

PENGARUH PROSES AUTOKLAF DALAM PEMBUATAN BUBUK UDANG WINDU (*Penaeus monodon*) DAN PUFFING SNACK HIPOALERGENIK

Nur Lili Nia Wulan¹, Nurheni Sri Palupi^{1,2*}, Feri Kusnandar^{1,2}, Nur Wulandari^{1,2}

¹Program Studi Ilmu Pangan, Sekolah Pascasarjana IPB University

Jalan Raya Darmaga, Gedung Sekolah Pascasarjana IPB, Kampus IPB Darmaga Bogor, Indonesia 16680

²Southeast Asian Food and Agricultural Science and Technology (SEAFAST) Center,

Jalan Ulin No. 1 Gedung SEAFAST Center, Kampus IPB Darmaga, Bogor, Indonesia 16680

Diterima: 4 Oktober 2023/Disetujui: 16 Januari 2024

*Korespondensi: hnpalupi@apps.ipb.ac.id

Cara sitasi (APA Style 7th): Wulan, N. L. N., Palupi, N. S., Kusnandar, F., & Wulandari, N. (2024). Pengaruh proses autoklaf dalam pembuatan bubuk udang windu (*Penaeus monodon*) dan *puffing snack* hipoalergenik. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 27(2), 142-158. <http://dx.doi.org/10.17844/jphpi.v27i2.50620>

Abstrak

Udang merupakan hasil perairan yang termasuk jenis krustasea. Kandungan protein alergen, terutama tropomiosin menjadikan udang penyebab alergi pangan utama di antara krustasea. Udang dapat diolah menjadi produk intermediat berupa bubuk udang yang digunakan sebagai bahan tambahan pembuatan olahan siap santap untuk memberikan cita rasa khas udang. Komponen bahan pangan selama pengolahan dapat mengalami modifikasi yang berpotensi menyebabkan perubahan alergenitas. Tujuan penelitian ini untuk mengevaluasi pengaruh perlakuan waktu pemanasan dengan autoklaf terhadap komposisi kimia, protein terlarut, profil bobot molekul protein, pita protein alergen, tingkat alergenitas, serta mengkaji aplikasi bubuk udang yang dihasilkan pada produk *puffing snack* hipoalergenik. Proses pembuatan bubuk udang dilakukan dengan pemanasan autoklaf selama 5, 10, 15 menit dan tanpa autoklaf, serta udang mentah sebagai kontrol. Bubuk udang terbaik diaplikasikan pada pembuatan *puffing snack* hipoalergenik. Pengujian sampel meliputi kadar protein terlarut metode Bradford, analisis bobot molekul elektroforesis SDS-PAGE, analisis pita protein alergen metode *immunoblotting* dan tingkat alergenitas menggunakan ELISA-kit Crustacea. Hasil penelitian menunjukkan bahwa variasi waktu autoklaf berpengaruh terhadap komposisi kimia, protein terlarut, bobot molekul protein, pita alergen, dan kadar alergenitas bubuk udang yang dihasilkan. Bubuk udang terbaik dengan penurunan alergenitas optimal adalah bubuk udang dengan waktu autoklaf selama 5 menit dengan kadar alergen, yaitu 7,84 (mg/g protein). Tingkat alergenitas udang mentah menurun hingga 98% setelah diolah menjadi bubuk udang dengan perlakuan autoklaf. *Puffing snack* yang ditambahkan bubuk udang dengan perlakuan autoklaf 5 menit mengalami penurunan kadar alergen hingga 99%. Pembuatan bubuk udang dengan pemanasan autoklaf selama 5 menit dan aplikasinya pada *puffing snack* mampu menurunkan alergenitasnya.

Kata kunci: autoklaf, bubuk udang, hipoalergenik, *puffing snack*, tropomiosin

Autoclave Process Contribution to the Production of Black Tiger Shrimp Powder (*Penaeus monodon*) and Hypoallergenic Puffing Snacks

Abstract

Shrimp, a seafood item belonging to the crustacean family, is a leading cause of food allergies owing to its high concentration of allergenic proteins, particularly tropomyosin. Shrimp may be processed into an intermediate product in the form of shrimp powder, which serves as an additional ingredient in ready-to-eat preparations, imparting a unique shrimp flavor. In the course of processing, food constituents can experience transformations that may lead to alterations in allergenicity. The objective of this study was to assess the effect of autoclave heating on the chemical composition, dissolved protein, protein molecular weight profile, allergenic protein bands, and allergenicity level of shrimp powder, and to explore the feasibility of using this powder in hypoallergenic puffing snack products. Shrimp powder was prepared through a series of autoclaving trials with durations of 5, 10, and 15 min, in addition to a control group

consisting of untreated raw shrimp, which was subsequently utilized to create hypoallergenic puffed snacks. The testing conducted comprised of measurements for dissolved protein levels through the use of the Bradford method, molecular weight analysis through SDS-PAGE electrophoresis, examination of allergenic protein bands via immunoblotting, and assessment of allergenicity levels with the help of a crustacea ELISA kit. This study revealed that altering the autoclaving time had a significant impact on the chemical makeup of shrimp powder, including the dissolved protein and protein molecular weight, as well as the presence of allergen bands and allergenicity. The optimal shrimp powder in terms of reducing allergenicity is the variant that has been treated with an autoclave for 5 minutes and has an allergen content of 7.84 milligrams per gram of protein. This is the most effective option for reducing the risk of allergic reactions in shrimp sensitive individuals. The processing of raw shrimp into shrimp powder using autoclave treatment resulted in a significant reduction in allergenicity, from 98% to an undisclosed level. The incorporation of shrimp powder in puffed snacks, subjected to autoclave treatment for a period of 5 min, demonstrated a significant reduction in allergen levels, reaching up to 99%. The application of shrimp powder derived from heating in an autoclave for 5 min to puffing snacks has been shown to effectively decrease the allergenicity of snacks.

Keywords: autoclave, hypoallergenic, puffing snack, shrimp powder, tropomyosin

PENDAHULUAN

Udang merupakan salah satu sumber protein pangan yang penting untuk memenuhi kebutuhan tubuh. Total produksi udang windu dan vanamei di Indonesia berdasarkan data Kementerian Kelautan dan Perikanan Tahun 2018, yaitu 886.520 ton/tahun (Kementerian Kelautan dan Perikanan [KKP], 2019). Kontribusi volume dan nilai ekspor komoditas udang pada triwulan IV tahun 2022 sebesar USD 504,63 juta (30,96 persen terhadap nilai ekspor total) (Kementerian Kelautan dan Perikanan [KKP], 2022).

Alergi terhadap kerang-kerangan (*shellfish*) tercatat diderita 2% dari jumlah penduduk dunia (Lee *et al.*, 2012). Data prevalensi alergi pangan di Indonesia masih terbatas, beberapa data alergi pangan yang diperoleh dari Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo (RSCM) Jakarta pada tahun 2007 menunjukkan bahwa dari 208 orang yang berkunjung ke Poli Alergi Imunologi RSCM, terdapat 102 orang (49%) menderita alergi pangan dengan udang merupakan jenis pangan yang paling banyak menyebabkan alergi pada penderita anak-anak (8,8%) dan orang dewasa (24,3%) (Candra *et al.*, 2011). Alergen dari udang yang telah ditemukan dan menjadi kontributor utama penyebab alergi, yaitu tropomiosin (TM), arginin kinase (AK), *sarcoplasmic calcium-binding protein* (SCP), dan *myosin light chain* (MLC) (Margaret *et al.*, 2015).

Tingginya permintaan konsumen terhadap pangan dengan variasi rasa dan didukung dengan inovasi produk pangan

menyebabkan munculnya berbagai macam hasil olahan pangan dengan berbagai rasa. Bubuk udang merupakan salah satu bahan pangan yang dapat meningkatkan cita rasa udang pada berbagai produk pangan. Bubuk udang dapat meningkatkan preferensi konsumen untuk makanan ringan ekstrusi yang sehat (da Costa *et al.*, 2019).

Komponen kimia yang terdapat pada saat bahan pangan dipanaskan dapat mengalami transformasi yang secara langsung berpengaruh terhadap perubahan tingkat alergenisitasnya, terutama untuk alergen tertentu yang bersifat labil terhadap proses pemanasan (Ali & Rosmilah, 2019). Proses pengolahan dengan pemanasan basah dapat menurunkan alergenisitas produk kerang-kerangan (Alia *et al.*, 2023). Arwani *et al.* (2022) melaporkan bahwa pada pengolahan udang vanamei, kepiting bakau, kerang hijau, dan cumi-cumi menunjukkan bahwa proses pemasakan menggunakan autoklaf selama 10 menit mampu mereduksi pita protein pada rentang berat molekul 10-260 kDa. Hasil uji reaktivitas IgE menunjukkan bahwa proses pengolahan autoklaf menurunkan alergenisitas udang vanamei secara signifikan.

Pengolahan udang mentah menjadi bubuk udang dapat dilakukan melalui beberapa tahapan proses. Fernandes *et al.* (2013) melaporkan tahapan pembuatan bubuk udang, yaitu proses pencucian, perebusan, pengeringan, penggilingan, dan pengayakan dengan ayakan 60 mesh (Sulistiyono *et al.*, 2017). Proses perebusan pada tahap pembuatan bubuk udang ini

dapat dimodifikasi dengan pemanasan menggunakan autoklaf selama waktu tertentu yang diharapkan dapat menurunkan sifat alergenisitas dari bubuk udang yang dihasilkan.

Bubuk udang dapat digunakan sebagai bahan dalam pengolahan produk pangan siap masak atau siap santap di antaranya produk *puffing snack*. Tujuan penelitian ini untuk mengevaluasi pengaruh perlakuan waktu pemanasan dengan autoklaf terhadap komposisi kimia, profil bobot molekul protein, pita protein alergen bubuk udang, tingkat alergenisitas, serta mengkaji aplikasi bubuk udang yang dihasilkan pada produk *puffing snack* hipoalergenik.

BAHAN DAN METODE

Persiapan Bahan Baku

Bahan baku yang digunakan untuk pembuatan bubuk udang, yaitu udang windu (*Penaeus monodon*) yang diperoleh dari sentra Pengolahan Hasil Perikanan Tradisional (PHPT), Muara Angke, Jakarta Utara. Udang diambil dalam keadaan segar, disimpan, dan ditransportasikan dalam es menggunakan *cooler box* dengan suhu sekitar 0-10°C. Bahan baku untuk pembuatan *puffing snack*, yaitu *grits* jagung (jagung giling) dan tepung beras yang diperoleh melalui lokapasar (*marketplace*) secara daring.

Pembuatan Bubuk Udang dengan Pemanasan Autoklaf

Udang utuh mentah 500 g digunakan untuk menghasilkan bubuk udang pada masing-masing perlakuan. Udang mentah dicuci dengan air bersih untuk menghilangkan kotoran. Udang tanpa perlakuan autoklaf dikecilkan ukurannya menjadi sekitar ± 1 cm dan kemudian dikeringkan menggunakan pengering lapik-teralir (*fluidized-bed dryer*) pada suhu 45°C selama 4-5 jam. (Tirawanichakul *et al.*, 2008). Udang dengan perlakuan autoklaf dikemas dalam *retort pouch* berukuran 13×19 cm dengan berat sekitar 60-70 g per kemasan. Setiap kemasan diisi dengan air dalam perbandingan 1:1 antara udang dan air, dimasak di dalam autoklaf *presoclave* III plus 80 L+ pada suhu 121°C dan tekanan 0,15 Mpa. Variasi pada waktu *holding*, yaitu 5, 10,

dan 15 menit. Udang ditiriskan dan dilakukan pengecilan ukuran sebelum dikeringkan (Long *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2018; Mohan *et al.*, 2008). Udang digiling menggunakan *miller* FCT-Z500 kapasitas 0,5 kg pada kecepatan 28.000 rpm selama 30 detik. Bubuk udang diayak menggunakan ayakan berukuran 60 mesh (Sulistiyono *et al.*, 2017).

Pembuatan *Puffing Snack* Udang Hipoalergenik

Pembuatan *puffing snack* yang ditambahkan dengan bubuk udang diformulasikan berdasarkan penelitian Suryanti *et al.* (2018) yang telah dimodifikasi. *Puffing snack* yang diproduksi dalam penelitian ini, yaitu perlakuan bubuk udang tanpa autoklaf dan perlakuan terbaik dengan autoklaf berdasarkan tingkat penurunan alergenisitas optimal. Bahan yang terdiri dari *grits* jagung (67%), tepung beras (25%), bubuk udang (5%), minyak goreng (3%), dengan total berat bahan utama 2 kg dicampur menggunakan *horizontal mixer* selama 15 menit. Garam dapur 30 g ditambahkan ke dalam campuran hingga semua bahan homogen. Mesin *twin extruder collet* diatur suhunya hingga mencapai 160°C. Motor yang menggerakkan ulir dan motor penggerak *cutter* dihidupkan dan bahan dimasukkan perlahan-lahan. Produk yang dihasilkan ditampung dan dikemas dengan plastik PE bening 60×100 cm.

Proses Penghilangan Lemak (*Defatting*)

Proses penghilangan lemak mengacu pada metode Rosset *et al.* (2012) yang dimodifikasi pada perbandingan pelarut. Bubuk udang dan *puffing snack* yang telah dihaluskan disiapkan. Sampel ditambahkan pelarut heksana teknis dengan perbandingan 1:3 (b/v) untuk bubuk udang dan perbandingan 1:8 (b/v) untuk *puffing snack* yang diaduk menggunakan pengaduk magnet selama 1 jam pada suhu 25°C. Campuran dipisahkan menggunakan corong Buchner yang dilapisi kertas saring whatman 1 dengan diameter 9 cm, sehingga diperoleh padatan dan cairan. Proses dilakukan dua kali dengan tahap yang sama. Padatan yang diperoleh dikeringkan

menggunakan oven pada suhu 50°C selama 2 jam.

Ekstraksi Sampel

Ekstraksi protein sampel dilakukan mengacu pada metode Abramovitch *et al.* (2017) yang dimodifikasi pada kecepatan dan waktu sentrifugasi. Padatan dari udang mentah, bubuk udang, dan *puffing snack* yang telah dihilangkan lemaknya ditambahkan *phosphate-buffered saline* (PBS) pH 7,2 dengan perbandingan 1:10 lalu di-vortex dan didiamkan selama 24 jam pada suhu 4°C. Larutan disentrifugasi selama 30 menit pada kecepatan 12.298 g dengan suhu 4°C. Supernatan disaring dan dialikuot sebelum disimpan pada suhu -20°C.

Perhitungan Susut Masak dan Rendemen (Wang *et al.*, 2018)

Susut masak udang yang telah diautoklaf diperoleh dari perhitungan berat awal udang (W_0) dikurangi berat akhir setelah dimasak (W_f) kemudian dibagi dengan berat awal udang (W_0) lalu dikali 100%. Perhitungan susut masak dapat dilihat di bawah ini :

$$\text{Susut masak} = \frac{W_0 - W_f}{W_0} \times 100\%$$

Rendemen bubuk udang diperoleh dari perbandingan berat akhir (bubuk udang) dengan berat awal bahan baku (udang mentah) yang dikali 100%.

$$\text{Rendemen bubuk udang} = \frac{\text{Berat akhir (g)}}{\text{Berat awal (g)}} \times 100\%$$

Analisis Proksimat (AOAC, 2012)

Analisis kadar air dilakukan menggunakan metode AOAC 925.09, yaitu pengeringan oven pada suhu 104°C. Analisis kadar abu dilakukan menggunakan AOAC 942.05 dengan metode gravimetri teknik pengabuan kering pada suhu 500°C. Analisis kadar protein dilakukan menggunakan AOAC 984.13 dengan metode Kjeldahl melalui tahapan dekstruksi, destilasi, dan titrasi. Analisis kadar lemak dilakukan menggunakan metode soxhlet. Perhitungan kadar karbohidrat dilakukan menggunakan metode *by difference*.

Analisis Protein Terlarut (Bradford, 1976)

Larutan ekstrak protein sebanyak 5 µL dimasukkan ke dalam *microplate*, ditambahkan pereaksi Bradford sebanyak 250 µL, dan diinkubasi selama 5 menit pada tempat gelap. Absorbansi larutan diukur menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang (λ) 595 nm. *Bovine serum albumin* (BSA) digunakan sebagai standar protein. Kadar protein terlarut dinyatakan dalam mg/g sampel.

Pengujian Bobot Molekul Protein (Laemmli, 1970)

Pengujian profil bobot molekul protein dilakukan menggunakan elektroforesis SDS-PAGE. Analisis protein dengan berat molekul besar dilakukan dengan konsentrasi *stacking gel* 5% dan konsentrasi *separating gel* 12%. Gel yang digunakan untuk protein target dengan bobot molekul rendah <10 kDa adalah dengan meningkatkan konsentrasi *separating gel* menjadi 18% dan menggunakan *running buffer* tris-tricin. Persiapan sampel dilakukan dengan cara mereaksikan sampel dan bufer sampel yang telah ditambahkan β -*mercaptoetanol* dengan rasio 1:1. Larutan sampel dipanaskan selama 5 menit pada suhu 95-100°C. Sampel diinjeksikan ke dalam sumur 15 µL. Protein marker diinjeksikan ke dalam salah satu sumur 10 µL. Katup elektroda dipasang dengan arus mengalir ke anoda dan dijaga konstan pada 100 V. *Running* dilakukan selama 90 menit sampai migrasi *dye* tersisa sekitar 0,5 cm dari dasar. Gel diangkat dari *slab* secara perlahan-lahan dan dipindahkan ke dalam wadah tertutup yang telah berisi *staining solution* (*coomassie brilliant blue G-250* dalam 50% TCA) sebanyak 20 mL. Wadah digoyang-goyangkan selama 15-20 menit. Setelah proses pewarnaan selesai, gel diangkat dan dicuci menggunakan *destaining solution*. Berat molekul (BM) protein ditentukan menggunakan Gel Analyzer 19.1 tahun 2019 dan dinyatakan dalam satuan kDa. Intensitas pita protein dihitung dengan mengukur luas area di bawah kurva yang dihasilkan dari perangkat lunak gel analisis sebagai berikut:

$$\text{Intensitas pita protein} \left[\frac{\text{area}}{\mu\text{g}} \right] \text{ per } \mu\text{L sampel} = \frac{A}{B}$$

Keterangan:

A=area di bawah kurva

B=area di bawah kurva/konsentrasi protein (μg)

Pengujian Pita Alergen (Kamath *et al.*, 2013)

Pengujian pita alergen dilakukan dengan *immunoblotting analysis*. Gel hasil elektroforesis yang tidak diwarnai ditransfer ke membran *polyvinylidene fluoride* (PVDF). Gel dan membran PVDF disusun dalam alat transblotting, dan diisi dengan bufer transfer. Proses *blotting* dilakukan pada voltase 100 V selama 60 menit. Membran dilepas dari rangkaian alat dan direndam dalam larutan *blocking* dengan 5% (b/v) susu bubuk skim dalam *phosphate buffered saline with Tween20* (PBST) selama 1 jam pada suhu kamar. Membran dicuci dengan PBST 3 kali, masing-masing selama 5 menit dan diinkubasi dengan *monoclonal anti-tropomyosin antibody produced in mouse* yang diencerkan 1:6.000 dalam 1% susu bubuk skim, PBST dan anti-mouse IgG (*whole molecule*)-*Peroxidase antibody produced in rabbit* diencerkan dalam 1:40.000 dan diinkubasi selama 1 jam sambil digoyang. Membran dicuci kembali dengan PBST tiga kali masing-masing selama 5 menit. Membran divisualisasikan menggunakan substrat kromogenik. Membran direndam dalam *developing solution* (20 mL 0,05 M Tris-HCl, pH 6,8; 7 μL H_2O_2 30% (v/v); 5 mL 4-*Chloro-1-naphthol* 0,3% (b/v) dalam metanol) sampai 30 menit. Reaksi dihentikan dengan cara membran dicuci menggunakan akuabides. Membran dikeringkan di udara dan difoto sesegera mungkin ketika muncul pita pada membran.

Pengujian Alergenitas (Abbott *et al.*, 2010)

Pengujian alergenitas dilakukan menggunakan *Crustacean Protein* ELISA Kit metode *sandwich* ELISA dengan antibodi anti-krustasea yang telah diadsorpsi ke permukaan sumur mikrotiter polistirena. Larutan standar 100 μL dan sampel 100 μL yang telah diekstraksi menggunakan bufer ekstraksi dimasukkan ke dalam sumur ELISA, sampel diinkubasi pada alat kocok edar 400 rpm pada suhu ruang (20-25°C) selama 30 \pm 2 menit. Sumur ditutup

selama tahap ini untuk mencegah penguapan. Sumur dicuci 4 kali dengan larutan *washing buffer* (WB) yang telah diencerkan hingga 20 kali. Tepuk pelan sumur di atas kertas penyerap/tisu untuk menghilangkan sisa larutan pencuci. Larutan konjugasi HRP (*Horseradish peroxidase*) krustasea 100 μL dari ELISA kit yang digunakan diencerkan hingga 10 kali dan ditambahkan ke setiap sumur dan diinkubasi di alat kocok edar pada 400 rpm pada suhu ruang selama 10 \pm 2 menit. *Plate* harus tertutup kondisi gelap. Sumur dicuci kembali dan diulang sampai total empat kali pencucian. Larutan substrat kromogenik (TMB) sebanyak 100 μL ditambahkan ke dalam masing-masing sumur, dan diinkubasi pada alat kocok edar pada 400 rpm pada suhu ruang selama 10 \pm 2 menit. Sumur harus tertutup dalam kondisi gelap. *Stop solution* sebanyak 100 μL ditambahkan untuk setiap sumur dan diukur absorbansi pada 450 nm selama maksimal waktu 30 menit. Kadar alergen dinyatakan dalam satuan (mg/g sampel) dan (mg/g protein).

Analisis Data

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan dua kali ulangan perlakuan (pembuatan bubuk udang dan pembuatan *puffing snack*) dan dua kali ulangan analisis sampel (duplo). Analisis data menggunakan MS Excel 365 dan *one way ANOVA (analysis of variance)* dan diolah dengan perangkat lunak SPSS 25.0 (*Statistical Product and Service Solutions*) untuk mengetahui adanya perbedaan perlakuan yang signifikan terhadap hasil penelitian. Semua data disajikan dalam bentuk rata-rata \pm standar deviasi. Perlakuan yang menunjukkan perbedaan yang signifikan dianalisis lanjut menggunakan Duncan (*Duncan's Multiple Range Test-DMRT*) untuk mengetahui perlakuan yang berbeda nyata pada taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN **Rendemen dan Susut Masak**

Susut masak udang makin meningkat seiring dengan meningkatnya waktu autoklaf, yaitu 5, 10, dan 15 menit ($p < 0,05$) berkisar antara 21,01–25,22%. Susut masak dari setiap perlakuan pemanasan pada pembuatan bubuk

udang menunjukkan hasil yang berbeda nyata antar masing-masing perlakuan. Susut masak terendah pada udang dengan perlakuan autoklaf selama 5 menit, yaitu 21,01%, sedangkan yang tertinggi pada perlakuan autoklaf selama 15 menit, yaitu 25,22%. Susut masak dan rendemen dalam pembuatan bubuk udang selengkapnya disajikan pada *Table 1*.

Rendemen bubuk udang yang dihasilkan dipengaruhi oleh peningkatan dari susut masak udang setelah diberikan perlakuan variasi waktu autoklaf. Susut masak udang dan jumlah rendemen bubuk udang yang dihasilkan menunjukkan hasil yang berbanding terbalik. Makin lama waktu autoklaf menunjukkan penurunan rendemen bubuk udang yang diperoleh. Rendemen bubuk udang yang dihasilkan, yaitu 17,40-20,63%. Jumlah rendemen tertinggi dihasilkan pada udang yang tidak mengalami autoklaf, yaitu 20,63% dan terendah pada udang yang mengalami autoklaf selama 15 menit sebesar 17,40%. Susut masak dan rendemen pada proses pengolahan bahan pangan berkaitan dengan berkurangnya kadar air pada bahan sebagai akibat adanya peningkatan suhu saat proses pemasakan, sehingga susut masak terutama diakibatkan karena kehilangan kandungan air bahan (Benjakul *et al.*, 2008).

Komposisi Kimia

Komposisi kimia udang mentah, bubuk udang, dan *puffing snack* yang dihasilkan dapat dilihat pada *Table 2*. Perbedaan waktu autoklaf pada pembuatan bubuk udang menunjukkan hasil yang berbeda nyata dari kadar air, lemak, protein, dan karbohidrat, namun tidak berbeda nyata pada kadar abu

dari bubuk udang yang dihasilkan. Kadar air udang windu mentah, yaitu 78,33% (bb) dan kadar air dari bubuk udang windu dengan perlakuan waktu autoklaf mengalami penurunan dengan semakin lamanya waktu autoklaf, yaitu 6,78-8,34%. Denaturasi protein menyebabkan lebih sedikit air yang terperangkap dalam struktur protein yang ditahan oleh gaya kapiler. Jumlah protein terdenaturasi tidak hanya bergantung pada suhu inti tetapi juga pada waktu pemasakan (Aaslyng *et al.*, 2003). Kadar abu pada udang windu mentah berbeda nyata dengan bubuk udang pada semua perlakuan, yaitu 15,83%. Kadar abu bubuk udang windu memiliki hasil yang tidak berbeda nyata pada semua perlakuan yaitu berkisar antara 14,57-14,88%. Kadar lemak pada udang windu mentah lebih rendah dibandingkan dengan bubuk udang yang dihasilkan. Kadar lemak pada udang windu mentah 1,46% (bk) sedangkan pada bubuk udang yang dihasilkan berkisar antara 2,23-3,02% (bk).

Kadar protein udang windu mentah, yaitu 69,76% dan bubuk udang windu, yaitu 69,25-71,39%. Protein ditemukan sebagai konstituen utama pada udang mentah dan pada bubuk udang yang dihasilkan. Hal ini menunjukkan bahwa bubuk udang dapat menjadi sumber asam amino yang baik. Proses pengolahan yang melibatkan suhu tinggi akan menyebabkan denaturasi protein. Penurunan kadar protein terjadi pada bubuk udang windu seiring dengan semakin lamanya waktu autoklaf yang dilakukan. Hal ini disebabkan oleh terjadinya dekomposisi termal pada makromolekul sampel ketika dipanaskan. Dekomposisi termal pada protein dapat menyebabkan terlepasnya NH_3

Table 1 Cooking loss and yield value of shrimp powder after autoclaving process

Tabel 1 Susut masak udang dan rendemen bubuk udang setelah proses autoklaf

Treatment	Cooking loss (%)	Yield (%)
Without autoclaving	0.00±0.00 ^a	20.63±0.21 ^c
Autoclaving 5 min	21.01±0.71 ^b	18.93±0.16 ^b
Autoclaving 10 min	23.34±0.57 ^c	18.66±0.18 ^b
Autoclaving 15 min	25.22±0.28 ^d	17.40±0.20 ^a

The difference letters in the same column in each sample shows a significant difference $p < 0.05$

Table 2 Chemical composition of raw shrimp, shrimp powder and puffing snack
Tabel 2 Komposisi kimia udang mentah, bubuk udang, dan *puffing snack*

Treatment	Moisture	Ash (db)	Fat (db)	Protein (db)	Carbohydrate (db)
Raw shrimp	78.33±0.10 ^d	15.83±0.68 ^b	1.46±0.52 ^a	69.76±0.62 ^a	12.96±1.76 ^{ab}
Shrimp powder					
Without autoclaving	8.34±0.31 ^c	14.88±0.11 ^a	2.23±0.11 ^b	71.39±0.55 ^b	11.52±0.53 ^a
Autoclaving 5 min.	8.29±0.13 ^c	14.83±0.08 ^a	2.67±0.12 ^c	70.88±0.26 ^b	11.63±0.39 ^a
Autoclaving 10 min.	7.12±0.09 ^b	14.68±0.25 ^a	3.02±0.10 ^c	69.80±0.08 ^a	12.51±0.22 ^{ab}
Autoclaving 15 min.	6.78±0.31 ^a	14.57±0.12 ^a	2.85±0.15 ^c	69.25±0.63 ^a	13.34±0.57 ^b
Puffing snack					
Without autoclaving	5.38±0.07 ^b	2.68±0.07 ^b	1.78±0.06 ^a	13.95±0.12 ^b	81.61±0.19 ^a
Autoclaving 5 min.	4.84±0.08 ^a	2.42±0.07 ^a	1.61±0.08 ^a	11.78±0.13 ^a	84.21±0.10 ^b

The difference letters in the same sample group column in each sample shows a significant difference at $p < 0.05$

dan beberapa amida dan amina (Qiao *et al.*, 2019). Udang windu mentah memiliki kadar karbohidrat 12,96% (bk) dan bubuk udang yang dihasilkan memiliki kadar karbohidrat, yaitu 11,52-13,34% (bk).

Hasil analisis proksimat pada *puffing snack* dengan penambahan bubuk udang tanpa autoklaf dan dengan bubuk udang dengan perlakuan autoklaf selama 5 menit menunjukkan perbedaan yang nyata pada kadar air, abu, protein, dan karbohidrat namun memiliki hasil yang tidak berbeda nyata pada kadar lemak yang dihasilkan. Kadar air pada produk *puffing snack* yang ditambahkan bubuk udang tanpa perlakuan autoklaf 5,38% dan *puffing snack* dengan bubuk udang yang diautoklaf selama 5 menit 4,84%. *Puffing snack* tanpa perlakuan autoklaf memiliki kadar abu 2,68% (bk), lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan autoklaf selama 5 menit yaitu 2,42% (bk). Kadar lemak pada produk *puffing snack* tanpa perlakuan autoklaf 1,78% (bk) dan autoklaf selama 5 menit 1,61% (bk). Kadar protein pada *puffing snack* tanpa autoklaf 13,95% dan diautoklaf selama 5 menit 11,78%. Hal ini menunjukkan bahwa bubuk udang dapat menjadi sumber asam amino yang baik.

Puffing snack yang dihasilkan memiliki kadar karbohidrat yang berbeda nyata pada *puffing snack* tanpa autoklaf 81,61% (bk) dan diautoklaf selama 5 menit 84,21% (bk). *Puffing snack* memiliki kadar karbohidrat yang lebih tinggi karena bahan baku pembuatannya

menggunakan *grits* jagung dan tepung beras yang merupakan sumber karbohidrat yang tinggi. Topuz *et al.* (2017) melaporkan bahwa karbohidrat merupakan kandungan tertinggi pada *puffing snack* yang dihasilkan.

Kadar Protein Terlarut

Data kadar protein terlarut ekstrak protein udang mentah, bubuk udang, dan *puffing snack* dapat dilihat pada *Table 3*. Kadar protein terlarut dari ekstrak protein menunjukkan jumlah protein terlarut yang diperoleh setelah melalui proses ekstraksi protein yang dapat memisahkan protein terlarut pada sampel dengan komponen lainnya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar protein terlarut dari udang windu mentah 201,62 (mg/g) (bk) sedangkan pada bubuk udang berkisar antara 57,29-94,32 (mg/g) (bk). Terjadi penurunan kadar protein terlarut dari udang mentah menjadi bubuk udang windu. Kadar protein terlarut pada bubuk udang dengan perlakuan autoklaf pada variasi waktu yang berbeda memiliki hasil yang berbeda nyata pada semua perlakuan.

Bubuk udang windu tanpa perlakuan autoklaf dan yang diberikan perlakuan autoklaf selama 5 dan 10 menit mengalami penurunan yang signifikan. Protein terlarut dari udang yang hilang secara signifikan dapat dikaitkan dengan denaturasi dan agregasi protein pada otot udang karena interaksi intra dan antar molekul protein dalam matriks

Table 3 Soluble protein concentration of raw shrimp, shrimp powder and puffing snack
Tabel 3 Kadar protein terlarut udang segar, bubuk udang, dan *puffing snack*

Treatment	Soluble protein concentration (mg/g sample) (db)
Raw Shrimp	201.62±2.92 ^e
Shrimp powder (SP)	
Without autoclaving	94.32±0.97 ^d
Autoclaving 5 min.	71.85±0.60 ^b
Autoclaving 10 min.	57.29±0.56 ^a
Autoclaving 15 min.	82.13±0.50 ^c
Puffing snack	
SP without autoclaving	3.13±0.13 ^b
SP autoclaving 5 min.	1.93±0.10 ^a

The difference letters in the same sample group column in each sample shows a significant difference at $p < 0.05$

pangan kompleks selama perlakuan panas (Ekezie *et al.*, 2018; Kamath *et al.*, 2013). Denaturasi terjadi karena ikatan hidrogen pada protein akan mengalami kerusakan ketika terpapar oleh panas atau terekspos oleh asam. Rusaknya ikatan ini akan menyebabkan struktur sekunder, tersier, dan kuartener protein akan terlepas dan menyebabkan bentuk *folding* protein menjadi bentuk *unfold* (Cooper, 2000).

Perlakuan autoklaf selama 15 menit menunjukkan kadar protein terlarut kembali mengalami peningkatan. Hal ini diduga karena proses pembuatan bubuk udang dengan pemanasan yang disertai dengan tekanan dapat mengubah struktur sekunder protein miofibril. Struktur α -helix protein dapat mengalami penurunan pada ambang batas tekanan tertentu yang berkaitan erat dengan lingkungan dan sumber proteinnya (Zhang *et al.*, 2017). Proses pemanasan disertai dengan tekanan menyebabkan protein mengalami fragmentasi yang berpengaruh terhadap struktur protein karena tekanan dapat mengakibatkan pengurangan, peningkatan atau retensi konformasi struktur sekunder (Liu *et al.*, 2021). Produk olahan *puffing snack* yang dihasilkan menunjukkan kadar protein terlarut yang berbeda nyata baik pada *puffing snack* tanpa perlakuan autoklaf 3,13% dan diautoklaf selama 5 menit 1,93%.

Profil Berat Molekul Besar

Profil protein penyusun ekstrak udang windu mentah dan produk hasil olahannya dapat dilihat pada *Figure 1*. Tropomiosin dengan bobot molekul, yaitu 34-38 kDa dianggap sebagai alergen utama untuk udang dan krustasea lainnya. Alergen arginine kinase (AK) merupakan alergen minor 40-kDa yang diidentifikasi pada udang windu dan udang pasifik putih (Lee *et al.*, 2012). Ayuso *et al.* (2008) menyatakan bahwa adanya pengikatan IgE pada protein 20-kDa dari udang pasifik putih (*Litopenaeus vannamei*) dan berhasil melakukan identifikasi dan kloning alergen udang utama baru yang diidentifikasi sebagai *myosin light chain* (MLC) dan *sarcoplasmic calcium-binding protein* (SCP).

Pita protein sebagian menghilang dari bubuk udang windu sebagai pengaruh dari proses pemanasan dengan autoklaf, hanya terdapat dua protein utama pada berat molekul 33 kDa dan 18 kDa yang muncul pada profil gel SDS-PAGE ekstrak bubuk udang. Ekstrak udang windu mentah memiliki 15 pita protein yang terdeteksi pada gel, 8 pita protein pada bubuk udang windu tanpa autoklaf dan 2 pita protein pada bubuk udang dengan perlakuan autoklaf selama 5, 10, dan 15 menit dengan berat molekul (BM) berada pada rentang 18–105 kDa. *Puffing snack* yang dihasilkan tidak terdapat pita protein yang muncul pada

gel. Berat molekul hasil gel elektroforesis dilakukan pencocokan dengan data alergen dari allergen.org (WHO/UIS 2021) untuk jenis udang windu. Hasil pencocokan menunjukkan bahwa protein alergen mayor pada udang, yaitu tropomiosin dengan berat molekul 34-38 kDa muncul pada ekstrak protein udang windu mentah (Wm) pada pita protein dengan berat molekul 34 kDa (52.566,67/mg protein) dan 37 kDa (6.500,00/mg protein) dan bubuk udang tanpa perlakuan autoklaf (Wta) pada pita protein dengan berat molekul 36 kDa (15.366,67/mg protein) yang ditandai

dengan kotak berwarna hitam (*Figure 1*). Bubuk udang yang melalui proses autoklaf 5, 10, dan 15 menit menunjukkan tidak terdapat pita protein tropomiosin.

Pita protein lain yang diduga sebagai protein alergen pada udang yang terdeteksi pada hasil SDS-PAGE di antaranya adalah arginin kinase pada udang mentah (Wm) dengan berat molekul 40 kDa (6.166,67/mg protein), *Sarcoplasmic calcium-binding protein* pada udang mentah (Wm) dengan berat molekul 24 kDa (3.333,33 /mg protein), dan *fatty acid binding protein* pada udang

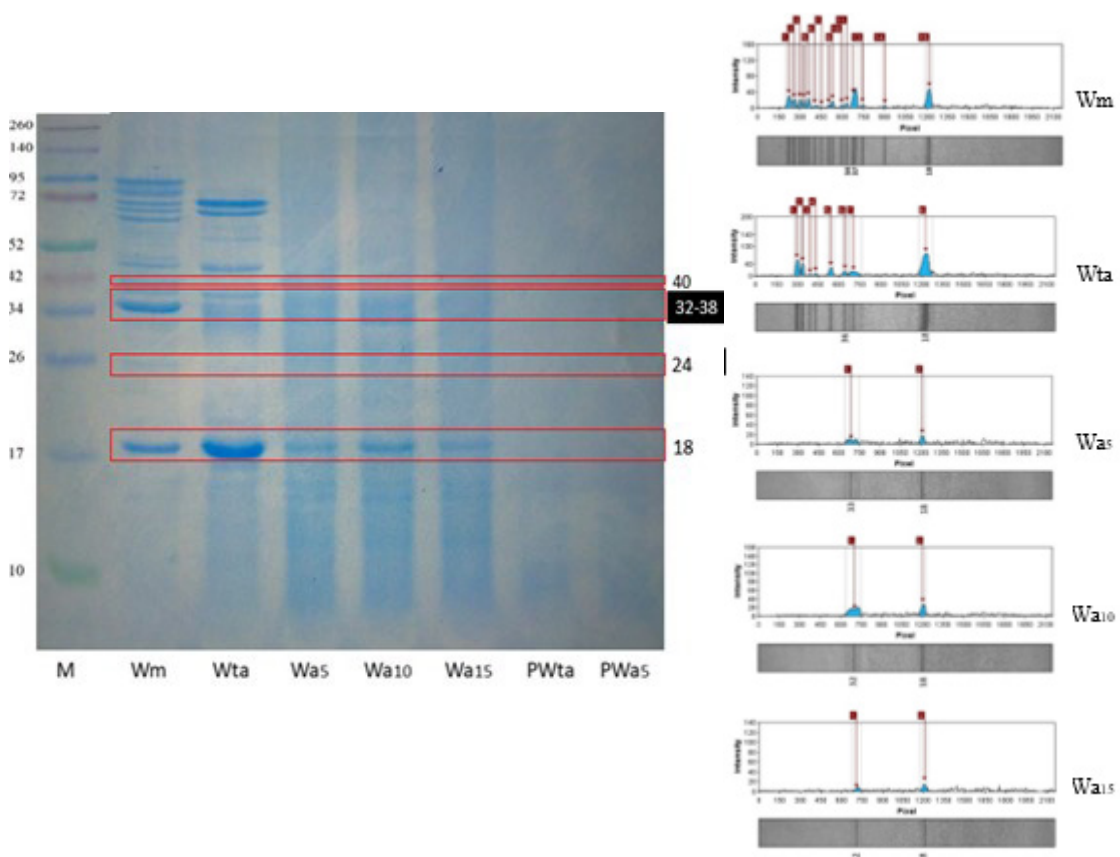


Figure 1 Profile of molecular weight (10–260 kDa) and protein band intensity of raw windu shrimp (Wm), windu shrimp powder without autoclaving (Wta), windu shrimp powder 5 minutes autoclaved (Wa5), 10 minutes autoclaved (Wa10), 15 minutes autoclaved (Wa15), puffing snack without autoclaving (PWta), puffing snack autoclaving 5 minutes (PWa5) and (M) marker. Molecular weight marked with a black square on SDS-PAGE results indicates allergen suspected protein bands

Gambar 1 Profil BM Besar (10–260 kDa) dan intensitas pita protein ekstrak protein udang mentah (Wm), bubuk udang windu tanpa autoklaf (Wta), bubuk udang windu autoklaf 5 menit (Wa5), autoklaf 10 menit (Wa10), autoklaf 15 menit (Wa15), *puffing snack* windu tanpa autoklaf (PWta), *puffing snack* windu autoklaf 5 menit (PWa5), dan (M) *marker*. Angka-angka pada gambar yang ditandai dengan kotak berwarna hitam merupakan pita polipeptida yang diduga sebagai alergen mayor pada udang

mentah (Wm) dengan berat molekul 18 kDa (52.733,33 /mg protein). Berat molekul bubuk udang tanpa perlakuan autoklaf (Wta) 18 kDa (150.633,33/mg protein), bubuk udang dengan perlakuan autoklaf 5 menit (Wa5) 18 kDa (15.133,33 /mg protein), autoklaf 10 menit (Wa10) 18 kDa (29.666,67/mg protein), dan autoklaf 15 menit (Wa15) 18 kDa (15.666,67/mg protein). Liu *et al.* (2018) menyatakan bahwa ekstrak krustasea yang diproses dengan cara direbus, dikukus, dan diolah dengan tekanan tinggi (*Scylla paramamosain*) menunjukkan pita utama mendekati 38 kDa (TM) dan pita minor mendekati 21 kDa (SCP) dapat diamati pada ekstrak supernatan.

Profil Berat Molekul Kecil

Protein dengan bobot molekul besar dapat mengalami perubahan struktur protein apabila mengalami proses pengolahan dengan panas dan dapat berubah menjadi bentuk protein dengan berat molekul yang lebih kecil. Pengujian protein dengan berat molekul kecil menggunakan SDS-PAGE dengan konsentrasi gel yang lebih tinggi untuk memisahkan protein dengan berat molekul yang lebih rendah. Hal ini untuk mengetahui apakah terjadi perubahan berat molekul dari sampel ekstrak protein udang mentah, bubuk udang, dan *puffing snack* dari berat molekul besar menjadi berat molekul yang lebih kecil (<10

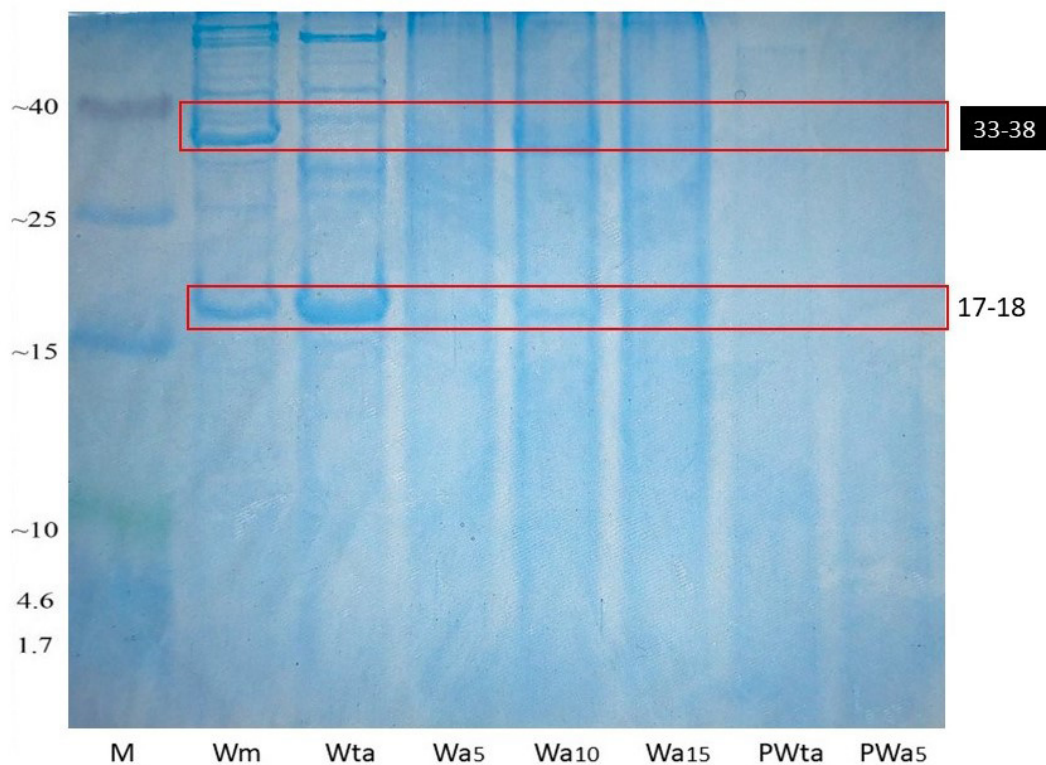


Figure 2 Profile of low molecular weight (1.7–40 kDa) and protein band intensity of raw windu shrimp (Wm), windu shrimp powder without autoclaving (Wta), windu shrimp powder 5 minutes autoclaved (Wa5), 10 minutes autoclaved (Wa10), 15 minutes autoclaved (Wa15), puffing snack without autoclaving (PWta), puffing snack autoclaving 5 minutes (PWa5) and (M) marker. Molecular weight marked with a black square on SDS-PAGE results indicates allergen suspected protein bands

Gambar 2 Profil BM kecil (1,7–40 kDa) ekstrak protein udang windu mentah (Wm), bubuk udang windu tanpa autoklaf (Wta), bubuk udang windu autoklaf 5 menit (Wa5), autoklaf 10 menit (Wa10), autoklaf 15 menit (Wa15), puffing snack windu tanpa autoklaf (PWta), puffing snack windu autoklaf 5 menit (PWa5), dan (M) marker. Angka-angka pada gambar yang ditandai dengan kotak berwarna hitam merupakan pita polipeptida yang diduga sebagai alergen mayor pada udang

kDa). Hasil pengujian menggunakan SDS-PAGE dengan Trisin dapat dilihat pada *Figure 2*. Hasil gel menunjukkan bahwa tidak terdapat pita protein dengan berat molekul kecil (<10 kDa) pada semua sampel ekstrak protein udang mentah, bubuk udang, dan *puffing snack*. Arwani *et al.* (2022) menyatakan bahwa jika dibandingkan dengan proses penggorengan dan perebusan, proses pemanasan dengan autoklaf menghilangkan lebih banyak pita protein. Hilangnya pita protein pada proses autoklaf tidak semata-mata menghilangkan alergenitas dari udang vaname karena pita protein tersebut sangat mungkin tereduksi menjadi ukuran yang lebih kecil dan masih ada epitop yang bersifat reaktif.

Reaktivitas Alergen Udang dengan antibodi IgG

Hasil uji *immunoblotting* terhadap ekstrak protein udang mentah dan ekstrak bubuk udang disajikan pada *Figure 3*. Hasil *immunoblotting* menunjukkan bahwa antibodi yang digunakan memiliki reaktivitas yang tinggi pada antigen sampel udang mentah dan bubuk udang tanpa perlakuan autoklaf yang ditunjukkan dari hasil pita alergen pada membran. Penggunaan antibodi sekunder berupa IgG (*whole molecule*) menyebabkan sensitivitas pada pembacaan pita alergen menjadi meningkat (Thermo Scientific, 2007) goat. Antibodi sekunder dapat mengenali rantai berat dan ringan (*heavy and light chains*) pada antibodi primer sehingga berinteraksi

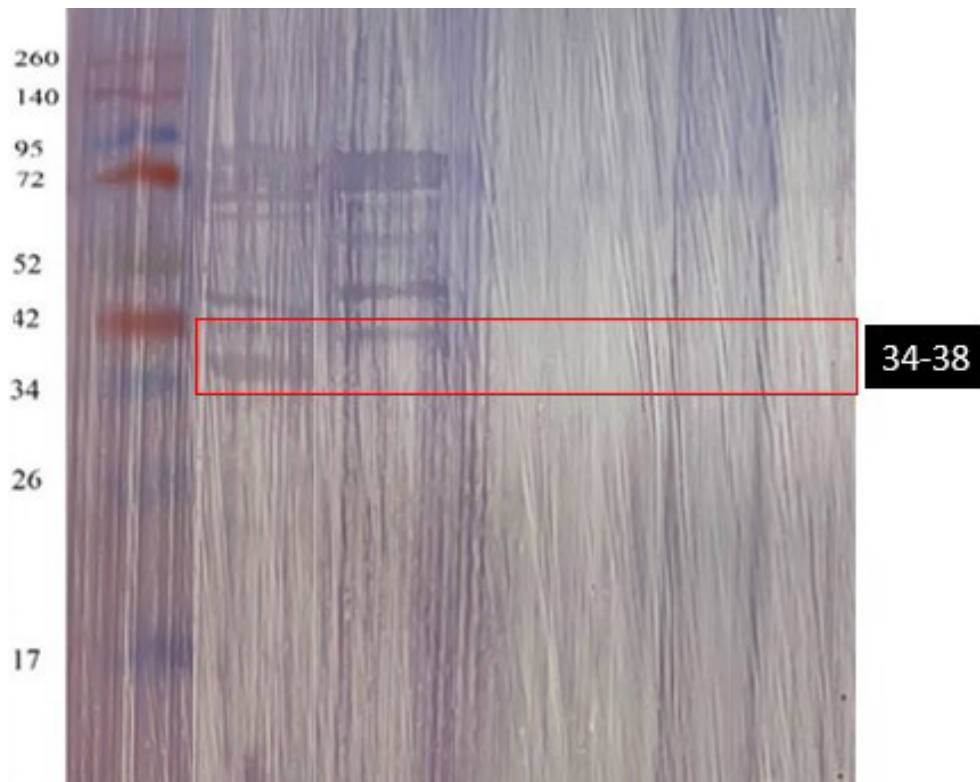


Figure 3 Immunoblotting result of raw windu shrimp (Wm), windu shrimp powder without autoclaving (Wta), windu shrimp powder 5 minutes autoclaved (Wa5), windu shrimp powder 10 minutes autoclaved (Wa10), windu shrimp powder 15 minutes autoclaved (Wa15) and (M) marker . Molecular weight marked with a black square on SDS-PAGE results indicates allergen suspected protein bands

Gambar 3 Profil pita alergen ekstrak protein udang windu mentah (Wm), bubuk udang windu tanpa autoklaf (Wta), bubuk udang windu autoklaf 5 menit (Wa5), bubuk udang windu autoklaf 10 menit (Wa10), bubuk udang windu autoklaf 15 menit (Wa15) dan (M) marker. Angka-angka pada gambar yang ditandai dengan kotak berwarna hitam merupakan pita polipeptida yang diduga sebagai alergen mayor pada udang

dengan epitop antibodi primer dalam jumlah terbesar untuk menghasilkan pembacaan sinyal sebesar mungkin. Rantai ringan dimiliki oleh semua kelas imunoglobulin sehingga menyebabkan penggunaan antibodi sekunder IgG (*whole molecule*) dapat mengakibatkan reaktivitas silang terhadap imunoglobulin lain karena kemampuannya mengenali rantai berat dan ringan (Janeway *et al.*, 2001).

Pita protein alergen pada sampel bubuk udang yang mengalami proses autoklaf sebelum proses pembuatannya tidak reaktif dengan antibodi yang digunakan. Proses pemanasan menggunakan autoklaf dapat menghilangkan reaktivitas dari protein alergen yang ada pada bubuk udang yang dihasilkan. Udang mentah yang telah melalui proses pembuatan menjadi bubuk udang tanpa proses autoklaf menunjukkan penurunan berat molekul alergen yang terdeteksi. Berat molekul alergen udang mentah yang awalnya 34–98 kDa mengalami penurunan menjadi 38–85 kDa. Kedua sampel menunjukkan adanya pita protein alergen dengan bobot molekul 34–38 kDa yang diidentifikasi sebagai tropomiosin. Pita protein alergen dapat terdenaturasi menjadi fragmen ukuran yang lebih kecil oleh adanya proses menggunakan suhu panas.

Arwani *et al.* (2022) melaporkan bahwa reaktivitas IgE pada serum penderita alergi udang terhadap udang putih yang belum diolah menunjukkan bahwa terdeteksi lima pita protein alergen dengan berat molekul 189, 141, 118, 87, dan 43 kDa dan hanya satu pita protein yang reaktif terhadap IgE yang terdeteksi setelah proses perebusan dan penggorengan dengan berat molekul 43 kDa. Pita protein alergen ini tidak terlihat pada hasil elektroforesis namun terdapat pita protein yang mendekati. Pita protein dengan berat molekul tersebut dapat mengalami pergeseran akibat agregasi dan degradasi protein (Arwani *et al.*, 2022).

Hasil *immunoblotting* pada ekstrak bubuk udang windu yang diautoklaf menunjukkan sudah tidak terdeteksinya pita protein yang reaktif terhadap antibodi. Dua pita protein dengan berat molekul 30 kDa dan 17 kDa yang sebelumnya terdapat pada hasil SDS-PAGE tidak muncul pada

pengujian *immunoblotting*. Hasil ini sesuai dengan penelitian Arwani *et al.* (2022) bahwa tidak terdapat pita protein alergen yang reaktif setelah mengalami proses autoklaf.

Kadar Alergen

Hasil pengujian alergenitas udang mentah, bubuk udang dan *puffing snack* dapat dilihat pada *Figure 4*. Proses pengolahan udang mentah menjadi bubuk udang dapat menurunkan kadar alergenitas dari bubuk udang yang dihasilkan. Proses pengolahan dengan perlakuan autoklaf mampu menurunkan alergenitas hingga 98% dari udang mentah yang diolah hingga menjadi bubuk udang. Persentase penurunan alergenitas dan kadar alergen dari udang mentah dan bubuk udang dapat dilihat pada *Figure 4* yang disajikan per gram sampel dan gram protein total. Hasil analisis menunjukkan bahwa pada sampel ekstrak bubuk udang yang diautoklaf selama 15 menit menunjukkan penurunan kadar alergenitas terendah, yaitu 98,12% dengan kadar alergen sebesar 7,70 (mg/g protein). Hasil ini tidak berbeda nyata dengan perlakuan autoklaf selama 5 menit yaitu 98,09% dengan kadar alergen sebesar 7,84 (mg/g protein). Bubuk udang yang diautoklaf selama 10 menit memiliki kadar alergen yang lebih tinggi, yaitu 20,54 (mg/g protein), sehingga dapat dikatakan bahwa bubuk udang terbaik dengan tingkat penurunan alergenitas optimal adalah bubuk udang dengan waktu autoklaf selama 5 menit. Arwani *et al.* (2022) melaporkan bahwa pengolahan menggunakan autoklaf menurunkan alergenitas udang paling baik dibandingkan proses pengolahan perebusan dan penggorengan. Penelitian sebelumnya hanya menggunakan waktu autoklaf selama 10 menit dan pada penelitian ini waktu autoklaf 5 dan 15 menit menunjukkan penurunan alergenitas yang lebih tinggi.

ELISA Kit umumnya dirancang dengan menggunakan antibodi yang sangat spesifik terhadap protein tertentu dari krustasea dan dapat mendeteksi protein dalam konsentrasi yang sangat rendah. Antibodi yang umumnya menggunakan antibodi monoklonal atau poliklonal yang spesifik terhadap protein tertentu yang berasal dari krustasea, contohnya

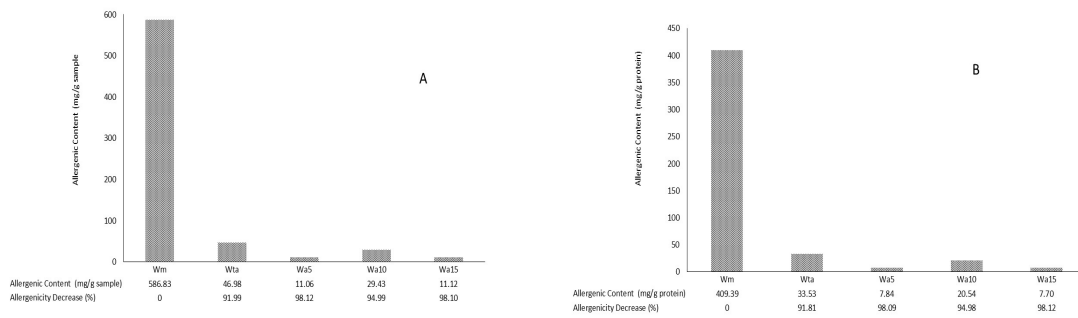


Figure 4 The percentage decrease in allergenicity and allergenic content of raw shrimp (Wm), shrimp powder without autoclave (Wta), tiger shrimp powder autoclaved for 5 minutes (Wa5), tiger shrimp powder autoclaved for 10 minutes (Wa10), and tiger shrimp powder autoclaved for 15 minutes (Wa15) per gram of sample (A) and per gram of protein (B)

Gambar 4 Persentase penurunan alergenitas dan kadar alergen udang mentah (Wm), bubuk udang windu tanpa autoklaf (Wta), bubuk udang windu autoklaf 5 menit (Wa5), bubuk udang windu autoklaf 10 menit (Wa10) dan bubuk udang windu autoklaf 15 menit (Wa15) per g sampel (A) dan per gram protein (B)

tropomiosin, yang merupakan salah satu protein alergen utama pada krustasea. Hasil pengujian alergenitas menggunakan ELISA kit menunjukkan bahwa kadar alergen bubuk udang yang dihasilkan dengan proses autoklaf menurun setelah diautoklaf selama 5 menit namun kembali meningkat pada autoklaf 10 menit dan menurun kembali setelah autoklaf 15 menit. Hal ini diduga karena autoklaf selama 5 menit dapat merusak epitop konformasi yang ada pada bahan pangan, namun pada autoklaf selama 10 menit justru menyebabkan epitop linear pada bahan pangan terekspos dan kembali menyebabkan meningkatnya reaktivitas dari alergen pada bahan pangan, dan ketika menggunakan waktu yang lebih lama menyebabkan epitop yang terpapar kembali dirusak dengan pemanasan yang lebih lama. Dasar molekuler dari perubahan aktivitas alergi adalah inaktivasi atau penghancuran struktur epitop atau pembentukan epitop baru atau akses yang lebih baik dari epitop samar dengan denaturasi alergen asli (Besler *et al.*, 2001).

Penurunan alergenitas dan kadar alergenitas dari *puffing snack* dapat dilihat pada Figure 5. Data diperoleh dengan membandingkan penurunan alergenitas

dari *puffing snack* dengan bubuk udang yang ditambahkan dan disajikan per gram sampel dan gram protein bubuk udang. Kadar alergen pada *puffing snack* disajikan berdasarkan berat kering agar dapat membandingkan komponen bahan dengan lebih konsisten terlepas dari kadar airnya. Hal ini memungkinkan perbandingan yang lebih akurat antara sampel-sampel yang mungkin memiliki kadar air yang berbeda. Penurunan alergenitas *puffing snack* dengan penambahan bubuk udang perlakuan autoklaf 5 menit mengalami penurunan yang lebih tinggi, yaitu 99,56% per gram sampel dibandingkan dengan bubuk udang tanpa autoklaf, yaitu 98,96% per gram sampel. Perhitungan penurunan kadar alergenitas ini dipengaruhi oleh adanya penambahan bahan lain dalam pembuatan *puffing snack*. Perhitungan penurunan alergenitas per gram protein bubuk udang dalam *puffing snack* dapat dilakukan dengan menghitung rasio protein bubuk udang yang ditambahkan dengan kandungan protein dari bahan lain (grits jagung dan tepung beras) yang merupakan bahan dalam pembuatan *puffing snack*. Total 2 kg bahan yang digunakan untuk membuat *puffing snack*, sekitar 67% (1.340 g) merupakan grits jagung dan 25%

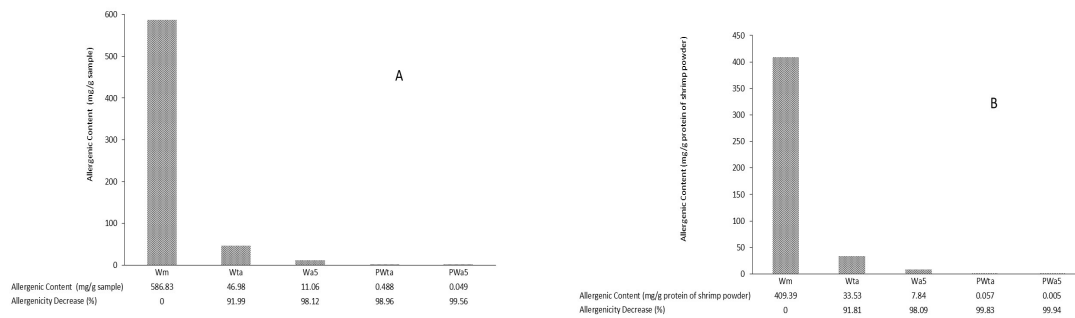


Figure 5 The percentage decrease in allergenicity and allergenic content of puffing snack without autoclaving (PWta) and puffing snack autoclaving 5 minutes (PWa5) per gram of sample (A) and per gram of shrimp powder protein (B)

Gambar 5 Persentase penurunan alergenitas dan kadar alergen *puffing snack* windu tanpa autoklaf (PWta) dan *puffing snack* windu autoklaf 5 menit (PWa5) per g sampel (A) dan per gram protein bubuk udang(B)

(500 g) merupakan tepung beras. Berdasarkan data komposisi bahan makanan dari Ahli Gizi Tahun 2018, grits jagung memiliki kandungan protein sebesar 5,50%, sementara tepung beras memiliki kandungan protein sebesar 7%.

Kadar alergen pada *puffing snack* jika dihitung berdasarkan kandungan protein bubuk udang menunjukkan penurunan alergenitas sebesar 99,83% per gram protein bubuk udang dengan penambahan bubuk udang tanpa autoklaf dan sebesar 99,94% dengan penambahan bubuk udang yang diautoklaf selama 5 menit. Penurunan ini diduga disebabkan karena proses pembuatan *puffing snack* yang menggunakan suhu tinggi pada saat proses ekstrusi. Penggunaan suhu yang sangat tinggi pada proses ekstrusi tersebut dapat lebih merusak protein alergen yang terdapat pada bubuk udang. Zheng *et al.* (2020) moisture, and screw speed (SS melaporkan bahwa hasil bahwa proses ekstrusi terbukti menjadi metode pengolahan makanan yang baik untuk menurunkan aktivitas protein penyebab alergi.

Setiap tahapan dalam pembuatan bubuk udang hingga menjadi *puffing snack* berpengaruh terhadap penurunan alergenitas. Udang mentah yang diolah menjadi bubuk udang tanpa perlakuan autoklaf menunjukkan penurunan alergenitas

sebesar 91,81% per gram protein yang diduga disebabkan oleh perlakuan fisik yaitu proses pengeringan dan penggilingan, sedangkan dengan autoklaf selama 5 menit menunjukkan penurunan alergenitas terbaik, yaitu 98,09% per gram protein. Hasil ini menunjukkan bahwa proses autoklaf selama 5 menit mampu menurunkan alergenitas bubuk udang 6,28%. Pembuatan *puffing snack* dengan penambahan bubuk udang tanpa autoklaf melalui proses ekstrusi menunjukkan penurunan alergenitas 99,83% per gram protein bubuk udang dan autoklaf selama 5 menit 99,94% per gram protein bubuk udang. Hal ini menunjukkan bahwa proses ekstrusi menurunkan alergenitas 8,02% pada *puffing snack* dengan bubuk udang tanpa autoklaf dan 1,85% pada *puffing snack* dengan bubuk udang dengan autoklaf 5 menit. Penurunan alergenitas pada *puffing snack* setelah proses ekstrusi lebih tinggi pada penambahan bubuk udang tanpa autoklaf dibandingkan bubuk udang dengan autoklaf 5 menit. Hal ini diduga karena kadar alergen dari bubuk udang tanpa autoklaf lebih tinggi daripada bubuk udang dengan autoklaf 5 menit, sehingga lebih banyak alergen yang akan terpengaruh oleh proses ekstrusi dan penurunannya menjadi lebih tinggi.

KESIMPULAN

Perbedaan proses autoklaf pada suhu 121°C selama 5, 10, dan 15 menit berpengaruh terhadap karakteristik kimia, kadar protein terlarut, profil bobot molekul protein, pita protein alergen dan tingkat alergenitas udang windu yang diolah. Bubuk udang terbaik dengan tingkat penurunan alergenitas optimal adalah bubuk udang dengan waktu autoklaf selama 5 menit dengan kadar alergen 7,84 (mg/g protein). Produk *puffing snack* yang ditambahkan bubuk udang dengan waktu autoklaf selama 5 menit mengalami penurunan kadar alergenitas 99% dibandingkan dengan udang mentahnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada Pimpinan dan Tim Manajemen Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Riset dan Teknologi, Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset dan Teknologi atas pendanaan penelitian yang diberikan dengan nomor kontrak 18814/IT3.D10/PT.01.03/P/B/2023 atas nama Prof Dr Ir. Nurheni Sri Palupi, M.Si.

DAFTAR PUSTAKA

- Aaslyng, M. D., Bejerholm, C., Ertbjerg, P., Bertram, H. C., & Andersen, H. J. (2003). Cooking loss and juiciness of pork in relation to raw meat quality and cooking procedure. *Food Quality and Preference*, 14(2003), 277–288. [https://doi.org/10.1016/S0950-3293\(02\)00086-1](https://doi.org/10.1016/S0950-3293(02)00086-1)
- Abbott, M., Hayward, S., Ross, W., Godefroy, S. B., Ulberth, F., Hengel, A. J. V., Roberts J., Akiyama, H., Popping, B., & Yeung, J. M. (2010). Validation procedures for quantitative food allergen ELISA Methods: community guidance and best practices. *Journal Of AOAC International*, 93(2), 442–450. <https://doi.org/10.1093/jaoac/93.2.442>
- Abramovitch, J. B., Lopata, A. L., O'Hehir, R. E., & Rolland, J. M. (2017). Effect of thermal processing on T cell reactivity of shellfish allergens - Discordance with IgE reactivity. *PLoS One*, 12(3), 1–18. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173549>
- Ali, A. L. H., & Rosmilah, M. (2019). Effects of food processing on the stability and quality of shellfish allergens. *Journal of US-China Medical Science*, 16(3), 149–163. <https://doi.org/10.17265/1548-6648/2019.03.006>
- Alia, A. N. T., Palupi, N. S., & Giriwono, P. E. (2023). Peranan teknologi proses pengolahan pangan dalam penurunan alergenitas kerang-kerangan: meta-analisis. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 28(3), 491–496. <https://doi.org/10.18343/jipi.28.3.491>
- Arwani, A., Palupi N. S., & Giriwono P. E. (2022). Effects of different heat processing on molecular weight and allergenicity profile of white shrimp (*Litopenaeus Vannamei*) and mud crab (*Scylla serrata*) from Indonesian waters. *Squalen Bulletin of Marine and Fisheries Postharvest and Biotechnology*, 17(1), 13–22. <https://doi.org/10.15578/squalen.629>
- Association of Official Analytical Chemistry [AOAC]. (2012). Official Methods of Analysis. The Association of Official Analytical of Chemist
- Ayuso, R., Grishina, G., Bardina, L., Carrillo, T., Blanco, C., Ibáñez, M. D., Sampson, H. A., & Beyer, K. (2008). Myosin light chain is a novel shrimp allergen, Lit v 3. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 122(4), 795–802. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2008.07.023>
- Benjakul, S., Visessanguan, W., Kijroongrojana, K., & Sriket, P. (2008). Effect of heating on physical properties and microstructure of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) and white shrimp (*Penaeus vannamei*) meats. *International Journal of Food Science and Technology*, 43(6), 1066–1072. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2007.01566.x>
- Besler, M., Steinhart, H., & Paschke, A. (2001). Stability of food allergens and allergenicity of processed foods. 756, 207–228.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248–254.

- <https://doi.org/10.1016/j.cj.2017.04.003>
- Candra, Y., Setiarini, A., & Rengganis, I. (2011). Gambaran sensitivitas terhadap alergen makanan. *Makara Journal of Health Research*, 15(1), 44–50.
- Cooper, A. (2000). Heat capacity of hydrogen-bonded networks: an alternative view of protein folding thermodynamics. *Biophysical Chemistry*, 85, 25–39. [https://doi.org/10.1016/S0301-4622\(00\)00136-8](https://doi.org/10.1016/S0301-4622(00)00136-8)
- Da Costa, J. P., Oliveira, D. M., Marques, D.R., Monteiro, A. R. G., & da Costa, J. M. C. (2019). Addition of powdered shrimp in the formulation of snacks. *Revista Ciencia Agronomica*, 50(3), 387–393. <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20190046>
- Ekezie, F. G. C., Cheng, J. H., & Sun, D. W. (2018). Effects of nonthermal food processing technologies on food allergens: A review of recent research advances. *Trends in Food Science and Technology*, 74(2018), 12–25. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.01.007>
- Fernandes, T. M., Silva, J. A., Silva, A. H. A., Cavalheiro, J. M. O., & Conceição, M. L. (2013). Flour production from shrimp by-products and sensory evaluation of flour-based products. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 48(8), 962–967. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2013000800022>
- Janeway, C. A., Travers, P., Walport, M., & Shlomchik, M. (2001). *Immunobiology: The immune system in health and disease* 5th edition. Garland Publishing.
- Kamath, S. D., Abdel, A. M., Komoda, T., & Lopata, A. L. (2013). Impact of heat processing on the detection of the major shellfish allergen tropomyosin in crustaceans and molluscs using specific monoclonal antibodies. *Food Chemistry*, 141(4), 4031–4039. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.06.105>
- Kementerian Kelautan dan Perikanan. (2019). Strategi, arah kebijakan dan program prioritas DITJEN Perikanan Budidaya.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan. (2022). Data Kelautan dan Perikanan Triwulan IV Tahun 2022. Pusat data, statistik, dan informasi. Sekretaris Jenderal Kementerian Kelautan dan Perikanan.
- Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680–685. <https://doi.org/10.1038/227680a0>
- Lee, A. J., Gerez, I., Shek, L. P. C., & Lee, B. W. (2012). Shellfish allergy - an Asia-Pacific perspective. *Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology*, 30(1), 3–10.
- Liu, H., Xu, Y., Zu S., Wu, X., Shi, A., Zhang, J., Wang, Q., & He, N. (2021). Effects of high hydrostatic pressure on the conformational structure and gel properties of myofibrillar protein and meat quality: A review. *Foods*, 10(8), 1–20 <https://doi.org/10.3390/foods10081872>
- Liu, M., Liu, G.Y., Yang, Y., Mei, X. J., Yang, H., Li, Y., Cao, M. J., & Liu, G. M. (2018). Thermal processing influences the digestibility and immunoreactivity of muscle proteins of *Scylla paramamosain*. *Food Science and Technology*, 98(2018), 559–567. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.09.027>
- Long, F., Yang, X., Wang, R., Hu, X., & Chen, F. (2015). Effects of combined high pressure and thermal treatments on the allergenic potential of shrimp (*Litopenaeus vannamei*) tropomyosin in a mouse model of allergy. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 29(2015), 119–124. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.03.002>
- Margaret, M., Jinap, S., & Faizal, A. (2015). Allergens derived from shrimp. *International Food Research Journal*, 22(5), 1751–1754.
- Mohan, C. O., Ravishankar, C. N., Gopal, T. K. S., & Bindu, J. (2008). Thermal processing of prawn 'kuruma' in retortable pouches and aluminium cans. *International Journal of Food Science and Technology*, 43(2), 200–207. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01369.x>
- Qiao, Y., Wang, B., Ji, Y., Xu, F., Zong, P., Zhang, J., & Tian, Y. (2019). Thermal decomposition of castor oil, corn starch, soy protein, lignin, xylan, and cellulose during fast pyrolysis. *Bioresource Technology*, 278(2019), 287–295. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.01.102>

- Rosset, M., Acquaro, V. R., & Beléia, A. D. P. (2012). Protein extraction from defatted soybean flour with Viscozyme L pretreatment. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38(3), 784–790. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12030>
- Sulistiyono, P., Herawati, D. M. D., & Arya, I. F. D. (2017). Rebon shrimp powder addition influence to nutritional values, organoleptic properties and acceptance of supplementary food by children aged 4-5 years old. *Kesmas: National Public Health Journal*, 11(4), 168–172. <https://doi.org/10.21109/kesmas.v11i4.1280>
- Suryanti, S., Haryati, S., Putra, A. N., & Heryana, R. (2018). Karakteristik makanan ringan ekstrudat dari kepala udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, 13(1), 61-70. <https://doi.org/10.15578/jpbkp.v13i1.500>
- Thermo Fisher Scientific Inc. (2007). Choosing a secondary antibody: A guide to fragment specificity.
- Tirawanichakul, S., Phatthalung, W. N., & Tirawanichakul, Y. (2008). Drying strategy of shrimp using hot air convection and hybrid infrared radiation/hot air convection. *Walailak Journal of Science and Technology*, 5(1), 77–100. <https://doi.org/10.2004/wjst.v5i1.115>
- Topuz, O. K., Gokoğlu, N., Jouppila, K., & Kirjoranta, S. (2017). Development of extruded shrimp-corn snack using response surface methodology. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 17(2017), 334–343. <https://doi.org/10.4194/1303-2712-v17>
- Wang, J., Tang, J., Rasco, B., Sablani, S. S., Ovissipour, M., & Qu, Z. (2018). Kinetics of quality changes of shrimp (*Litopenaeus setiferus*) during pasteurization. *Food and Bioprocess Technology*, 11(5), 1027–1038. <https://doi.org/10.1007/s11947-018-2073-x>
- Zhang, Y., Wang, W., Zhou, R., Yang, J., Sheng, W., & Guo, J. (2018). Effects of heating, autoclaving and ultra-high pressure on the solubility, immunoreactivity, and structure of major allergens in egg. *Food and Agricultural Immunology*, 29(1), 412–423. <https://doi.org/10.1080/09540105.2017.1387520>
- Zhang, Z., Yang, Y., Zhou, P., Zhang, X., & Wang, J. (2017). Effects of high-pressure modification on conformation and gelation properties of myofibrillar protein. *Food Chemistry*, 217(2017), 678–686. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.040>
- Zheng, H., Yan, G., Lee, Y., Alcaraz, C., Marquez, S., & Mejia E. G. (2020). Effect of the extrusion process on allergen reduction and the texture change of soybean protein isolate-corn and soybean flour-corn mixtures. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 64(2020), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102421>