikroorganisme bersifat sinergis dengan kenaikan suhu, keasaman pH, dan antagonistik dengan A_w yang menurun. Substrat atau media yang digunakan dalam teknologi CO₂ tekanan tinggi ini adalah CO₂ subkritis atau CO₂ superkritis. Produk pangan dipapar dalam medium CO₂ subkritis maupun CO₂ superkritis agar terjadi kontak antara produk dengan medium dengan besaran tekanan dan lama waktu tertentu baik dalam system batch, semi-batch atau berkelanjutan.

Karbon dioksida superkritis (SCCO₂), disebut juga sebagai karbon dioksida fase padat, memiliki potensi sebagai alternatif dalam penggunaan pelarut kimia. Selama tiga dekade terakhir, teknologi SCCO₂ ini telah dipelajari dan digunakan untuk ekstraksi dan isolasi senyawa bernilai tinggi yang berasal dari bahan alami, dan khususnya bahan nabati. SCCO₂ berupa suatu fluida yang bukan padat maupun cair, namun demikian SCCO₂ ini memiliki kerapatan yang tinggi sehubungan dengan sifatnya yang berupa gas CO₂. Pada tekanan dan suhu yang relatif rendah, karbon dioksida berubah ke fase superkritis yaitu berupa fluida. Pada bentuk fluida SCCO₂ mempunyai karakteristik yang mudah berpenetrasi ke dalam substrat, hal inilah yang mengawali penggunaan SCCO₂ di berbagai

area mulai dari bioremediasi hingga ekstraksi produk alami. Teknologi SCCO₂ mengalami perkembangan lebih lanjut yaitu sebagai metode alternative pasturisasi untuk makanan. Tujuan utama dari teknologi ini adalah mengeliminasi mikroorganisme patogen dan pembusuk dengan pengolahan yang tidak mengakibatkan kerusakan terhadap kualitas makanan tersebut. Teknologi pasturisasi makanan dengan SCCO₂ ini mampu menginaktivasi mikroorganisme di dalam makanan cair maupun padat, baik inaktivasi sel vegetative maupun spora bakteri.

Teknologi Tekanan Tinggi (high pressure technology/HPT) termasuk di dalamnya adalah teknologi karbon dioksida tekanan tinggi semakin populer dikalangan industri pengolahan makanan tidak hanya karena kemampuannya dalam mengawetan makanan tetapi juga karena potensi efeknya mempunyai fungsi tertentu terhadap produk makanan yang dihasilkan. Tingkat tekanan yang digunakan dalam teknik pengolahan tekanan tinggi (HPT) untuk pengolahan produk makanan tampaknya hanya mempunyai efek kecil terhadap ikatan kovalen molekul penyusun komponen makanan, sehingga makanan yang dipapar atau diolah dengan teknologi tinggi pada suhu ruang atau mendekati suhu ruang tidak akan menghasilkan terjadinya transformasi kimia yang signifikan. Teknologi tekanan tinggi ini semakin berkembang dengan meningkatnya permintaan konsumen akan pangan dengan nilai nutrisi tinggi dan tanpa kehilangan nilai kesegaran makanan. Fenomena mekanisme pengaruh kelarutan dan kerapatan karbon dioksida bertekanan tinggi telah banyak diaplikasikan untuk eliminasi mikroorganisme dan pengolahan bahan pangan yang bertujuan antara lain: (1) untuk mempertahankan kesegaran produk pangan misalnya kimchi; jus apel (Liao *et al.*, 2010), dan susu kambing; (2) untuk pasteurisasi produk pangan seperti pada *must* anggur dan pasta tomat; paprika (Calvo dan Torres, 2010), telur utuh, biji alfafa, dekontaminasi bakteri patogen, (3) sterilisasi peralatan medis dan sterilisasi spora *Bacillus pumilus*, *Geobacillus stearothermophilus* dan *Bacillus subtilis* di dalam produk pangan (Mathias *et al.*, 2010); (4) untuk ekstraksi bahan aktif tanaman obat dan minyak atsiri, dekafeinasi kopi; dan (5) untuk menarik antibiotik

dalam udang (Pratama *et al.*, 2007), dan untuk membawa dan menahan komponen aroma yang dimasukkan ke dalam bahan, misalnya pada proses pewangian beras giling. Teknologi karbon dioksida bertekanan tinggi berpotensi untuk digunakan pada pengawetan tempeh segar. Teknik ini digunakan untuk mengawetkan tempe dengan memperhatikan bahwa karbon dioksida bertekanan tinggi dapat membunuh mikroorganisme tanpa aplikasi suhu tinggi sehingga diharapkan mempengaruhi kualitas tempe segar secara tidak signifikan. Tempe segar yang diproses menggunakan karbon dioksida pada tekanan 1.100 Psi (7,6MPa suhu 35°C) selama 15 menit mengalami perubahan fisik yang tidak signifikan selama tiga hari penyimpanan pada suhu ruang. Teknologi karbon dioksida bertekanan tinggi sesuai diaplikasikan pada pangan karena ramah lingkungan dan tidak meninggalkan residu bahan kimia.

Selain teknik pembekuan, melakukan pengawetan udang menggunakan senyawa metabolit *Lactobacillus lactis* yang mengandung bacteriosin Nisin melalui perendaman selama 60 menit. Ekstrak air bawang putih juga mampu menurunkan total lempeng bakteri di dalam udang. Kandungan alisin dalam bawang putih mempunyai aktivitas antibakteri. Namun hasil penelitian ini belum diketahui efektivitas inaktivasinya. Biopreservasi udang kupas kulit menggunakan senyawa polifenol ekstrak kulit buah kaktus dapat mengurangi mikroba pembusuk selama penyimpanan refrigerasi namun teknik ekstraksi ini masih memerlukan standarisasi, disamping senyawa polifenol tidak signifikan mempengaruhi oksidasi lipid. Teknik perendaman udang menggunakan senyawa antioksidan tokoferol dapat mengurangi oksidasi lipid selama penyimpanan pada suhu beku, namun teknik ini mengurangi integritas tekstur daging udang, sedangkan perendaman udang vaname menggunakan sodium tripolipospat (STPP) dapat menambah berat dan memenuhi standard keamanan mikrobiologi, namun perlu dikaji penggunaan STPP secara ekonomi dan keefektifannya untuk pengawetan udang.

4.5. Sifat 3Karbon Dioksida Superkritis.

Karbon dioksida terdapat di udara dalam bentuk gas dan dapat juga larut di dalam air, tidak bersifat dipol (nonpolar), tidak beracun, tidak reaktif dan tidak mudah terbakar. Molekul CO_2 bersifat nonpolar karena muatan parsial positif terdapat pada atom C dan muatan parsial negatif terdapat pada atom O sehingga momen ikatan pada CO_2 memiliki arah dari atom C ke atom O, dan saling meniadakan akibatnya momen dipolnya bernilai nol (Shakhasiri, 2008). Karbon dioksida adalah suatu gas yang dapat berbentuk padat, cair dan fluida superkritis pada tekanan dan suhu tertentu (Labouteur et al., 2015), seperti pada Gambar 2. Pada titik kritis dan di daerah superkritis (suhu $31,1^\circ\text{C}$ dan tekanan $7,35 \text{ MPa}$), CO_2 berada pada fase superkritis dan fluida yang homogen, meningkatnya suhu atau tekanan di atas titik kritis tidak menghasilkan perubahan fase CO_2 . Di bawah titik kritis dan di atas titik triple ($-55,66^\circ\text{C}$ dan $5,11 \text{ atm}$), CO_2 berada dalam fase cair. Pada fase yang sama dengan suhu yang berbeda CO_2 mempunyai kelarutan yang berbeda. Pada Tabel 1, fluida superkritis mempunyai keunggulan karena mempunyai kedua sifat fisik gas dan sifat fisik cairan sehingga lebih mudah dilakukan manipulasi di laboratorium. Diantara fluida superkritis, CO_2 sebagai salah satu senyawa yang digunakan secara luas oleh beberapa alasan, antara lain yaitu: (1) suhu dan tekanan kritis yang rendah sehingga memudahkan proses instrumentasi dan tidak ada degradasi analit, (2) polar seperti alkohol, asetonitril, dan apolar seperti pada toluene, hexan, (3) toksisitanya rendah, tidak berbau, tidak mudah terbakar, tidak mudah korosi, (4) mudah diperoleh dalam jumlah besar dengan kualitas tinggi dengan harga rendah.

Fluida superkritis memiliki densitas seperti cairan, viskositas seperti gas, dan sifat kompresibilitas seperti gas. Fluida superkritis mempunyai sifat kompresibilitas yang sangat tinggi sehingga sifat ini menunjukkan bahwa densitas fluida dapat berubah-ubah dengan berubahnya tekanan dan suhu. Berbeda dengan CO_2 pada fase cair yang memiliki densitas constant pada tekanan di bawah 300 bar . Disamping itu, polaritas fluida superkritis meningkat sejalan dengan densitas yang berarti bahwa perubahan tekanan dan/atau suhu mengakibatkan kekuatan elusi bervariasi. Fluida superkritis

mempunyai difusivitas lebih tinggi dari cairan dan lebih rendah dari gas, atau diantara cairan dan gas, sehingga dapat berfungsi sebagai solven. Karakteristik fluida ini mudah diubah dengan hanya mengatur tekanan dan atau suhu. Fluida mempunyai karakteristik yang berbeda dengan pelarut biasa oleh adanya daya solubilitas seperti cairan dan difusifitas tinggi seperti gas serta viskositas rendah. CO₂ superkritis berada sebagai fase tunggal pada suhu dan tekanan di atas nilai titik kritisnya yaitu $T_c = 31.1^\circ\text{C}$, $P_c = 7.38 \text{ MPa}$, dan pada fase ini CO₂ superkritis memiliki kemampuan unik untuk berdifusi melalui padatan seperti gas, dan melarutkan bahan seperti cairan Gambar 2. Selain itu, CO₂ superkritis dapat dengan mudah mengubah sifat kepadatannya oleh adanya perubahan kecil dalam suhu atau tekanan. Keadaan ini CO₂ superkritis menghasilkan daya pelarut yang sangat baik bila digunakan dalam pasteurisasi. Ketika CO₂ gas atau CO₂ cairan dipanaskan dan dikompresi di atas suhu kritis (31°C) dan tekanan (73 atm), maka baik CO₂ gas atau CO₂ cairan menjadi padat, cairan yang sangat kompresibel yang menunjukkan sifat sebagai cair dan gas. Namun demikian, pada tekanan dan suhu yang relatif rendah, karbon dioksida berubah ke fase superkritis. CO₂ cair memiliki beberapa sifat pelarut seperti pada sifat yang dimiliki oleh CO₂ superkritis, yaitu viskositas rendah dan coefficients difusi tinggi, oleh karena itu, istilah cairan-memadat mengacu pada kedua fase superkritis dan fase cair. Sifat-sifat CO₂ superkritis membantu CO₂ cair dan padat menembus dalam ke dalam makanan/ substrat (Thakur et al., 2013).

Sifat-sifat tersebut dapat dikontrol melalui pengaturan suhu dan tekanan. Oleh karena itu, perubahan kecil terhadap suhu dan tekanan pada titik mendekati titik kritis (near the critical point) memiliki perubahan signifikan terhadap densitas, solubilitas dan konstanta dielektrik (dielectric constant).

Tabel 1. Sifat fisik gas, cair dan fluida superkritis karbon dioksida

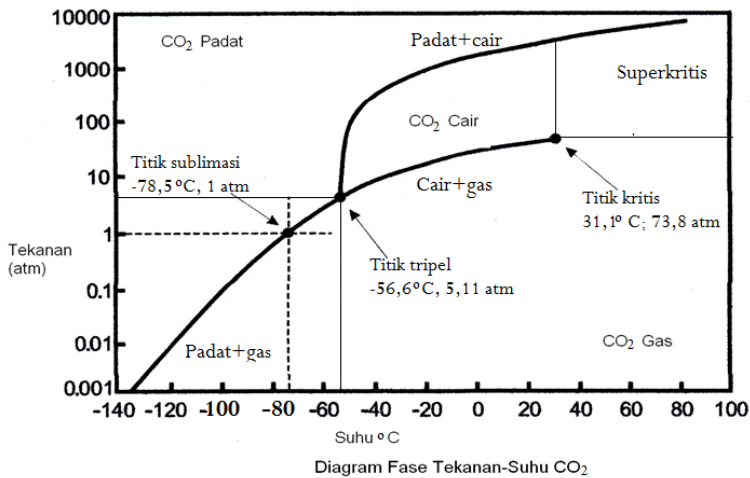
Karakteristik	Densitas (kg/dm ³)	Viskositas (Pa s)	Difusivitas (m ² /s)
Gas	(0,6-2,0) x 10 ⁻³	(0,6 – 2,0) x 10 ⁻²	0,2
Cairan (liquid)	0,5	5 x 10 ⁻²	5 x 10 ⁻⁴
Fluida superkritis	1	1	10 ⁻⁵

Sumber: Labouteur et al., 2015

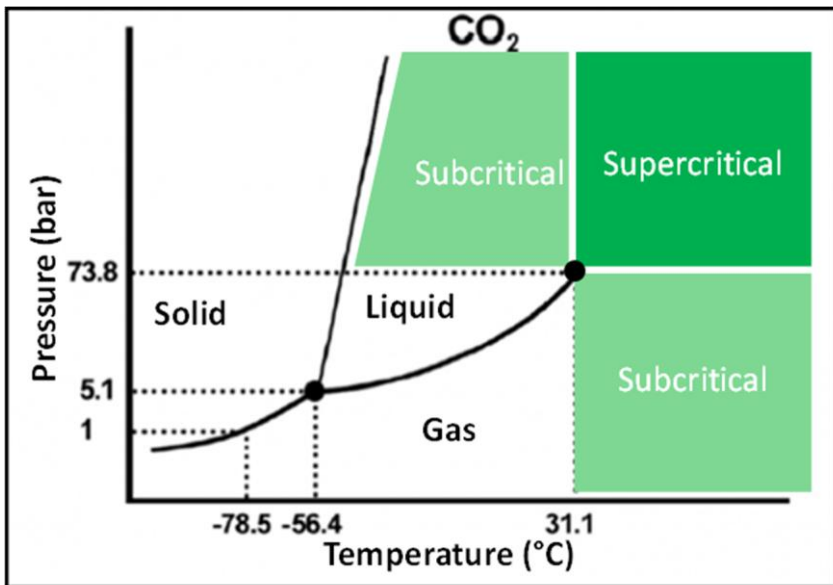
Tabel 2. Suhu dan tekanan kritis beberapa pelarut dalam fluida superkritis.

Pelarut	Suhu kritis (T _c °C)	Tekanan kritis (T _c M.Pa)
Ammonia	132.4	11.3
Carbon dioxide	31.1	7.4
Ethane	32.5	4.9
Ethanol	243.1	6.4
Nitrous Oxide	36.6	7.2
Propane	96.8	4.3
Trifluoromethane	26.0	4.7
Water	374.1	22.1

Sumber: Labouteur et al., 2015



Gambar 2a. Diagram karbondioksida pada suhu dan tekanan berbeda (Labouteur et al., 2015).



Gambar 2b. Diagram Fase CO₂ pada tekanan dan suhu yang berbeda.
Sumber: Labouteur et al., 2015

Karbon dioksida superkritis memiliki sifat tegangan permukaan nol karena tidak ada batas antara sifat gas dan cair sehingga mudah berdifusi dalam padatan (Brunner, 2005). Karbon dioksida superkritis mempunyai sifat polar hingga agak-polar, dan memiliki kelarutan tinggi seperti perilaku zat cair sehingga mudah melarutkan senyawa nonpolar (Brunner, 2005). Karbon dioksida superkritis dapat dikeluarkan atau diuapkan dari material tanpa menyisakan residu. Karbon dioksida cair bersifat tidak mudah terbakar, tidak beracun dan berfungsi sebagai pelarut dalam ekstraksi, seperti ekstraksi lemak dari rice bran, dan ekstraksi senyawa obat dan aroma dari tanaman (Bertucco dan Franceschin, 2008). Pada tekanan di bawah 5,11 atm karbon dioksida langsung menjadi padat atau disebut es kering pada temperatur di bawah -78°C. Karbon dioksida padat atau dry ice berfungsi sebagai pengawet dalam industri pengawetan pangan maupun spesimen.

Teknologi karbon dioksida superkritis mempunyai keuntungan antara lain: 1) dapat membunuh mikroorganisme pada suhu ruang atau bahkan pada suhu lebih rendah sehingga dapat mempertahankan kesegaran produk (Valverde et al., 2010); 2) dapat mempertahankan nilai gizi dengan menginaktivkan enzim tanpa panas; 3) dapat menghilangkan senyawa yang tidak diinginkan misalnya produk udang bebas khloramfenikol karena sifat non-polar CO₂ dapat menarik kloramfenikol (polar) (Pratama et al., 2007). Karbondioksida dapat juga difungsikan sebagai pembawa komponen aroma serta mampu menahan komponen aroma di dalam produk, misalnya aroma yang ditambahkan ke dalam beras giling akan menghasilkan beras dengan aroma yang diinginkan (Pratama, 2000). Hal ini karena CO₂ superkritis mudah berdifusi dalam material dan melarut dalam komponen aroma yang bersifat nonpolar.

Karbon dioksida bertekanan tinggi menyebabkan kerusakan membran sel (Garcia-Gonzales et al., 2010). Karbon dioksida superkritis memiliki difusifitas tinggi sehingga mudah berpenetrasi ke dalam materi mikroporous. Di dalam sel, karbon dioksida superkritis akan menembus membran sel yang tersusun dari senyawa fosfolipid dan protein yang membentuk lapisan hidrofobik, larut dalam fosfolipid, dan mengakibatkan permeabilitas selektif

membran terganggu. Disamping karena difusi, kerusakan membran juga disebabkan oleh tekanan tinggi. Difusi yang terus menerus menyebabkan akumulasi CO_2 di dalam membran sitoplasma dan dapat mengakibatkan sel pecah (bursting) karena tekanan tinggi.

4.6. Prinsip dan Mekanisme Pengolahan CO_2 Superkritis.

Fenomena apa pun dalam kesetimbangan (reaksi kimia, Fase transisi, perubahan konfigurasi molekul) yang disertai dengan penurunan volume, dapat diperbaiki oleh tekanan [6]. Dengan demikian teknologi tekanan tinggi (High pressure teknologi/HPT) berpengaruh terhadap setiap fenomena dalam sistem pangan yang melibatkan perubahan volume, dan perubahan dalam system pangan tersebut mendukung fenomena yang mengakibatkan penurunan volume.

HPT berpengaruh terhadap ikatan non-kovalen (ikatan Hidrogen, ikatan Hidrofobik) secara substansial karena beberapa ikatan non-kovalen sangat sensitif terhadap tekanan, yang berarti komponen makanan dengan berat molekul rendah yang bertanggung jawab terhadap karakteristik gizi dan sensorik tidak terpengaruh, sedangkan komponen makanan dengan berat molekul tinggi yang struktur tersiernya adalah berperan penting untuk penentuan fungsi pangan, adalah sensitif terhadap tekanan. Beberapa ikatan kovalen tertentu mengalami modifikasi oleh tekanan.

Teknologi tekanan tinggi bertindak secara instan dan seragam menembus ke seluruh masa makanan, dan tidak tergantung pada ukuran, bentuk, dan komposisi makanan. Kompresi/penekanan secara seragam akan meningkatkan suhu makanan sekitar 3°C setiap tekanan 100 MPa.

Suhu dalam makanan yang bersifat homogen akan meningkat secara seragam karena kompresi/penekanan. Suatu peningkatan suhu makanan di atas suhu ruang dan pada suhu sedikit lebih rendah dari suhu kamar akan meningkatkan inaktivasi tingkat mikroorganisme selama perlakuan HPT. Temperatur pada kisaran 45°C hingga 50°C tampak meningkatkan laju inaktivasi mikroba pathogen dan pembusuk makanan.

Suhu pada kisaran 90°C hingga 110°C dengan tekanan 500 hingga 700MPa telah digunakan untuk menginaktivasi bakteri pembentuk spora seperti *Clostridium botulinum*.

4.7. Pengawetan Udang.

Dalam industri perikanan di seluruh dunia, udang merupakan sumber daya bernilai ekonomi tinggi. Di Indonesia, udang juga sebagai salah satu komoditi perikanan yang mempunyai nilai ekonomis penting dan merupakan primadona produk ekspor utama. Komoditi udang mempunyai pasaran yang meningkat untuk menjadi sumber devisa atau pendapatan Negara. Udang adalah produk yang mudah rusak dan perubahan postmortem terjadi dengan cepat dibandingkan dengan ikan, walaupun di bawah kondisi pendinginan. Berbagai macam indikator biokimia dapat digunakan untuk karakterisasi kualitas dan kesehatan udang (Benner et al., 2013). Namun demikian, adanya tahapan pengolahan dan khususnya pengupasan udang dapat mendukung pengembangan berbagai mikroorganisme yang tidak diinginkan termasuk bakteri perusak yang mengakibatkan pada masalah kesehatan dan ekonomi, indikator mikrobiologis juga sangat diperlukan. Secara umum, jumlah total mikroorganisme, sebagai jumlah total mikroba (total viable count/TVC) telah digunakan dalam standar makanan laut wajib dan dalam spesifikasi mikrobiologis perjanjian perdagangan. Namun demikian, bahwa hanya sebagian kecil dari mikroorganisme yang hidup pada makanan laut yang baru diproses itulah yang sebenarnya bertanggung jawab atas kerusakan produk, dan oleh karena itu total mikroba (angka lempeng mikroba) mempunyai korelasi sangat kecil dengan tingkat kesegaran atau umur simpan (*shelf life*) produk. Oleh karena itu, karakterisasi komunitas mikroba penting untuk memberikan indeks kualitas secara obyektif dalam menentukan umur simpan makanan laut. Misalnya, mikroflora dalam produk udang yang telah diproses (dingin, udang dimasak, dikupas, dikemas, asin dan difermentasi) telah banyak dipelajari menggunakan media kultur selektif. Pada udang, seperti pada kebanyakan produk makanan laut, umur simpan tergantung pada tingkat proliferasi bakteri pembusuk yang dicapai selama

penyimpanan. Meminimalkan tingkat proliferasi dan membatasi penyebab kontaminasi bakteri yang berasal dari lingkungan dapat membantu untuk memperpanjang umur simpan produk. Beberapa metode telah dikembangkan termasuk pengemasan atmosfer yang dimodifikasi, penggunaan aditif kimia atau kombinasi kedua teknik ini, serta penggunaan kemasan bio-aktif untuk menjaga mutu kualitatif dan untuk menghindari bahaya kesehatan bagi konsumen. Dalam beberapa tahun terakhir bio-preservasi untuk mencegah pertumbuhan mikroorganisme yang tidak diinginkan dalam bahan makanan dengan menggunakan senyawa alami, semakin menarik perhatian. Hasil penelitian dilaporkan bahwa penambahan protein atau perendaman dengan protein, koting menggunakan kitosan atau aplikasi ekstrak tanaman dan minyak atsiri untuk koting atau glazing atau penggunaan bakteri asam laktat, pada udang dan ikan segar maupun produk udang dan ikan olah (Besbes et al., 2017).

Udang segar termasuk bahan pangan mudah rusak atau membusuk karena merupakan pangan kaya protein dan berkadar air tinggi. Udang merupakan salah satu produk perikanan yang istimewa, memiliki aroma yang spesifik dan mempunyai nilai gizi yang tinggi, di samping itu daging udang banyak mengandung asam amino esensial yang penting bagi manusia, seperti lisin, histidin, arginin tirosin, triflufan dan sistein. Bercak hitam atau black spot sebagai salah satu indikasi udang telah rusak atau tidak segar lagi, yang terjadi karena keterlambatan proses pembekuan. Oleh karena itu penanganan paska panen melalui pengawetan sangat perlu dilakukan. Salah satu prinsip pengawetan untuk mencegah atau memperlambat pertumbuhan mikroorganisme.

Salah satu prinsip pengawetan pangan yang dapat diterapkan untuk menghambat pertumbuhan mikroba pada bahan pangan adalah dengan penambahan zat antimikroba (Fardiaz, 1992). Kerusakan pada udang tersebut dapat dihambat dengan cara pengawetan. Menurut Desroiser (1988), pengawetan adalah suatu upaya untuk menghambat kerusakan bahan pangan agar daya simpannya menjadi lebih panjang. Salah satu upaya pengawetan adalah dengan metode pembekuan. Pembekuan merupakan suatu cara pengawetan bahan pangan dengan cara membekukan bahan

pada suhu di bawah titik beku pangan tersebut. Proses pembekuan akan menyebabkan kandungan air bahan akan berubah fase menjadi bentuk padat (es), sehingga kegiatan enzim dapat dihambat atau dihentikan sehingga dapat mempertahankan mutu bahan pangan. Pembekuan dapat mempertahankan rasa dan nilai gizi bahan pangan yang lebih baik daripada metode lain, karena pengawetan dengan suhu rendah (pembekuan) dapat menghambat aktivitas mikroba, mencegah terjadinya reaksi-reaksi kimia dan aktivitas enzim yang dapat merusak kandungan gizi bahan pangan (Frazier, 1978). Udang yang dibekukan terjadi pembentukan kristal-kristal es ekstraseluler dan intraseluler udang. Ketegaran (firmness) daging udang selama pembekuan akan menurun. Membran-membran sel di dalam daging udang selama pembekuan menjadi kaku, kemudian menyebabkan tertahannya aliran cairan antar sel sehingga membran sel pecah, dan cairan udang banyak yang keluar dari sel dan menyebabkan berkurangnya firmness daging udang. Kendala terhadap metode pembekuan antara lain Oleh karena itu pembekuan cepat memerlukan kontrol suhu pembekuan, kontrol suhu distribusi, dan teknik thawing daging udang yang tepat supaya tidak terjadi kerusakan fisik dan nutrisi pada udang.

Nisin adalah senyawa metabolit yang dihasilkan dari *Lactobacillus lactis*. Nisin sebagai senyawa antimikroba merupakan satu-satunya bakteriosin yang diizinkan penggunaannya oleh WHO sebagai pengawet dalam bahan makanan. Penggunaan nisin sebagai pengawetan udang segar menunjukkan bahwa makin tinggi konsentrasi ekstrak metabolit *L.lactis* makin besar daya hambat terhadap bakteri dalam udang dan lama perendaman mulai 60 menit merupakan perendaman yang efektif (Kusharyanti dan Hendrati, 2007). Agar penghambatan lebih optimal perlu dilakukan tambahan perlakuan pendinginan pada suhu 0°C terhadap udang segera setelah pemanenan. Nisin dalam bentuk kering stabil selama beberapa tahun, sedangkan dalam bentuk larutan kestabilannya dapat diperbaiki dengan menaikkan pH. Nisin mempunyai aktivitas maksimum pada pH 6,5 dan sensitif khususnya terhadap enzim proteolitik seperti tripsin, pankreatin, enzim salivary dan enzim pencernaan kecuali renin (Luck dan Jagger, 1997).

Selain itu, nisin sebagai bahan pengawet alami stabil terhadap pemanasan serta suhu penyimpanan yang rendah, tidak menimbulkan rasa dan bau yang tidak enak serta tidak menimbulkan kerusakan nutrisi pada makanan, tidak toksik dan tidak mempengaruhi keberadaan flora normal dalam saluran pencernaan (Tian, 2003 dalam Li dan Hong, 2005).

BAB V

APLIKASI TEKNOLOGI

KARBON DIOKSIDA SUPERKRITIS

UNTUK PENGOLAHAN UDANG

5.1. Perubahan Sifat Fisik, Kimia, Mikrobiologi udang oleh Pengolahan CO₂ Superkritis

Fisik.

Pada pengolahan pangan, karbon dioksida bertekanan tinggi mempengaruhi ikatan hidrofobik dan ikatan non-kovalen diantara komponen molekul penyusun bahan pangan, tidak mempengaruhi ikatan kovalen namun memodifikasi ikatan kovalen tertentu, dan tidak mempengaruhi ikatan molekul yang membentuk senyawa citarasa (flavor), vitamin dan senyawa dengan berat molekul rendah. Pengolahan tempe menggunakan subkritis CO₂ menghasilkan produk tempe dengan memperlihatkan sifat setengah matang (*half cook*) (Gambar 3) (Kustyawati et al., 2014) mempunyai tekstur yang berbeda tidak nyata dibandingkan dengan tempe tanpa pengolahan dengan subkritis CO₂. Namun, tingkat kecerahan warna tempe lebih rendah karena warna kerusakan dinding sel miselium dan warna kedelai terkonsentrasi pada suatu area sebagai akibat suatu proses. Perubahan kecerahan warna ini diakibatkan oleh (1) aliran turbulensi CO₂ selama pengolahan dengan subkritis menyebabkan miselium tersapu dan terbawa keluar pada saat tekanan dilepaskan, (2) terlarutnya senyawa penyusun dinding sel hifa dalam CO₂ superkritis oleh sifat polaritas CO₂ superkritis, sehingga mengakibatkan konsentrasi warna kedelai menonjol.

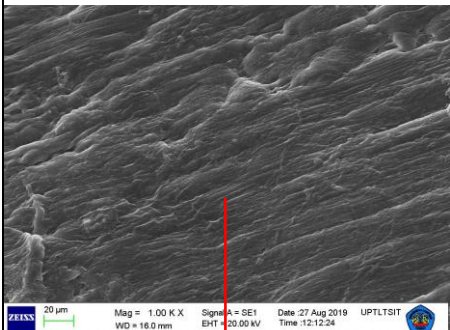
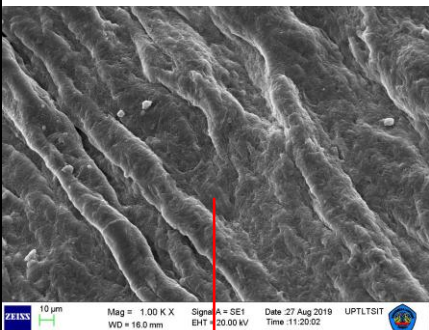
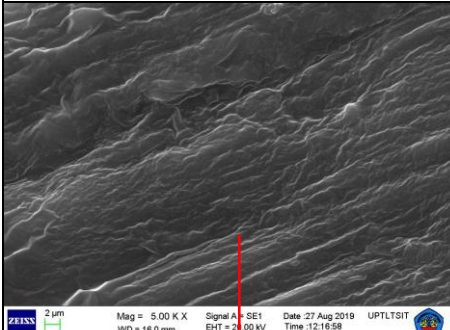
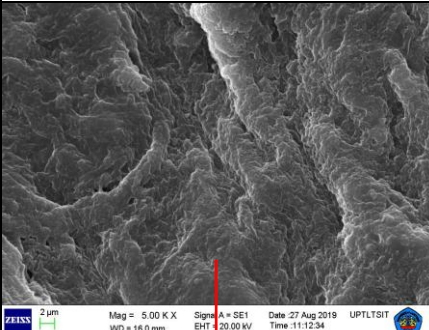
Warna udang

Nilai pasar udang ditentukan oleh penilaian visual terhadap keseluruhan warna badan udang dan hal ini berkaitan dengan kandungan karotenoid udang (astaxantin). Pigmen karotenoid udang menghasilkan warna orange merah pada daging udang. Penilaian warna daging udang merujuk pada nilai indeks Kecerahan (*Lightness* *L), dimana jika nilai *L menurun mengindikasikan bahwa daging udang berwarna gelap. Warna gelap ini dapat terjadi oleh adanya reaksi browning Maillard yang berlangsung selama proses pengolahan menggunakan panas. Pembentukan warna merah pada daging udang yang terpapar panas adalah sebagai hasil dari pembebasan karotenoid udang astaxantin ketika karotenoidprotein terdegradasi selama proses denaturasi protein (proteinkarotenoid terdegradasi menjadi karotenoid dan protein). Konsentrasi karotenoid udang juga akan meningkat dan menghasilkan warna pada saat terjadi pengurangan kadar air. Warna kekuningan udang juga dihasilkan oleh reaksi browning Maillard. Udang yang dipapar pengeringan baik pengeringan oven maupun matahari menghasilkan peningkatan warna merah (*a) yang signifikan ($p > 0.05$) dibandingkan warna daging udang segar (Okonor et al., 2016).

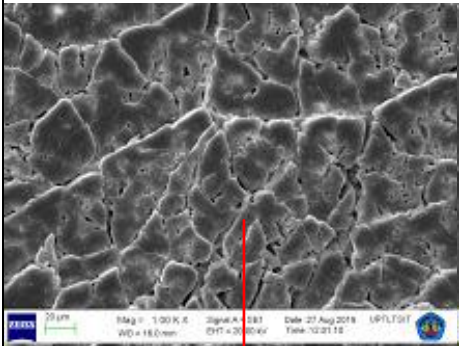
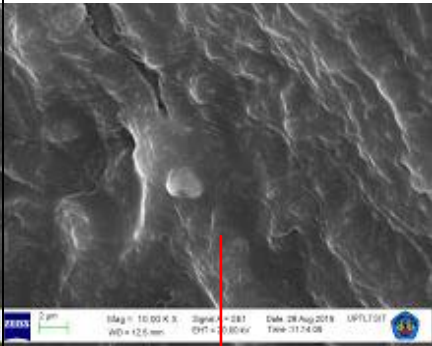
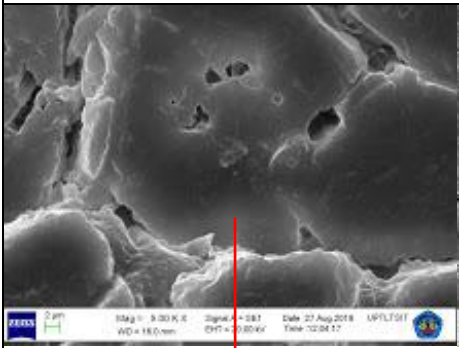
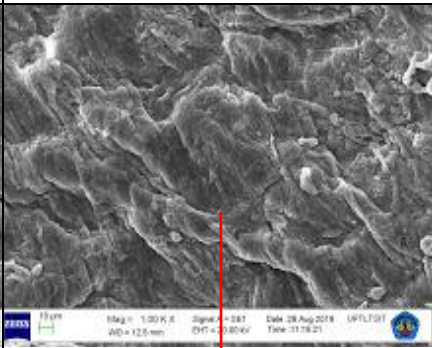
Tekstur.

Pengolahan pangan menggunakan subkritis dan superkritis CO₂ mempengaruhi tekstur bahan pangan tersebut. Struktur jaringan daging udang yang terpapar pada perlakuan pengolahan dengan karbon dioksida bertekanan tinggi pada tekanan, suhu dan lama kontak bahan pangan dengan CO₂ superkritis menunjukkan perubahan pada kekompakan jaringan daging (Gambar 5). Struktur jaringan daging udang kontrol (tanpa pengolahan) menunjukkan jaringan kompak saling terkait antara jaringan penyusun daging dan padat, baik pada penampang melintang maupun pada penampang membujur irisan daging udang.

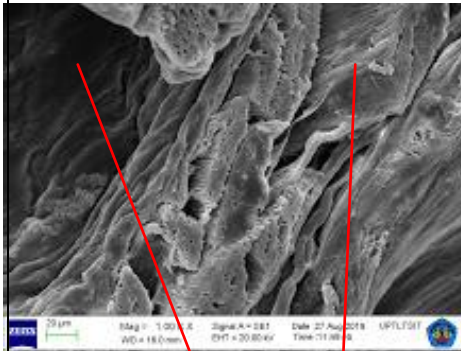
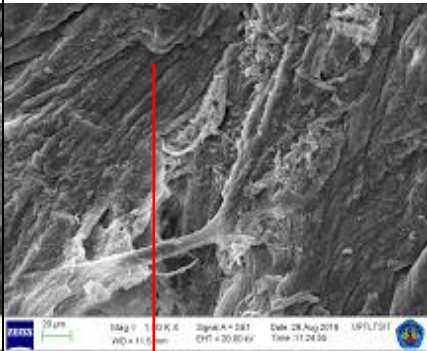
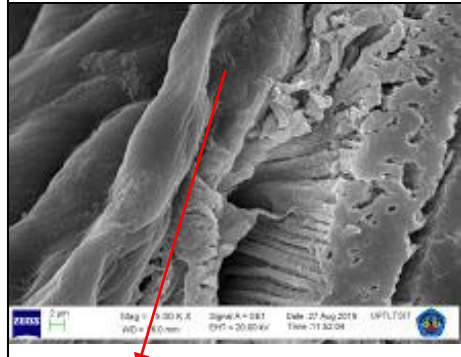
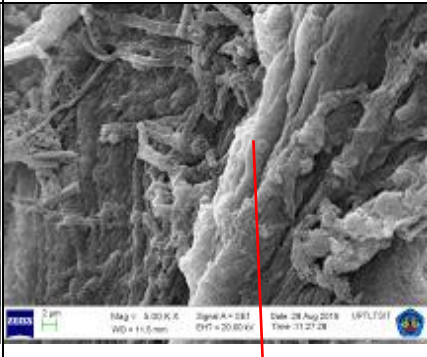
A.

	
Pada pembesaran 100x, penampang melintang udang menunjukkan struktur daging udang padat.	Pada pembesaran 100x, penampang membujur pada permukaan udang menunjukkan struktur padat.
	
Pada pembesaran 500x, penampang meintang udang menunjukkan struktur yang kompak.	Pada pembesaran 500x, penampang membujur pada permukaan udang menunjukkan struktur padat dan kompak..

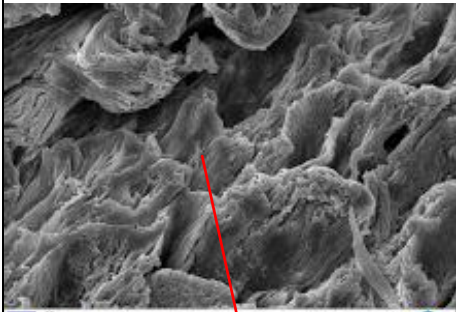
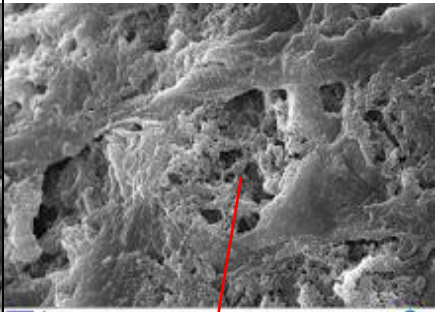
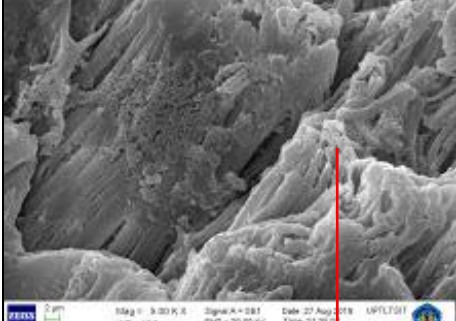
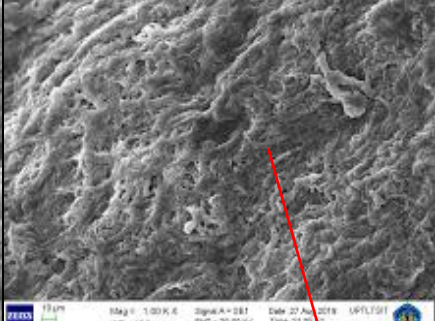
B

	
Penampang melintang pembesaran 100x menunjukkan struktur daging dengan sel membengkak dan menggumpal yang disebabkan kemungkinan terjadi denaturasi protein.	Penampang membujur permukaan udang pembesaran 100x menunjukkan pembengkakan sel daging udang.
	
Pembesaran 500x memperjelas telah terjadi membengkakan sel daging udang.	Pembesaran 500x memperjelas juga telah terjadi membengkakan sel daging udang di bagian permukaan.

C

	
Penampang melintang daging mengkerut dan terbentuk rongga diantara daging yang menunjukkan kemungkinan terjadi ekstraksi komponen daging udang.	Penampang membujur permukaan udang menunjukkan pengkerutan dan penggumpalan yang kemungkinan disebabkan oleh denaturasi protein.
	
Pada pembesaran 500x memperjelas terjadi pengkerutan jaringan daging.	Bagian permukaan daging yang mengkerut dan membentuk rongga rongga.

D

	
Pembesaran 100x menunjukkan struktur jaringan yang terputus, kemungkinan disebabkan oleh ekstraksi yang berlebihan terhadap komponen dalam jaringan daging.	Bagian permukaan daging udang terekstraksi dan menimbulkan struktur jaringan yang terputus putus.
	
Pembesaran 500x menunjukkan bagian dalam jaringan daging menggumpal dan terputus.	Pembesaran 500x menunjukkan bagian permukaan jaringan daging menggumpal dan terputus.

Gambar 3. Perubahan struktur udang setelah pengolahan menggunakan CO₂ tekanan tinggi, A. Udang kontrol (tanpa pengolahan), B. Udang dengan pengoahan pada

tekanan 900psi selama 10 menit, C. Udang dengan pengolahan pada tekanan 950psi selama 10 menit, D. Udang dengan pengolahan pada tekanan 1100psi selama 10 menit.

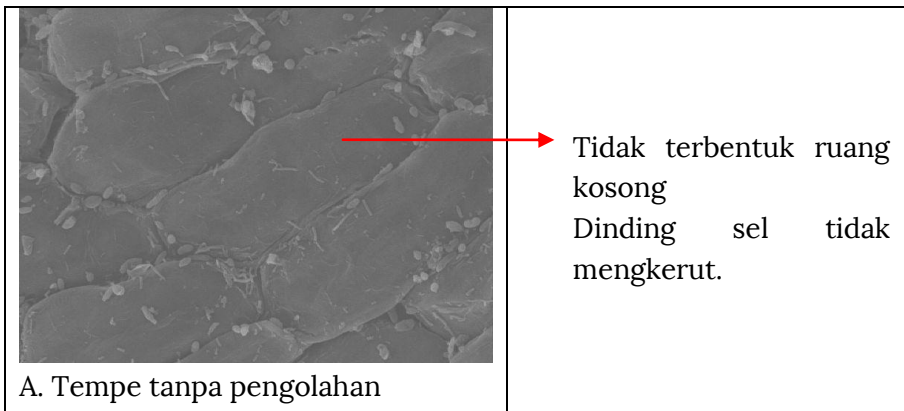
Sumber Kustyawati, 2019 (unpublished).

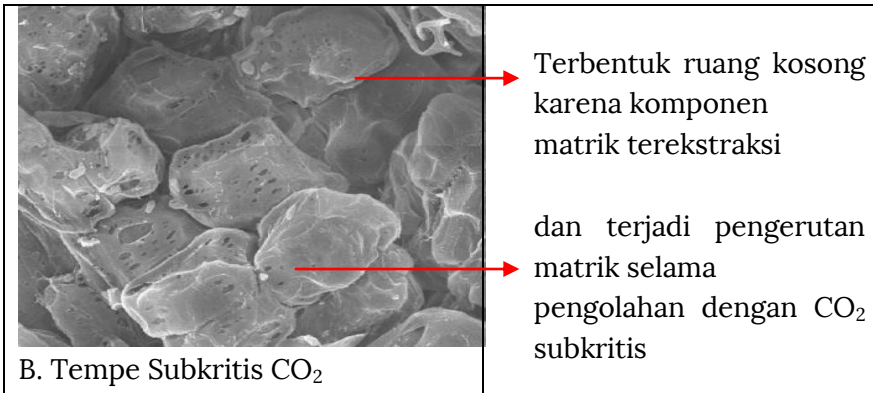
Kustyawati et al. (2015) mempelajari tekstur dan aroma tempe yang dioalah menggunakan teknik sub kritis CO₂ (Gambar 3). Tekstur tempe yang diolah dengan subkritis CO₂ tetap kompak namun lebih lunak dan kenyal, yang dikatakan sebagai setengah matang (half cook). Proses pelunakan tekstur ini disebabkan oleh perubahan mikrostruktur matrik tempe antara lain yaitu protein tempe mengalami denaturasi parsial menghasilkan sifat kenyal, daya ikat air pada protein menurun, lemak terekstraksi dengan meninggalkan ruang ruang kosong di dalam matrik (Gambar 4). Perubahan struktur matrik udang seperti ditunjukkan pada Gambar 5. Selama proses pengolahan, CO₂ subkritis berinteraksi dengan senyawa penyusun matrik tempe melalui ikatan nonkovalen dan membentuk suatu bentukan senyawa baru. Pada saat pelepasan tekanan, CO₂ kembali menjadi bentuk gas dan keluar dari sitem dengan meninggalkan senyawa bentukan baru di dalam matrik. Senyawa baru ini yang kemungkinan menghasilkan tekstur kenyal tempe setengah matang.



Gambar 4. Warna tempe yang diolah dengan subkritis CO₂ (6,3MPa, 10menit)memiliki miselium dan warna kedelai yang menonjol dibanding warna tempe biasa putih.

Sumber Kustyawati et al. (2015)





Gambar 5. Perbedaan mikrostruktur matrik tempe tanpa (A) dan dengan pengolahan (B) subkritis CO₂ yang ditunjukkan dengan SEM pada pembesaran 5000x irisan melintang tempe.

Sumber Kustyawati et al. (2015).

Aroma.

Pengolahan menggunakan CO₂ tekanan tinggi mengakibatkan beberapa komponen volatil terekstraksi, disamping itu juga teridentifikasi komponen volatil baru yang tidak teridentifikasi dari tempe kontrol. Tempe kontrol maupun tempe perlakuan mempunyai aroma khas tempe yaitu merupakan aroma dari beberapa senyawa yang menghasilkan aroma kacang-kacangan dan aroma *mushroom*. Aroma kacang-kacangan dihasilkan oleh beberapa senyawa meliputi etil alkohol, 2-butanon, 3-metil-1-butanol, heksanol, pentanol, heksanal, dan furan-2-pentil yang berasal dari kedelai. Heksanal dan heksanol merupakan karakteristik aroma langu yang berasal dari asam lemak tidak jenuh biji kedelai. Senyawa disulfid dimetil hanya teridentifikasi dari tempe kontrol.

Tabel 3. Senyawa volatile aroma pada udang tanpa pengolahan dan udang yang diolah dengan CO₂ superkritis.

Senyawa volatil	Area (%)			
	Kontrol	900psi/ 10min	950psi/ 10min	1070psi/ 5min
Dimethylamine	*	0.97	1.59	*
Butanal,3-methyl-	*	0.91	*	*
2-Hydroxyethylhydrazine	*	*	2.65	1.45
Pentane,2,2,4,4-tetramethyl	*	25.77	1.05	*
Silanediol, dimethyl-	*	17.81	26.11	18.28
Cyclopentanol,2-methyl-,trans	*	4.07	*	1.48
Oxine, Methoxy-phenyl-	*	8.60	7.62	7.77
Cyclotetrasiloxane,octamethyl-	*	6.75	4.14	2.98
Octanal	*	2.39	6.62	8.50
2-Nonen-1-ol-E-	*	5.12	9.63	*
Cyclodecanol	<u>1.60</u>	<u>2.19</u>	<u>3.87</u>	<u>3.80</u>
Cyclohexasiloxane,dodecamethyl-	*	5.85	5.37	3.21
Cyclotetrasiloxane,octamethyl-	*	6.75	4.14	2.98
1-Hexanol,2-ethyl-	*	*	6.30	1.75
2-Pentene,1-bromo-3,4-dimethyl-	*	*	1.15	1.50
3-Dodecene,E-	*	*	2.54	2.23
2-Butanone,4-Cyclohexyl-	*	*	1.20	*
Benzaldehyde,2,5-bis(trimethylsilyl)oxy-	*	*	1.91	*
Cyclohexane,bromo	*	*	3.23	4.35
Terbutaline,N-trifluoroacetyl-o,o,o-	*	*	2.43	*
tris(trimethylsilyl)	*	*	1.05	*
Azulene	*	*	2.65	1.45
2-Hydroxyethylhydrazine-	*	*	*	1.15
2-Decene,5-methyl-,Z-	*	*	*	24.26
Cis-9,10-Epoxyoctadecan-1-ol	<u>14.17</u>	*	*	*
Hexaborane	<u>9.15</u>	*	*	*
Benzene,1-ethenyl-3-ethyl-	<u>8.36</u>	*	*	*
Benzene,1-ethenyl-4-ethyl-	<u>1.83</u>	*	*	*
Benzene,1,3-diethenyl-	<u>2.59</u>	*	*	*
Benzaldehyde,4-ethyl-	<u>3.26</u>	*	*	*
2,6-Dimethylbenzaldehyde	<u>2.49</u>	*	*	*
Isophthalaldehyde	<u>3.40</u>	*	*	*
Ethanone,1-(4-ethylphenyl)				
1-(2,4-Dimethyl-phenyl)-2-(4H-[1,2,4]triazol-3-ylsulfanyl)- ethanone	<u>3.87</u>	*	*	*

Keterangan: * adalah tidak terdeteksi. ** Nilai peak area (%), arbitrary scale.

Sumber Kustyawati, 2019 (unpublished)

Aroma tempe dihasilkan oleh aktivitas enzimatik kapang selama fermentasi. Kapang menghasilkan enzim protease, lipase, lipoksigenase yang memecah protein, lemak, dan asam lemak kedelai menjadi komponen aroma. Volatilitas senyawa kimia dapat dikelompokkan berdasarkan berat molekulnya yaitu volatil, semi-volatil dan non-volatil (Belitz *et al.*, 2009). Kelarutan senyawa volatil di dalam air dapat digolongkan kedalam polar, semi polar, dan non-polar. Identifikasi komponen aroma tempe tanpa perlakuan dan yang diperlakukan dengan CO₂ tekanan tinggi perlu dilakukan dan diharapkan perlakuan CO₂ tekanan tinggi dapat mempertahankan aroma khas tempe. Analisa komponen volatil tempe menggunakan metode *headspace*-SPME agar mendapatkan senyawa volatil tempe segar karena ekstraksi dilakukan pada suhu rendah (40°C). Prinsip ekstraksi SPME yaitu jarum SPME yang di dalamnya terdapat *fiber* dengan *coating* CAR/PDMS dimasukkan ke dalam *headspace vial*, *fiber* mengabsorpsi senyawa volatil dalam *headspace* selama 30 menit kemudian jarum dilepas dan diinjeksikan ke dalam GC untuk proses desorpsi. Khromatogram tempe kontrol disajikan pada Gambar 6. Tempe kedelai mempunyai karakteristik aroma khas tempe yang berasal dari senyawa volatil kedelai dan senyawa hasil aktivitas mikroorganisme selama fermentasi (Kustyawati *et al.*, 2017).

Senyawa 3-Oktan-1-ol dan 1-okten-3-ol adalah aroma *mushroom* yang dihasilkan dari konversi asam linoleat kedelai oleh kapang *R. oligosporus*. Senyawa etil alkohol, 2-butanon, 2-butanol, 2-hexanol-5-metil, 1-pentanol, dan 1-okten-3-ol, dan furan-2-pentil teridentifikasi dari tempe kontrol maupun tempe perlakuan. Senyawa aroma tempe terekstraksi oleh CO₂ tekanan tinggi, disamping pembentukan senyawa aroma baru. Tempe tekanan 6,3MPa lebih banyak mengandung senyawa volatil aroma dibanding tempe tekanan 7,6MPa karena beberapa senyawa volatil terekstraksi oleh tekanan tinggi. Identifikasi senyawa aroma yang berasal dari tempe tekanan 6,3MPa meliputi alkohol (12) alkohol yang didominasi oleh etil alkohol, 1-propanol-2-metil, pentanol, 1-butanol-3-metil, 1-okten-3-ol, dan 5-metil-1-heptanol, 10 senyawa ester, sedangkan senyawa aroma dari tempe tekanan 7,6MPa meliputi 8 senyawa alkohol, 5 senyawa ester, dan 3 senyawa asam

karboksilat. Senyawa aroma yang terekstraksi oleh CO₂ tekanan 7,6MPa meliputi 1-propanol, 1-propanol-2-metil, fenil-etil alkohol, asam butanoat 2-metil etil ester, 2-heksanon 5-metil, aseton, asetoin, asam propanoat, asam butanoat 2-metil, asam tetradekanoat, fenol, maltol, indol, piridin, pyrazin 2-etil 5-metil, thiopene, disulfide dimetil. Senyawa aroma yang terekstraksi oleh CO₂ tekanan 6,3MPa meliputi 3-heksen-1-ol, 3-buten-1-ol-3metil, 1-octen-3-ol, asam butanoat, 2-butanon, asam asetat, asam propanoat, benzaldehid, fenol, styrene, furan-2-metil, 2(3) furanon dihidro-5-pentil, pyrazin 2-etil 5-metil, thiopene, disulfide dimetil.

Senyawa bentukan baru merupakan senyawa aroma yang tidak teridentifikasi dari tempe kontrol, meliputi 3-buten-1-ol 3-metil, asam heptanoat etil ester, asam dodekanoat etil ester, asam oktanoat etil ester, diasetil, 1-okten-3-on, heksanal, 2,6-nonenal, furan-2-pentil, 2(3) furanon dihidro-5-pentil, 1,3-oktadien, dan naftalen. Senyawa bentukan baru dapat dihasilkan dari degradasi protein, lemak dan karbohidrat tempe oleh CO₂ tekanan tinggi menghasilkan asam amino bebas, asam lemak bebas dan asam-asam karboksilat yang menghasilkan aroma. Senyawa asam asetat adalah asam lemak jenuh rantai pendek berasal dari karbohidrat dan menghasilkan aroma *sengak* (pungent) sedangkan prekursor asam heksadekanoat adalah asam lemak, dan menghasilkan aroma seperti daging busuk (Qin dan Ding, 2007). Menurut Belitz *et al.* (2009), makin panjang rantai alkil menghasilkan aroma yang tidak menyenangkan. Furan-2-pentil berasal dari asam linoleat dalam biji kedelai (Klensport dan Jelen, 2012). Disulfide dimetil berasal dari degradasi enzimatis methionin yang terdapat dalam biji kedelai oleh mikroorganisme terutama *Bacillus subtilis* selama fermentasi, dan menghasilkan aroma seperti kobis yang kurang disukai (Jelen *et al.*, 2012). Disulfide dimetil tidak ditemukan dari tempe tekanan 6,3MPa maupun tempe tekanan 7,6MPa.

Tempe tekanan 6,3MPa lebih banyak mengandung senyawa volatil heterosiklis-furan (4), pyrol (2), dan pyridine, dan senyawa alkohol yang didominasi oleh etil alkohol, 1-propanol-2-metil, pentanol, 1-butanol-3-metil, 1-okten-3-ol, dan 5-metil-1-heptanol. Hal ini berarti tempe 6,3MPa mempunyai aroma tempe yang lebih

kuat dibanding tempe 7,6MPa. Menurut Jelen *et al.* (2012), alkohol dan keton terutama 1-okten-3-ol atau 1-okten-3-on menghasilkan aroma karakteristik tempe. Alkohol dan keton merupakan hasil degradasi trigliserida dan asam lemak oleh aktivitas enzim lipoksigenase selama fermentasi. Tempe tekanan 6,3MPa lebih banyak mengandung senyawa volatil heterosiklis-furan (4), pyrol (2), dan pyridine, dan senyawa alkohol yang didominasi oleh etil alkohol, 1-propanol-2-metil, pentanol, 1-butanol-3-metil, 1-okten-3-ol, dan 5-metil-1-heptanol. Hal ini berarti tempe 6,3MPa mempunyai aroma tempe yang lebih kuat dibanding tempe 7,6MPa. Alkohol dan keton terutama 1-okten-3-ol atau 1-okten-3-on menghasilkan aroma karakteristik tempe. Alkohol dan keton merupakan hasil degradasi trigliserida dan asam lemak oleh aktivitas enzim lipoksigenase selama fermentasi. Senyawa ester yang teridentifikasi dari tempe 6,3MPa meliputi senyawa ester asam butanoat-2-metil-metil ester, asam butanoat-3-metil-etil ester, dan asam oktanoat-etil ester. Ester menghasilkan aroma wangi seperti bunga (rose-like), manis seperti madu (honey-like), atau aroma buah-buahan (fruity) (Belitz *et al.*, 2009), dan oleh karena itu dapat menutupi aroma langu yang dihasilkan dari heksanal. Asam asetat, senyawa volatil golongan asam karboksilat, teridentifikasi dari tempe tanpa perlakuan dan tempe perlakuan karena bersifat polar dengan adanya gugus karboksilat. Asam asetat adalah asam lemak jenuh rantai pendek merupakan hasil fermentasi karbohidrat sedangkan asam heksadekanoat dihasilkan dari hidrolisa asam lemak kedelai oleh enzim lipase. Asam asetat mempunyai rantai alkil pendek dan menghasilkan aroma *sengak* (pungent) yang tajam, sedangkan asam heksadekanoat menghasilkan aroma seperti daging busuk. Senyawa aromatis benzaldehid lebih banyak teridentifikasi dari tempe 6,3MPa dibanding tempe 7,6MPa sedangkan heksanal tidak teridentifikasi dari tempe 6,3MPa. Oleh karena itu tempe 6,3MPa mempunyai aroma yang lebih menyenangkan karena aroma yang dihasilkan oleh heksanal akan ditutupi oleh aroma yang dihasilkan oleh benzaldehid. Heksanal sebagai indikator oksidasi lemak dan menghasilkan bau langu tempe kedelai, sedangkan senyawa aldehid memberikan aroma *apek* (earthy) sedangkan aromatis benzaldehid menghasilkan

aroma kacang-kacangan yang disukai. Senyawa volatil heterosiklis yang teridentifikasi dari tempe 7,6MPa meliputi empat furan (furan-2-pentil, furan-2-metil, furan-2-etil dan 2(3H)-furanon, dihidro-5-pentil) dan hanya furan-2-pentil teridentifikasi dari tempe 6,3MPa. Senyawa Furan-2-pentil berasal dari proses foto-oksidasi asam linoleat dalam biji kedelai. Senyawa volatil disulfide dimetil tidak terdeteksi dalam semua tempe perlakuan karena terekstraksi. Disulfide dimetil berasal dari degradasi enzimatis methionin yang terdapat dalam biji kedelai oleh mikroorganisme terutama *Bacillus subtilis* selama fermentasi. Disulfide dimetil menghasilkan aroma seperti kobis yang kurang disukai (Jelen *et al.*, 2012).

Berdasarkan hasil identifikasi maka perlakuan CO₂ tekanan tinggi menghilangkan aroma kobis busuk yang ditimbulkan oleh disulfide dimetil. Beberapa senyawa volatil ester dan asam karboksilat terekstraksi oleh CO₂ tekanan 7,6MPa. Namun demikian semua tempe perlakuan dalam penelitian ini masih mempunyai aroma khas tempe. Tempe tekanan 6,3MPa mengandung aroma lebih kuat dibanding tekanan 7,6MPa yang disebabkan antara lain adanya senyawa aromatis benzaldehid dan tidak ditemukan heksanal. Sementara itu aplikasi pengolahan dengan subkritis dan superkritis CO₂ terhadap udang segar juga telah dipelajari oleh Kustyawati *et al.*, (2019). Identifikasi senyawa volatile aroma udang kontrol tanpa pengolahan dan udang yang diolah dengan superkritis CO₂ seperti disajikan pada Tabel 3.

Tempe diproses dengan subkritis CO_2 (6,4MPa, 25°C, 10 menit).

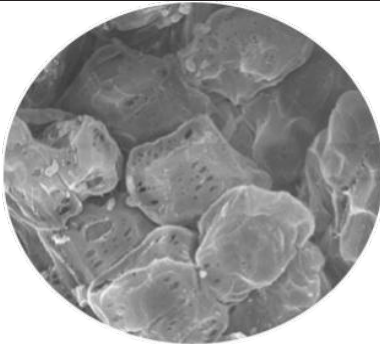


Miselium sebagian tersapu oleh CO_2 superkritis pada waktu proses pelepasan tekanan sehingga tampak warna kedelai di beberapa bagian.

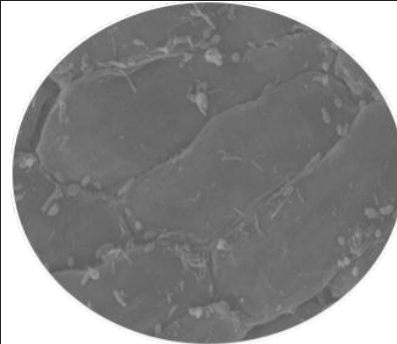
Tempe tanpa proses



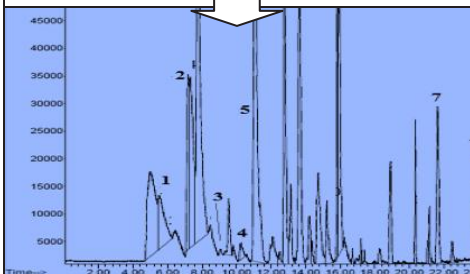
Miselium mengikat kedelai dan menyelimuti permukaan tempe.



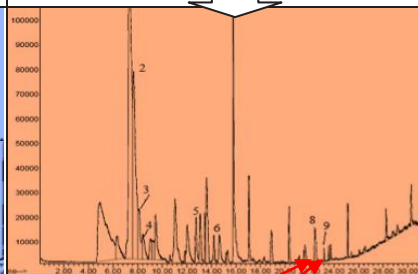
Struktur tempe menunjukkan butiran kedelai mengkerut atau terekstraksi dan menimbulkan ruang kosong di dalam matrik tempe.



Struktur tempe menunjukkan kedelai yang kompak.



Kromatogram tempe yang menunjukkan munculnya senyawa volatile baru sebagai hasil rekasi antara CO_2 fluida superkritis



Senyawa volatil tempe tanpa prosesi memiliki senyawa no 8 dan 9.

dengan komponen makromolekul tempe, dan ada juga senyawa volatile yang terekstraksi selama proses subkritis CO ₂ yaitu no 8 dan 9.	
---	--

Gambar 6. Perubahan senyawa dalam tempe dengan pengolahan CO₂ superkritis. Sumber Kustyawati et al. (2015, 2017).

Mikrobiologi

Karbon dioksida superkritis lebih efektif dalam menonaktifkan mikroorganisme daripada CO₂ dibawah kondisi subkritis (Tabel 4). Meningkatnya kematian mikroba pada kondisi CO₂ subkritis bisa dikaitkan dengan sifat fisik-kimia, yang berada di antara kedua fase cair dan gas. CO₂ superkritis lebih mempunyai sifat yang kepadatan seperti cairan, sementara sifat transportasi massa lebih mendekati sifat gas. Kepadatan seperti cairan memiliki sifat solvasinya lebih tinggi dibandingkan dengan keadaan gas. Di sisi lain, sifat transportasi massa seperti gas meningkatkan laju difusi bila dibandingkan dengan fase cairan. Penggunaan CO₂ superkritis sebagai media inaktivasi dengan demikian mempengaruhi membrane sel dan konstituen isi sel secara signifikan mengakibatkan peningkatan gangguan sistem biologis.

Tabel 4. Penurunan jumlah bakteri dan kapang dipengaruhi oleh tekanan dan lama waktu proses.

Perlakuan Tekanan (MPa) dan waktu proses (menit)	Rata-rata jumlah kapang (cfu/g)	Rata-rata jumlah bakteri (cfu/g)	Penurunan jumlah (Siklus log)	
			Kapang	Bakteri
Kontrol	6,1×10 ⁶	2,3 ×10 ⁷		
7,6 dan 5	2,5 ×10 ⁴	7,4× 10 ⁶	-2,3 ±0,1	-0,5± 0,02
7,6 dan 10	3,8× 10 ²	7,1× 10 ⁵	-4,2± 0,1	-1,5± 0,1
7,6 dan 15	1	1,1×10 ⁵	-6,4 ±0,0	-2,2 ±0,1
7,6 dan 20	1	9,5× 10 ⁴	-6,5 ±0,0	-2,4 ±0,03
6,3 dan 5	3,7×10 ⁵	1,2× 10 ⁷	-1,2 ±0,1	-0,3 ±0,02
6,3 dan 5	4,3× 10 ⁴	2,1×10 ⁶	-1,9 ±0,3	-1,1± 0,1
6,3 dan 5	2,5× 10	1,1× 10 ⁶	-5,3 ±0,0	-1,4 ±0,01
6,3 dan 5	1	8,5 ×10 ⁵	-6,5 ±0,0	-1,5 ±0,03

Nilai yang tertulis dalam Tabel 3 adalah rata rata dari tiga kali ulangan.

Sumber Kustyawati et al. (2018).

Perbedaan besarnya penurunan jumlah bakteri disebabkan oleh adanya perbedaan fase CO₂ pada tekanan dan suhu. Jumlah bakteri yang menurun pada tekanan CO₂ superkritis (7,3MPa) dapat dijelaskan bahwa difusivitas CO₂ superkritis yang tinggi mengakibatkan kematian sel karena kerusakan dinding sel, dan keluarnya material dari dalam sitoplasma. Karbon dioksida menembus ke dalam membran sel dan melarutkan lapisan dinding sel dan membran sitoplasma. Terlarutnya lapisan tersebut menyebabkan struktur dinding sel menjadi longgar dan hal ini mengakibatkan cairan sipolasma akan keluar sel atau terjadi sel bursting pada saat tekanan dibebaskan. Pelepasan tekanan dalam waktu cepat (dalam penelitian ini proses pelepasan tekanan berlangsung pada kisaran 2 menit hingga 3 menit) menyebabkan suatu proses yang disebut *throttling*. Throttling merupakan suatu proses yang menyebabkan penurunan tekanan secara drastis dalam suatu fluida, dan disertai dengan penurunan suhu. Selama proses throttling terjadi aliran CO₂ dari dalam sel ke luar yang dapat mengakibatkan sel bursting. Lapisan dinding sel bakteri Gram negatif (-) tersusun dari lipopolisakarida di bagian luar dan lapisan peptidoglikan di bagian dalam. Lipopolisakarida dan peptidoglikan mudah terlarut dalam CO₂ superkritis karena non-polar. Terlarutnya dinding sel dan membran sel dapat menyebabkan sel lisis dan mengakibatkan kematian. Menurut Xu et al. (2011), lapisan nonpolar peptidoglikan terlarut ke dalam CO₂ menyebabkan struktur dinding sel mengembang dan permeabilitas dinding sel meningkat. Perubahan karakteristik dinding sel, dan permeabilitas membran mengakibatkan mekanisme influx dan efflux senyawa dalam sitoplasma tidak terkontrol. Perubahan influx dan efflux mengakibatkan ekstraksi komponen sitoplasma dan inaktivitas enzim yang terikat di dalam membran sehingga mengganggu system biologi sel dan mengakibatkan kematian. Kematian bakteri dapat juga disebabkan oleh keasaman medium. Konsentrasi CO₂ yang

tinggi meningkatkan keasaman medium karena CO₂ bereaksi dengan air baik air di dalam cairan sitoplasma maupun air di luar sel, dan menghasilkan asam karbonat. Asam karbonat merupakan asam lemah yang berdisosiasi menghasilkan ion H⁺ di dalam medium (tempe mempunyai pH rata-rata 6,06 hingga 7,15 (Tabel 3). Menurut Spilimbergo (2012), CO₂ yang berdifusi ke dalam sitoplasma akan berikatan dengan air menghasilkan asam karbonat seperti reaksi berikut: $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}_2\text{CO}_3 \rightleftharpoons \text{HCO}_3^- + \text{CO}_3^{2-} + \text{H}^+$. Meningkatnya keasaman di luar sel akan menghambat pertumbuhan mikroorganisme dan menurunkan resistensi mikroorganisme terhadap gangguan fisik karena konsumsi energi yang semakin tinggi diperlukan untuk menjaga keseimbangan keasaman di dalam sel dan di luar sel melalui mekanisme proton motive force. Keasaman medium di luar sel menyebabkan impermeabilitas membran meningkat dan mengakibatkan penetrasi CO₂ ke dalam sel semakin meningkat. Selanjutnya CO₂ dalam fase cair menembus membran sel, terakumulasi di bagian dalam dari lapisan fosfolipid dan melarutkan fosfolipid. Di dalam lapisan membran CO₂ dalam fase lipid mengakibatkan kerusakan struktur dan fungsi sel karena rusaknya rantai lipid. Hal ini akan semakin meningkatkan permeabilitas sel membran sehingga memudahkan CO₂ untuk masuk ke dalam sitoplasma. Di dalam sitoplasma CO₂ berikatan dengan air dan membentuk ion HCO₃⁻ yang mengganggu proses metabolisme sel dan mengakibatkan kematian sel (Garcia-Gonzales et al., 2007).

Sementara itu, proses pengolahan pangan dengan teknologi sub atau superkritis CO₂ tidak mematikan semua jenis mikroba di dalam bahan, namun ada beberapa mikroba yang masih hidup atau dengan kata lain resisten terhadap proses CO₂ tekanan tinggi. Sel bakteri yang tidak mati oleh perlakuan CO₂ tekanan tinggi karena mempunyai ketahanan yang tinggi terhadap perlakuan CO₂ tinggi pada kisaran 6,3MPa suhu 35°C dan 7,6MPa suhu 35°C atau dapat juga mengalami injury. Ketahanan mikroorganisme terhadap tekanan CO₂ tinggi dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya oleh senyawa kimia penyusun dinding sel dan dinding membran sel vegetatifnya, substrat dan senyawa penyusun substrat tempat

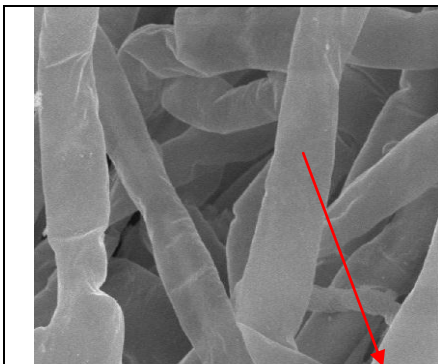
mikroorganisme tumbuh, serta bentuk spora. Protein, lemak dan senyawa bioaktif tempe dapat berfungsi sebagai agensia pelindung mikroorganisme terhadap CO₂ tekanan tinggi. Sel yang membentuk spora lebih tahan terhadap CO₂ tekanan tinggi disebabkan penyusunan dinding sel sporanya. Menurut Dillow et al. (2008), efektivitas kelarutan CO₂ di dalam produk pangan dipengaruhi oleh sifat matrik dan komponen penyusunnya, dimana efek CO₂ lebih tinggi di dalam matrik berbentuk cair dan sebaliknya matrik berbentuk padat menghambat difusitas CO₂ superkritis. Sementara itu, sel yang mengalami injury akan mampu tumbuh pada kondisi yang menguntungkan. Keasaman media pertumbuhan dapat menyebabkan terganggunya sistem biologi sel tetapi relatif tidak menyebabkan kematian karena keasaman yang ditimbulkan oleh efek CO₂ tekanan tinggi terlalu rendah untuk dapat menyebabkan kematian. Keadaan tersebut menurut dapat mengakibatkan sel mengalami injury. Bakteri Gram positif tahan terhadap tekanan tinggi disebabkan oleh susunan dinding selnya. Dinding sel bakteri Gram positif sangat tebal dimana 90% dari dinding selnya terdiri dari lapisan peptidoglikan sedangkan lapisan lainnya adalah lapisan tipis asam teikoat. Peptidoglikan terdiri dari asam N-asetil muramat dan N-asetil glukosamin serta ikatan-ikatan asam amino yang kuat. Faktor tersebut menyebabkan bakteri Gram positif mempunyai ketahanan terhadap gangguan fisik yang tinggi. Bakteri Gram negatif mempunyai dinding sel yang tersusun atas lipopolisakarida di bagian luar dan lapisan tipis peptidoglikan. Karbon dioksida superkritis mempunyai sifat hidrofobik dan dapat menembus dinding sel, melarutkan lapisan lipopolisakarida dan mengakibatkan kematian sel karena kerusakan dinding sel (Guo et al., 2011). Oleh karena itu, CO₂ superkritis dengan waktu 20 menit mempunyai efek disinfektansi selektif terhadap bakteri tempe karena difusitas yang tinggi dapat menembus dinding sel bakteri Gram negatif dan menyebabkan kematian, tetapi bakteri Gram positif lebih resisten terhadap efek difusivitas CO₂ superkritis tersebut sehingga tidak mengakibatkan semua yang tidak mati. Resistensi bakteri Gram positif disebabkan oleh adanya lapisan peptidoglikan dinding sel yang tebal. Komposisi medium atau bahan pangan tempat bakteri

tumbuh dapat juga melindungi bakteri terhadap proses pengolahan CO₂ tekanan tinggi, misalnya makromolekul yang kompleks dalam bahan pangan, atau adanya senyawa bioaktif yang dapat meningkatkan resistensi bakteri terhadap gangguan fisik.

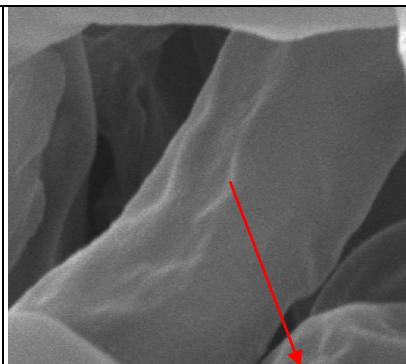
Penurunan jumlah kapang disebabkan oleh efek difusivitas CO₂ superkritis. Mekanisme kematian kapang dapat disebabkan oleh difusivitas CO₂ superkritis yang tinggi dan adanya efek ekstraksi. Kapang mempunyai dinding sel yang tersusun dari lapisan ganda fosfolipid dan glikoprotein (Madigan et al., 2012). Fosfolipid dan glikoprotein mengandung gugus fungsi yang bersifat polar dan non polar sehingga dapat berinteraksi dengan CO₂ tekanan tinggi. Hal ini mengakibatkan desintegrasi dinding sel miselium. Karbon dioksida superkritis mempunyai kemampuan menembus hingga lapisan membran sel kapang kemudian melarutkan lapisan dinding sel dan dinding sel membran dan mengakibatkan kerusakan struktur dan fungsi sel membran. Gambar 8 memperlihatkan kerusakan yang terjadi pada dinding sel hifa *R. oligosporus*. Dinding sel kapang tersusun dari lapisan glikoprotein, β -glukan dan lapisan sel membran terdiri dari fosfolipid. Glikoprotein, β -glukan dan fosfolipid mempunyai gugus fungsi yang bersifat nonpolar sehingga terlarut di dalam CO₂ superkritis. Pada saat pelepasan tekanan terjadi proses throttling yang mengakibatkan sel kapang terekstraksi. Sementara itu, penurunan kapang akibat tekanan CO₂ superkritis (7,6MPa) lebih rendah karena perbedaan fase CO₂. Pada tekanan 6,3MPa dan suhu 25°C CO₂ dalam bentuk cair, karbon dioksida fase cair tidak mempunyai kemampuan menembus sel membran karena densitas CO₂ cair (0,6 hingga 1,6 kg/dm³) lebih tinggi dibanding CO₂ superkritis (0,2 hingga 0,9 kg/dm³) dan kelarutannya juga lebih rendah. Oleh karena itu, CO₂ cair hanya melarutkan sebagian senyawa penyusun dinding sel dan sel membran yang mempunyai gugus hidrofilik. Proses throttling tidak terjadi dalam CO₂ fase cair karena tidak terjadi penurunan tekanan secara drastis sehingga ekstraksi sel kapang tidak terjadi.

Dalam kaitannya dengan fase pertumbuhan mikroorganisme di dalam substrat, maka pada umumnya pertumbuhan sel pada fase stasioner lebih tahan terhadap panas dan tekanan dibanding sel

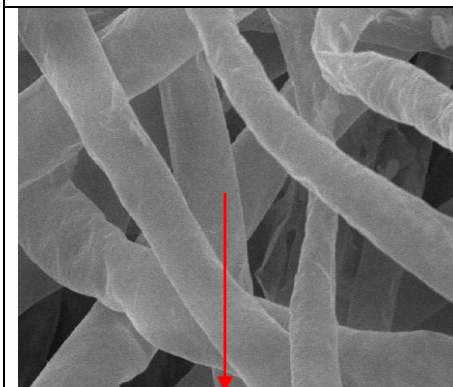
pada pertumbuhan fase log. Sebagai contoh, pengolahan HPCD pada suhu 30°C dan tekanan CO₂ 6,9MPa, laju inaktivasi sel *L. plantarum* lebih tinggi ketika sel *L. plantarum* berada pada akhir fase log akhir dibanding sel pada fase stasioner. Disamping itu, pengolahan dengan CO₂ tekanan tinggi pada suhu lebih rendah dari suhu optimum pertumbuhan mikroba, menunjukkan peningkatan resistensi mikroba terhadap perlakuan dengan CO₂ bertekanan tinggi pada suhu 30°C dan tekanan 6,9 MPa dibandingkan pertumbuhan mikroba pada fase stasioner.



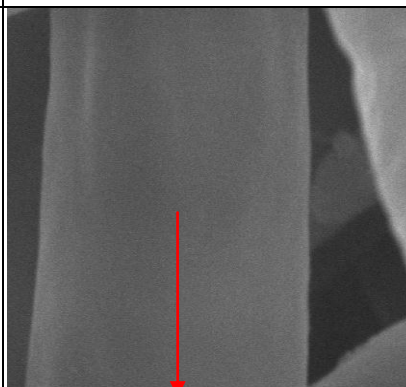
a. Hifa miselium tempe perlakuan CO₂ tekanan 6,3MPa dengan pembesaran 2000×, menunjukkan adanya pengerutan oleh karena difusi CO₂ superkritis.



b. Hifa miselium tempe perlakuan dengan pembesaran 10000×. Dinding sel yang tidak rata disebabkan oleh proses difusi dan pelepasan tekanan CO₂



c. Hifa miselium tempe kontrol dengan pembesaran 2000×, dinding sel hifa rata atau tanpa



d. Hifa miselium kontrol dengan pembesaran 10000×. Dinding sel tanpa pengerutan.

Gambar 7. Perbedaan penampang dinding sel hifa *R. oligosporus* pada tempe tanpa dan tempe dengan pengolahan dengan CO₂ superkritis.

Sumber Kustyawati et al. (2018).

Modifikasi membran sel, Saat mendekati permukaan sel mikroba, cairan CO₂ dapat berdifusi ke dalam membran dan mungkin terakumulasi kedalam lapisan bagian dalam fosfolipid, selanjutnya CO₂ tersebut bisa terlarut dalam fosfolipid. Jumlah CO₂ yang terakumulasi dalam fase lipid mungkin menyebabkan sel membrane mengalami kerusakan secara struktural dan fungsional karena hilangnya urutan rantai lipid, yang dapat meningkatkan fluiditas membran. Penurunan pH intraseluler, karena terjadi peningkatan permeabilitas, maka CO₂ bertekanan, dengan mudah menembus melalui membran sel bakteri dan terakumulasi di dalam bagian interior sitoplasma sel bakteri. Di daerah tersebut, konsentrasi relatif dari kedua cairan CO₂ dan HCO₃⁻ segera dikendalikan oleh buffer pH internal sebagai hasil homeostasis pH agar dapat mempertahankan pH sitoplasma di atas atau di bawah konstan.

Efek penghambatan langsung CO₂ molekuler dan HCO₃⁻ pada metabolisme, Efek yang nyata dari HCO₃⁻ dan CO₂ terlarut adalah terhadap reaksi karboksilasi dan reaksi dekarboksilasi. Dalam kedua reaksi tersebut, CO₂ berperan baik pada biosintesis substrat dalam reaksi karboksilasi atau produk metabolik dari reaksi dekarboksilasi. Se jauh reaksi yang terjadi adalah dekarboksilasi, maka dekarboksilasi menghasilkan CO₂ dalam bentuk terlarut (unhydrated).

Gangguan keseimbangan elektrolit intraseluler, kerusakan mematikan pada sistem biologis sel mungkin bisa disebabkan ketika CO₂ bertekanan terakumulasi di dalam interior sitoplasma sel bakteri. Akumulasi CO₂ bertekanan mengkonversi HCO₃⁻ menjadi CO₃²⁻ yang dapat mengendapkan elektrolit anorganik intraseluler dari sel dan membran sel. Karena elektrolit anorganik ini membantu dalam menjaga hubungan osmotik antara sel dan media sekitarnya, hal ini bisa menghasilkan efek menyusut pada volume sel.

Pemindahan konstituen vital dari sel dan sel membrane, pertama kali CO_2 bertekanan menembus ke dalam sel untuk meningkatkan kepadatan hingga ke tingkat kritis dalam sel, setelah itu CO_2 bertekanan memindahkan konstituen intraseluler untuk mengganggu atau mengubah struktur bio-membran dan/atau keseimbangan sistem biologis., sehingga mendorong proses inaktivasi. Proses removal constituent sel distimulasi oleh pelepasan CO_2 bertekanan secara tiba tiba, dan mengakibatkan transfer komponen intraseluler. Laju inaktivasi dapat ditingkatkan dengan mengulangi pelepasan dan pengisian kembali CO_2 bertekanan di dalam bejana tekan selama perlakuan/proses.

Kandungan lemak dan karbohidrat dalam media atau dalam komponen matrik makanan menurunkan inaktivasi mikroba atau meningkatkan resistensi mikroba terhadap pengolahan dengan CO_2 tekanan tinggi. Lemak dan karbohidrat menurunkan laju penetrasi CO_2 tekanan tinggi. Hal ini mengakibatkan laju penetrasi CO_2 tekanan tinggi ke dalam sel mikroba menurun karena terjadi perubahan pada struktur dinding sel dan membrane yang mengandung lipida. Laju inaktivasi mikroba sangat dipengaruhi oleh konstituen dari media tempat tumbuh mikroba dan sifat makanan selama pengolahan dengan CO_2 tekanan tinggi. Laju inaktivasi menurun sangat nyata jika lingkungan fisikokimia makanan yang kompleks jika dibandingkan dengan system pada larutan sederhana.

Proksimat

Pengolahan dengan CO_2 superkritis dan subkritis menghasilkan perubahan yang signifikan terhadap kadar proksimat bahan pangan meliputi kadar protein, lemak, air dan karbohidrat by different, seperti pada tempe (Tabel 5). Tekanan adalah parameter yang mengontrol laju kelarutan CO_2 dan kelarutan total CO_2 dalam medium. Oleh karena itu, semakin tinggi tekanan semakin meningkat tingkat kelarutan CO_2 dimana hal ini mempermudah proses pengasaman media serta kontak CO_2 dengan sel. Namun demikian, efek stimulasi tekanan CO_2 ini tidak terus menerus, dan dibatasi oleh tingkat kejenuhan kelarutan CO_2 di dalam medium, yaitu bahwa pada tekanan di atas 10MPa, kelarutan CO_2 kurang

dipengaruhi oleh tekanan. Laju inaktivasi meningkat dengan meningkatnya suhu. Suhu yang sangat tinggi juga terbukti menyebabkan efek kerusakan tertentu terhadap kualitas makanan. Suhu tinggi menstimulasi difusi CO_2 dan juga meningkatkan fluiditas membrane sel sehingga memudahkan proses penetrasi CO_2 . Oleh karena itu, peningkatan suhu menstimulasi modifikasi membrane sel. Namun, diatas suhu kritis CO_2 , solubilitas CO_2 menurun cukup cepat dengan meningkatnya suhu. Secara umum, suatu peningkatan tekanan menghasilkan peningkatan secara proporsional dalam inaktivasi mikroba. Sebagai akibatnya, pada tekanan yang lebih tinggi, maka diperlukan paparan yang lebih pendek untuk menonaktifkan sel mikroba pada konsentrasi yang sama.

Kadar air.

Pada proses pengolahan dengan CO_2 superkritis kelarutan air dalam CO_2 meningkat karena air mempunyai polaritas yang besar. Pada saat pelepasan tekanan CO_2 kembali menjadi gas dan mengakibatkan kadar air bahan menurun. Pada fase cair kelarutan CO_2 lebih rendah dibanding fase superkritis dan hal ini mengakibatkan kadar air menurun sedikit karena tidak banyak air yang terlarut. Air meningkatkan polaritas CO_2 dan mengakibatkan kelarutannya dalam CO_2 superkritis lebih tinggi dibanding CO_2 cair. Inaktivasi mikroba sangat tergantung pada kandungan air (atau aktivitas air, a_w) dari medium di mana sel ditanam selama pengolahan dengan CO_2 tekanan tinggi. Inaktivasi mikroba meningkat dengan menurunnya kandungan air. Kinetika sterilisasi sangat dipengaruhi oleh penambahan air. Sel mikroorganisme dalam keadaan basah lebih mudah mati oleh pengolahan dengan CO_2 tekanan tinggi. Hal ini karena (1) meningkatnya kelarutan CO_2 yang membebaskan lebih banyak ion H^+ yang mengakibatkan menurunnya pH medium, (2) dinding dan membran sel yang membengkak karena adanya air, menjadi lebih mudah ditembus oleh CO_2 superkritis dan oleh karena itu secara nyata mempengaruhi modifikasi membran sel. Dilain pihak, kadar air udang menurun 10% pada pengeringan metode oven dan sinar matahari (Okonor et al., 2016). Kadar air udang ini dibawah kadar air standar udang kering.

Udang kering dengan kadar air rendah diharapkan dapat melindungi produk dari kerusakan mikroba dan reaksi enzimatik sehingga mencegah pembusukan.

Tabel 5. Kadar proksimat bahan pangan tempe yang diolah menggunakan CO₂ tekanan tinggi

Tekanan (MPa)/lama waktu (menit)	Nilai rata-rata kadar proksimat (% BK)				
	Air	Protein	Lemak	Abu	Karbohidrat
Kontrol	65,74± 0,8	24,4±0,1	12,2±0,5	0,85± 0,02	63,55±0,7
7,6/5	60,07±0,15	16,79± 0,4	7,21± 0,2	2,80±0,04	73,2±0,3
7,6/10	59,56± 0,3	19,87±0,4	6,14± 0,1	2,21±0,02	71,78±0,3
7,6/15	60,07± ,3	23,04 ± 0,2	5,79±0,02	2,18±0,1	68,99±0,1
7,6/20	59,57± 0,5	23,08±0,1	3,82±0,2	2,29±0,1	70,81±0,7
6,3/5	65,22± 0,5	24,28 ±0,2	10,1±0,6	1,53±0,02	64,09±0,3
6,3/10	65,33 ± 0,1	24,23 ±0,2	10,33± 0,2	1,85±0,01	63,49±0,5
6,3/15	63,18± 0,7	23,67 ±0,6	9,61± 0,1	1,76±0,04	64,96±0,5
6,3/20	64,35± 0,7	24,45 ±0,1	5,56± 0,2	1,92±0,04	68,07±0,3

Keterangan: Nilai yang tertulis dalam Tabel adalah rata-rata dari tiga kali pengulangan beserta standard deviasinya.

Sumber Kustyawati et al. (2015).

Tabel 6. Perubahan nilai kadar proksimat udang (*Litopenaeus vannamei*) setelah diproses dengan CO₂ tekanan tinggi.

Tekanan (MPa)/lama waktu (menit)	Nilai rata-rata kadar proksimat (% BK)				
	Air	Protein	Lemak	Abu	Serat kasar
Kontrol	79,08± 0,8	81,71±0,1	1,12±0,5	4,61± 0,02	0,76±0,7
7,6/5	77,21±0,15	83,45± 0,4	td	6,71±0,04	4,33±0,3
7,6/10	78,48± 0,3	84,32±0,4	0,07± 0,1	6,49±0,02	2,52±0,3
7,6/15	78,29± ,3	77,28 ± 0,2	td	6,1±0,1	4,87±0,1
6,3/5	77,9± 0,5	83,47±0,1	td	5,81±0,1	1,2±0,7
6,3/10	74,96± 0,5	80,22 ±0,2	td	6,07±0,02	0,93±0,3
6,3/15	74,38 ± 0,1	78,89 ±0,2	td	5,09±0,01	0,87±0,5
900/5	79,99± 0,7	80,16±0,6	0,50± 0,1	3,52±0,04	2,38±0,5
900/10	74,84± 0,7	74,87±0,1	td	5,64±0,04	0,88±0,3
900/15	79,97±0,7	83,64±0,1	0,22± 0,1	8,32±0,04	0,56±0,3

Keterangan: Nilai yang tertulis dalam Tabel 5 adalah rata-rata dari tiga kali pengulangan beserta standard deviasinya. Td = tidak terdeteksi.

Sumber: Kustyawati ME., 2019 (unpublished)

Kadar lemak.

Lemak menurun pada tekanan tinggi karena terekstraksi oleh CO₂ tekanan tinggi (7,6MPa) seperti pada kandungan lemak tempe maupun udang (Tabel 5 dan 6). Kadar lemak dalam bahan semakin menurun dengan meningkatnya waktu pada suhu dan tekanan sama, hal ini berarti lemak terekstraksi terhadap penambahan waktu perlakuan CO₂ tekanan tinggi. Semakin meningkat waktu konsentrasi CO₂ yang berdifusi ke dalam matrik tempe semakin tinggi sehingga semakin banyak molekul lemak yang terekstraksi. Sementara itu, kadar lemak yang meningkat dapat disebabkan oleh kandungan air di dalam bahan pangan. Lemak bersifat non polar dan larut dalam CO₂ non polar (*like dissolved like*). Air di dalam bahan meningkatkan polaritas CO₂, dan hal ini mengakibatkan makin sedikit lemak terekstraksi. Menurut Park *et al.* (2013), air merupakan cosolvent yang dapat meningkatkan polaritas CO₂ superkritik.

Kadar lemak dalam udang berkisar antara 1,2-1,3% (w/b) dan sebagian besar berada sebagai lipid dalam daging udang, sementara daging udang mengandung 2% lemak. kadar lemak udang menurun menjadi lebih kecil dari 2% oleh karena pengolahan pengeringan oven atau matahari (Okonor *et al.*, 2016). Penurunan kadar lemak dapat disebabkan antara lain bahwa selama pengeringan lemak terbawa oleh air yang menguap atau dapat juga lemak teroksidasi menjadi komponen lain. Hal ini karena lemak pada udang tersusun dari asam lemak rantai panjang tidak jenuh. Degradasi karotenoid udang (astaxanthin) dapat juga berkontribusi terhadap penurunan lemak udang karena karotenoid udang mempunyai aktivitas antioksidan yang tinggi.

Kolesterol

Kolesterol terekstraksi oleh CO₂ superkritis pada tekanan 900 psi, 950 psi, dan 1100 psi, seperti yang terjadi pada kandungan kolesterol udang (Tabel 7). Pada CO₂ tekanan 900 psi kolesterol terlarut lebih besar dari kelarutannya pada CO₂ tekanan 950 maupun 1100 psi. Hal ini dapat disebabkan oleh adanya sifat polaritas kolesterol dan fluida CO₂. Kolesterol adalah turunan lipida yang mempunyai sifat polar, sementara itu fluida CO₂ tekanan tinggi pada 900 psi adalah berupa fluida cair dan mempunyai sifat lebih polar. Oleh karena itu kolesterol lebih terlarut dalam fluida CO₂ pada tekanan 900 psi. Pada CO₂ tekanan 1100 psi, CO₂ berupa fluida superkritis dan bersifat lebih ke non polar, sedangkan pada tekanan 950 psi, CO₂ berupa fluida subkritis atau mendekati titik superkritis sehingga fluida CO₂ yang berada di daerah ini bersifat lebih non polar dan sedikit polar. Fluida superkritis mempunyai kelebihan yaitu tegangan permukaan fluida adalah nol, atau tidak ada batas antara fluida, hal inilah yang menyebabkan fluida superkritis mempunyai kelarutan yang sangat tinggi dan difusitas yang sangat besar sehingga mampu menembus ke seluruh permukaan dan matrik suatu medium atau bahan pangan.

Udang, sebagai makanan hasil laut yang paling banyak dikonsumsi, merupakan bahan pangan yang mempunyai nilai gizi tinggi dan mengandung zat gizi tertentu yang tidak banyak dimiliki oleh bahan pangan lain, yaitu Iodin. Iodin merupakan mineral yang kebanyakan orang mengalami defisiensi. Iodin diperlukan dalam menjaga fungsi kelenjar tiroid. Walaupun sebagian kelompok orang berpendapat bahwa udang adalah makanan yang kurang sehat karena kandungan kolesterolnya tinggi yang menyebabkan kolesterol darah meningkat sehingga mendorong timbulnya penyakit jantung.

Namun udang adalah makanan sehat yang perlu dimasukkan ke dalam diet manusia. Beberapa pustaka mengatakan bahwa kandungan kalori udang sangat rendah, kurang lebih 84 kalori dalam 85 gram daging udang. Lebih kurang 90% dari kalori tersebut berasal dari protein dan lemak. Disamping itu, sejumlah udang tersebut juga memberikan lebih kurang 20 macam vitamin dan

mineral, termasuk 50% dari kebutuhan manusia akan selenium. Selenium adalah mineral yang membantu kesehatan jantung. Udang juga merupakan sumber asam lemak omega-3, omega-6, disamping penyedia antioksidan astaxanthin. Astaxanthin adalah golongan karotenoid dalam udang dan mempunyai berbagai fungsi kesehatan manusia.

Tabel 7. Efek tekanan dan suhu CO₂ subkritis terhadap kolesterol udang.

Tekanan (psi)./suhu (°C) CO ₂ /lama proses (menit)	Kolesterol (mg/g)
Kontrol	1,63± 0,016
900/25/5	1,39±0,013
900/25/10	1,27±0,017
900/25/15	1,46±0,015
950/27/5	1,47±0,001
950/27/10	1,40±0,018
950/27/15	1,36±0,011
1100/31/5	1,46±0,017
1100/31/10	1,48±0,017
1100/31/15	1,34±0,016

Sumber: Kustyawati ME., 2019 (unpublished).

Eksoskeleton atau kulit terluar udang yang memiliki tekstur keras ini mengandung karotenoid yang disebut sebagai astaxanthin. Karotenoid sendiri adalah bagian dari pigmen pewarnaan. Karotenoid pulalah yang memberi warna daging salmon menjadi berwarna pink. Sebelum dimasak, astaxanthin yang ada di kulit terluar udang masih terlindung dengan rantai protein yang disebut cristacyanin. Namun panas akan mengurai ikatan rantai protein ini. Hasilnya karotenoid dalam ikatan rantai protein ini akan melepaskan astaxanthin. Astaxanthin ini akan membuat daging udang berubah warna jadi kemerahan. Astaxantin adalah komponen dalam jenis algae dimana algae tersebut dimakan oleh udang sehingga udang

menjadi sumber astaxantin sebagai antioksidan bagi manusia. Astxanthin membantu menjaga inflamasi jantung dengan cara mencegah timbulnya radikal bebas dalam sel. Oleh karena itu, udang digolongkan sebagai makanan sehat dan berperan dalam kesehatan manusia. Namun demikian ada beberapa orang yang mengalami alergi terhadap udang. Senyawa dalam udang yang dapat memicu timbulnya alergi adalah tropomiosin, yaitu protein yang ditemukan di dalam udang. Protein lain dalam udang yang memicu timbulnya alergi adalah arginin kinase dan hemosianin.

Tabel 8. Nilai gizi udang per 100 g daging udang yang bisa dimakan.

Komponen Senyawa	Nilai
Nutrisi	
Protein (g)	19,4 0,56
Lipid (g)	1,15 0,19
Air (g)	76,3 0,57
Energi	89,0 0,12
Asam amino esensial (mg):	
Isoleusin	930,7 8,10
Leusin	1463,9 22,30
Lysine	1480,1 27,57
Methionin+sistein	668,1 16,57
Phenilalanin + tirosin	1389,2 19,27
Threonin	756,0 8,89
Tryptofan	223,3 2,90
Valine	935,7 5,89
Komposisi lipid:	
ΣSFA (mg)	257,5 3,71
ΣMUFA (mg)	163,5 7,90
ΣPUFA (mg)	321,0 5,23
Eicosapentaenoik (mg)	112,0 3,02
Docosahexanoik (mg)	75,3 1,43
Σn-3PUFA (mg)	204,5 2,25
Σn-6PUFA (mg)	106,02,31

n-6/n-3PUFA	0,5 0,01
PUFA/SFA	1,3 0,05
Kolesterol	173 6,93
Mineral (mg):	
Calsium	107,3 1,96
Magnesium	58,5 1,38
Fosfor	303,4 3,22
Potassium	259,6 3,25
Sodium	176,1 3,04
Mineral mikro (ug):	
Copper	918 4,62
Iron	2196,5 16,01
Manganese	50,5 1,64
Selenium	44 1,06
Zat besi	1403,5 5,43

Sumber: Dayal et al. (2013).

Kadar Protein.

Menurunnya kadar protein pada bahan disebabkan oleh denaturasi protein yang mengakibatkan protein menggumpal dan kelarutannya menurun. Karbon dioksida berinteraksi dengan gugus samping polipeptida hidrofilik melalui ikatan ionik dan dengan komponen hidrofobik di bagian dalam struktur protein, tetapi tidak merusak ikatan hidrogen di dalam susunan α - helix dan β -sheet struktur sekunder. Hal ini mengakibatkan struktur protein terbentang dan mudah membentuk gumpalan. Bentuk struktur terbentang menyebabkan protein membentuk agrerat dan tidak larut dalam air. Hal ini terjadi pada tempe tekanan 7,6MPa (1100 psi) waktu 5 menit. Petterson (2005) melaporkan bahwa CO₂ tekanan tinggi merusak struktur tersier protein tetapi meningkatkan kestabilan struktur sekunder yang terdiri dari susunan α - helix-DNadan β -sheet dan ikatan peptida dalam stuktur primer.

Udang menjdai sumber asam amino pangan karena kandungan protein yang tinggi. Pengolahan dengan pengeringan oven maupun matahari mengakibatkan penurunan protein yang signifikan ($p < 0,05$) (Okonor et al., 2016). Kehilangan protein ini sangat mungkin

berkaitan dengan denaturasi dan atau reaksi kecolatan (Browning) karena dalam reaksi ini melibatkan asam amino.

pH

Menurunnya pH dalam bahan pangan yang diolah dengan CO₂ bertekanan tinggi antara lain disebabkan oleh kadar air bahan yang menurun. Air berinteraksi dengan CO₂ menghasilkan asam karbonat. Asam karbonat menyumbangkan ion ⁺H ke dalam medium dan mengakibatkan menurunnya pH. Semakin meningkat waktu nilai pH semakin menurun karena semakin banyak molekul air yang bereaksi dengan CO₂. Perubahan pH tempe perlakuan juga dapat disebabkan oleh sifat keasaman bahan pangan. Bahan pangan pada kisaran 6,7 sampai 7,1 menyebabkan asam karbonat dan bikarbonat mudah terdisosiasi dan mengakibatkan keasaman medium meningkat. Asam karbonat dan bikarbonat mudah terdisosiasi di dalam medium yang mempunyai pH pada kisaran pH 6 hingga 7, dan bahwa asam karbonat dan bikarbonat tidak terdisosiasi di dalam jus jeruk yang mempunyai pH 3,7 hingga 3,8 karena disosiasi konstan asam karbonat pada pKa 6,57 dan bikarbonat pada pKa 10,62, sedangkan pada pengolahan susu meggunakan CO₂ tekanan 5,52MPa suhu 38°C waktu 5 menit, asam karbonat dan bikarbonat mudah terdisosiasi di dalam susu yang mempunyai pH 6 hingga 7, dan mengakibatkan pH susu menurun 0,3 hingga 0,5 unit. pH awal substrat atau lingkungan sangat mempengaruhi kinerja CO₂ dalam system HPCD. Sebagai contoh, pH awal yang rendah meningkatkan inaktivasi mikroba dalam pangan yang diolah dengan teknik HPCD. Hal ini disebabkan oleh meningkatnya permeabilitas sel sehingga mempermudah penetrasi CO₂ ke dalam sel.

Vitamin dan Mineral.

Kadar kalsium yang rendah karena terlarut dalam karbon dioksida tekanan tinggi (Tabel 5). Di dalam tempe kalsium berada dalam bentuk bebas (Ca²⁺) setelah terurai dari kalsium fitat (Watanabe *et al.*, 2011). Kalsium dalam bentuk bebas mudah berinteraksi melalui ikatan ionik dengan CO₂ tekanan tinggi. Menurut James and Eastoe (2012), kalsium merupakan *surfactant*

counterion yang berfungsi untuk meningkatkan solvabilitas CO₂ superkritis. Hal ini dapat menjelaskan meningkatnya kalsium pada perlakuan P₁ pada CO₂ tekanan 7,6MPa suhu 35°C (superkritis). Disamping itu, kadar kalsium tempe perlakuan P₂ (0,77) yang rendah dapat juga disebabkan kalsium masih dalam bentuk *Ca-fitat* dan tidak terlarut oleh perlakuan CO₂ cair. Menurut Watanabe (2011), hanya 50% asam fitat yang terurai oleh enzim fitase selama fermentasi.

Menurunnya vitamin B₁, B₂, B₃ karena terekstraksi oleh CO₂ tekanan tinggi (Tabel 8). Vitamin B₁, B₂, B₃ mudah larut dalam air dan tidak larut dalam CO₂ gas sedangkan CO₂ superkritik dapat berinteraksi dengan vitamin B₁, B₂, B₃ melalui gugus aktif karboksil (-COOH) sehingga pada saat tekanan dibebaskan sebagian vitamin akan terekstraksi keluar.

Tabel 9. Efek tekanan dan lama proses pengolahan CO₂ superkritis terhadap vitamin B tempe.

Perlakuan tekanan (MPa)	Kadar vitamin B ₁ (mg/100g)	<i>p</i>	JNTD _{0,05}	BJND _{0,05}
7,6 dan 20	1,85	2	0,02	a
7,6 dan 15	1,97	3	0,02	b
7,6 dan 10	2,01	4	0,02	c
7,6 dan 5	2,36	5	0,02	d
6,3 dan 20	13,10	6	0,02	e
6,3 dan 15	13,35	7	0,02	f
6,3 dan 10	13,40	8	0,02	g
6,3 dan 5	13,42	9	0,02	h

Keterangan: Huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata pada taraf 5%.

Sumber Kustyawati et al. (2015).

Enzim.

Berbagai jenis enzim seperti lipase, beberapa fosfatase, dehidrogenase, oksidase, amilase dan lainnya dapat bereaksi dengan CO₂ superkritis (SC-CO₂). Stabilitas dan aktivitas enzim yang

terpapar dengan karbon dioksida di bawah tekanan tinggi tergantung pada jenis enzim, kadar air dalam larutan, dan pada tekanan dan suhu dari sistem reaksi. Struktur tiga dimensi enzim mungkin dapat berubah secara signifikan dalam kondisi ekstrim, dan menyebabkan enzim terdenaturasi dan konsekuensinya enzim kehilangan aktivitasnya. Jika kondisi pengolahan CO₂ superkritis tidak berakibat merusak maka struktur protein sebagian besar dapat dipertahankan. Perubahan minor terhadap struktur enzim dapat menyebabkan perubahan fase protein aktif dengan mengubah aktivitas, spesifikasi dan stabilitas enzim.

Reaksi enzim yang terjadi selama proses superkritis CO₂

1. Reaksi hidrolisis terjadi pada enzim lipase, proteinase, selulase. Hidrolisis enzim tergantung pada besarnya tekanan, suhu, laju kecepatan CO₂ dan kandungan air bahan, banyaknya enzim dalam system dan distribusi enzim di dalam reactor system. Lipase cenderung stabil terhadap perlakuan CO₂ superkritis.
2. Terjadi reaksi sintesis selama proses CO₂ superkritis. Sintesis senyawa biokatalis dapat berlangsung selama proses CO₂ superkritis. Sifat volatilitas CO₂ yang tinggi memudahkan CO₂ sangat mudah dipisahkan secara sempurna dari produk sehingga menghasilkan reaksi tanpa solven. Hal ini sangat menguntungkan jika dimanfaatkan oleh industri pengolahan, kosmetik dan obat-obatan.

Inaktivasi enzim kunci/ penghambatan metabolisme sel karena penurunan pH internal, Enzim, yang membentuk sebagian besar protein di dalam sitosol, memiliki aktivitas maksimal pada pH optimal, dan aktivitasnya menurun tajam diluar kondisi optimal. Oleh karena itu, menurunnya pH sitoplasma dapat menyebabkan penghambatan dan/atau inaktivasi enzim kunci yang esensial untuk metabolisme dan proses regulasi, seperti glikolisis, pengangkutan asam amino dan peptida, pengangkutan ion aktif, dan translokasi proton. Beberapa enzim kehilangan aktivitasnya secara signifikan, dan sebagian lain hanya sedikit terpengaruh oleh CO₂ bertekanan. Hal ini karena karena menurunnya pH menyebabkan presipitasi pada enzim yang memiliki pH isoelektrik asam, dan enzim dengan titik isoelektrik basa tidak terpengaruh.

BAB 6

RINGKASAN

Teknologi karbondioksida bertekanan tinggi pada variasi tekanan, suhu dan lama waktu proses yaitu 1100psi/ suhu 35°C, 950psi/ 29°C, dan 900psi/25°C dengan lama waktu proses 5, 10, 15, dan 20 menit dapat diaplikasikan dalam pengolahan udang.

Udang makanan asal laut yang bernilai gizi tinggi dan sebagai sumber asam lemak omega-3, omega-6, protein dan antioksidan yang berasal dari senyawa karotenoid astxanthin. Namun sebagian kekawatiran sebagian orang akan kandungan kolesterol udang. Oleh karena itu, udang perlu diolah menggunakan pengolahan tanpa panas untuk mempertahankan nilai gizi dan fungsionalnya disamping keamanan mikrobiologinya. Kolesterol udang yang diolah pada pengolahan subkritis CO₂ pada tekanan 900psi/25°C selama 10 menit menurun dibanding udang tanpa pengolahan karena terlarut dalam fluida CO₂ cair. Kandungan asam lemak udang menurun berbeda tidak nyata dibanding kontrol. Karotenoid terlarut selama proses dan menyebabkan warna udang yang diolah dengan subkritis CO₂ berubah menjadi sedikit merah. Disamping itu juga timbul senyawa pirazin yang mengindikasikan bahwa udang menjadi masak (cooked). Oleh karena itu pengolahan dengan subkritis CO₂ menghasilkan udang dengan kolesterol rendah dan udang menjadi setengah masak (half cooked).

Karbon dioksida pada tekanan 900 psi/25°C berupa fluida cair yang mempunyai sifat polaritas yang polar. sementara CO₂ pada tekanan 950psi/29°C berupa fluida mendekati superkritis mempunyai polaritas yang non polar dan sedikit polar. CO₂ pada tekanan 1100psi/35°C adalah fluida superkritis dan mempunyai

polaritas yang non polar. Kemungkinan teknologi pengolahan CO₂ superkritis sebagai alternative pengawetan udang sangat perlu dikembangkan mengingat dapat mengurangi mikroorganisme dalam pangan, dan mempertahankan fungsi protein sekaligus menurunkan kadar kolesterol udang.

DAFTAR PUSTAKA

- Bao, H., Berlanga, M.L., Xue, M., Hapip, S.M., Daniels, R.W., Mendenhall, J.M., Alcantara, A.A., Zhang, B. (2007). The atypical cadherin flamingo regulates synaptogenesis and helps prevent axonal and synaptic degeneration in *Drosophila*. [Mol. Cell. Neurosci.](#) 34(4): 662--678.
- Beckman, E.J. 2004. Supercritical and near-critical CO₂ in green chemical synthesis and processing. *J. Supercrit Fluid.* 28 : 121 – 191.
- Belitz, H.-D., W. Grosch, and P. Schieberle. 2009. Cereals and cereal products. Pp. 670–745 in H.-D. Belitz, W. Grosch and P. Schieberle, eds. Food chemistry. 4th ed. Springer,
- Besbes N, Joffraud Jean-J, Khemis IB, Sadok S., 2017, Bio-preservation of refrigerated peeled shrimp (*Parapenaeus longirostris*) using cactus fruit peels polyphenolic extract, Doi: 10.9790/264X-03033647.
- Brown, Z.K., Fryer, P.J., Norton, I.T., Bridson, R.H. 2010. Drying of agar gels using supercritical carbon dioxide. *J. Supercrit Fluid.* 54 : 89 – 95.
- Calvo, L. dan Torres, E. 2010. Microbial inactivation of paprika using high – pressure CO₂. *Journal of Supercritical Fluids.* 52 (1) : 134 – 141.
- Dayal JS, Ponniah AG, Imran- Khan H, Madhu-Babu EP, Ambasankar Kand
Vasagam KPK, 2013. Shrimps – a Nutritional perspective, *Current Science* (june) 2013.
- Dillow, A., Dehgani, F., Hrkach, J.S., Foster N.R., Langer, R. 2008. Bacterial inactivation by using near- and supercritical CO₂. *Proc Nat Acad Sci USA* 96 : 10344 – 10348

- Ferrentino,G., dan Spilimbergo,S. 2011. High pressure CO₂ pasteurization of solid food : Current knowledge and future outlooks. *Trends in Food Science and Technology*. 22 : 427 – 441.
- Gomez,K.A., dan Gomez,A.A. 1995. Statistical Procedures for Agriculture Research. Ed. 2. An International Rice Research Insitute Book. John Wiley and Sons. New York
- Guo,M., Wu,J., Xu,Y., Xiao,G., Zhang,M., Chen,Y. 2011. Effects on microbioal inactivation and quality attributes in frozenlychee juice treated by supercritical carbon dioxide. *Eur Food Res Technol*. 232 : 803 – 811.
- Hong,S., dan Pyun,Y. 1999. Inactivation Kinetics of *Lactobacillus plantarum* by High Pressure Carbon Dioxide. *Journal of Food Science*. 64(4) : 728 – 733.
- Jelen,H., Majchar,M., Ginja,A., Kuligowski,M. 2012. Determination of compounds responnsible for tempeh aroma. *Food Chem*. 141 : 459 – 465.
- Kadam PS, Jadhav BA, Salve RV and Machewad GM. 2012. Review on the High Pressure Technology (HPT) for Food Preservation. *J Food Process Tech* 3(1): 1-5.
- Klensporf,D., dan Jelen,H.K. 2012. Analysis of volatile aldehydes in oat flakes by SMPE-GC/MS. *Pol J Food Nutr Sci*. 14 : 389 – 395.
- Kustyawati,M.E., Pratama,F., Saputra,D., Wijaya,A. 2014. Modifikasi warna, tekstur dan aroma tempe setelah diproses dengan karbon dioksida superkritik. *J.Teknol. dan Industri Pangan*. 25 (2) : 168 – 175.
- Kustyawati,M.E., Pratama,F., Saputra,D., Wijaya,A. 2015. Karakteristik Kimia dan Tekstur Tempe Setelah Diproses dengan Karbon Dioksida Bertekanan Tinggi. *Agritech*. 35 (2) : 185 – 191.
- Kustyawati ME, Nawansih O, and Nurjanah S., 2017, Profil of aroma compounds and acceptability of modified tempeh, *International Food Research Journal*, 24(2):734-740.
- Kustyawati ME, Pratama F, Saputra D, and Wijaya A. 2018, Viability of molds and bacteria in tempeh processed with supercritical CO₂, *International Journal Food Scie.*, 2018:8591015, doi: 10.1155/2018/8591015.

- Labouteur L, Ollero M, and Touboul D. 2015. Lipidomics by supercritical fluid chromatography, *International Journal Molecules Sci.*16(6):13868-13884.
- Liao,H., Zhang,L., Hu,X., Liao,X. 2010. Effect of high pressure CO₂ and mild heat processing on natural microorganisms in apple juice. *Int J Food Microbiol.* 137 : 81 – 87.
- Madigan,M.T., Martinko, J.M., Stahl,D.A., Clark,D.P. 2012. *Brock Biology of microorganisms.* 25 – 30. Pearsons Education Inc. San Fransisco.
- Mathias,O., Kablan,T., Joseph,A. 2010. Inactivation of *Bacillus Substilis* spores with pressurized CO₂ and influence of O₂, N₂O and CH₂CH₂OH on its sporicidal activity. *European Journal of Scientific Research.* 40 (1) : 6 – 14.
- Ngginak J, SemangunH, Mangimbulude JC, Rondonuwu FS. 2013. Komponen senyawa aktif pada udang serta aplikasinya dalam pangan, *Sains Medika*, 5(2):128-132.
- Akonor PT, Ofori H, Dziedzoave NT, and Kortei NK. 2016. Drying characteristics and physical and nutritional properties of shrimp meat as affected by different traditional drying techniques, *International Journal of food science*, 2016, <http://dx.doi.org/10.1155/2016/7879097>.
- Park,H.S., Choi,H.J., Kim,K.H. 2013. Effect of supercritical CO₂ modified with water cosolvent on the sterilization of fungal spore-contaminated barley seeds and the germination of barley seeds. *Journal of Safety.* 33 : 1 – 18.
- Pratama,F., Saputra,D., Yuliati,K. 2007. Metode pencucian udang segar yang mengandung kloramfenikol dengan menggunakan karbon dioksida fase superkritik. Pate ID 0020002 (29-10-2007). Fata Granted Paten Lembaga Penelitian Universitas Sriwijaya, Palembang.
- Rastogi,N.K., Raghavaro,K.S., Balasubramaniam,V.M., Niranjana K., Knorr,D. 2007. Opportunities and challenges in high pressure processing of foods. *Crit Rev Food Scie Nutr.* 47 : 69 – 112.
- Spilimbergo, S., Ferrentino, G., Balzan, S., Bertucco, A. 2012. Supercritical carbon dioxide inactivation of solid materials.

University of Trento, Dept. of Material Eng. And Indus. Technol. Messiano, Trento Italy.

Valverde,M.T., Marin-Iniesta,F., Calvo,L. 2010. Inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* in conference pear with high pressure carbon dioxide and effects on pear quality. *J Food Eng.* 98 : 421 - 480

Xu,Z., Zhang, L., Wanga,Y., Bi,X., Buckow,R., Liao,X. 2011. Effects of high pressure CO₂ treatments on microflora, enzymes and some quality attributes of apple juice. *J Food Eng.* 104 : 577 - 584.

GLOSARIUM

Astaxanthin yaitu salah satu karotenoid, pigmen alami pemberi warna merah atau merah muda, berasal dari beberapa jenis algae dan hewan air seperti udang, dan lobster.

CO₂ superkritis yaitu suatu fase fluida CO₂ dimana CO₂ berada pada atau di atas titik kritis CO₂. Pada umumnya CO₂ berbentuk gas di udara pada suhu dan tekanan standard/normal. CO₂ berada dalam fase padat dan disebut sebagai dry ice (es kering) jika berada di bawah suhu -56,6°C dan tekanan 5,11 atm.

CO₂ subkritis yaitu suatu fase CO₂ dimana CO₂ berada di daerah di bawah titik kritis (31,1°C dengan tekanan 7,4MPa). CO₂ yang berada di daerah subkritis berupa fluida CO₂ cair.

High pressure carbon dioxide (HPCD) yaitu teknologi tanpa panas dimana makanan tidak terpapar pada panas, karena CO₂ berada di atas titik kritis pada suhu 31,1°C dengan tekanan 7,4MPa.

Miselium yaitu bagian sel vegetative dari kapang, terdiri atas kumpulan benang benang hifa. Hifa adalah filament benang yang terdiri dari sel sel kapang.

Titik kritis CO₂ yaitu titik dimana CO₂ berada pada suhu kritis (31,1°C) dan tekanan kritis (7,4 MPa), di atas titik tersebut CO₂ berubah menjadi fluida dan region atau daerah di atas titik kritis disebut daerah superkritis.

Mikrostruktur yaitu susunan suatu matrik, jaringan, atau sel yang berukuran mikro atau hanya dapat diamati menggunakan alat bantu mikroskop elektron.

SEM (Scanning electron microscope) yaitu suatu tipe mikroskop elektron yang menghasilkan gambar sampel dengan memindai permukaan dengan tembakan elektron yang terfokus. Elektron berinteraksi dengan atom di dalam sampel, menghasilkan

variasi signal yang mengandung informasi mengenai permukaan topografi dan komposisi sampel.

Psi (per square inch) adalah satuan kekuatan tekanan per inchi persegi. $1 \text{ psi} = 6894,76 \text{ Pascal} = 0,068046 \text{ Atmosphere} = 0,0689476 \text{ Bar}$.

Denaturasi yaitu kerusakan struktur protein sekunder, tersier, dan kuartener oleh senyawa denaturan akibat rusaknya ikatan hydrogen, interaksi hidrofobik, ikatan garam, dan terbukanya lipatan molekul protein tetapi belum terjadi pemutusan ikatan kovalen (ikatan peptide).

Denaturasi parsial protein meningkatkan daya cerna dan ketersediaan biologisnya, mengaktivasi enzim.

Omega-3 adalah jenis asam lemak tidak jenuh dengan 3 buah ikatan rangkap, (docosaheptaenoic/DHA).

Polaritas atau kepolaran yaitu pemisahan muatan listrik suatu molekul atau gugus kimia yang memiliki momen listrik dipole atau multipol.

Pirazin yaitu suatu senyawa organik aromatik heterosiklik dengan formula kimia $\text{C}_4\text{H}_4\text{N}_2$.

Fluida yaitu suatu zat yang mengalir atau zat yang bisa mengalami perubahan bentuk terus menerus bila terkena tekanan. Fluida mencakup zat cair, gas, air dan udara

PROTEKSI ISI LAPORAN KEMAJUAN PENELITIAN

Dilarang menyalin, menyimpan, memperbanyak sebagian atau seluruh isi laporan ini dalam bentuk apapun kecuali oleh peneliti dan pengelola administrasi penelitian

LAPORAN KEMAJUAN PENELITIAN MULTI TAHUN

ID Proposal: 5fbb49b8-b65a-4541-b9f0-2475a8fb50f8
Laporan Kemajuan Penelitian: tahun ke-2 dari 3 tahun

1. IDENTITAS PENELITIAN

A. JUDUL PENELITIAN

Mempelajari Teknik Pengolahan Tanpa Panas High Pressure CO2 Sebagai Alternatif Pengawetan Udang

B. BIDANG, TEMA, TOPIK, DAN RUMPUN BIDANG ILMU

Bidang Fokus RIRN / Bidang Unggulan Perguruan Tinggi	Tema	Topik (jika ada)	Rumpun Bidang Ilmu
Pangan	Teknologi pascapanen dan rekayasa teknologi pengolahan pangan	Diversifikasi dan hilirisasi produk pertanian, perkebunan, peternakan, dan perikanan	Teknologi Hasil Pertanian

C. KATEGORI, SKEMA, SBK, TARGET TKT DAN LAMA PENELITIAN

Kategori (Kompetitif Nasional/ Desentralisasi/ Penugasan)	Skema Penelitian	Strata (Dasar/ Terapan/ Pengembangan)	SBK (Dasar, Terapan, Pengembangan)	Target Akhir TKT	Lama Penelitian (Tahun)
Penelitian Kompetitif Nasional	Penelitian Dasar	SBK Riset Dasar	SBK Riset Dasar	3	3

2. IDENTITAS PENGUSUL

Nama, Peran	Perguruan Tinggi/ Institusi	Program Studi/ Bagian	Bidang Tugas	ID Sinta	H-Index
MARIA ERNA KUSTYAWATI Ketua Pengusul	Universitas Lampung	Teknologi Industri Pertanian		6007836	1
Ir SAMSUL RIZAL M.Si Anggota Pengusul 1	Universitas Lampung	Teknologi Hasil Pertanian		5979539	1

3. MITRA KERJASAMA PENELITIAN (JIKA ADA)

Pelaksanaan penelitian dapat melibatkan mitra kerjasama, yaitu mitra kerjasama dalam melaksanakan penelitian, mitra sebagai calon pengguna hasil penelitian, atau mitra investor

Mitra	Nama Mitra
-------	------------

4. LUARAN DAN TARGET CAPAIAN

Luaran Wajib

Tahun Luaran	Jenis Luaran	Status target capaian (<i>accepted, published, terdaftar atau granted, atau status lainnya</i>)	Keterangan (<i>url dan nama jurnal, penerbit, url paten, keterangan sejenis lainnya</i>)
2	Buku Hasil Penelitian	sudah terbit	

Luaran Tambahan

Tahun Luaran	Jenis Luaran	Status target capaian (<i>accepted, published, terdaftar atau granted, atau status lainnya</i>)	Keterangan (<i>url dan nama jurnal, penerbit, url paten, keterangan sejenis lainnya</i>)
2	Publikasi Ilmiah Jurnal Nasional Terakreditasi	accepted/published	Jurnal Teknologi Industri Pangan

5. ANGGARAN

Rencana anggaran biaya penelitian mengacu pada PMK yang berlaku dengan besaran minimum dan maksimum sebagaimana diatur pada buku Panduan Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Edisi 12.

Total RAB 3 Tahun Rp. 195,995,000

Tahun 1 Total Rp. 0

Tahun 2 Total Rp. 98,000,000

Jenis Pembelanjaan	Item	Satuan	Vol.	Biaya Satuan	Total
Analisis Data	Transport Lokal	OK (kali)	1	500,000	500,000
Analisis Data	Penginapan	OH	1	400,000	400,000
Analisis Data	Tiket	OK (kali)	2	1,000,000	2,000,000
Analisis Data	HR Pengolah Data	P (penelitian)	40	15,000	600,000
Analisis Data	Biaya analisis sampel	Unit	100	510,000	51,000,000
Bahan	Barang Persediaan	Unit	5	240,000	1,200,000
Bahan	ATK	Paket	10	150,000	1,500,000
Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Unit	10	1,028,000	10,280,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya Publikasi artikel di Jurnal Nasional	Paket	1	5,000,000	5,000,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya penyusunan buku termasuk book chapter	Paket	1	10,000,000	10,000,000
Pengumpulan Data	FGD persiapan penelitian	Paket	2	500,000	1,000,000
Pengumpulan Data	HR Sekretariat/Administrasi Peneliti	OB	40	15,000	600,000
Pengumpulan Data	HR Pembantu Lapangan	OH	48	15,000	720,000

Jenis Pembelanjaan	Item	Satuan	Vol.	Biaya Satuan	Total
Pengumpulan Data	HR Pembantu Peneliti	OJ	60	20,000	1,200,000
Sewa Peralatan	Ruang penunjang penelitian	Unit	4	250,000	1,000,000
Sewa Peralatan	Peralatan penelitian	Unit	5	1,000,000	5,000,000
Sewa Peralatan	Transport penelitian	OK (kali)	6	1,000,000	6,000,000

Tahun 3 Total Rp. 97,995,000

Jenis Pembelanjaan	Item	Satuan	Vol.	Biaya Satuan	Total
Analisis Data	Uang Harian	OH	1	300,000	300,000
Analisis Data	Transport Lokal	OK (kali)	1	500,000	500,000
Analisis Data	Penginapan	OH	1	400,000	400,000
Analisis Data	Tiket	OK (kali)	2	1,000,000	2,000,000
Analisis Data	HR Pengolah Data	P (penelitian)	40	15,000	600,000
Analisis Data	Biaya analisis sampel	Unit	84	300,000	25,200,000
Bahan	Barang Persediaan	Unit	1	8,000,000	8,000,000
Bahan	ATK	Paket	10	150,000	1,500,000
Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Unit	10	1,150,000	11,500,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Publikasi artikel di Jurnal Internasional	Paket	1	25,000,000	25,000,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	HR Sekretariat/Administrasi Peneliti	OB	24	15,000	360,000
Pengumpulan Data	FGD persiapan penelitian	Paket	2	500,000	1,000,000
Pengumpulan Data	Tiket	OK (kali)	2	1,000,000	2,000,000
Pengumpulan Data	Transport	OK (kali)	5	383,000	1,915,000
Pengumpulan Data	Uang Harian	OH	7	300,000	2,100,000
Pengumpulan Data	Penginapan	OH	7	300,000	2,100,000
Pengumpulan Data	HR Sekretariat/Administrasi Peneliti	OB	40	15,000	600,000
Pengumpulan Data	HR Pembantu Lapangan	OH	48	15,000	720,000
Pengumpulan Data	HR Pembantu Peneliti	OJ	60	20,000	1,200,000
Sewa Peralatan	Peralatan penelitian	Unit	5	1,000,000	5,000,000
Sewa Peralatan	Ruang penunjang penelitian	Unit	5	200,000	1,000,000
Sewa Peralatan	Transport penelitian	OK (kali)	5	1,000,000	5,000,000

6. KEMAJUAN PENELITIAN

A. RINGKASAN: Tuliskan secara ringkas latar belakang penelitian, tujuan dan tahapan metode penelitian, luaran yang ditargetkan, serta uraian TKT penelitian.

B. Udang sebagai komoditas nasional bernilai tinggi dari segi gizi dan nilai ekonomi. Penanganan paska panen menjadi sangat penting, karena udang termasuk pangan yang mudah rusak dan tidak tahan terhadap pengolahan menggunakan panas. Hal ini disebabkan antara lain dua hal utama yaitu nilai gizi protein tinggi yang mudah rusak oleh proses pemanasan, nutrisi yang tinggi menjadikan udang sebagai media yang sangat cocok bagi pertumbuhan mikroorganisme. Oleh karena itu inovasi teknik pengawetan sangat perlu dilakukan. Salah satu prinsip pengawetan yaitu untuk mencegah atau memperlambat pertumbuhan mikroorganisme. Mengingat udang mengandung protein tinggi, maka inaktivasi mikroorganisme memerlukan teknik pengolahan tanpa melibatkan panas. Teknologi karbondioksida bertekanan tinggi (HPCD) merupakan salah satu teknologi pengolahan tanpa menggunakan panas yang mempunyai keuntungan mampu mengolah makanan pada suhu ambient atau lebih rendah. Karbondioksida menjadi fluida superkritis pada suhu ambient dan tekanan (31,1°C dan 73,8 MPa atau 1099 psi) yang mempunyai keuntungan yaitu memiliki sifat kelarutan seperti gas, kerapatan seperti cairan, difusivitas lebih tinggi dari pada bentuk cairan, dan tegangan permukaan nol. Sifat keuntungan ini mampu mengeliminasi mikroba, mengurangi kadar air, dan berinteraksi dengan ikatan kovalen dalam bahan pangan serta menarik antibiotik dalam udang. Teknik CO₂ bertekanan tinggi sangat sesuai diaplikasikan untuk bahan pangan karena ramah lingkungan dan tidak meninggalkan residu, disamping ketersediaan CO₂ yang melimpah dan aman. Tujuan penelitian untuk (1) mengetahui sifat fisik kimia dan sensori udang yang diolah dengan teknologi karbondioksida bertekanan tinggi; (2) mengetahui masa simpan udang pada berbagai tingkatan suhu; (3) mengetahui teknik pengemasan yang sesuai dan melakukan analisis produksi.

C. Untuk mencapai tujuan tersebut penelitian terdiri dari 3 tahap. Tahap 1 melakukan pemrosesan pengolahan udang menggunakan teknik HPCD dengan percobaan Rancangan Acak Kelompok dengan perlakuan Fase CO₂ superkritis dan sub superkritis, dan lama waktu pemrosesan. Untuk mengetahui efek teknik HPCD terhadap perubahan sifat udang dilakukan serangkaian uji fisik, kimia, sensory dan daya terima konsumen. Hasil uji analisis statistik parameter uji akan memperoleh perlakuan yang terbaik untuk pengolahan udang. Tahap II penelitian meliputi optimalisasi pemrosesan perlakuan terbaik. Kemudian dilanjutkan dengan penyimpanan udang pada suhu bertingkat 5, 15, dan 25°C. Pendugaan masa simpan menggunakan uji Arrhenius. Tahap III melakukan pengujian terhadap penggunaan bahan pengemas dan masa simpan, dan dilanjutkan dengan pengujian preferensi terhadap masyarakat serta analisis usaha.

D. Luaran yang ditargetkan adalah teknik alternative pengawetan udang. Temuan akan ditulis dalam draf buku Referensi penerbit Unila LP2M sebagai Luaran Tahun I. Luaran Tahun II adalah buku referensi dengan penerbit Unila LP2M, dan Luaran Tahun ke III adalah artikel untuk jurnal internasional penerbit Hindawi-Intern Journal of Food Sci and Technology. TKT 2. Target nilai TKT pada tahun pertama adalah 3.

HASIL PENELITIAN TAHUN 1

Udang diproses menggunakan tekanan (MPa) dan suhu (°C) CO₂ bervariasi yaitu (1) 900MPa/25°C, (2) 950MPa/27°C, (3) 1100MPa/32°C). Lama proses penekanan adalah 5, 10, 15, dan 20 menit untuk setiap proses pada tekanan dan suhu. Hasil menunjukkan bahwa kolesterol udang menurun pada 900MPa/25°C selama proses penekanan 10 menit, namun tidak menurun pada tekanan yang lebih tinggi 1100MPa. Tekstur udang dengan analisis SEM menunjukkan berbeda nyata setiap perlakuan. Sebagian senyawa aroma volatile terekstraksi selama proses HPCD, demikian juga kandungan asam lemak ikatan rangkap mengalami perubahan konsentrasi. Masih terdapat isolate bakteri yang tahan terhadap perlakuan HPCD, sementara jenisnya belum diketahui karena masih dalam proses identifikasi PCR-Sequencing. Kesimpulan sementara bahwa udang yang diproses dengan high pressure CO₂ pada fase sub superkritis (900MPa/10menit) menghasilkan udang setengah matang (half cook).

LUARAN: BUKU Judul Teknologi High Pressure CO₂ Untuk Pengolahan Pangan, ISBN 978-623-7560-16-6, Penerbit AURA

HASIL PENELITIAN TAHUN KE 2

Penelitian pada tahun pertama menunjukkan bahwa udang putih (*Litopenaeus vannamei*) yang diproses menggunakan high pressure CO₂ pada tekanan 1100 psi selama 10 menit menghasilkan udang setengah matang atau pre-cooked shrimp. Hal ini dibuktikan dengan perubahan mikrostruktur daging udang yaitu terbentuknya rongga diantara serabut myofibrilar dan mengerutnya sarcoplasma. Protein actin dan myosin yang menyusun sarcoplasma berinteraksi dengan CO₂ superkritis karena sifat polaritas molekul protein. Protein udang mengandung berbagai asam amino yang bersifat polar seperti asam glutamate, dan non-polar seperti leusin, isoleusin, lysin yang mudah larut dalam CO₂ superkritis yang memiliki sifat kelarutan tinggi pada tekanan 1100 psi. Kelarutan asam amino mengakibatkan penggumpalan protein atau denaturasi. Denaturasi protein merupakan salah satu indikasi kematangan udang. Namun, perubahan warna udang tidak signifikan pada perlakuan tekanan 1100 psi selama 10 menit. Perubahan warna pada udang disebabkan oleh hidrolisis enzim polyphenol oksidase menghasilkan terpisahnya ikatan antara karotenoid astaxantin dengan protein sehingga terbentuk warna orange sampai merah pada udang. Astaxanthin bersifat non-polar yang mudah terlarut dalam CO₂ superkritis, oleh karena itu tidak menghasilkan perubahan warna pada udang perlakuan. Tahap selanjutnya perlakuan HPCD pada tekanan 900 psi selama 10 menit digunakan sebagai alternative pengolahan udang agar dapat memperpanjang masa simpan udang. Penyimpanan udang pada suhu 4oC dalam kemasan vakum selama 10 hari diamati kerusakannya. Parameter mutu yang dianalisis adalah TVB-N, warna, sensory, total mikroba. Hasil menunjukan meningkatnya kadar TVB-N yang mengindikasikan terjadi perombakan lemak menjadi asam lemak bebas. Perombakan lemak merupakan indicator kerusakan pada produk hasil laut termasuk udang. Hasil uji sensory oleh panelis tidak terlatih menghasilkan bahwa masih menerima udang perlakuan yang disimpan selama 10 hari. Sementara udang tanpa perlakuan menghasilkan bau yang kurang disukai panelis.

LUARAN; Publikasi Jurnal Internasional, Food, MDPI.

B. KATA KUNCI: Tuliskan maksimal 5 kata kunci.

udang; HPCD; half-cooked shrimp; penyimpanan;

Pengisian poin C sampai dengan poin H mengikuti template berikut dan tidak dibatasi jumlah kata atau halaman namun disarankan ringkas mungkin. Dilarang menghapus/modifikasi template ataupun menghapus penjelasan di setiap poin.

C. HASIL PELAKSANAAN PENELITIAN: Tuliskan secara ringkas hasil pelaksanaan penelitian yang telah dicapai sesuai tahun pelaksanaan penelitian. Penyajian dapat berupa data, hasil analisis, dan capaian luaran (wajib dan atau tambahan). Seluruh hasil atau capaian yang dilaporkan harus berkaitan dengan tahapan pelaksanaan penelitian sebagaimana direncanakan pada proposal. Penyajian data dapat berupa gambar, tabel, grafik, dan sejenisnya, serta analisis didukung dengan sumber pustaka primer yang relevan dan terkini.

Pengisian poin C sampai dengan poin H mengikuti template berikut dan tidak dibatasi jumlah kata atau halaman namun disarankan ringkas mungkin. Dilarang menghapus/modifikasi template ataupun menghapus penjelasan di setiap poin.

C. HASIL PELAKSANAAN PENELITIAN: Tuliskan secara ringkas hasil pelaksanaan penelitian yang telah dicapai sesuai tahun pelaksanaan penelitian. Penyajian meliputi data, hasil analisis, dan capaian luaran (wajib dan atau tambahan). Seluruh hasil atau capaian yang dilaporkan harus berkaitan dengan tahapan pelaksanaan penelitian sebagaimana direncanakan pada proposal. Penyajian data dapat berupa gambar, tabel, grafik, dan sejenisnya, serta analisis didukung dengan sumber pustaka primer yang relevan dan terkini.

Penelitian pada tahun pertama menunjukkan bahwa udang putih (*Litopenaeus vannamei*) yang diproses menggunakan high pressure CO₂ pada tekanan 1100 psi selama 10 menit menghasilkan udang setengah matang atau pre-cooked shrimp. Hal ini dibuktikan dengan perubahan mikrostruktur daging udang yaitu terbentuknya rongga diantara serabut myofibrilar dan mengerutnya sarcoplasma. Protein actin dan myosin yang menyusun sarcoplasma berinteraksi dengan CO₂ superkritis karena sifat polaritas molekul protein. Protein udang mengandung berbagai asam amino yang bersifat polar seperti asam glutamate, dan non-polar seperti leusin, isoleusin, lysin yang mudah larut dalam CO₂ superkritis yang memiliki sifat kelarutan tinggi pada tekanan 1100 psi. Kelarutan asam amino mengakibatkan penggumpalan protein atau denaturasi. Denaturasi protein merupakan salah satu indikasi kematangan udang. Namun, perubahan warna udang tidak signifikan pada perlakuan tekanan 1100 psi selama 10 menit. Perubahan warna pada udang disebabkan oleh hidrolisis enzim polyphenol oksidase menghasilkan terpisahnya ikatan antara karotenoid astaxantin dengan protein sehingga terbentuk warna orange sampai merah pada udang. Astaxanthin bersifat non-polar yang mudah terlarut dalam CO₂ superkritis, oleh karena itu tidak menghasilkan perubahan warna pada udang perlakuan. Tahap selanjutnya perlakuan HPCD pada tekanan 900 psi selama 10 menit digunakan sebagai alternative pengolahan udang agar dapat memperpanjang masa simpan udang. Penyimpanan udang pada suhu 4oC dalam kemasan vakum selama 10 hari diamati kerusakannya. Parameter mutu yang dianalisis adalah TVB-N, warna, sensory, total mikroba. Hasil menunjukkan meningkatnya kadar TVB-N yang mengindikasikan terjadi perombakan lemak menjadi asam lemak bebas. Perombakan lemak merupakan indikator kerusakan pada produk hasil laut termasuk udang. Hasil uji sensory oleh panelis tidak terlatih menghasilkan bahwa masih menerima udang perlakuan yang disimpan selama 10 hari. Sementara udang tanpa perlakuan menghasilkan bau yang kurang disukai panelis.....

Tabel Perubahan warna L*, a*, dan b* udang treated selama penyimpanan suhu 4oC

Storage (d)	Perlakuan			Tanpa Perlakuan		
	L*	a*	b*	L*	A*	b*
0	56.99± 5.18	-5.59± 0.93	5.40 ±1.26	51.95 ±2.31	-8.22± 0.67	2.44 ±1.06
2	41.37 ±5.14	-5.30 ±1.48	6.99 ±1.54	33.18± 5.41	-5.12 ±0.70	7.23 ±0.89
4	44.15 ±1.98	-7.75 ±0.19	2.05 ±1.54	41.18 ±0.73	-7.77 ±0.31	1.35± 0.67
6	45.58± 3.60	-6.76 ±1.24	3.48 ±1.12	39.3 ±6.08	-7.62± 0.67	2.27 0.99
8	54.40 ±0.47	-5.93± 1.73	4.96 ±0.90	50.29± 2.12	-7.58 ±0.44	2.20 ±0.11
10	50.10± 6.51	-6.66 ±0.42	3.99 ±1.18	46.62± 1.83	-6.70 ±1.07	4.05 ±1.01

...

Analisis TVBN selama Penyimpanan Suhu 4oC

Udang dengan perlakuan Pressure 900 psi/ 10 min.

Perubahan Nilai TVB-N udang proses dengan HPCD 900psi/10 min selama penyimpanan suhu 4oC.

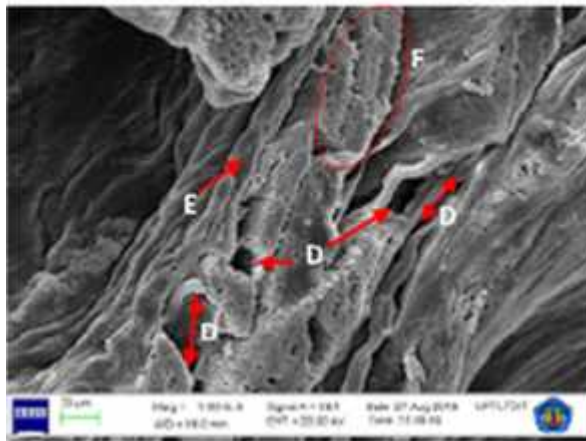
Sampel	TVB-N mg/100g
Po	28.8530
P2	30.3751
P4	30.8385
P6	35.6824
P8	36.4787
P10	37.7944
TP0	22.9305
TP2	35.1946
TP4	42.4370
TP6	43.3989
TP8	44.2610
TP10	44.5914



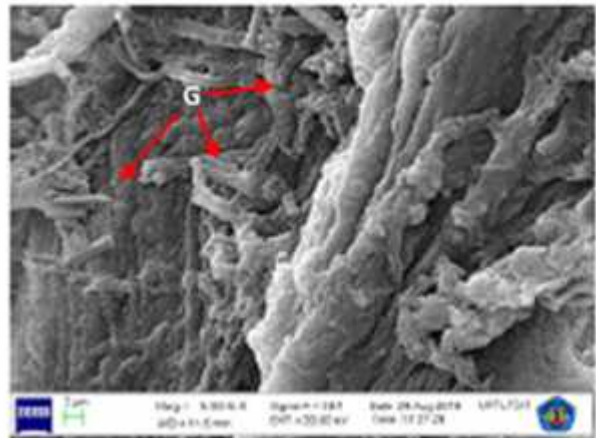
Perubahan warna Udang tanpa perlakuan selama penyimpanan 4oC



Perubahan warna udang perlakuan HPCD selama penyimpanan 4oC



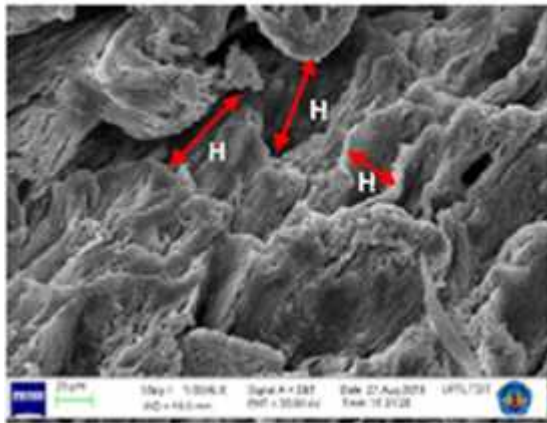
a. Transversal (magnification x100)



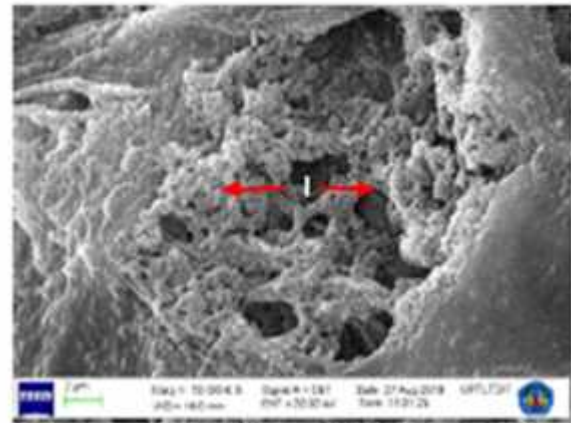
b. Longitudinal (magnification x500)

Fig 3. SEM images of shrimp meat with pressure 950 psi, temperature 27 °C, duration 10 minutes

Fig 3 showed severe damage to the structure of shrimp meat treated with 950 psi for 10 min. The transverse section of the shrimp meat tissue (Fig 3a) depicts a clear wide gap between the myofibrils (D), shrinkage of the sarcolemma (E) that encloses the myofilament within (F). In the longitudinal section (Figure 3b), the myofibril sarcomere was crushed and disintegrated (G) due to the high CO₂ pressure.



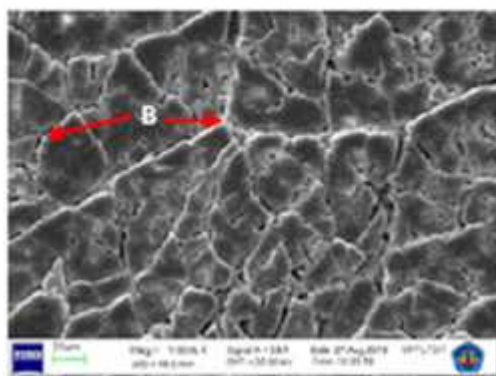
a. Transversal (magnification x100)



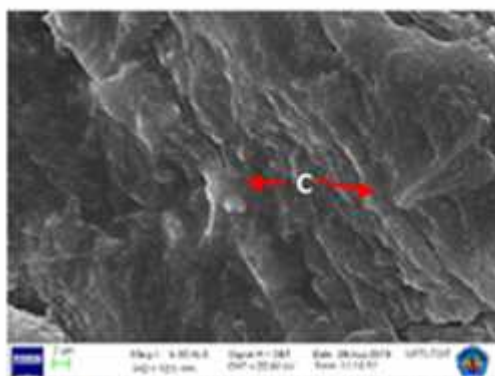
b. Longitudinal (magnification x1000)

Figure 4. SEM images of shrimp meat with pressure 1100 psi, temperature 31 °C, duration 10 minutes

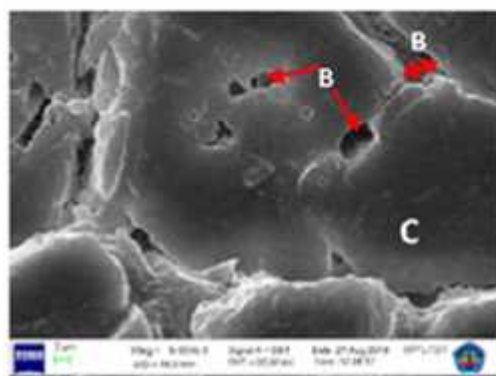
In the transverse section (Fig 4a), the distance between myofibrils was extremely wide with an irregular pattern (H). It was likely that higher pressure CO₂ at 1100 psi could cause separation of myofibrils. In the longitudinal section (Figure 4b), it can be seen that the damage to shrimp meat is the most severe among all treatments. Sarcolemma suffered serious damage characterized by the appearance of myofilaments (I). Myofilaments appear lumpy, possibly due to denaturation of actin and myosin proteins. The wider gap between myofibrils indicates a decrease in the cohesiveness of the meat texture. The formation of gaps is probably due to the high pressure CO₂ suppression process and during the release of pressure.



a. Transversal (magnification x100)



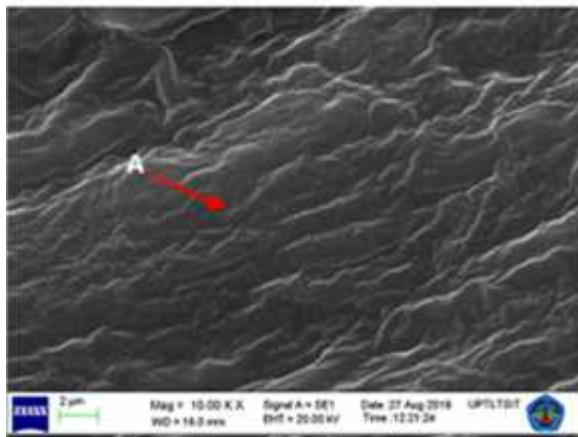
b. Longitudinal (magnification x500)



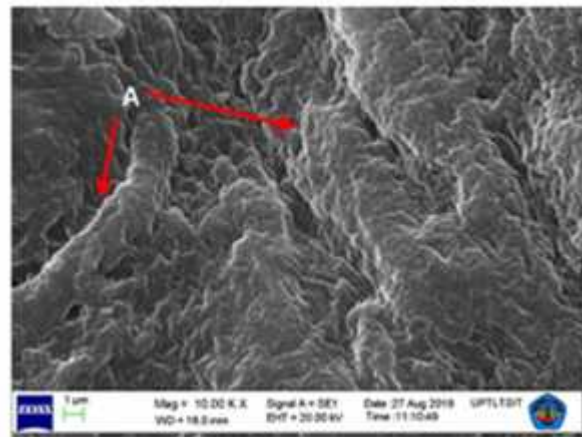
c. Transversal (magnification x500)

Figure 2. SEM images of shrimp meat with pressure 900 psi, temperature 25 °C, duration 10 minutes

In transverse section (Fig 2a), the structure of shrimp meat slightly changed owing clearly visible gap between myofibrils (B). On longitudinal (Fig 2b) and transverse section (Fig 2c), it was seen that the myofibrils begin to swell and was slightly damaged (C).



a. Transversal (magnification x1000)



b. Longitudinal (magnification x1000)

Figure 1. SEM images of raw shrimp

Microstructure observation of raw shrimp illustrated in Figure 1. For both transversal and longitudinal view, the raw shrimp meat tissue had an intact, compact, and well-organized structure (A). Neither damage on nor gap between myofibrils was seen, the shrimp meat texture apparently solid.

UJI HEDONIK AROMA (900,950,1100)															
ULANGAN 1															
	AROMA			WARNA			TEKSTUR			RASA			PENERIMAAN KESEL		
NAMA	463	257	553	463	257	553	463	257	553	463	257	553	463	257	553
ELISA	2	3	2	3	2	1	3	2	3	5	3	3	3	2	1
BENING	3	3	3	3	4	3	4	3	3	3	4	4	4	4	3
RINI	2	3	4	3	4	3	4	3	4	4	5	5	4	3	3
EKA	5	4	3	3	4	3	2	2	2	4	3	3	3	4	3
MELINA	3	3	4	5	5	3	5	4	2	3	2	2	5	3	3

UJI DUO TRIO (900,950,1100)																		
U1																		
	AROMA		WARNA		TEKSTUR		AROMA		WARNA		TEKSTUR		AROMA		WARNA		TEKSTUR	
PANELIS	463	198	463	198	463	198	257	198	257	198	257	198	553	879	553	879	553	879
ELISA	0	1	1	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	1	1	0
BENING	1	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	1	1	0
RINI	1	0	0	1	1	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	1	1	0
EKA	0	1	1	0	0	1	0	1	0	1	1	0	0	1	0	1	1	0
MELINA	0	1	1	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1
JUMLAH	2	3	4	1	1	4	3	2	0	5	1	4	2	3	0	5	4	1

D. STATUS LUARAN: Tuliskan jenis, identitas dan status ketercapaian setiap luaran wajib dan luaran tambahan (jika ada) yang dijanjikan. Jenis luaran dapat berupa publikasi, perolehan kekayaan intelektual, hasil pengujian atau luaran lainnya yang telah dijanjikan pada proposal. Uraian status luaran harus didukung dengan bukti kemajuan ketercapaian luaran sesuai dengan luaran yang dijanjikan. Lengkapi isian jenis luaran yang dijanjikan serta mengunggah bukti dokumen ketercapaian luaran wajib dan luaran tambahan

melalui Simlitabmas.

Tahun 1: Buku Monograf , Judul “ High Pressure CO2 Untuk Pengolahan Pangan” ISBN 978-623-7560-16-6, Penerbit AURA

.....
Tahun ke 2, status submitted artikel pada Jurnal Internasional scopus Q1, Food-MDPI.

JUDUL: A new approach to precooked white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) using HPCD

*Maria Erna Kustyawati¹), Samsul Rizal¹), Esa Garin Nugroho

1)Department of Agriculture Product Technology, University of Lampung,
Bandar Lampung, Indonesia.

*Corresponding Author: Maria Erna Kustyawati

Email address: maria.erna@fp.unila.ac.id

ABSTRACT

Cooked shrimp owned interest due to their appealing color and flavor. Green processing technology, high pressure CO₂ have advanced to compete some drawbacks of conventional heat treatment for processing of shrimps. This study aimed to determine the pressure and the holding time process of the supercritical CO₂ processing which result in significant difference in the observed parameters describing a precooked shrimp. The experiments were run in three replications using a factorial block design with two variables at three levels. The Duncan test was assayed following significantly different result from parameters evaluated. The results showed that CO₂ pressure at 1100 psi with a 10 min holding time process could be applied on processing of precooked shrimp. This is because, basic nutrients did not change significantly and the protein undergoes partial denaturation which results in the chewiness texture. Identified fatty acids were not significantly decreased which keeping good functional quality of the shrimps. The color did not significantly change which might be due to that carotene was partially extracted and degraded to form pirazine aroma compounds which are an indication of cooked shrimp. The conclusion was that HPCD processing at 1100 psi for 10 min can be used to process precooked shrimp which retained its functional quality.

Key words: shrimps, HPCD, precooked, nutritional quality

.....
E. PERAN MITRA: Tuliskan realisasi kerjasama dan kontribusi Mitra baik *in-kind* maupun *in-cash* (untuk Penelitian Terapan, Penelitian Pengembangan, PTUPT, PPUPT serta KRUP). Bukti pendukung realisasi kerjasama dan realisasi kontribusi mitra dilaporkan sesuai dengan kondisi yang sebenarnya. Bukti dokumen realisasi kerjasama dengan Mitra diunggah melalui Simlitabmas.

Tidak ada

.....
F. KENDALA PELAKSANAAN PENELITIAN: Tuliskan kesulitan atau hambatan yang dihadapi selama melakukan penelitian dan mencapai luaran yang dijanjikan, termasuk penjelasan jika pelaksanaan penelitian dan luaran penelitian tidak sesuai dengan yang direncanakan atau dijanjikan.

Proses penelitian tidak ada kendala. Namun proses analisis terkendala oleh banyak nya laboratorium analisis yang tutup karena adanya pandemic covid-19. Demikian juga pengadaan bahan kimia yang terbatas sehingga sebagian analisis belum selesai dilakukan, misalnya analisis yang menggunakan instrumen GC dan HPLC.....
.....

G. RENCANA TAHAPAN SELANJUTNYA: Tuliskan dan uraikan rencana penelitian di tahun berikutnya berdasarkan indikator luaran yang telah dicapai, rencana realisasi luaran wajib yang dijanjikan dan tambahan (jika ada) di tahun berikutnya serta *roadmap* penelitian keseluruhan. Pada bagian ini diperbolehkan untuk melengkapi penjelasan dari setiap tahapan dalam metoda yang akan direncanakan termasuk jadwal berkaitan dengan strategi untuk mencapai luaran seperti yang telah dijanjikan dalam proposal. Jika diperlukan, penjelasan dapat juga dilengkapi dengan gambar, tabel, diagram, serta pustaka yang relevan. Jika laporan kemajuan merupakan laporan pelaksanaan tahun terakhir, pada bagian ini dapat dituliskan rencana penyelesaian target yang belum tercapai.

Tahap berikutnya: bertujuan untuk mengetahui pengaruh teknik dan bahan kemasan terhadap masa simpan dan kualitas udang precooked. Teknik yang digunakan yaitu 1. Coating menggunakan tapioca termodifikasi hasil penelitian [12; 13]. 2. Teknik kemas vakum. 3. Teknik freeze drying [14].

1. Bahan coating dari tapioca termodifikasi secara fermentasi (Kustyawati et al., 2019), dengan cara mencelupkan/mengcoating udang kedalam suspensi tapioca dalam waktu 3-5 menit, diharapkan dapat meminimalisir kontaminasi mikroba dan mempertahankan warna dengan meminimalisir oksidasi enzim ppo.
2. Teknik freeze drying dan rehidrasi diharapkan dapat mempertahankan warna, dan citarasa udang.
3. Teknik kemas vakum telah umum dilakukan dan dalam penelitian ini digunakan sebagai pembanding (teknik konvensional).

H. DAFTAR PUSTAKA: Penyusunan Daftar Pustaka berdasarkan sistem nomor sesuai dengan urutan pengutipan. Hanya pustaka yang disitasi pada laporan kemajuan yang dicantumkan dalam Daftar Pustaka.

1. [1] A.R. Mulakhudair, M.Al-Mashhadani, J.Hanotu and W.Zimmerman, "Inactivation combined with cell lysis of *Pseudomonas putida* using a low pressure carbon dioxide microbubble technology", Journal Chemical Technology & Biotechnology. DOI:10.1002/jctb.5299.
2. [2] Pratama F Saputra D, dan Yulianti K. 2007. Metode pencucian udang segar yang mengandung kloramfenikol dengan menggunakan karbon dioksida fase superkritik. Paten ID 0020002 (29-10-2007).
3. [3] Kusharyanti, DF., dan Hendrati, PM. 2008. Metode alternative penyimpanan udang segar dengan Nisin dari *Lactobacillus lactis* sebagai pengawet alami. Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman Purwokerto.
4. [4] Hidayat, 2016. Ekstrak bawang putih sebagai pengawet udang Vanname, Fakultas Pertanian, jurusan Perikanan Kelautan, Universitas Lampung.
5. [5] Besbes N, Joffraud J-J, Khemis IB, Sadok S, 2017, Bio-preservation of refrigerated peeled shrimp (*Parapenaeus longirostris*) using cactus fruit peels polyphenolic extract, IOSR Journal of Biotechnology and Biochemistry, 3(3), 36-47, doi:10.9790/264X-03033647.
6. [6] V-Perez AZ, S-Valdez S, E-Brauer JM, M-Rios E, T-Arreola W, 2015, Quality changes during frozen storage of blue shrimp (*Litopenaeus stylirostris*) with antioxidant alfa tocoferol under different conditions, Food Sci and Technology 35(2), 368-374, doi: <http://dx.doi.org/10.1590/1678-457x.6666>.
7. [7] Sipahutar Y, Sari W, 2017, Pengaruh perendaman udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) kupas mentah beku PD terhadap perubahan berat dan mutu organoleptik produk akhir, Jurnal Teknologi dan Penelitian Terapan, 20(2), 66-77.
8. [8] L. Garcia-Gonzales, A.H. Geeraerd, J. Mast et al., "Membrane permeabilization and cellular death of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Saccharomyces cerevisiae* as induced by high pressure carbon dioxide treatment" Food Microbiology, vol. 27, no. 4, pp. 541-549, 2010.
9. [9] Brown, Z. K., Fryer, P. J., Norton, I. T., and Bridson, R. H. 2010. "Drying of agar gels using supercritical carbon dioxide. The Journal of Supercritical Fluids, 54, 89-95.
10. [10] Kustyawati, 2014. Pengawetan tempe menggunakan teknologi karbon dioksida bertekanan tinggi. Disertasi, Universitas Sriwijaya, Palembang.
11. [11] A.Zambon, F. Michelino, S. Bourdoux et al., "Microbial inactivation efficiency of supercritical CO₂ drying process", Drying Technology. DOI: 10.1080/07373937.2018.1433683, 2018.....
12. [12] Farajzadeh, F, Motamedzadegan, A., Shahidi, SE., Hamzeh, S. The effect of chitosan-gelatin coating on the quality of shrimp (*Litopenaeus vannamei*) under refrigerated condition . Food Control, 2016, 67, 163-170.
13. [13] Mirzapour-Kouhdasht, A., Moosavi-Nasab, M. Shelf-life extension of whole shrimp using an active

coating containing fish skin gelatin hydrolysates produced by a natural protease. Food Sci Nutr. 2020, 8, 214–223.

14. [14] Huang, J., Chen, Q., Qiu, M., Li, S. Chitosan-based Edible Coatings for Quality Preservation of Postharvest whiteleg Shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Journal of Food Science, 2012, 77, (4), C491-498.....
.....

Dokumen pendukung luaran Wajib #1

Luaran dijanjikan: Buku Hasil Penelitian

Target: sudah terbit

Dicapai: Terbit

Dokumen wajib diunggah:

1. Buku hasil penelitian meliputi cover, lembar yg memuat ISBN dan daftar isi
- 2.

Surat keterangan terbit dari penerbit dengan menyebutkan jumlah eksemplar yang dice tak

Dokumen sudah diunggah:

1. Buku hasil penelitian meliputi cover, lembar yg memuat ISBN dan daftar isi

Dokumen belum diunggah:

- 1.

Surat keterangan terbit dari penerbit dengan menyebutkan jumlah eksemplar yang dice tak

Judul Buku: Teknologi CO2 Superkritis Untuk Pengolahan Ugang

Nama Penerbit: Aura-Pusakamedia

Website Penerbit: www.pusakamedia.com

ISBN: 978-623-7560-16-6

Tahun Terbit: 2019

Jumlah Halaman: 73

URL Buku: menunggu konfirmasi

Teknologi CO_2 Superkritis Untuk Pengolahan Udang

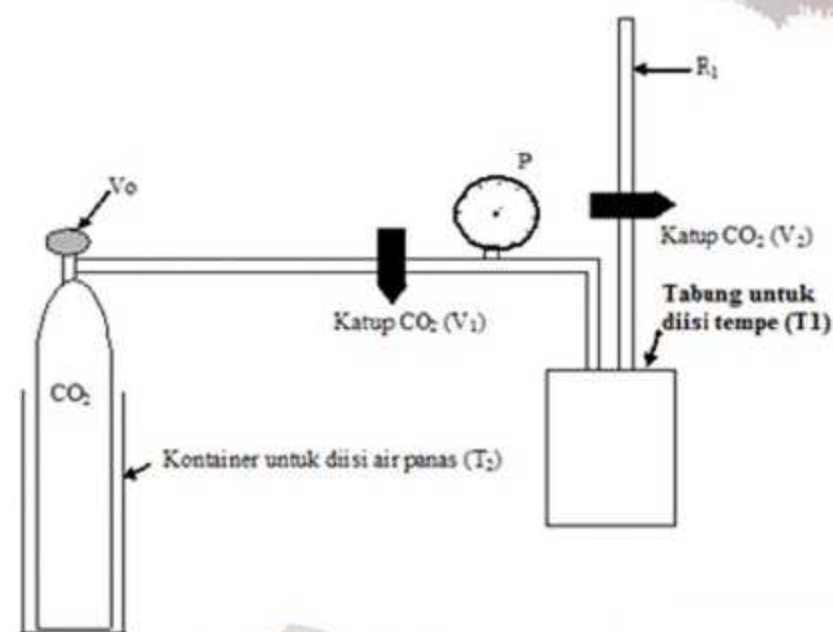
Teknologi pengolahan menggunakan karbondioksida superkritis merupakan teknologi tanpa panas, karena pada tekanan 1099 psi (7,4 MPa) dan suhu 31,1°C karbon dioksida berada dalam kondisi superkritis yang dicirikan dengan memiliki tegangan permukaan nol, kerapatan rendah seperti gas dan memiliki kelarutan tinggi sehingga mudah berdifusi dan terlarut dalam padatan dan mengakibatkan perubahan struktur senyawa penyusun suatu produk. Teknologi ini dapat diaplikasikan untuk mengolah udang mengingat udang mempunyai nilai keutamaan bagi kesehatan manusia terutama adanya asam lemak tidak jenuh, tinggi protein dan karotenoid (astaxantin) sebagai antioksidan, yang rentan terhadap proses pengolahan terutama penggunaan panas. Buku ini mengulas perubahan terhadap sifat kimia, fisik, dan fungsional udang yang diolah menggunakan CO_2 superkritis agar dapat diupayakan teknologi yang tepat untuk memperpanjang masa simpannya.



Dr. Dra. Maria Erna Kustyawati, M.Sc. adalah dosen di Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung. Ia telah menyelesaikan pendidikan S3 pada tahun 2014 bidang Teknologi Industri Pertanian di Universitas Sriwijaya Palembang dan bidang Food Microbiology di New South Wales University Sydney Australia. Pendidikan S2 tahun 1991 diperoleh dari Kansas State University Mahattan Kansas Amerika Serikat di bidang Food Microbiology setelah menyelesaikan pendidikan Sarjana S1 di Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta bidang kajian Endokrinologi-Histologi.

Fokus penelitian yang ditekuni antara lain aplikasi metode bacterial -like catalase untuk menghitung jumlah mikroba pembusuk pada makanan segar dan terfermentasi, aplikasi khamir sebagai agensia modifikasi dalam pengolahan produk pangan misalnya pada tempe, tapioca, kakao, kopi dan teknik pengolahan pangan menggunakan high pressure carbon dioxide.

Teknologi CO_2 Superkritis Untuk Pengolahan Udang



Maria Erna Kustyawati

Dokumen pendukung luaran Tambahan #1

Luaran dijanjikan: Publikasi Ilmiah Jurnal Nasional Terakreditasi

Target: accepted/published

Dicapai: Sedang direview

Dokumen wajib diunggah:

1. Naskah artikel
2. Bukti sedang direview

Dokumen sudah diunggah:

1. Naskah artikel
2. Bukti sedang direview

Dokumen belum diunggah:

-

Nama jurnal: Journal of Food Quality

Peran penulis: first author | EISSN: 17454557, 01469428

Nama Lembaga Pengindek: scopus

URL jurnal: <https://www.hindawi.com/journals/jfq/>

Judul artikel: Nutritional quality and shelf-life of white shrimp ((*Litopenaeus vannamei*)
processed high pressure carbon dioxide (HPCD) (MS ID 6649583)

Peringkat akreditasi: Q2

Research Article

Quality and Shelf Life of White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) Processed with High-Pressure Carbon Dioxide (HPCD) at Subcritical and Supercritical States

Maria Erna Kustyawati ¹, Filli Pratama,² Samsul Rizal ¹, Esa Ghanim Fadhallah ¹,
and Abdullah Aman Damai ¹

¹Department of Agriculture Product Technology, University of Lampung, Bandar Lampung, Indonesia

²Department of Agriculture Technology, University of Sriwijaya, Palembang, Indonesia

Correspondence should be addressed to Maria Erna Kustyawati; maria.erna@fp.unila.ac.id

Received 12 November 2020; Revised 10 March 2021; Accepted 21 June 2021; Published 30 June 2021

Academic Editor: Flora V. Romeo

Copyright © 2021 Maria Erna Kustyawati et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Phase changes of carbon dioxide (supercritical or subcritical) depend on its proximity to a pressure of 7.35 MPa and temperature of 31.1°C. Carbon dioxide becomes supercritical and subcritical when it is above and slightly below its critical point, respectively. This study aims to determine the effect of high-pressure CO₂ treatments at a pressure of 900 psi, 950 psi (subcritical), and 1100 psi (supercritical) and at holding times of 5, 10, and 15 min on the quality parameters of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and to determine the shelf life of white shrimp processed with the best treatment. The results showed that the interaction between pressure and holding time had a significant ($p < 0.05$) effect on cholesterol, protein, moisture content, and b^* value, but pressure had a significant effect on carotene content. The best treatment was a supercritical CO₂ treatment at 1100 psi for 10 min, which was determined based on a significant reduction in the number of microorganisms and no significant changes in color, texture, and fat content were observed compared with control. The best treatment was applied to process shrimps, which were then stored at 4°C to evaluate the effectiveness of scCO₂ treatment on the shelf life. No significant changes were found in PV and lipid in treated and scCO₂-treated shrimps during storage, but the treatment significantly affected pH, TVBN, and microbial counts. Among the samples, there was no hedonic difference in all sensory attributes. Supercritical CO₂ treatment at 1100 psi for 10 min can be an alternative method for preservation of shrimps.

1. Introduction

White shrimp (*Litopenaeus vannamei*) has highly distinctive nutritional value and powerful antioxidants but is of fast deterioration, which results in an unpleasant odor, color, soft texture, and loss of acceptability. Several research works have been carried out to prevent shrimp deterioration during handling, including the application of conventional and nonthermal high-pressure carbon dioxide (HPCD) processing methods. However, there were some drawbacks to applying the first techniques, such as the occurrence of temperature abuse, loss of flavor and acceptability of drying shrimp, destruction of nutritional value, and loss of vitamins

and bioactive components during heat treatment [1, 2]. A new method of nonthermal HPCD technology has also been investigated as alternatives. This technique may overcome some weaknesses of conventional methods of shrimp handling techniques because it maintains the nutritional and sensorial quality of the foods while keeping freshness and flavor. High-pressure carbon dioxide is a nonthermal processing or a cold pasteurization method, where CO₂ is above its critical point (supercritical region) and becomes supercritical fluid. CO₂ in the form of supercritical fluid has a density like liquid, so it has a high solubility and diffusion due to the loss of boundary between the liquid and gas phases. The CO₂ fluid density is highly compressible, in

which a slight increase in pressure can lead to a large increase in fluid, making it possible to produce changes in the macromolecule and micromolecules of foods. Moreover, supercritical CO₂ fluid tends to be nonpolar organic compounds, owing to its low polarity and lack of capacity for specific molecule interactions [3, 4]. Several studies on the application of high-pressure CO₂ for shrimp processing have been carried out, mainly with changing of temperature and CO₂ pressure. HPCD at 310 bar (31 MPa), 1875 L of CO₂, and 37°C was to produce low-cholesterol shrimps [5], and that at 20 MPa was for the prevention of shrimp melanosis [6]. HPCD in the range of 20–25 MPa and 37°C was performed for kinetic inactivation of PPO [7], while extraction of shrimp-waste astaxanthin was performed at 200 MPa for 5 min with the use of ethanol cosolvent [8].

From those findings, the CO₂ pressure used to process the shrimp was quite high (14–31 MPa) and 37°C. Additionally, use of a very high CO₂ pressure at 800 MPa resulted in toughening of shrimp texture and loss of flavor [9]. In fact, the critical point of CO₂ is at a pressure of 7.38 MPa and a temperature of 31.1°C [10], meaning that, at and above its critical point, CO₂ exists as a gas and liquid in equilibrium, where an increase in temperature or pressure above this critical point does not result in further phase changes [11]. The CO₂ fluid density is highly compressible; therefore, a slight change in temperature and pressure values can cause changes in the macromolecular and micromolecular structure of the shrimp, which, in turn, affect the quality of the shrimps. Additionally, the use of a very high CO₂ pressure level may also lead to higher costs. Taking into account the above findings, our study used CO₂ pressure treatments at supercritical CO₂ (1100 psi/7.58 MPa) and subcritical CO₂ (900 psi/6.21 MPa and 950 psi/6.55 MPa). This study aimed to determine the effect of subcritical (900 and 950 psi) and supercritical (1100 psi) CO₂ treatment at holding times of 5, 10, and 15 min on changes in shrimps' quality. The evaluated quality parameters included basic nutrients, color, microbiological, total carotene, cholesterol, texture, and muscle microstructure. The best treated shrimp was determined from the quality parameters that were not significantly different or the least changed compared with untreated shrimp. Then, it was stored at 4°C for 10 days to determine whether HPCD processing could prolong its shelf life. Spoilage indications, including the changes of lipid, PV, TVBN, pH, and microbial levels, were monitored during storage.

2. Materials and Methods

2.1. Time and Place of Sampling. Freshly caught and additive-free white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) (25–30 shrimps/kg) were purchased from a local farm in Palembang, Indonesia. The shrimps were kept in a sterile box ice (shrimps: ice = 1 : 2) and transported to the laboratory within 45 min. Upon arrival, the shrimps were rinsed with tap water and stored in a low temperature (2°C). Then, the fresh shrimps were run for high-pressure CO₂ processing in the Laboratory of Processing, University of Sriwijaya, Palembang, Indonesia, where the unit of high-pressure CO₂

processing instrument was located. Thereafter, processed shrimps were prepared for analytical tests or quickly packed in plastic container and kept in freezer –20°C until they were needed. Following that, processed and unprocessed shrimps were analyzed for color, texture, and basic nutrients. For other analyses, such as cholesterol, carotene total, and microstructure (SEM), frozen samples were taken to the University of Lampung, Bandar Lampung, Indonesia, within 4 hours. It took 2 months to get all the data analyzed and find the best sample treatment. Thereafter, a storage study was performed in the Laboratory of Microbiology, University of Lampung, after previously processing HPCD samples in the processing laboratory. The whole study was conducted for 4 months from July to October 2020.

2.2. High-Pressure Carbon Dioxide (HPCD) Processing.

The high-pressure CO₂ installation used for experimental treatment consists of a CO₂ gas cylinder, cylindrical pressure chamber, pressure gauges, and water bath at a constant temperature [12] (see Figure 1). Fresh shrimps were placed in a pressure chamber, which has been previously disinfected with 70% alcohol. Then, the chamber was tightly closed. When the designated temperature in the water bath was reached and all pipe connections were secured, commercially available CO₂ (Pertamina, Jakarta, Indonesia) was injected through the gas inlet valve from the gas cylinder into the pressure chamber until it reached the desired pressures of 900, 950, and 1100 psi (shown in pressure gauge) within 1 min. After being subjected to high-pressure CO₂ treatment for a defined pressurized time (5, 10, and 15 min), the pressure was lowered to atmospheric pressure within 3 minutes by slowly opening the gas outlet valve. Then, the shrimps were aseptically removed from the pressure chamber using a sterilized tong, placed in the sterilized container, and stored in a freezing temperature (–20°C) before conducting an analysis such as SEM, but the samples were directly analyzed for microorganisms. The experiment was conducted in a full factorial design with the following factors: supercritical CO₂ (scCO₂) treatment at 1100 psi for 5, 10, and 15 min and subcritical CO₂ (sub-CO₂) treatment at 950 psi and 900 psi. The holding time for each of the pressure treatments was 5, 10, 15, and 20 min. Each treatment was replicated three times.

2.3. Scanning Electron Microscope (SEM). Analysis of shrimp microstructure was conducted by scanning electron microscope (SEM, JSM-6310LV, JEOL Ltd.) following the procedures of Plascencia Jatomea and Viniestra et al. [13], adjusted to the shrimps' sample. Cross- and longitudinal sections of shrimp muscle (0.5 × 0.5 cm) were chemically prefixed with 2.5% (v/v) glutaraldehyde in 0.1 mol/L at pH 7.0 PBS (phosphate-buffered saline), overnight at 4°C. Then, postfix the sample with 1.0% (w/v) osmium tetroxide at room temperature for 1 hour. The specimens were washed in 50 mM of PBS, pH 7.0 three times and then dehydrated for 15 min in a series of ethanol solutions graded at 30%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, and 100%, respectively. Following drying, the specimen then was coated in a gold coater by

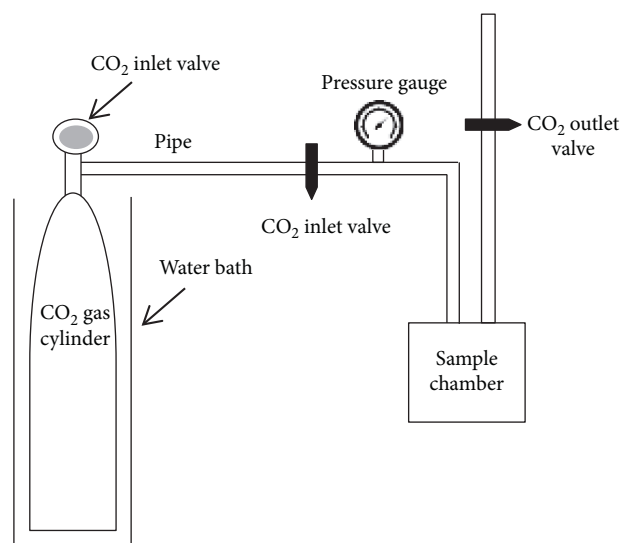


FIGURE 1: Schematic diagram of HPCD treatment equipment.

using IB3 ion coater tool for 5 minutes with an ions' current of 7-8 milliamperes. Finally, the specimen was observed with ACC 20 kV-voltage devices at 100x, 250x, and 500x magnification.

2.4. Microbial Analysis. Microbial analysis in treated shrimp was expressed in terms of the relative survivor fraction, $\log(N/N_0)$, where N is the number of colony-forming units per gram of sample (CFU/g) after treatment and N_0 is the number of colony-forming units per gram (CFU/g) of sample before treatment. Each experiment was performed in duplicate, and the average values were reported. Total aerobic count was performed using the spread plate agar technique. First, the shrimp samples (10.0 ± 0.2 g) were collected aseptically and placed in the sterile stomacher bag homogenized with 90 mL of 0.85% sterile saline solution for 2 min. Next, serial dilutions of 10^{-1} , 10^{-2} , and 10^{-3} were prepared with 0.85% sterile saline solution. Subsequently, 0.1 mL of each dilution was spread on to plate count agar (Difco, Detroit, MI, USA) for total aerobes.

2.5. Color and Texture Analysis. The colors of untreated shrimps and treated ones with high-pressure CO_2 were measured using a colorimeter (Konica Minolta C-400, Tokyo, Japan) using CIELAB system. In this color system, the L^* (lightness) variable represents the brightness, in which $L^* = 0$ for dark and $L^* = 100$ for white. The a^* (redness) scale ranges from negative values ($-a^*$) for green to positive values ($+a^*$) for red, and b^* (yellowness) scale ranges from negative values ($-b^*$) for blue to positive values ($+b^*$) for yellow. The chroma (C) value reflects the color intensity, where the brighter the color, the lower the C value. The notation of hue ($^{\circ}H$) indicates the dominant color, where negative $^{\circ}H$ has a range color of yellow-green; positive $^{\circ}H$ values have a range color of yellow-red. The colorimeter employed was firstly calibrated with a black standard followed by a white standard to obtain the final setting. The

shrimp meat was placed in an optically clear Petridis glass. For each sample, three measurements were performed at the ventral body (second segment) of shrimp muscle, and the average values of the three samples were recorded.

The texture in terms of hardness was measured by using a LFRA Texture Analyzer (Brookfield AMETEK CT3-4500-115CT3). Immediately after processing with HPCD, the sample was placed on a platform and a needle probe (50 mm diameter) attached to a 25 kg load cell. The texture analyzer was set to a test speed of 5.0 mm/s, posttest speed of 10 mm/s, target distance of 30.0 mm, and acquisition rate of 200 pps. A measurement was in gram force ($\text{m}^2/\text{probe diameter}$), where a high value of measurement indicates an increase in shrimp hardness. For each sample, three measurements were performed, and the average value was recorded.

2.6. Cholesterol Analysis. The extraction of cholesterol was following the methodology essayed by Saldanha et al. [14] and derivatization with TMS (trimethylsilyl) ethers. The TMS derivatives were diluted in 1 mL hexane, filtered through a $22 \mu\text{m}$ filter (Millipore, Maryland, MD, USA) and injected into a gas chromatograph (Shimadzu GC 2010, Tokyo, Japan) equipped with a split injector (1:50) and a flame ionization detector and capillary column Rtx-5-MS ($30 \text{ m} \times 0.25 \text{ mm} \times 0.25 \mu\text{m}$ Restek, Bellefonte, USA). The operation conditions were as follows: an initial temperature of 230°C (0 min); heating rate of $2^{\circ}\text{C}/\text{min}$ up to 264°C (5 min); and then a heating rate of $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ up to a final temperature of 275°C (2 min). The injector and detector temperatures were 350°C and 290°C , respectively. The carrier gas used was hydrogen at a flow rate of 1 mL/min. Cholesterol identification was performed by comparing sample retention times with standard retention times (Sigma, Milford, MA, USA). The quantification was performed by an external calibration curve with 10 points, at concentrations ranging from 10 to $1000 \mu\text{g}/\text{mL}$.

2.7. Total Carotenoid Analysis. The concentration of total carotenoids was measured using the spectrophotometric modified method from treated and untreated shrimp [15]. To prepare the standard graph, different volumes 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, and 1.2 mL stock solutions of astaxanthin (1%) were made, and the solutions were diluted up to 10 mL with n-hexane. The absorbance was measured at 472 nm using n-hexane as the blank. The experiment was performed in triplicate; the standard graph for astaxanthin was constructed.

2.8. Basic Nutrient Analysis. Water content, crude protein, fat, and ash were measured following the standard methods [16]. Weight differences were recorded after drying the samples in a hot air oven at $100 \pm 5^{\circ}\text{C}$ overnight to determine the water content. Protein content was measured by using the micro-Kjeldahl method. Crude fat was measured by Soxhlet extraction with diethyl ether. Ashing was done by incineration in a muffle furnace at $550 \pm 50^{\circ}\text{C}$ until white ash was obtained.

2.9. Storage Study

2.9.1. Determination of pH, TVB-N, and PV during Storage. Determination of pH was performed using a pH meter (Seven Go Duo™, Mettler Toledo Inc., Columbus, OH, USA). The pH of all shrimp samples was determined at ambient temperature. Approximately 20 g of shrimp was homogenized with 80 mL distilled water using Warring® Blender (USA). Prior to use, calibration of the Seven Go Duo pH Meter probes was done using standard buffers of pH 4.0.

The determination of TVB was performed following the National Standardization Body [17]. Approximately 5 g of shrimp flesh was homogenized with 15 mL of 4% trichloroacetic acid (TCA) (w/v) and centrifuged at 3000 g for 3 min and then filtered through filter paper. An aliquot of 5 mL was removed and mixed with 5 mL of 2M NaOH. The mixture was poured into a semi-microdistillation tube and steam distillation was performed. The distillate was collected in a beaker containing 15 mL of 0.01 HCl containing 0.1 mL rosolic indicators. Titration was performed using 0.01 M NaOH to a pale end point.

Determination of peroxide value (PV) was done following the procedure IFRA [18]. Approximately 5 g of shrimp flesh was homogenized with 30 mL of solution of glacial acetic acid: chloroform (3:2) in 250 mL Erlenmeyer flask for 30 sec. To the homogenate, 1 mL of saturated potassium iodide (KI) solution was added, and it was allowed to react for 1 min by agitating. Then, 30 mL aquades was added. An equivalent (50 mL) amount of distilled water was added to the mixture to release the iodine and solution titrated with 0.01 M sodium thiosulphate solution against blank. PV was calculated and expressed as mEq active O₂/kg lipids.

2.9.2. Sensory Analysis of Shrimps during Storage. Sensory analysis was performed to determine the effect of high-pressure CO₂ (HPCD) processing on the preferences and organoleptic properties of shrimps during storage. Hedonic test was used to determine the preference level of untreated and treated shrimps based on hedonic scale. Duo-Trio test was used to determine whether a perceptible sensory difference exists between samples of two products, untreated and treated shrimp with HPCD. All samples including untreated and treated shrimps with HPCD were assessed. For the Hedonic test, all samples were evaluated by 10 untrained panelists using a five-point hedonic scale, ranging from 5 = like extremely to 1 = dislike extremely [19]. They were asked to evaluate overall likeness, texture, and aroma. For the Duo-Trio test, a set of three samples of shrimps was served to each of the 20 panels, of which one sample was labeled as a reference and the other two samples had different codes. The panels were informed that one of the coded samples was the same as the reference and one was different, and then, they are asked to report which of the coded samples they believe to be different most from the reference (control) and write down the differences in terms of each of the three parameters: color, texture, and odor. The number of correct responses is counted, and the significance

is determined by reference to a statistical table [20]. The study was run twice, and the average value was taken. This study does not require ethical approval.

2.10. Statistical Analysis. Statistical analyses were performed using SPSS package (SPSS 23.0 for windows, SPSS Inc., Chicago, IL, USA). The data of the parameters, including basic nutrient, carotenoids, cholesterol, color values, texture, and microbial counts, obtained from the treatments were subjected to an analysis of variance (one-way ANOVA) to determine the significance between samples. Data obtained from the storage study, including parameters such as pH, TVBN, microbial counts, lipid, and PV, were also run for one-way ANOVA. A Duncan's test was used to compare the means of parameter analysis in the experiment. The means with different letters were significantly different at $p \leq 0.05$. Data represent the means $\pm$ SD of measurement for three replicates.

3. Results and Discussion

The ANOVA and *t*-test (Table 1) indicated that high-pressure CO₂ (subcritical and supercritical) significantly affected carotene, microbial reduction, moisture, protein, and chrome color ($p \leq 0.05$). However, holding time did not significantly affect the hardness, fat, L^* , a^* , and hue color of treated shrimp ($p \geq 0.05$). The interaction of the pressure and holding time significantly affected the cholesterol, moisture, ash, protein, b^* , and chrome color of treated shrimp ($p \leq 0.05$).

3.1. Effect of High-Pressure Treatment on Color, Texture, and Microstructure. High-pressure CO₂ treatments did not significantly ($p \geq 0.05$) change the color and texture of the shrimps. Table 2 shows the effect of the treatments on the color changes. Raw shrimps appeared slightly opaque and translucent with low color intensity (C) and very low dominant color ($^{\circ}H$) of yellow-red. After treatment at 900 psi, the shrimps turned slightly pink, low color intensity (C), and low dominant of yellow-red. When pressure treatment increased, the samples were dominant in slight pink color, with higher intensity in pale white, which was more pronounced at 1100 psi. This was related to the decrease in carotenoid (Table 3), meaning that astaxanthin was released. This result can be explained that the more release of astaxanthin in shrimp matrix, the more intense the color change. Youn et al. [21] and Sánchez-Camargo et al. [22] reported that the higher supercritical CO₂ pressure resulted in a significant increase of astaxanthin solubility and extract yield. CO₂ was a good solvent for astaxanthin due to its similar polarity, and therefore, the higher the pressure, the more intense the extraction, releasing free astaxanthin. In our study, the slight discoloration of shrimp may be due to the weakening of physical interactions in the carotenoprotein molecules in the shrimp meat. Diffused CO₂ reduces water density and creates hydrophobic microenvironments. It can break the interaction between protein and astaxanthin by dissolving isoprene units linked by

TABLE 1: Statistical analysis of the effects of HPCD parameters on the qualities of treated shrimps.

Parameters	<i>p</i> values		
	Pressure (<i>P</i>)	Time (<i>T</i>)	<i>P</i> × <i>T</i>
Carotene	0.000	—	—
Microbial reduction	0.000	0.000	0.200
Cholesterol	0.063	0.024	0.000
Hardness	0.350	0.985	0.989
Basic nutrient			
Moisture	0.019	0.005	0.011
Ash	0.853	0.008	0.064
Fat	0.053	0.854	0.809
Protein	0.047	0.000	0.000
Carbohydrate	0.006	0.003	0.493
Color			
<i>L</i>	0.143	0.315	0.855
<i>a</i> *	0.178	0.280	0.575
<i>b</i> *	0.622	0.002	0.004
<i>C</i>	0.016	0.003	0.001
<i>H</i>	0.974	0.065	0.132

Significantly different at $p \leq 0.05$.

conjugated double bonds and produce a slight pink color ($a^* = 5.85$, $L^* = 61.35$). In shrimp and salmon, astaxanthin is conjugated with protein to form carotenoprotein molecules. Astaxanthin does not bind to protein but only physically interacts, where there is an intermolecular force between astaxanthin and protein molecules [23]. Hydroxyl and ketone groups in the end ring structure, which are bound to the hydrophilic part of the protein membrane, are polar molecules, while the isoprene unit is attached to the hydrophobic part of the protein membrane and is nonpolar. Colors produced by carotenoid pigments ranges from blue to red due to the presence of double bonds structure [24].

This color changes could relate to the change of texture and microstructure found in this study. In the microstructure view (Figure 2), we found that the supercritical CO₂ caused the muscle fiber structure to swell due to protein denaturation. This was associated with a decrease in protein content (Table 4). Monhemi and Dolatabadi [4] reported the complete denaturation occurred between 800 and 1400 MPA. Proteins are completely denatured when their secondary structure consisting of amino acids linked by hydrogen bonds is broken. Denaturation affects the shrinkage of the sarcomere and the breaking of muscle fibers. As CO₂ diffused in the aqueous meat matrix, it reduced water density protein, and muscle fiber structure became dense forming a larger sarcomeric space. Yan et al. [25] found that denaturation of sarcoplasmic protein produced paler color of meat treated with high-pressure CO₂.

The changes of shrimp's texture and microstructure of the shrimps are related to protein content and water-holding capacity. Figure 3 displays the histogram of the hardness of treated and untreated shrimp at various pressures and holding time. When the protein denatured and collagen shrank, shrimp muscles lost their water-holding capacity, leading to changes of hardness. In our study, there was the possibility of partial denaturation of shrimp protein in our

experiment. At a pressure of 900, 950, and 1100 psi, high-compressibility CO₂ interacts with the hydrophobic bonds in the protein, which causes unfolding of its tertiary structure. The unfolded protein structure increases their surface hydrophobicity allowing new intra- and interprotein interaction, thereby resulting in a dense protein structure. During the release of CO₂ pressure, the unfolded protein structure may return to its native structure and allow the rehydration of protein, resulting in the less hard texture. This may explain the slight change in the texture of the shrimps.

3.2. Effect of High-Pressure Treatment on Basic Nutrients.

A whole shrimp consists of head, shell, meat muscle, and tail. The main part is the meat, accounting for 48% of the shrimp [26]. The chemical analysis of fresh and treated shrimp is presented in Table 4. It showed that the range of values for protein, fat, and ash content in all of the processed shrimps was 16.04–18.89%, 0.23–0.53%, and 0.7–1.54% (w/w, wet-weight basis), respectively. The results were similar to those reported by Venugopal [27], who found the protein and fat levels of *L. vannamei* were ranging from 17.0 to 23.0 and 0.37 to 0.88, respectively, with myosin and actin being the predominant proteins. Tabitha and Anand [26] showed that protein, carbohydrate, lipid, moisture, and ash content of *L. vannamei* from India were 35.69, 3.20, 19, 76.2, and 1.2% (dry basis), respectively.

As shown in Table 4, high-pressure CO₂ (HPCD) treatment significantly affected the protein content of shrimp ($p \leq 0.05$) with the fluctuating value. The protein of untreated shrimp was 18.09%, and the treated shrimp at 1100 psi for 15 min was 18.21%. The lowest content, 16.04%, was shrimp treated at 900 psi for 5 min. In this study, the change in protein content can be due to molecular polarity and interactions of supercritical CO₂ with amino acid side chains. Shrimp proteins have an appreciable amount of the essential amino acids, that is, leucine, isoleucine, lysine, valine, threonine, methionine, phenyl alanine, and cysteine, and good content of glycine, glutamic acid, alanine, and proline [27]. Leucine, isoleucine, valine, methionine, phenyl alanine, alanine, and cysteine are hydrophobic residues of nonpolar molecules, while threonine, lysine, glycine, and glutamic acid are hydrophilic residues of polar molecules. During the high-pressure CO₂ treatment, CO₂ molecules diffused to the protein matrix, made a hydrophobic microenvironment, and lead to adsorption of nonpolar hydrophobic amino acids. This causes reduction in protein content. Polar hydrophilic amino acid residues escape from the hydrophobic microenvironment and form nonnative hydrogen bonds with other hydrophilic residues. This nonnative interactions lead to the protein denaturant in the high-pressure CO₂-treated protein. This may explain the fluctuated value of protein in the study. CO₂ is regarded as hydrophobic fluid at supercritical CO₂ and is a proper solvent for most nonpolar and slightly polar molecules [4, 28]. Meanwhile, subcritical CO₂ (900 psi) tends to attract slight polar molecules [3].

There was no significant difference ($p \geq 0.05$) in fat content in all samples, meaning that there was no correlation

TABLE 2: Effects of various pressures and holding times on color attributes of white shrimps (*Litopenaeus vannamei*).

Pressure (psi)/holding time (min)	Color				
	ΔL^*	a^*	b^*	Chrome	Hue
Untreated	51.55 $\pm$ 0.77a	4.15 $\pm$ 0.07a	4.65 $\pm$ 0.49c	4.0 $\pm$ 0.92a	20.2 $\pm$ 2.05a
900/5	51.65 $\pm$ 0.77a	5.55 $\pm$ 1.62bc	7.6 $\pm$ 1.55e	7.5 $\pm$ 0.85c	45.7 $\pm$ 0.78cd
900/10	54.15 $\pm$ 1.10ab	5.15 $\pm$ 0.49ab	4.5 $\pm$ 0.71c	9.0 $\pm$ 1.48e	45.6 $\pm$ 1.2cd
900/15	59.1 $\pm$ 2.96cd	5.25 $\pm$ 2.05b	8.0 $\pm$ 2.12ef	8.8 $\pm$ 1.48de	45.8 $\pm$ 11.8cd
950/5	53.75 $\pm$ 0.71ab	5.0 $\pm$ 0.71ab	9.55 $\pm$ 0.21g	8.9 $\pm$ 0.07de	45.2 $\pm$ 8.91cd
950/10	52.05 $\pm$ 1.34a	4.05 $\pm$ 0.07a	2.05 $\pm$ 0.35a	4.7 $\pm$ 0.28ab	36.4 $\pm$ 4.31b
950/15	54.9 $\pm$ 6.64ab	5.6 $\pm$ 0.14bc	8.75 $\pm$ 0.21f	9.1 $\pm$ 0.35e	56.8 $\pm$ 0.49d
1100/5	59.75 $\pm$ 4.45c	5.25 $\pm$ 0.91b	3.85 $\pm$ 1.34b	6.5 $\pm$ 0.28b	43.2 $\pm$ 2.19c
1100/10	56.75 $\pm$ 3.88bc	5.85 $\pm$ 1.20c	6.65 $\pm$ 1.76d	6.6 $\pm$ 0.35b	45.1 $\pm$ 3.61cd
1100/15	61.35 $\pm$ 0.21c	6.1 $\pm$ 0.71c	7.75 $\pm$ 2.19ef	8.1 $\pm$ 0.64d	48.1 $\pm$ 2.47cd

Different letters in the same column indicate significance differences ($p \leq 0.05$) between the treatments. Results represent an average of 3 replications and standard deviation.

TABLE 3: Effects of various pressures and holding times on cholesterol, total carotene content, and microbial reduction in white shrimps (*Litopenaeus vannamei*).

Pressure (psi)/holding time (min)	Cholesterol (mg/g)	Total carotene (mg/g)	Microbial reduction (log N/No)
Control	1.63 $\pm$ 0.34f	4.24 $\pm$ 0.33a	
900/5	1.39 $\pm$ 0.28cd	3.80 $\pm$ 1.09b	0.983 $\pm$ 0.00a
900/10	1.27 $\pm$ 0.32a	3.78 $\pm$ 0.09bc	0.979 $\pm$ 0.00ab
900/15	1.46 $\pm$ 0.29de	3.79 $\pm$ 0.64bc	0.974 $\pm$ 0.00bc
950/5	1.47 $\pm$ 0.32de	3.77 $\pm$ 2.02c	0.974 $\pm$ 0.00bc
950/10	1.39 $\pm$ 0.34de	3.76 $\pm$ 0.37c	0.969 $\pm$ 0.00c
950/15	1.36 $\pm$ 0.34bc	3.69 $\pm$ 0.55c	0.952 $\pm$ 0.00d
1100/5	1.46 $\pm$ 0.33de	2.51 $\pm$ 0.29d	0.803 $\pm$.00e
1100/10	1.48 $\pm$ 0.31e	2.37 $\pm$ 0.06d	0.805 $\pm$ 0.00e
1100/15	1.34 $\pm$ 0.29ab	2.29 $\pm$ 0.12d	0.793 $\pm$ 0.00f

Means with the same superscript letter in the same column were not significant different ($p \leq 0.05$).

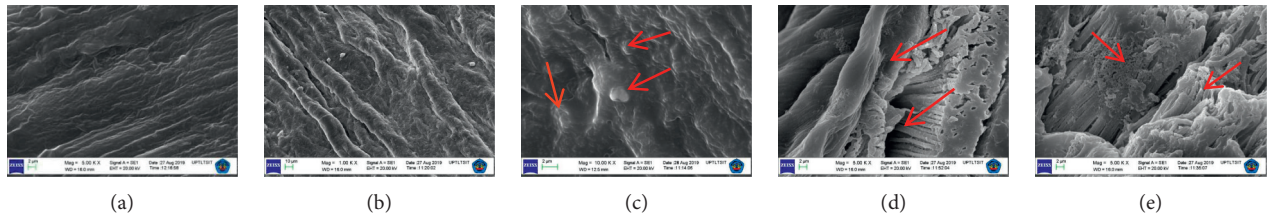


FIGURE 2: SEM images of microstructures of white shrimp with high-pressure CO₂ treatments. (a) Raw shrimp muscle at transversal section showing a well-organized structure. (b) Raw shrimp muscle at longitudinal section. (c) Swollen muscle fiber due to protein denaturation identified in treated shrimps at 900 psi for 10 min. (d) Denser muscle fiber and large sarcomeric space were formed in treated shrimps at 950 psi for 10 min. (e) Shrinkage of sarcomere and broken muscle fiber identified in treated shrimps at 1100 psi for 10 min.

between fat solubility and HPCD treatment at various pressures and holding time. The data showed that the fat content in untreated shrimps was 0.53%, while, in treated shrimps, it ranged from 0.23% to 0.44%. A similar finding reported that the fat content of *Nila tilapia* was not affected by scCO₂ from 80 to 90 bars at 40°C [29]. On the contrary, fat content in tempeh reduced at 1100 psi at 31°C [30]. Fat in foods is lipophilic and soluble in supercritical CO₂; therefore, it decreased during HPCD processing. The explanation was related to the presence of protein, cholesterol, and other organic compounds in shrimps, which could act as a barrier effect on the solubility of fat-scCO₂ and the lower moisture content (74%), which reduced the amount of CO₂ able to dissolve in the food matrix; consequently, fat loss was not

significant. Another study reported the protective effect of carbohydrate in foods on the inactivation of *Brocothrix thermosphacta* inoculated on minced and skinned beef treated with HPCD at 6.1 MPa, 45°C for 150 min [31].

High-pressure CO₂ did not have a significant effect ($p \geq 0.05$) on the moisture of shrimps, although there was a decrease in moisture of up to 74% in shrimps treated with 1100 psi for 15 min. There is no removal of water from the shrimps, but rather the pressured CO₂ attracts water molecules by binding to the water and forming HCO₃⁻ and CO₃²⁻ ions and consequently reducing the water content. Increasing pressure and longer treatment time increased the solubility and mass transfer of CO₂, thereby enhancing the decrease in water content as what happened in shrimps

TABLE 4: Effects of high-pressure CO₂ at various pressures and holding times on the proximate and microbial reduction.

Pressure (psi)/holding time (min)	Moisture (%)	Crude fat (%)	Crude protein (%)	Ash (%)
900/5	79.99 ± 0.71a	0.36 ± 0.005a	16.04 ± 0.08f	0.70 ± 0.03a
900/10	79.84 ± 0.14a	0.38 ± 0.01a	18.11 ± 0.13hi	0.99 ± 0.1ab
900/15	79.97 ± 0.1a	0.28 ± 0.03a	16.75 ± 0.12a	0.99 ± 0.1b
950/5	77.21 ± 1.48a	0.28 ± 0.007a	18.20 ± 0.14hi	1.06 ± 0.3c
950/10	78.48 ± 1.06a	0.24 ± 0.42a	18.15 ± 0.18bcd	1.54 ± 0.3cd
950/15	78.29 ± 1.84ab	0.60 ± 0.45a	16.78 ± 0.34ab	0.81 ± 0.12cd
1100/5	77.9 ± 1.27ab	0.78 ± 0.45a	18.45 ± 0.28de	1.28 ± 0.78cd
1100/10	74.96 ± 0.6ab	0.78 ± 0.53a	18.94 ± 0.13fg	1.52 ± 0.5cd
1100/15	74.38 ± 1.42bc	0.77 ± 0.046a	18.21 ± 0.14bc	1.03 ± 0.04d
Untreated	79.08 ± 1.36c	0.29 ± 0.021a	18.09 ± 0.68h	0.96 ± 0.1e

Means with the same superscript letter in the same column were not significant different ($p \leq 0.05$).

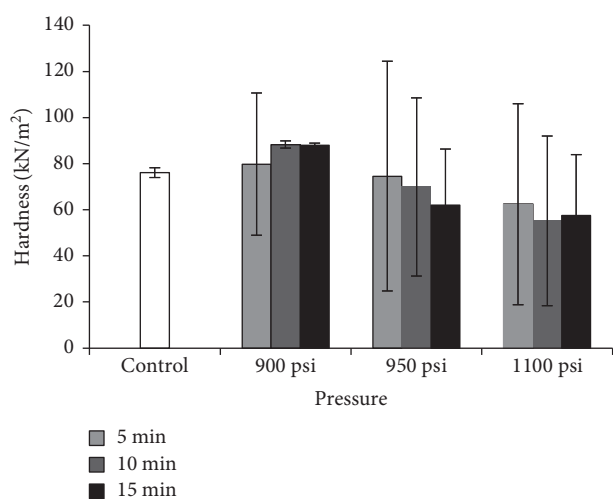


FIGURE 3: Texture of untreated and treated shrimps with HPCD at various pressures and holding times. The results represented the mean values obtained from 3 different samples and two replications.

treated with 1100 psi for 15 min. Ash content of the shrimps treated at 1100 psi significantly increased ($p \leq 0.05$) compared with the other samples. A decrease in moisture content can cause a relative increase in protein, fat, and ash [7].

3.3. Microbiological Analysis. Table 3 displays the reduction number of aerobic bacteria in treated shrimp with HPCD. The high-pressure treatment significantly destroyed bacteria ($p \leq 0.05$) at 1100 psi. The number of aerobic bacteria in fresh shrimp (before treatment) and in treated shrimp at 1100 psi was 4.5×10^5 CFU/g and 3.5×10^4 CFU/g, respectively. In contrast, the number of microbes in tilapia decreased by 2 log cycles at a pressure treatment of 80 bar reported by Sugiharto et al. [29]. Meanwhile, Kustyawati et al. [30] found that tempeh treated with 900 psi significantly ($p \leq 0.05$) reduced the number of microbes by 2 logs. The type and chemical contents of products processed with supercritical CO₂ could be the reason for inhibiting microbiological inactivation in treated shrimps in this study. Shrimps are a marine product that contains high protein, fat, minerals, and many bioactive compounds in their matrix,

which can inhibit penetration of CO₂ into the bacterial cells and prevent them from dying. Moreover, lower moisture (74%) content due to the dissolution of CO₂ into liquid shrimps, which dissociates and forms HCO₃⁻, CO₃⁻ and H⁺ ions, could increase the bactericidal effect of high-pressure CO₂ treatment. Erkem [31] showed that the bactericidal action of HPCD was more effective in a liquid substrate, where *Brochothrix thermosphacta* cells inoculated in brain–heart infusion broth were completely inactivated under 6.1 MPa after 30 min at 45°C, while it was reduced one log cycle, when the cells were inoculated in minced beef treated with HPCD at 6.1 MPa and 45°C for 150 min.

3.4. Effect of High-Pressure Treatment on Cholesterol and Total Carotene. Shrimps are rich in cholesterol even though they contain high nutrient quality of polyunsaturated fatty acids [32, 33]. In this study, the effects of HPCD processing on cholesterol and total carotene in shrimp were measured and displayed in Table 3. It showed that HPCD processing significantly decreased ($p \leq 0.05$) cholesterol and total carotene content in shrimps. The initial cholesterol content in untreated shrimps was 1.63 mg/g. Cholesterol levels in treated shrimps fluctuated between 1.27 and 1.48 mg/g, and the lowest level was reached at 900 psi for 10 min of holding time. Compared with the study conducted by Higuera-Ciapara et al. [5], which found that cholesterol was extracted in supercritical CO₂ (310 bar; 37°C), our findings suggest that cholesterol was extracted in both subcritical CO₂ (900 psi) and supercritical CO₂ (1100 psi). This can be explained by considering the molecular polarity and solubility of CO₂. In the supercritical region, supercritical CO₂ (scCO₂) possesses high solubility, where the density of scCO₂ increased with increasing pressure, so that more cholesterol was extracted. In the subcritical region slightly below the critical point, CO₂ can be a liquid, which is more polar, and cholesterol can most likely be extracted in this CO₂ phase [34]. Below the critical point and above the triple point of -56.6°C and 0.52 MPa, CO₂ exists as a liquid. At and above the critical temperature of 31°C and critical pressure of 7.35 MPa (critical point), CO₂ exists as a gas and liquid in equilibrium; increasing temperature or pressure above this critical point does not result in any further phase changes. Cholesterol (C₂₇H₄₆O) is mostly a nonpolar hydrocarbon compound [33], but cholesterol is water-soluble because it

has a polar OH functional group, so more cholesterol is extracted at 900 psi. Cholesterol levels of all processed shrimps in our study were in accordance with the recommended daily intake (<300 mg/day) [35]. However, one needs to be cautious about including shrimps in diet, because the normal total cholesterol in human blood is 160–200 mg/100 g. The higher the cholesterol level in the blood, the greater the risk of atherosclerosis, which is the thickening and hardening of the artery wall due to cholesterol build-up [36].

The effect of HPCD processing on total carotenoid content in shrimps is displayed in Table 4. It showed that HPCD processing significantly reduced ($p \leq 0.05$) total carotenoid in shrimps. Fresh shrimps contained 4.53 mg/g of total carotenoid. With increasing pressure, more carotenoid was extracted, as in this study the lowest carotenoid content was 2.29 mg/g in shrimps treated at 1100 psi for 10 minutes. A similar finding reported by Mezzomo and Ferreira [37] and Radzali et al. [38] was that β -carotene in shrimps was highly extracted and pressure-dependent. A study on the effect of HPCD on the degradation of anthocyanin showed that there was no reduction after 30 MPa, 45°C, but when pressure was increased to 60 MPa, 55°C, for 30 min, anthocyanin decreased [39]. Another study reported that β -carotene in the *Dunaliella salina* microalgae was extracted at a higher pressure (400 bar and 65°C) [40]. In this our study, solubility of CO₂ and food matrix may influence reduction of carotenoid in treated shrimps. As the pressure increased, the density increased, enhancing the solubility of CO₂, and therefore, more carotenoid was extracted. Carotenoid is a nonpolar molecule of fat-soluble pigment, which easily interacts with nonpolar CO₂, resulting in reduction of carotenoid. However, high diffusion of CO₂ can alter the conformation of the protein, leading to denaturation, and result in carotenoid extraction.

3.5. Storage Study. The storage study aimed to evaluate the effectiveness of high-pressure CO₂ treatment on the shelf life of shrimps. According to the study, the best treatment was at the pressure of 1100 psi and holding time of 10 minutes (Table 5). Shrimps were then treated with the best treatment and stored at 4°C for 10 days. The changes in quality parameters, including microbial count, lipid, PV, pH, and formation of total volatile base nitrogen (TVB-N), were monitored (Figures 4–8). TMA level was not monitored in this study due to the limited availability of the chemical during COVID-19. No significant changes were found ($p \leq 0.05$) in PV and lipid in treated and scCO₂-treated shrimps, but scCO₂ treatment significantly affected pH, TVBN, and microbial count during storage. The initial TVB-N value of untreated and treated shrimps was 9.33 and 9.95 mg/100g, respectively. The TVB-N scales of acceptability for raw shrimps are <12 mg N/100 g for fresh, 12–20 for edible but slightly decomposed, 20–25 for borderline, and >25 mg N/100 g for inedible and decomposed [7]. All shrimps showed an increase of TVB-N during 10 days of storage. It sharply increased in fresh shrimp and reached 32.59 mg/100g at day 10 of storage, whereas it flatly

increased in treated shrimps with scCO₂ and ended at 30.21 mg/100g at day 10 of storage. Our results indicated that the TVB-N (24.21 mg/g) of treated shrimps with scCO₂ was not acceptable after day 8 of storage. Most likely, the spoilage of shrimp was caused by degradation of nitrogenous compounds as a result of the activity of endogenous enzymes [41].

Figure 5 shows that the initial microbiological count of fresh and treated shrimp was 4.4×10^5 and 3.9×10^4 CFU/g, respectively. For treated shrimps, the microbiological count started to increase at day 4 and flatly grew until at day 10 of storage (5.1×10^6 CFU/g). The increased counts were likely associated with the adaptability of the bacteria, which were resistant and adaptable to refrigeration temperature. Some aerobic mesophilic bacteria, including spore producing bacteria, may be present in the treated shrimps. Even though psychrotrophs are able to grow at refrigeration temperature [42], these bacteria are easily destroyed by HPCD treatment [43].

The change of pH in shrimp meat could be one of the indications of its freshness during storage [2]. The initial pH value of treated shrimps was 7.7 and gradually declined to 6.6 and was flat after day 6 of storage (Figure 6). Jin et al. [44] found that the initial pH of marine-trawling shrimps was 7.02, and no significant differences were found during deep-frozen temperature storage. Dai et al. [45] reported that the decrease in pH could result from glycogen glycolysis of shrimp for an hour after death, while the increase in pH is related to the accumulation of alkaline molecules, such as ammonia and amines, produced from the metabolism of amino acids, peptides, and protein. In this present study, the decline of the pH value suggested that the scCO₂ treatment could have an inhibitory effect that slows down the pH of the shrimps during storage. New macromolecule conformations as a result of protein denaturation and ionic formation of HCO₃⁻ and CO₃⁻ in the matrix of shrimp meat due to diffusivity of CO₂ treatment could influence pH changes during storage at 4°C. Moreover, there is no protein buffering effect in this case because the denaturation or conformation of the unfolded protein as a result of the scCO₂ treatment changes its function. In general, pH 7.7 or below is the scope for good freshness of the shrimps [46]. Illera et al. [6] reported that HPCD treatment at 12 MPa, 40°C deactivated PPO in shrimps and produced good visual aspects for 5 days of storage at 4°C.

Sensory analysis of treated and untreated shrimps during storage at 4°C included Duo-Trio test and Hedonic test. Duo-Trio test was where sensory panelists were asked to distinguish the sample that had slight differences in aroma, color, and texture (Table 6). Twenty panelists were involved. So, there must be 18 panelists stating that the sample differs from the standard sample at the 5% level. It was shown that sensory panelists did not recognize odor differences between scCO₂-treated shrimps and untreated shrimps during the storage. All of the 20 sensory panelists stated that the ScCO₂-treated sample (code 983) had a significant difference in terms of color compared with the other samples at eight-day storage, while 16 sensory panelists stated that the untreated sample (code 611) had a texture different from that of the

TABLE 5: Recapitulation of quality parameter values in white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) treated with high-pressure CO₂.

Quality parameter	Treatment (pressure (psi)/holding time (min))									Untreated
	900/5	900/10	900/15	950/5	950/10	950/15	1100/5	1100/10	1100/15	
Moisture (%)	79.99	79.84	79.97	77.21	78.48	78.29	77.9	74.96*	74.38*	79.08
Fat (%)	0.35	0.38	0.28	0.275	0.235	0.6*	0.77	0.78*	0.77	0.28
Protein (%)	16.04*	18.11	16.75*	18.21	18.15*	16.78*	18.45	18.94	18.21	18.09
Hardness (kN/m ²)	79.8	58.3	27.9	74.6*	69.9*	62	62.4	55.2	57.6	46.1
ΔL^* value	51.65	54.15	59.1	53.75	52.05	54.9	59.75	56.75	61.35*	51.55
a* value	5.55	5.15	5.25	5	4.05	5.6	5.25	5.85*	7.1	4.15
Cholesterol (mg/g)	1.39*	1.27	1.46	1.47	1.39	1.36*	1.46	1.48*	1.34*	1.63
Total carotene (mg/g)	3.8	3.78	3.79	3.77	3.76	3.69	2.51	2.37*	2.29*	4.24
Microbial reduction (log N/No)	0.98	0.979	0.974	0.974	0.969	0.952	0.803	0.805	0.793	

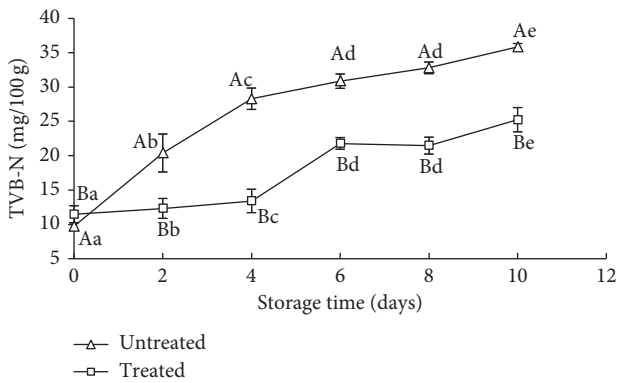


FIGURE 4: Changes of TVB-N during storage of untreated and scCO₂-treated shrimp at 4°C for 10 days. Different capital letters indicate that the treatment had significant effect on TVB-N value ($p < 0.05$). The different lowercase letters indicate that storage time had a significant effect on TVN value ($p < 0.05$).

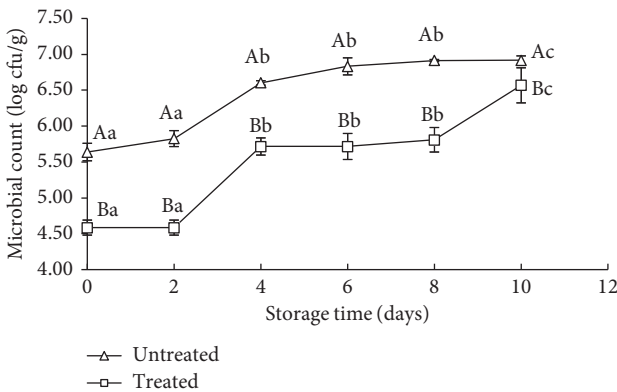


FIGURE 5: Changes of microbial count during storage of untreated and scCO₂-treated shrimps at 4°C for 10 days. Different capital letters indicate that the treatment had significant effect on microbial count ($p < 0.05$). The different lowercase letters indicate that storage time had significant effect on microbial count ($p < 0.05$).

other samples at day 6 of storage. Similarly, Kincal et al. [47] showed that the sensory panelists could not detect any significant aroma differences between the control frozen fresh orange juice and HPCD-treated orange juice after a two-week storage at 17°C. Some researchers showed that

HPCD slightly reduced volatile compounds [48, 49]. Chen et al. [48] found no change in ester composition and slight change in alcohol and aldehydes in Hami melon juice after treatment with HPCD at 35 MPa and 55°C for 60 min and four-week storage. Zhou et al. [50] found that low threshold was responsible for the changes in the odor/flavor of foods. The aroma of foods mostly generated from volatile compounds. In shrimps, volatile compounds can be come from chemical reactions and enzymatic reactions, involving amino acids side chain of protein, carbohydrate, and lipid. When scCO₂ was used, lipid and nonpolar amino acids were oxidized or extracted, enzymatic activation was changed, and new volatile compounds in the food matrix can be produced. However, the volatile compound may be stripped off during depressurized CO₂, thereby having no effect on food odor. This was why the sensory panelists could not differentiate between the treated and untreated shrimps. Kleekeyai et al. [51] found that N- and S-containing compounds with major volatile compounds, trimethylamine, 2,5-dimethylpyrazine, and dimethyl trisulfide, and nonpolar compounds were responsible for the aroma of shrimps. In addition, aldehydes, ketones, and alcohols mostly produced from oxidative cleavages of lipids, and degradation of amino acids and saccharides were also responsible for the shrimp odor.

Consumer acceptance test was performed by 20 students from the departments. A 5-point hedonic scale was used to evaluate overall acceptance and color, texture, and odor acceptance (Figure 9). Any changes in the compounds responsible for the color, texture, and odor can lead to their acceptance. It can be concluded that, among the samples, there was no hedonic difference in odor, color, and texture, as well as overall acceptance ($p < 0.05$). The score of overall acceptance was moderate (score of 3.8) for treated shrimp at eight-day storage. Sensory panelist acceptance to the sense of color was moderate (score of 3.8) for treated shrimp at eight-day storage. However, acceptance of sensory panelists to odor was neither like or dislike (score of 3.0) for treated shrimp during storage at 4°C. The score of the sense of texture given by sensory panelists was neither like or dislike (3.1) during storage at 4°C, but panelists accepted the sample more (score of 3.8, moderate) at eight-day storage.

Figure 7 shows the lipid changes of scCO₂-treated and untreated shrimps during storage. The result of analysis variance showed that both the scCO₂ treatment and storage

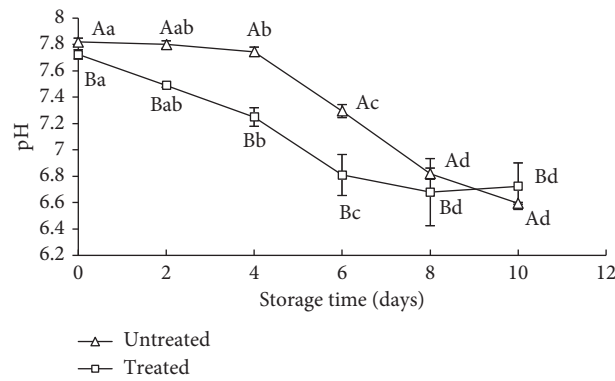


FIGURE 6: Changes of pH during storage of untreated and scCO_2 -treated shrimps at 4°C for 10 days. Different capital letters indicate that the treatment had significant effect on pH value ($p < 0.05$). The different lowercase letters indicate that storage time had significant effect on pH value ($p < 0.05$).

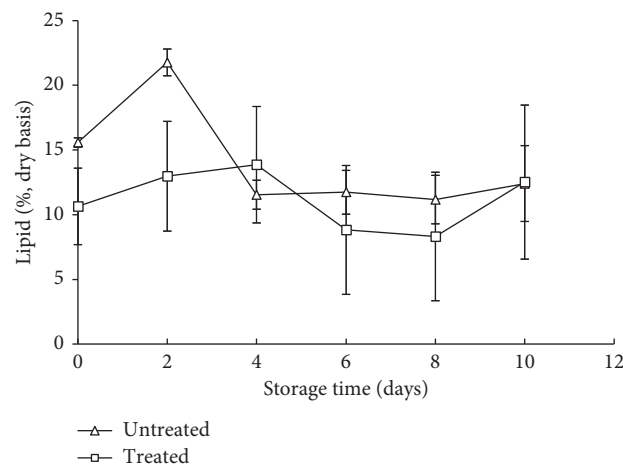


FIGURE 7: Changes of total lipid during storage of untreated and scCO_2 -treated shrimps at 4°C for 10 days.

time did not significantly affect the total lipid during storage ($p > 0.05$). The same results were reported by Senapati et al. [52], which showed that the crude fat content of white-leg shrimps (*Litopenaeus vannamei*) did not significantly change during 14 days of chilled storage. In this study, supercritical CO_2 treatment and low storage temperature could protect shrimp fat from hydrolysis; therefore, no significant fat changes were found during storage at 4°C . Shrimp lipids, a nonpolar biomolecule, are reduced when the shrimp is treated with scCO_2 , thereby preventing possible hydrolysis during storage. Supercritical CO_2 dissolves nonpolar or slightly polar compounds [4]. Additionally, lipid hydrolysis occurred rapidly at higher storage temperatures, which increased free fatty acids, resulting in the shrimps' off odor [53, 54].

Figure 8 shows the peroxide value (PV) changes in scCO_2 -treated and untreated shrimps during storage. The result of analysis of variance showed that scCO_2 treatment and storage time did not significantly affect the PV during storage ($p > 0.05$). Similar results were reported by Minh et al. [55] that showed that the PV of black tiger

shrimp (*Penaeus monodon*) control samples did not significantly change during 12 months of storage. In this study, scCO_2 treatment could potentially slow down the mechanisms responsible for lipid damage in shrimps during storage at 4°C . Peroxide value is a product of lipid autoxidation, which indicates the oxidation deterioration level of lipid. Lipid deterioration is influenced by the oxygen presence, temperature, and light during the storage of product [56–58]. Additionally, temperature affected PV value, which significantly increased when shrimps were kept under high temperature and in the presence of sunlight [59]. Light catalyzes the oxidation of lipid under photo-oxidation process. During photo-oxidation, the energy of light is absorbed and turns the free radical group, triplet oxygen into singlet oxygen, which easily reacts with unsaturated fatty acids and generates hydrogen peroxide [60].

It could be said that scCO_2 -treated shrimps were accepted by panelists until eight-day storage at 4°C and found no significant changes in quality degradation parameters responsible for shrimp deterioration.

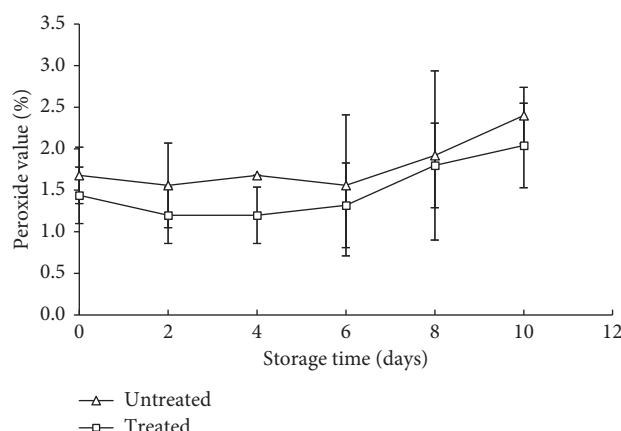


FIGURE 8: Changes of peroxide value during storage of untreated and scCO₂-treated shrimps at 4°C for 10 days.

TABLE 6: Duo-Trio test of untreated and treated shrimps with supercritical CO₂ during storage at 4°C.

Parameters	Day 0		Day 2		Day 4		Day 6		Day 8		Day 10	
	463	198	257	671	553	879	611	537	227	983	265	871
Odor	13	10	10	13	12	11	10	13	11	12	12	11
Color	10	13	10	13	9	14	15	8	3	20*	11	12
Texture	15	8	11	12	13	10	16*	7	15	8	13	10

The numbers followed by an asterisk (*) were significantly different among other samples; code of untreated samples: 463, 257, 553, 611, 227, and 265; code of samples treated with supercritical CO₂: 198, 671, 879, 537, 983, and 871.

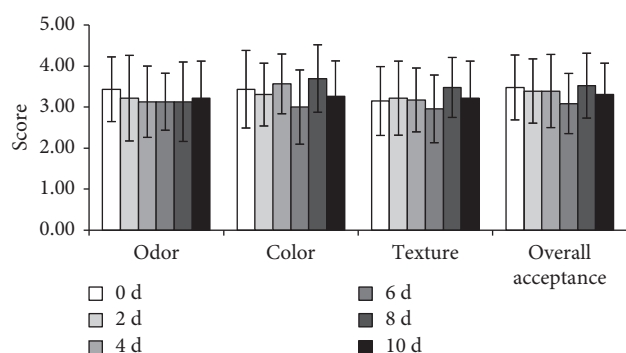


FIGURE 9: Consumer acceptance test of scCO₂-treated shrimps during storage at 4°C by using a 5-point hedonic scale.

4. Conclusions

Subcritical and supercritical CO₂ did not affect the hardness and lightness of shrimps, indicating that the quality of freshness of shrimps is maintained. However, cholesterol reduction occurred at either the subcritical or supercritical treatment. Supercritical CO₂ treatment at 1100 psi for 10 min was the best treatment recommended for processing white shrimps. A storage study was performed to see the effectiveness of scCO₂ treatment at 1100 psi for 10 min during storage. No significant changes were found in PV and lipid in untreated and scCO₂-treated shrimps, but the treatment significantly affected pH, TVBN, and microbial counts during storage. Among the samples, there was no hedonic difference in odor, color, texture, and overall acceptance during storage. Moreover,

untreated shrimps possessed a texture significantly different from that of the other samples at six-day storage, while scCO₂-treated shrimps possessed a very significant color difference compared with the other samples at eight-day storage.

It was found that scCO₂-treated shrimps, at 1100 psi for 10 min, were accepted by panelists when stored up to eight days. The results of this study provided useful information about the possibility of applying supercritical CO₂ at 1100 psi for 10 min as an alternative method for preservation of shrimps.

Data Availability

All data generated or analyzed during this study are included within the article.

Conflicts of Interest

The authors declare that there are no conflicts of interest

Acknowledgments

The authors greatly thank Prof. Dr. Irwan Sukri Banuwa, the Dean of the Faculty of Agriculture, University of Lampung, and Prof. Daniel Saputra, PhD at the University of Sriwijaya, Palembang, Indonesia. This project was supported by the Ministry of Research and Technology-National Research and Innovation Agency (RISTEK-BRIN) (contract nos. 4375/UN26.21/PN/2020 and 179/SP2H/AMD/LT/DRPM/2020).

References

- [1] K. Manheem, S. Benjakul, K. Kijroongrojana, N. Faithong, and W. Visessanguan, "Effect of pre-cooking times on enzymes, properties, and melanosis of Pacific white shrimp during refrigerated storage," *International Aquatic Research*, vol. 5, no. 1, pp. 1–11, 2013.
- [2] N. Xu, W. Shi, X. Wang, and Z. Wang, "Effect of ice water pretreatment on the quality of Pacific White Shrimps (*Litopenaeus vannamei*)," *Food Science & Nutrition*, vol. 7, no. 2, pp. 645–655, 2019.
- [3] L. Laboureur, M. Ollero, and D. Touboul, "Lipidomics by supercritical fluid chromatography," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 16, no. 12, pp. 13868–13884, 2015.
- [4] H. Monhemi and S. Dolatabadi, "Molecular dynamics simulation of high-pressure CO₂ pasteurization reveals the interfacial denaturation of proteins at CO₂/water interface," *Journal of CO₂ Utilization*, vol. 35, pp. 256–264, 2020.
- [5] I. Higuera-Ciapara, A. R. Toledo-Guillen, L. Noriega-Orozco, K. G. Martinez-Robinson, and M. C. Esquade-Valle, "Production of a low-cholesterol shrimp using supercritical extraction," *Journal of Food Process Engineering*, vol. 28, no. 5, pp. 526–538, 2005.
- [6] A. E. Illera, M. T. Sanz, S. Beltrán, and O. Benito-Román, "Effect of high pressure carbon dioxide on polyphenoloxidase from *Litopenaeus vannamei*," *LWT*, vol. 109, pp. 359–365, 2019.
- [7] B. Zhang, L. K. Ma, S. G. Deng, C. Xie, and X. H. Qiu, "Shelf-life of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) as affected by weakly acidic electrolyzed water ice-glazing and modified atmosphere packaging," *Food Control*, vol. 51, pp. 114–121, 2015.
- [8] J. Li, W. Sun, H. S. Ramaswamy et al., "High pressure extraction of astaxanthin from shrimp waste (*Penaeus Vannamei* Boone): effect on yield and antioxidant activity," *Journal of Food Process Engineering*, vol. 40, no. 2, p. e12353, 2017.
- [9] T. Jantakoson, K. Kijroongrojana, and S. Benjakul, "Effect of high pressure and heat treatments on black tiger shrimp (*Penaeus monodon* Fabricius) muscle protein," *International Aquatic Research*, vol. 4, no. 1, pp. 1–12, 2012.
- [10] M. McHugh and V. Krukonis, *Supercritical Fluid Extraction*, H. Brenner, Ed., Butterworth-Heinemann, UK, 2nd edition, 2013.
- [11] B. Werner and J. Hotchkiss, "Modified atmosphere packaging," in *Microbiology of Fruits and Vegetables*, M. G. Sapers, J. R. Gorny, and A. E. Yousef, Eds., CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 1st edition, 2006.
- [12] D. Saputra, "Puffing dehydrated vegetable with carbon dioxide," in *Jurnal Keteknikian Pertanian*, pp. 157–165, 2006.
- [13] M. Plascencia-Jatomea, G. Viniegra, R. Olayo, M. M. Castillo-Ortega, and K. Shirai, "Effect of chitosan and temperature on spore germination of *Aspergillus Niger*," *Macromolecular Bioscience*, vol. 3, no. 10, pp. 582–586, 2003.
- [14] T. Saldanha, M. T. Benassi, and N. Bragagnolo, "Fatty acid contents evolution and cholesterol oxides formation in Brazilian sardines (*Sardinella brasiliensis*) as a result of frozen storage followed by grilling," *LWT-Food Science and Technology*, vol. 41, no. 7, pp. 1301–1309, 2008.
- [15] H. D. de Holanda and F. M. Netto, "Recovery of components from shrimp (*Xiphopenaeus kroyeri*) processing waste by enzymatic hydrolysis," *Journal of Food Science*, vol. 71, no. 5, pp. C298–C303, 2006.
- [16] G. Latimer, *Official Methods of Analysis of AOAC International*, AOAC International, Rockville, MD, USA, 21st edition, 2019.
- [17] National Standardization Body, *SNI 2354.8-2009: Chemical Test Method-Part 8: Determination of Total Volatile Base Nitrogen (TVB-N) and Trimethyl Amin Nitrogen (TMA-N) Levels in Fishery Products*, National Standardization Body, Geneva, Switzerland, 2009.
- [18] IFRA, *Determination of the Peroxide Value*, The International Fragrance Association, Geneva, Switzerland, 2019.
- [19] J. A. Dorado-Rodelo, J. M. Ezquerro-Brauer, and H. Soto-Valdez, "Effect of ovenproof plastic films on the quality of spotted rose snapper (*Lutjanus guttatus*) filets during frozen storage," *Packaging Technology and Science*, vol. 20, no. 5, pp. 301–307, 2007.
- [20] M. Meilgaard, G. V. Cville, and B. T. Carr, *Sensory Evaluation Techniques*, CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 4th edition, 2007.
- [21] H. S. Youn, M. K. Roh, A. Weber, G. T. Wilkinson, and B. S. Chun, "Solubility of astaxanthin in supercritical carbon dioxide," *Korean Journal of Chemical Engineering*, vol. 24, no. 5, pp. 831–834, 2007.
- [22] A. P. Sánchez-Camargo, H. A. Martinez-Correa, L. C. Paviani, and F. A. Cabral, "Supercritical CO₂ extraction of lipids and astaxanthin from Brazilian redspotted shrimp waste (*Farfantepenaeus paulensis*)," *Journal of Supercritical Fluids*, vol. 56, no. 2, pp. 164–173, 2011.
- [23] F. J. Pashkow, D. G. Watumull, and C. L. Campbell, "Astaxanthin: a novel potential treatment for oxidative stress and inflammation in cardiovascular disease," *American Journal of Cardiology*, vol. 101, no. 10 Suppl, pp. S58–S68, 2008.
- [24] J. Li, C. Guo, and J. Wu, "Astaxanthin in liver health and disease: a potential therapeutic agent," *Drug Design, Development and Therapy*, vol. 14, pp. 2275–2285, 2020.
- [25] W. Yan, J. Cui, R. Dai, H. Wang, and X. Li, "Effects of dense phase carbon dioxide on quality and physical-chemical properties of chilled pork," *Nongye Gongcheng Xuebao/Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, vol. 26, no. 7, pp. 346–350, 2010.
- [26] N. S. Tabitha and T. Anand, "Nutritive value of cultured white leg shrimp *Litopenaeus vannamei*," *International Journal of Fisheries and Aquaculture*, vol. 5, no. 7, pp. 166–171, 2013.
- [27] V. Venugopal, "Nutritional value of shrimp the popular shellfish," *EC Nutrition*, vol. 02, pp. 1–9, 2020.
- [28] C. Da Porto and A. Natolino, "Supercritical fluid extraction of polyphenols from grape seed (*Vitis vinifera*): study on process variables and kinetics," *Journal of Supercritical Fluids*, vol. 130, pp. 239–245, 2017.
- [29] S. Sugiharto, N. Bintoro, J. Karyadi, and Y. Pranoto, "Supercritical carbon dioxide pasteurization to reduce the activity of muscle protease and its impact on physicochemical properties of Nile tilapia," *Research Ideas and Outcomes*, vol. 6, p. 56887, 2020.
- [30] M. E. Kustyawati, F. Pratama, D. Saputra, and A. Wijaya, "Viability of molds and bacteria in tempeh processed with supercritical carbon dioxides during storage," *International Journal of Food Science*, vol. 2018, 2018.
- [31] O. Erkmen, "Antimicrobial effects of pressurised carbon dioxide on *Brochothrix thermosphacta* in broth and foods," *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 80, no. 9, pp. 1365–1370, 2000.
- [32] D. R. Pires, D. Morais, A. C. N. Coelho, A. F. Góes, L. C. D. S. A. Ferreira, and T. Saldanha, "Nutritional

- composition, fatty acids and cholesterol levels in Atlantic white shrimp (*Litopenaeus schmitti*),” *International Food Research Journal*, vol. 25, no. 1, pp. 151–157, 2018.
- [33] S. M. Pourmortazavi, Z. Saghafi, A. Ehsani, and M. Yousefi, “Application of supercritical fluids in cholesterol extraction from foodstuffs: a review,” *Journal of Food Science and Technology*, vol. 55, no. 8, pp. 2813–2823, 2018.
- [34] O. H. Nautiyal, “Review article food processing by supercritical carbon dioxide-review,” *EC Chemistry*, vol. 2, no. 1, pp. 111–135, 2016.
- [35] D. Kartono, J. A. B. Hardiyansyah, and A. Sulaeman, “Summary of recommended nutritional adequacy for Indonesians,” in *Proceedings of the Widyakarya Nasional Pangan Dan Gizi (WNPNG) X*, pp. 1–18, Jakarta, Indonesia, April 2017.
- [36] R. K. Eldiaz, A. Agustono, and K. T. Pursetyo, “The content of low density lipoprotein, high density lipoproteins, cholesterol on pen shells (*Atrina pectinata*) fish catch in kenjeran surabaya,” *Journal of Marine and Coastal Science*, vol. 7, no. 2, p. 51, 2020.
- [37] N. Mezzomo and S. R. S. Ferreira, “Carotenoids functionality, sources, and processing by supercritical technology: a review,” *Journal of Chemistry*, vol. 2016, Article ID 3164312, 17 pages, 2016.
- [38] S. A. Radzali, B. S. Baharin, and R. A. Rahman, “Optimisation of supercritical fluid extraction of astaxanthin from *Penaeus monodon* waste using ethanol-modified carbon dioxide,” *Journal of Engineering Science and Technology*, vol. 11, no. 5, pp. 722–736, 2016.
- [39] K. Marszałek, Ł. Woźniak, B. Kruszewski, and S. Skapska, “The effect of high pressure techniques on the stability of anthocyanins in fruit and vegetables,” *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 18, no. 2, 2017.
- [40] A. Molino, V. Larocca, G. Di Sanzo et al., “Extraction of bioactive compounds using supercritical carbon dioxide,” *Molecules*, vol. 24, no. 4, 2019.
- [41] C. Niamnuy, S. Devahastin, and S. Soponronnarit, “Quality changes of shrimp during boiling in salt solution,” *Journal of Food Science*, vol. 72, no. 5, pp. S289–S297, 2007.
- [42] J. M. Jay, M. J. Loessner, and D. A. Golden, *Modern Food Microbiology*, Springer US, New York, NY, USA, 7th edition, 2005.
- [43] T. Yu, L. Niu, and H. Iwahashi, “High-pressure carbon dioxide used for pasteurization in food industry,” in *Food Engineering Reviews*, vol. 12, no. 3, pp. 364–380, 2020.
- [44] L. Jin, G. Ding, P. Li, J. Gu, and X. Zhang, “Changes in quality attributes of marine-trawling shrimp (*Solenocera crassicornis*) during storage under different deep-frozen temperatures,” *Journal of Food Science and Technology*, vol. 55, no. 8, pp. 2890–2898, 2018.
- [45] X. Y. Dai, M. X. Zhang, X. Y. Wei, R. C. Hider, and T. Zhou, “Novel multifunctional hydroxypyridinone derivatives as potential shrimp preservatives,” *Food and Bioprocess Technology*, vol. 9, no. 7, pp. 1079–1088, 2016.
- [46] H. Mu, H. Chen, X. Fang, J. Mao, and H. Gao, “Effect of cinnamaldehyde on melanosis and spoilage of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during storage,” *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 92, no. 10, pp. 2177–2182, 2012.
- [47] D. Kincal, W. S. Hill, M. Balaban et al., “A continuous high-pressure carbon dioxide system for cloud and quality retention in orange juice,” *Journal of Food Science*, vol. 71, no. 6, pp. C338–C344, 2006.
- [48] J. L. Chen, J. Zhang, L. Song, Y. Jiang, J. Wu, and X. S. Hu, “Changes in microorganism, enzyme, aroma of hami melon (*Cucumis melo* L.) juice treated with dense phase carbon dioxide and stored at 4°C,” *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, vol. 11, no. 4, pp. 623–629, 2010.
- [49] L. Niu, X. Hu, J. Wu et al., “Effect of dense phase carbon dioxide process on physicochemical properties and flavor compounds of orange juice,” *Journal of Food Processing and Preservation*, vol. 34, no. Suppl. 2, pp. 530–548, 2010.
- [50] L. Zhou, X. Bi, Z. Xu, Y. Yang, and X. Liao, “Effects of high-pressure CO₂ processing on flavor, texture, and color of foods,” *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. 55, no. 6, pp. 750–768, 2015.
- [51] T. Kleekayai, S. Pinitklang, N. Laohakunjit, and W. Suntornsuk, “Volatile components and sensory characteristics of Thai traditional fermented shrimp pastes during fermentation periods,” *Journal of Food Science and Technology*, vol. 53, no. 3, pp. 1399–1410, 2016.
- [52] S. R. Senapati, G. P. Kumar, C. B. Singh et al., “Melanosis and quality attributes of chill stored farm raised whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*),” *Journal of Applied and Natural Science*, vol. 9, no. 1, pp. 626–631, 2017.
- [53] J. Lu, M. Langton, S. Sampels, and J. Pickova, “Lipolysis and oxidation in ultra-high temperature milk depend on sampling month, storage duration, and temperature,” *Journal of Food Science*, vol. 84, no. 5, pp. 1045–1053, 2019.
- [54] C. Rivera-Pérez, F. L. García-Carreño, and R. Saborowski, “Purification and biochemical characterization of digestive lipase in whiteleg shrimp,” *Marine Biotechnology*, vol. 13, no. 2, pp. 284–295, 2011.
- [55] N. P. Minh, T. Thi, Y. Nhi et al., “Quality of frozen black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) under a low-density polyethylene bag coextruded with butylated hydroxyanisole,” vol. 11, no. 4, pp. 1483–1486, 2019.
- [56] M. H. Gordon, “Factors affecting lipid oxidation,” in *Understanding and Measuring the Shelf-Life of Food*, Woodhead Publishing Limited, Sawston, UK, 2004.
- [57] D. R. Johnson and E. A. Decker, “The role of oxygen in lipid oxidation reactions: a review,” *Annual Review of Food Science and Technology*, vol. 6, pp. 171–190, 2015.
- [58] F. Kong and R. P. Singh, “Advances in instrumental methods to determine food quality deterioration,” in *Food and Beverage Stability and Shelf Life*, Woodhead Publishing Limited, Sawston, UK, 2011.
- [59] D. Y. Li, Z. Yuan, Z. Q. Liu et al., “Effect of oxidation and maillard reaction on color deterioration of ready-to-eat shrimps during storage,” *Lwt*, vol. 131, Article ID 109696, 2020.
- [60] H. H. Chang, *Quantitative Changes of Volatile Compound in Soybean and Algal Oil and Effects of Antioxidants on the Oxidative Stability of Algal Oil under Light Storage*, The Ohio State University, Columbus, OH, USA, 2011.



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS LAMPUNG

LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT

Gedung Rektorat Lantai 5, Jalan Prof. Dr. Sumantri Brojonegoro No. 1 Bandar Lampung 35145

Telepon (0721) 705173, Fax. (0721) 773798, e-mail : lppm@kpa.unila.ac.id

www.lppm.unila.ac.id

KONTRAK PENELITIAN
Penelitian Dasar Tahun Anggaran 2020
Nomor: 4375/UN26.21/PN/2020

Pada hari ini Kamis tanggal Tiga Puluh bulan Juli tahun Dua Ribu Dua Puluh, kami yang bertandatangan di bawah ini :

1. **Dr. Lusmeilia Afriani, D.E.A.** : Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Lampung dalam hal ini bertindak untuk dan atas nama Lembaga Penelitian Universitas Lampung ,yang berkedudukan di Jalan Prof. Dr. Sumantri Brojonegoro No 1 Bandar Lampung, untuk selanjutnya disebut **PIHAK PERTAMA**;
2. **Maria Erna K., M.Sc. Ph.D.** : Dosen FAKULTAS Pertanian Universitas Lampung dalam hal ini bertindak sebagai pengusul dan Ketua Pelaksana Penelitian Tahun Anggaran 2020 untuk selanjutnya disebut **PIHAK KEDUA**.

PIHAK PERTAMA dan **PIHAK KEDUA**, secara bersama-sama sepakat mengikatkan diri dalam suatu Kontrak Penelitian Dasar Tahun Anggaran 2020 dengan ketentuan dan syarat-syarat sebagai berikut:

Pasal 1
Ruang Lingkup Kontrak

PIHAK PERTAMA memberi pekerjaan kepada **PIHAK KEDUA** dan **PIHAK KEDUA** menerima pekerjaan tersebut dari **PIHAK PERTAMA**, untuk melaksanakan dan menyelesaikan Penelitian Dasar Tahun Anggaran 2020 dengan judul "Mempelajari Teknik Pengolahan Tanpa Panas High Pressure CO2 Sebagai Alternatif Pengawetan Udang"

Pasal 2
Dana Penelitian

- (1) Besarnya dana untuk melaksanakan penelitian dengan judul sebagaimana dimaksud pada Pasal 1 adalah sebesar **Rp. 98.000.000 (Sembilan Puluh Delapan Juta Rupiah)** sudah termasuk pajak.
- (2) Dana Penelitian sebagaimana dimaksud pada ayat (1) dibebankan pada Daftar Isian Pelaksanaan Anggaran (DIPA) Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat, Kementerian Riset, dan Teknologi/ Badan Riset dan Inovasi Nasional Nomor SP DIPA-042.06.1.401516/2020, tanggal 12 November 2019

Pasal 3
Tata Cara Pembayaran Dana Penelitian

- (1) **PIHAK PERTAMA** akan membayarkan Dana Penelitian kepada **PIHAK KEDUA** secara bertahap dengan ketentuan sebagai berikut:
 - a. Pembayaran pada skema Penelitian Dasar Unggulan Perguruan Tinggi, Penelitian Dasar, WCR, Penelitian Terapan dilaksanakan secara sekaligus (100%)
 - b. Pembayaran sekaligus 100% dari total dana penelitian yaitu $100\% \times \text{Rp. 98.000.000}$ (Sembilan Puluh Delapan Juta Rupiah) = **Rp. 98.000.000** (Sembilan Puluh Delapan Juta Rupiah) yang akan dibayarkan oleh **PIHAK PERTAMA** kepada **PIHAK KEDUA** setelah **PIHAK KEDUA** merevisi proposal penelitian dan telah di unggah ke laman SIMLITABMAS dan menyerahkan/menyampaikan hardcopy sebanyak 2 eksemplar dan softcopy sebanyak 2 keping. Pembayaran Dana Luaran Tambahan sebesar : Rp.- ,

- c. Dana Luaran Tambahan dibayarkan kepada PIHAK KEDUA pada bulan Oktober tahun 2020
 - d. Apabila luaran tambahan dinyatakan tidak valid oleh PIHAK PERTAMA, maka dana luaran tambahan tidak bisa dibayarkan ke PIHAK KEDUA, dan dana luaran tambahan tersebut akan disetorkan kembali ke kas negara oleh PIHAK PERTAMA.
- (2) Dana Penelitian sebagaimana dimaksud pada pasal 3 huruf b akan disalurkan oleh **PIHAK PERTAMA** kepada **PIHAK KEDUA** ke rekening sebagai berikut:

Nama : Ibu Maria Erna K
Nomor Rekening : 0071055297
Nama Bank : BNI

- (3) **PIHAK PERTAMA** tidak bertanggung jawab atas keterlambatan dan/atau tidak terbayarnya sejumlah dana sebagaimana dimaksud pada ayat (1) yang disebabkan karena kesalahan **PIHAK KEDUA** dalam menyampaikan data peneliti, nama bank, nomor rekening, dan persyaratan lainnya yang tidak sesuai dengan ketentuan.

Pasal 4 **Jangka Waktu**

Jangka waktu pelaksanaan penelitian sebagaimana dimaksud dalam Pasal 3 sampai selesai 100%, adalah terhitung sejak **Tanggal 30 Juli 2020 dan berakhir pada Tanggal 16 November 2020**

Pasal 5 **Target Luaran**

- (1) **PIHAK KEDUA** berkewajiban untuk mencapai target luaran wajib penelitian berupa :
Buku Hasil Penelitian : sudah terbit
- (2) **PIHAK KEDUA** diharapkan dapat mencapai target luaran tambahan penelitian berupa : -
- (3) **PIHAK KEDUA** berkewajiban untuk melaporkan perkembangan pencapaian target luaran sebagaimana dimaksud pada ayat (1) kepada **PIHAK PERTAMA**.

Pasal 6 **Hak dan Kewajiban Para Pihak**

- (1) Hak dan Kewajiban **PIHAK PERTAMA**:
 - a. **PIHAK PERTAMA** berhak untuk mendapatkan dari **PIHAK KEDUA** *hardcopy* Proposal Penelitian, Laporan Kemajuan, Laporan Akhir, luaran Wajib Penelitian dan Luaran Tambahan yang valid disertai *Softcopy*
 - b. **PIHAK PERTAMA** berkewajiban untuk memberikan dana penelitian kepada **PIHAK KEDUA** dengan jumlah dan dengan tata cara pembayaran sebagaimana dimaksud dalam Pasal 3
- (2) Hak dan Kewajiban **PIHAK KEDUA**:
 - a. **PIHAK KEDUA** berhak menerima dana penelitian dari **PIHAK PERTAMA** dengan jumlah sebagaimana dimaksud dalam Pasal 3;
 - b. **PIHAK KEDUA** berkewajiban menyerahkan kepada **PIHAK PERTAMA** *hardcopy* Proposal Penelitian, Laporan Kemajuan, Laporan Akhir, luaran Wajib Penelitian dan Luaran Tambahan yang valid disertai *Softcopy* Penelitian Dasar dengan judul Mempelajari Teknik Pengolahan Tanpa Panas High Pressure CO2 Sebagai Alternatif Pengawetan Udang dan catatan harian pelaksanaan penelitian;
 - c. **PIHAK KEDUA** berkewajiban untuk bertanggungjawab dalam penggunaan dana penelitian yang diterimanya sesuai dengan proposal kegiatan yang telah disetujui;
 - d. **PIHAK KEDUA** berkewajiban untuk menyampaikan laporan penggunaan dana kepada **PIHAK PERTAMA**

Pasal 7
Laporan Pelaksanaan Penelitian

- (1) **PIHAK KEDUA** berkewajiban mengunggah Laporan Kemajuan Pelaksanaan Penelitian dan Surat Pernyataan Tanggungjawab Belanja (SPTB) atas dana penelitian yang telah ditetapkan ke SIMLITABMAS paling lambat **18 September 2020**.
- (2) **PIHAK KEDUA** berkewajiban menyerahkan *Hardcopy* sebagaimana tercantum pasal 7 ayat 1 kepada **PIHAK PERTAMA**, paling lambat **16 September 2020**
- (3) **PIHAK KEDUA** berkewajiban mengunggah dokumen sebagai berikut :
 - a. Revisi proposal penelitian
 - b. Catatan harian pelaksanaan penelitian
 - c. Laporan kemajuan pelaksanaan penelitian
 - d. Surat pernyataan Tanggungjawab belanja (SPTB) atas dana penelitian yang telah ditetapkan
 - e. Luaran penelitianpada laman SIMLITABMAS paling lambat **16 November 2020**
- (4) Laporan hasil Penelitian sebagaimana tercantum pada ayat 3 harus memenuhi ketentuan sebagai berikut:
 - a. Bentuk/ukuran kertas A4;
 - b. Di bawah bagian cover ditulis:

Dibiayai oleh:
Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat
Deputi Riset dan Pengembangan
Kementerian Riset, dan Teknologi/Badan Riset Dan Inovasi Nasional
Sesuai dengan Kontrak Penelitian
Nomor : 179/SP2H/ADM/LT/DRPM/2020

Pasal 8
Monitoring dan Evaluasi

PIHAK PERTAMA dalam rangka pengawasan akan melakukan Monitoring dan Evaluasi internal terhadap kemajuan pelaksanaan Penelitian Tahun Anggaran 2020, sebelum pelaksanaan Monitoring dan Evaluasi eksternal oleh Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat, Deputi Riset dan Pengembangan Kementerian Riset, dan Teknologi/Badan Riset Dan Inovasi Nasional

Pasal 9
Penilaian Luaran

1. Penilaian luaran penelitian dilakukan oleh Kemite Penilai/*Reviewer* Luaran sesuai dengan ketentuan yang berlaku.
2. Apabila dalam penilaian luaran terdapat luaran tambahan yang tidak tercapai maka dana tambahan yang sudah diterima oleh peneliti harus disetorkan kembali ke kas negara.

Pasal 10
Penggantian Keanggotaan

1. Perubahan terhadap susunan tim pelaksana dan substansi penelitian dapat dibenarkan apabila telah mendapat persetujuan dari Direktur Riset dan Pengabdian Masyarakat Deputi Bidang Penguatan Riset dan Pengembangan
2. Apabila Ketua tim pelaksana penelitian tidak dapat menyelesaikan penelitian atau mengundurkan diri, maka **PIHAK KEDUA** wajib menunjuk pengganti Ketua Tim Pelaksana penelitian yang merupakan salah satu anggota tim setelah mendapat persetujuan tertulis dari Direktur Riset dan Pengabdian Masyarakat Deputi Bidang Penguatan Riset dan Pengembangan

3. Dalam hal tidak adanya pengganti ketua tim pelaksana penelitian sesuai dengan syarat ketentuan yang ada, maka penelitian dibatalkan.

Pasal 11 **Penggantian Ketua Pelaksana**

- (1) Apabila **PIHAK KEDUA** selaku ketua pelaksana tidak dapat melaksanakan Penelitian ini, maka **PIHAK KEDUA** wajib mengusulkan pengganti ketua pelaksana yang merupakan salah satu anggota tim kepada **PIHAK PERTAMA**.
- (2) Apabila **PIHAK KEDUA** tidak dapat melaksanakan tugas dan tidak ada pengganti ketua sebagaimana dimaksud pada ayat (1), maka **PIHAK KEDUA** harus mengembalikan dana penelitian kepada **PIHAK PERTAMA** yang selanjutnya disetor ke Kas Negara.
- (3) Bukti setor sebagaimana dimaksud pada ayat (2) disimpan oleh **PIHAK PERTAMA**.

Pasal 12 **Sanksi**

- (1) Apabila sampai dengan batas waktu yang telah ditetapkan untuk melaksanakan Kontrak Penelitian telah berakhir, **PIHAK KEDUA** tidak melaksanakan kewajiban sebagaimana dimaksud dalam pasal 7 ayat 3, maka **PIHAK KEDUA** dikenakan sanksi administratif
- (2) Sanksi administratif sebagaimana dimaksud pada ayat (1) dapat berupa penghentian pembayaran dan Ketua Tim Pelaksana Penelitian tidak dapat mengajukan proposal penelitian dalam kurun waktu dua tahun berturut-turut

Pasal 13 **Pembatalan Perjanjian**

- (1) Apabila dikemudian hari terhadap judul Penelitian **Mempelajari Teknik Pengolahan Tanpa Panas High Pressure CO2 Sebagai Alternatif Pengawetan Udag** sebagaimana dimaksud dalam Pasal 1 ditemukan adanya duplikasi dengan Penelitian lain dan/atau ditemukan adanya ketidakjujuran, itikad tidak baik, dan/atau perbuatan yang tidak sesuai dengan kaidah ilmiah dari atau dilakukan oleh **PIHAK KEDUA**, maka perjanjian Penelitian ini dinyatakan batal dan **PIHAK KEDUA** wajib mengembalikan dana penelitian yang telah diterima kepada **PIHAK PERTAMA** yang selanjutnya akan disetor ke Kas Negara.
- (2) Bukti setor sebagaimana dimaksud pada ayat (1) disimpan oleh **PIHAK PERTAMA**

Pasal 14 **Pajak-Pajak**

PIHAK KEDUA berkewajiban memungut dan meyetor pajak ke kantor pelayanan pajak setempat yang berkenaan dengan kewajiban berupa :

1. Pembelian barang dan jasa dikenai PPN sebesar 10% dan PPH 22 sebesar 1,5%
2. Pajak-pajak lain sesuai ketentuan

Pasal 15 **Peralatan dan/alat Hasil Penelitian**

- (1) Hasil Pelaksanaan Penelitian ini yang berupa peralatan dan/atau alat yang dibeli dari pelaksanaan Penelitian ini adalah milik Negara yang dapat dihibahkan kepada Universitas Lampung sesuai dengan ketentuan peraturan perundang-undangan.
- (2) Setiap Publikasi, makalah, dan/atau ekspos dalam bentuk apapun yang berkaitan dengan hasil penelitian ini wajib mencantumkan Kemendikbud sebagai pemberi dana.

Pasal 16
Penyelesaian Sengketa

Apabila terjadi perselisihan antara **PIHAK PERTAMA** dan **PIHAK KEDUA** dalam pelaksanaan perjanjian ini akan dilakukan penyelesaian secara musyawarah dan mufakat, dan apabila tidak tercapai penyelesaian secara musyawarah dan mufakat maka penyelesaian dilakukan melalui proses hukum.

Pasal 17
Amandemen Kontrak

Apabila terdapat hal lain yang belum diatur atau terjadi perubahan dalam Kontrak penelitian ini, maka akan dilakukan amandemen Kontrak Penelitian

Pasal 18
Lain-lain

- (1) **PIHAK KEDUA** menjamin bahwa penelitian dengan judul tersebut di atas belum pernah dibiayai dan/atau diikutsertakan pada Pendanaan Penelitian lainnya, baik yang diselenggarakan oleh instansi, lembaga, perusahaan atau yayasan, baik di dalam maupun di luar negeri.
- (2) Segala sesuatu yang belum cukup diatur dalam Perjanjian ini dan dipandang perlu diatur lebih lanjut dan dilakukan perubahan oleh **PARA PIHAK**, maka perubahan-perubahannya akan diatur dalam perjanjian tambahan atau perubahan yang merupakan satu kesatuan dan bagian yang tidak terpisahkan dari Perjanjian ini.

Perjanjian ini dibuat dan ditandatangani oleh **PARA PIHAK** pada hari dan tanggal tersebut di atas, dibuat dalam rangkap 2 (dua) dan bermeterai cukup sesuai dengan ketentuan yang berlaku, yang masing-masing mempunyai kekuatan hukum yang sama.



PIHAK PERTAMA

Dr. Lusmeilia Afriani, D.E.A.

NIDN: 0010056505

PIHAK KEDUA

Maria Erna K., M.Sc. Ph.D.

NIDN: 0029116102



Mengetahui
DEKAN FAKULTAS Pertanian

Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.

NIDN: 0020106104



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT
GEDUNG REKTORAT LANTAI 5

Jalan. Prof. Dr. Sumantri Brojonegoro No.1 Bandar Lampung 35145
Telp. (0721) 705173, 701609 Ext. 136 Fax. 773798 E-Mail: Lemlit@Unila.ac.id

SURAT PERNYATAAN TANGGUNG JAWAB MUTLAK

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Maria Erna K., M.Sc. Ph.D.
NIDN : 0029116102
Fakultas : Pertanian
Alamat : Jl.Prof.Sumantri Brojonegoro No.1 Gedung Meneng
Bandar Lampung 35145

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa :

1. Dana Pengabdian yang saya terima sudah dihitung dengan benar dan akan digunakan sepenuhnya untuk mendanai penelitian yang saya laksanakan yaitu penelitian yang didanai oleh Dana DIKTI TA 2020 Jenis Hibah **Penelitian Skema Penelitian Dasar** Judul **Mempelajari Teknik Pengolahan Tanpa Panas High Pressure CO2 Sebagai Alternatif Pengawetan Udang** dengan jumlah dana sebesar 100% dari nilai pekerjaan Rp 98.000.000,- yaitu Rp 98.000.000,- (Sembilan Puluh Delapan Juta Rupiah).
2. Semua penggunaan, pengeluaran keuangan dan pertanggungjawabannya yang terkait dengan *output* kegiatan pelaksanaan pengabdian menjadi tanggung jawab saya sepenuhnya.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya-benarnya.

Bandar Lampung, 30 Juli 2020

Peneliti,

Maria Erna K., M.Sc. Ph.D.
NIDN 0029116102

BERITA ACARA PEMBAYARAN

Pada hari ini **Kamis** tanggal **Tiga Puluh** bulan **Juli** tahun **Dua Ribu Dua Puluh**, saya yang bertanda tangan dibawah ini :

- I. Nama : Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A.
Jabatan : Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Lampung
Alamat : Jl. Prof. Sumantri Brojonegoro No.1 Gedung Meneng Bandar Lampung
Disebut Sebagai **PIHAK PERTAMA**.
- II. Nama : Maria Erna K., M.Sc. Ph.D.
Jabatan : Peneliti Utama (penanggung jawab penelitian)
Fakultas : Pertanian
Alamat : Jl. Prof.Sumantri Brojonegoro No. 1 Bandar Lampung.
Disebut Sebagai **PIHAK KEDUA**.

Sehubungan dengan pelaksanaan kegiatan Penelitian Skema Penelitian Dasar di Lingkungan Universitas Lampung, sesuai dengan Surat Penugasan Penelitian Dasar Nomor. 4375/UN26.21/PN/2020, tanggal 30 Juli 2020 dengan judul "**Mempelajari Teknik Pengolahan Tanpa Panas High Pressure CO2 Sebagai Alternatif Pengawetan Udang**", maka **PIHAK KEDUA** berhak menerima pembayaran dari **PIHAK PERTAMA** sebesar 100% dari nilai kontrak = $100\% \times \text{Rp } 98.000.000,- = \text{Rp } 98.000.000,-$ (Sembilan Puluh Delapan Juta Rupiah) dan disalurkan langsung ke Rekening **PIHAK KEDUA** sebagai Penanggung Jawab Kegiatan Penelitian.

Demikian Berita Acara Pembayaran ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Bandar Lampung, 30 Juli 2020

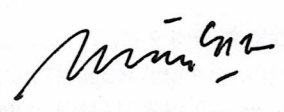
I. PIHAK PERTAMA.

Ketua LPPM
Universitas Lampung,


Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A.
NIDN 0010056505

II. PIHAK KEDUA.

Ketua Peneliti/
Penanggung Jawab Kegiatan


Maria Erna K., M.Sc. Ph.D.
NIDN 0029116102