

Serbuk-Penyedap Rasa dari Alam: Ekstrak Kaldu dari Cangkang Udang Segar (*Litopenaeus vannamei*) menggunakan Refluk Berbantuan Bromelain

Natural Flavor Powder: Broth Extract from Fresh Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) Shells using Bromelain Assisted Reflux

Wara Dyah Pita Rengga^{1*}, Erika Wijayanti¹, Yoga Agung Prabowo¹, Shakin Ervita Oktaviyani¹, Nanik Wijayati², dan Widya Harry Cahyati³

¹Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Negeri Semarang, Kampus Sekaran Gunungpati, Semarang 50229, Indonesia

²Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang, Kampus Sekaran Gunungpati, Semarang 50229, Indonesia

³Jurusan Ilmu Kesehatan Masyarakat Fakultas Ilmu Keolahragaan Universitas Negeri Semarang Kampus Sekaran Gunungpati, Semarang 50229, Indonesia

*Korespondensi penulis : wdpitar@mail.unnes.ac.id

Diterima: 9 Januari 2023; Direvisi: 14 Juni 2023; Disetujui: 28 Juni 2023

ABSTRAK

Limbah cangkang udang menimbulkan permasalahan polusi udara dan tumpukan sampah yang dihindangi lalat. Padahal, pemanfaatan cangkang udang yang kaya protein dapat diekstraksi untuk dimanfaatkan sebagai serbuk penyedap rasa. Penelitian ini dilakukan untuk menentukan karakteristik dari filtrat ekstrak cangkang udang segar dan produk serbuk rasa udang, serta menentukan kondisi ekstraksi yang optimal pada penggunaan konsentrasi bromelain dan waktu refluks. Limbah udang diekstrak dengan alat refluks yang dilengkapi dengan pendingin. Proses ekstraksi terbagi menjadi dua tahap yaitu penambahan larutan garam dan enzim bromelain. Gabungan filtrat ekstraksi dianalisis menggunakan GC-MS dan FT-IR. Selanjutnya, filtrat diformulasikan menjadi serbuk penyedap rasa udang dengan beberapa bahan tambahan berupa tepung dan rempah-rempah. Serbuk penyedap rasa kemudian dianalisis kadar air dan TEM. Dari hasil analisis, didapatkan bahwa ekstrak cangkang udang segar mengandung senyawa protein sederhana, yaitu dimetilamina dan trimetilamina dengan kadar protein total mencapai 28,984%. Ekstrak juga mengandung asam lemak cangkang udang. Serbuk penyedap rasa udang yang dihasilkan mempunyai ukuran partikel sebesar 5 sampai dengan 25 nm, dengan kadar air 11,11%. Kondisi operasi optimal ekstraksi protein dengan metode refluks pada kombinasi konsentrasi 2% katalis enzim bromelain pada suhu refluks 55°C selama 1,5 jam. Ekstraksi menggunakan enzim bromelain secara bertahap memberikan kualitas flavor udang berupa serbuk kandungan protein dan lemak udang yang dipadu menjadi cita rasa spesifik dengan ukuran nanometer.

Kata Kunci : amina, ekstraksi, formulasi, nanopartikel, protein

ABSTRACT

Shrimp shell waste causes air pollution problems and piles of garbage that flies infest. The utilization of shrimp shells rich in protein can be extracted to be used as flavouring powder. This research was conducted to determine the characteristics of fresh shrimp shell extract filtrate and shrimp flavour powder product and the optimal extraction conditions using bromelain concentration and reflux time. The method used for extracting shrimp extract through extraction with a reflux tool equipped is divided into two stages adding a salt solution and bromelain enzyme. The mixed filtrate was analyzed using GC-MS and FT-IR. The filtrate is formulated into shrimp flavouring powder with some additional ingredients in the form of flour and spices. The flavouring powder was analyzed for water content and TEM. The fresh shrimp shell extracts analyzed containing dimethylamine and trimethylamine compounds which are protein content, with protein content reaching 28.984%. In addition to protein, the extract also contains fatty acids in shrimp shells. The resulting shrimp flavouring powder has a particle size of 5 to 25 nm, with a moisture content of 11.11%. Optimal operating conditions for protein extraction by reflux were method at a combined concentration of 2% bromelain enzyme catalyst at a reflux temperature of 55°C for 1.5 hours. Extraction using bromelain enzymes gradually gives shrimp flavour as a powder containing shrimp protein, combined into a specific taste with nanometer size.

Keywords: amine, extraction, formulation, nanoparticle, protein

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara kepulauan dengan potensi industri perikanan yang cukup besar, terutama budidaya udang. Udang (*Litopenaeus vannamei*) merupakan jenis udang populer yang mudah dibudidayakan karena memiliki tingkat pertumbuhan yang cepat dan tahan terhadap penyakit (Wyban, 2019). Udang sering diolah sebagai produk beku dengan cara memisahkan cangkang dari daging udang supaya menghambat terjadinya melanosis (Kimbathong et al., 2020). Udang memiliki cangkang dari kepala hingga ekor dengan berat sekitar 35-60% dari tubuhnya (Setiati et al., 2021; Haque et al., 2021).

Bagian udang yang dibuang berupa cangkang, dapat didaur ulang menjadi olahan pakan ternak. Namun, hal ini menjadi dilema untuk membuangnya karena akan menimbulkan bau tidak sedap dan masalah lingkungan jika proses penanganannya dilakukan setelah beberapa waktu. Padahal limbah ini masih memiliki nutrisi yang dapat dimanfaatkan kembali sebagai bagian dari pengelolaan sumber daya laut.

Pengolahan limbah cangkang udang masing-masing mengandung produk sampingan yang penting seperti karotenoid, protein, dan senyawa perisa. Karoten yang terdapat pada warna oranye udang telah diidentifikasi sebagai pewarna alami (Sowmya et al., 2012), termasuk sifat antioksidan (Pattanaik et al., 2020), dan dapat meningkatkan pewarnaan dan imunitas (Pattanaik et al., 2021). Oleh karena itu, produksi cangkang dan limbah kepala udang dapat digunakan sebagai bahan tambahan fungsional pada makanan dan minuman (Poonsin et al., 2017).

Di sisi lain, enzim proteolitik telah diterapkan untuk mengekstrak protein dari limbah pengolahan udang. Enzim proteolitik papain telah digunakan untuk mengekstraksi karotenoid dari limbah cangkang empat spesies udang (Pattanaik et al., 2020). Enzim papain juga telah digunakan untuk menghasilkan protein karoten dari cangkang dan kotoran kepala udang (Dayakar et al., 2022). Selain itu terdapat juga enzim alkalase, tripsin, dan pepsin yang ditemukan dapat mengekstrak karotenoid dari limbah udang dengan cukup baik, tetapi terbatas karena harganya mahal dan tidak dapat diperoleh dengan mudah. Alternatif enzim selain papain yang memiliki sifat yang sama telah tersedia yaitu enzim bromelain, termasuk enzim protease yang dapat digunakan untuk mengambil protein dalam jumlah besar dari limbah udang.

Cangkang dari udang *vannamei* mempunyai kandungan $28,40 \pm 0,58\%$ protein dan $0,82 \pm 0,04\%$

lipida (Hongkulsup et al., 2016). Tingginya kadar protein ini sangat penting untuk dilakukan ekstraksi asam amino dan minyak atsiri khas cangkang udang terutama menghasilkan aroma udang jika udang tersebut masih segar. Argumen ini menegaskan rasa udang yang paling spesifik terdapat pada cangkang dan kepala (Wijayanti et al., 2016). Banyak peneliti mengekstraksi ekstrak cangkang udang karena sifatnya yang sederhana untuk diperoleh, dengan menggunakan metode ekstraksi menggunakan pelarut tetapi rendemen yang dihasilkan kecil. Ekstraksi cangkang menggunakan etanol, hidroalkohol, atau air dapat diperoleh dengan menggunakan pemanasan konvensional (Prasetyoningsih et al., 2021) serta teknik energi tinggi berbantuan ultrasonik (Suryawanshi et al., 2020) dan gelombang mikro (Nanda et al., 2022). Selain itu, kemampuan pelarut hijau untuk mengekstrak protein dari cangkang udang telah menarik banyak perhatian baru-baru ini. Metodologi yang menggabungkan ekstraksi CO₂ superkritis dengan kromatografi superkritis untuk mencapai ekstraksi protein dan lemak dari cangkang udang (Microguet et al., 2012).

Beberapa proses tersebut cukup kompleks, menggunakan energi tinggi, suhu operasi yang cukup tinggi dan sulit penanganannya, serta mempengaruhi keamanan lingkungan. Di sisi lain, ekstraksi berbantuan enzim dianggap sebagai alternatif yang menjanjikan dan lebih ramah lingkungan. Enzim mengkatalisasi berbagai reaksi hidrolitik yang bekerja pada polimer yang ada di dinding sel baik hewan maupun tumbuhan (Robinson et al., 2015). Komponen bioaktif yang biasanya terkait dengan dinding sel baik dengan ikatan hidrogen atau dengan dikemas dalam gugus hidrofobik, menghasilkan kompleks yang stabil. Oleh karena itu, ekstraksi dengan bantuan enzim berhasil melepaskan senyawa fenolik, menjadikannya lebih mudah diekstraksi, meningkatkan laju ekstraksi, selektivitas, dan hasil. Selain itu, kondisi ekstraksi yang berbeda, sangat mempengaruhi hasil, memungkinkan pengembangan formula ekstraksi yang dibuat khusus untuk mendapatkan produk akhir bernilai lebih tinggi (Robinson et al., 2015). Selain itu, metode ini memungkinkan untuk meningkatkan profil asam amino, skor asam amino esensial, dan rasio protein yang diekstraksi, di mana potensinya sebagai sumber peptida bioaktif juga ditingkatkan (Ambigaipalan & Shahidi, 2017).

Fungsi dari ekstraksi protein dan lemak dapat memperkaya teknologi pengolahan makanan berbasis limbah cangkang udang, disamping penyedap rasa yang sudah umum yaitu rasa ayam dan sapi. Dalam hal ini, limbah cangkang

udang diolah menjadi bubuk yang diolah secara organik enzimatis berprotein tinggi dengan bantuan bromelain protease. Penggunaan metode enzimatis berperan sebagai katalis untuk memecah protein rantai panjang menjadi asam amino dengan cara membangun blok melalui reaksi hidrolisis (Wijayanti et al., 2016). Selain itu, proses isolasi rasa secara enzimatis memiliki beberapa keunggulan, seperti tidak memerlukan pelarut khusus (Plotka-Wasyilka et al., 2017), membutuhkan sedikit energi, hasil produk yang tinggi, dan ramah lingkungan.

Hal ini berbeda antara ekstraksi dengan perlakuan kimia dengan reaksi enzimatis yang telah dipelajari secara ekstensif untuk mempersiapkan pelepasan aroma dan rasa cangkang udang (Xin et al., 2020). Ekstraksi cangkang udang dengan proses kimia melalui demineralisasi (DM) dan deproteinisasi (DP) (Fu et al., 2019). Ditambah lagi dengan penggunaan bahan kimia berbahaya dapat mempengaruhi lingkungan (Kim & Park, 2015). Sebagian besar asam dan basa pekat digunakan, menghasilkan perubahan struktural dari produk akhir yang terdeproteinisasi dan tidak diinginkan serta menciptakan masalah pembuangan limbah.

Keunggulan reaksi enzimatis meningkatkan pemakaian dan penjualan enzim komersial, padahal biaya pemurnian enzim yang tinggi membuat sulit untuk memproduksinya dalam skala besar industri (Bougatef, 2013). Sebagai metode yang ramah lingkungan, fleksibel secara teknis, dan ekonomis, fermentasi enzim telah menjadi pendekatan yang menjanjikan untuk mengekstraksi cangkang udang (Mohan et al., 2016). Oleh karena itu, tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan karakteristik dari filtrat ekstrak cangkang udang segar dan produk serbuk rasa udang, serta menentukan kondisi ekstraksi yang optimal pada penggunaan konsentrasi bromelain dan waktu refluks. Metode ekstraksi garam membantu memperoleh filtrat ionik dengan menghasilkan gugus fungsi polar. Dilanjutkan dengan enzim bromelain yang digunakan untuk membantu pemecahan protein dari cangkang udang sehingga filtrat yang diekstraksi lebih banyak dan bervariasi dengan senyawa yang diperoleh berupa asam lemak dan amina.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan adalah limbah cangkang udang yang dikumpulkan dari pengolah udang beku dari Tambak Lorok Semarang (Laut Jawa). Limbah cangkang vaname (dari total 5 kg udang

segar jenis vannamei size 50) yang telah terseleksi dibekukan dalam *ice cooler box* pada dan dibawa ke laboratorium Teknik Kimia Universitas Negeri Semarang, untuk segera dicuci hingga bersih. Cangkang disusun dalam oven pada suhu 100 °C hingga kering hingga massa konstan. Cangkang Vanamei kering digiling menjadi tepung. Selain itu, bahan lain, inti nanas madu, diperoleh dari pasar tradisional di Semarang. Bahan lainnya adalah natrium klorida (Sigma-Aldrich), natrium asetat (Sigma-Aldrich), tepung terigu (Bogasari) dan tepung maizena (Maizenaku) serta kunyit, jahe, bawang merah, bawang putih dan garam, dibeli di pasar tradisional. Pengumpulan data dilakukan sebanyak tiga kali dan dirata-rata.

Metode

Pembuatan Ekstrak Enzim Bromelin dari Kulit dan Inti Buah Nanas

Pembuatan ekstrak enzim bromelin dari kulit dan inti buah nanas mengacu pada penelitian Wiyati et al., (2018). Limbah nanas, berupa kulit dan inti nanas dipotong kecil-kecil dan diproses untuk ekstraksi enzim. Potongan dan kulit buah ditimbang dan dihaluskan dalam lesung dan alu untuk mengekstrak sarinya. Setelah itu disaring dengan kain sampai mendapatkan supernatan enzim kasar. Ampas diekstraksi kembali dengan menambahkan 20 mL air suling, kemudian sarinya disaring menggunakan kain kassa. Gabungan supernatan disaring dengan kertas saring Whatman 150 mm. Filtrat selanjutnya didinginkan dalam box pendingin sampai suhu 4°C, dan selanjutnya disentrifugasi menggunakan centrifuges 1580R (kecepatan tinggi) pada 8.000 rpm selama 10 menit untuk menghilangkan zat yang tidak larut. Semua supernatan dikumpulkan dan disimpan pada suhu 4°C. dan digunakan sebagai ekstrak kasar enzim bromelain dari kulit dan inti nanas (Mohan et al., 2016).

Pembuatan Serbuk Cangkang Udang

Cangkang segar dalam kotak pendingin dibawa ke laboratorium, kemudian dipilah untuk memastikan sampel tidak busuk dan rusak. Cangkang dicuci bersih sampai air bilasan tidak berwarna. Cangkang bersih dikeringkan dalam oven pada suhu 60±2°C hingga kering selama ±24 jam ditandai dengan capaian berat konstan. Cangkang udang yang sudah kering digiling untuk mendapatkan serbuk udang kemudian diayak dengan ukuran 60 mesh. Serbuk cangkang udang yang lolos ayakan dikemas dalam wadah polietilena tertutup rapat dan disimpan pada suhu -20°C untuk selanjutnya diekstraksi (Mizani et

al., 2005). Pengumpulan data dilakukan sebanyak tiga kali dan dirata-rata.

Persiapan Ekstraksi Kaldu Cangkang Udang

Rasio antara tepung cangkang dan larutan NaCl 0,5% dicampur pada perbandingan 1:2 (b/v). Setelah tercampur rata, adonan dimasukkan ke dalam labu alas bulat dipanaskan pada suhu 80°C selama 30 menit. Kaldu pertama disaring, dipisahkan dari ampasnya. Selanjutnya, ampas cangkang kemudian direbus kembali menggunakan dua bagian akuades dan dikondisikan pada pH 4,5 dengan penambahan natrium asetat. Setelah ini campuran ampas direbus dengan menambahkan enzim bromelain konsentrasi 0, 1, 2, dan 3% (b/b) selama 1, 1,5, dan 2 jam, yang berfungsi untuk memperoleh kaldu protein secara enzimatis. Kaldu pertama dan kedua dicampur dengan perbandingan 1:1 (v/v) untuk mendapatkan rasa yang kental. Pengumpulan data dilakukan sebanyak tiga kali dan dirata-rata.

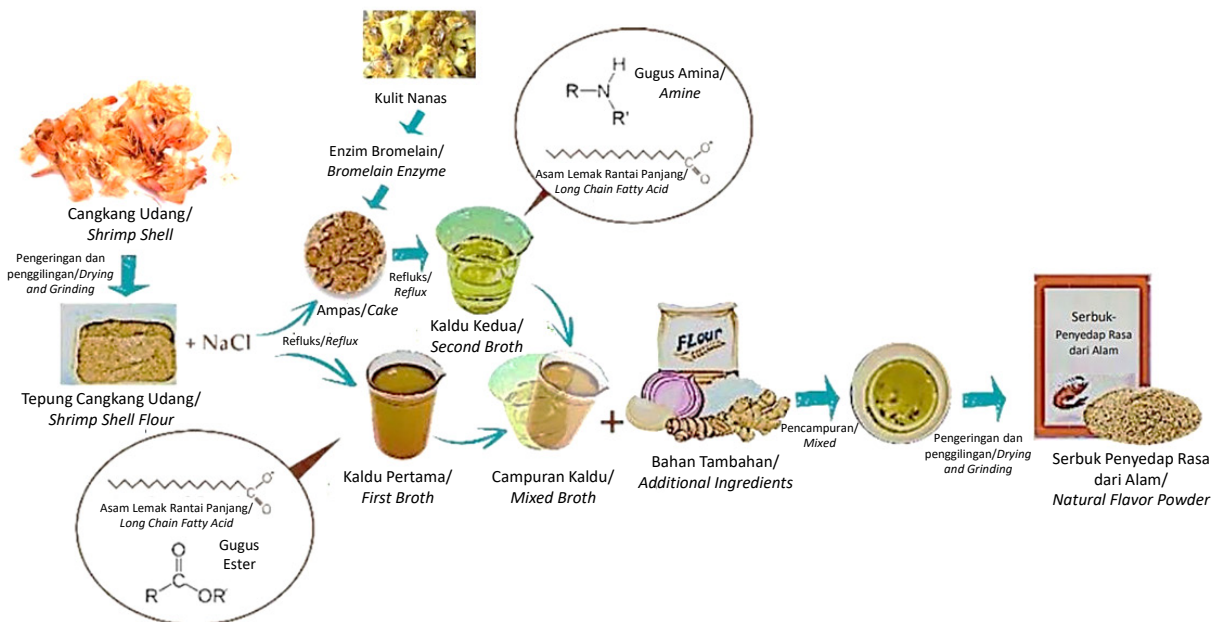
Pembuatan Bubuk Penyedap Rasa Udang

Pembuatan bubuk penyedap rasa udang mengacu pada penelitian Rengga et al., (2019). Serbuk rasa alami dibuat dengan mengikuti skema pada Gambar 1. Campuran filtrat kaldu dicampur dengan bahan pendukung. Serbuk rasa alami dibuat dengan mengikuti skema pada Gambar 1.

Campuran filtrat kaldu dicampur dengan bahan lain (tepung terigu 5% dan tepung jagung dengan perbandingan 1: 1 (b/b), kaldu 1,8% (b/v) bawang putih, 2,23% (b/v) bawang merah, 0,1% (b/v) kunyit, 0,3% (b/v) jahe, dan 7,5% (b/v) garam). Campuran kemudian dikeringkan pada suhu 100-105°C untuk mengurangi kadar air hingga massa konstan. Selanjutnya produk yang sudah kering digiling dan diayak hingga kehalusan serbuk yang diinginkan.

Karakterisasi Filtrat dan Penyedap Rasa

Pengukuran kadar protein menggunakan Metode Kjeldahl dan uji kadar air pada serbuk penyedap rasa udang alami. Metode yang digunakan untuk menganalisis gugus fungsi kaldu adalah FT-IR, yang dilakukan pengukuran pada Perkin Elmer Spectrum versi 10.4.00. GC-MS yang digunakan adalah Perkin Elmer Clarus 680 Gas Chromatograph (GC) dan Perkin Elmer Clarus SQ 8 T Mass Spectrometer (MS) dengan panjang kolom 30 m dan diameter 250 µm. Analisis GC dilakukan dengan menggunakan suhu terprogram, dimulai dengan suhu oven pada 40°C selama 2 menit, menaikkan oven menjadi 20°C/menit hingga mencapai 250°C, diikuti dua °C/menit dari 250 hingga 300°C. Sampel diinjeksikan pada suhu injektor 300°C untuk analisis senyawa dalam kaldu. Analisis *Transmission Electron Microscopy* (TEM) JEOL JEM-1400 digunakan untuk menganalisis



Gambar 1. Proses pembuatan serbuk penyedap rasa udang
 Figure 1. Processing of shrimp flavoring powder

bentuk kristal dan ukuran nanopartikel dari serbuk penyedap.

Analisis Data

Kandungan protein tertinggi (rata-rata) menjadi pilihan untuk menentukan kondisi operasi ekstraksi refluk dengan bantuan bromelain pada suhu dan waktu optimal. Kadar air dari semua bahan mengikuti spesifikasi SNI sehingga mencapai 8-11% karena lebih tahan terhadap mikroba. Analisis ukuran partikel disusun untuk mendapatkan ukuran tertinggi dan terendah dan ditentukan juga rata ukuran partikel serbuk penyedap rasa.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi cangkang Udang

Cangkang udang mengalami perubahan warna dari sebelum oven dan sesudah oven sampai dengan berat tetap. Setiap kali ditimbang dan dikeluarkan dari oven, perubahan warna dari degradasi dari coklat bening keabu-abuan menjadi coklat putih kusam semakin terlihat jelas. Sampai berat konstan, cangkang udang kering diperkecil ukurannya menjadi serbuk. Warna serbuk yang dimiliki adalah putih kecoklatan dengan bau udang yang tajam.

Hasil ekstraksi menghasilkan kaldu pertama yang berwarna kuning keruh akibat adanya larutan NaCl, dimana ekstraksi terjadi secara ndus, sementara hasil kaldu kedua berwarna lebih terang,

kuning muda setelah diekstraksi dengan tambahan enzim bromelin. Ekstraksi biokimia menggunakan enzim tunggal dan campuran memanfaatkan proses pengambilan protein yang efisien, hemat biaya, dan ramah lingkungan dapat membantu menguraikan tantangan yang dihadapi oleh ndustry pengolahan makanan dibandingkan dengan ekstraksi secara konvensional berbasis pelarut dan alkali (Kumar et al., 2021).

Analisis Kandungan Protein pada Kaldu

Hasil ekstraksi serbuk cangkang udang dengan larutan NaCl dan bromelain mengandung kadar protein dengan kisaran nilai 26,933-28,984%. Fraksi penambahan larutan 0,5% memberikan kemampuan tertinggi dalam pengambilan protein pada cangkang udang. Berdasarkan Tabel 1, kandungan protein tertinggi dari serbuk penyedap rasa adalah 28,984% pada 2% konsentrasi enzim bromelain dan refluks selama 1,5 jam. Kandungan protein menurun pada penambahan enzim bromelain 3% (b/b). Sementara untuk waktu refluks 1 jam, kadar protein meningkat hingga 28,2% pada penambahan enzim bromelain 2% (b/b), kemudian menjadi 28,55% pada penambahan enzim bromelain 3% (b/b). Selama dua jam waktu refluks, kadar protein serbuk beraroma tertinggi adalah 27,962% pada penambahan enzim bromelain 1% (b/b), kemudian menurun pada penambahan enzim bromelain 2% dan 3% (b/b).

Kinerja optimum bromelain pada 1-2 jam sudah sesuai dengan aktivitas dan jenis enzimnya (Rengga et al., 2019). Sebaliknya, proses enzimatis

Tabel 1. Hasil uji protein untuk waktu pemanasan dan konsentrasi enzim

Table 1. Protein content depending on heating time and enzyme concentration

Konsentrasi Bromelin/ Bromelain Concentration (%)	Waktu/ Time (jam/hour)	Kadar Protein/ Protein Content (%)
0	1	26,933
0	1,5	28,814
0	2	27,696
1	1	28,428
1	1,5	28,906
1	2	27,962
2	1	28,245
2	1,5	28,984
2	2	27,873
3	1	28,472
3	1,5	28,703
3	2	27,476

bekerja secara optimal pada suhu 55°C selama 1,5 jam, sehingga kondisi enzim tidak cukup murni pada suhu 50°C. Berdasarkan kondisi ekstraksi refluks yang terjadi pada suhu 60±2°C menghasilkan lebih banyak molekul memiliki energi kinetik untuk menjalani reaksi. Tahapan penguraian dan agregasi protein secara nyata terjadi pada suhu 65°C (Borzova et al., 2016). Hal ini membuktikan bahwa kondisi di atas waktu optimal mengakibatkan kinerja meningkat dari ambang biokimia, selain itu juga mengganggu ikatan peptida dan disulfida, sehingga menonaktifkan enzim (Martins et al., 2014). Selain itu, kinerja enzim juga dipengaruhi oleh konsentrasi enzim. Konsentrasi enzim yang rendah dapat menghambat penurunan kemampuan aktivitas enzim (Rodrigues et al., 2013).

Analisis Kadar Air

Serbuk penyedap rasa kaldu udang dianalisis kadar air untuk menjaga produk dalam penyimpanan. Kadar air dari produk serbuk penyedap rasa dapat ditunjukkan pada Tabel 2. Kadar air tertinggi pada sampel didapatkan pada kondisi penambahan konsentrasi enzim bromelin 3%, waktu ekstraksi 2 jam sebesar 11,11% dan kadar air terendah pada konsentrasi 2%, waktu ekstraksi 2 jam sebesar 9,34%. Hasil ini sesuai dengan Standar Nasional Indonesia (02-3709-1995), yang menyatakan bahwa kadar air maksimum dalam makanan terutama penyedap rasa adalah 12%. Kelembaban yang didukung oleh lingkungan dengan suhu yang tinggi memicu dan membantu tumbuhnya jamur

yang menyebabkan pembusukan dan kerusakan. Kadar air rempah berkisar antara 8% sampai 10% (Raghavan, 2006) Semua produk dijaga kualitasnya dari mikroba dengan kadar air maksimal 12%.

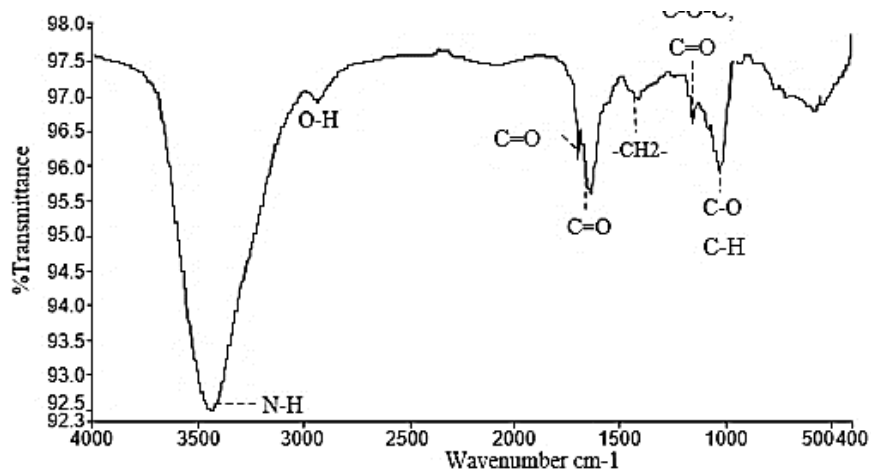
Analisis FT-IR

Spektrum FT-IR serbuk penyedap rasa udang ditunjukkan pada Gambar 2, yang mengidentifikasi gugus fungsi pada kondisi pembuatan kaldu udang dengan penambahan enzim 2% (b/b) dan suhu 55°C selama 1,5 jam. Adanya vibrasi ulur gugus amina kedua (N–H) pada 3421 cm⁻¹ yang memiliki intensitas kuat. Absorbansi pada 2930 cm⁻¹ ditetapkan sebagai vibrasi ulur gugus asam karboksil (O–H) dan vibrasi ulur gugus aldehida (C–H). Gugus turunan asam karboksil (C=O) diidentifikasi sebagai senyawa amida yang diperoleh pada 1694 dan 1653 cm⁻¹. Pita serapan sekitar 1416 cm⁻¹ mewakili gugus sulfat (S=O) dengan intensitas padat dan kerangka aromatik yang dikombinasikan dengan deformasi dan peregangan aldehida (C–H). Penyerapan sekitar 1156 cm⁻¹ diidentifikasi sebagai gugus regangan eter (C–O–C), gugus asam karboksilat (C–O), regang gugus lakton (ester siklik) (C=O), gugus amina alifatik (C–N) peregangan kelompok. Penyerapan sekitar 1022 cm⁻¹ diidentifikasi sebagai gugus asam karboksilat (C–O), vibrasi aldehida (C–H), gugus vinil (–CH=CH₂), gugus gugus amina alifatik (C–N). Amina (N–H) hanya memiliki satu serapan di dekat 3420 cm⁻¹ dan berasal dari senyawa dimetilamina. Menurut spektrum FTIR, intensitas puncak yang terdeteksi

Tabel 2. Kadar air dari serbuk penyedap rasa

Table 2. Moisture content of flavoring powder

Konsentrasi Bromelin/ Bromelain Concentration (%)	Waktu/ Time (jam/hour)	Kadar Air/ Moisture Content (%)
0	1	10,67
0	1,5	11,02
0	2	10,92
1	1	10,96
1	1,5	9,44
1	2	8,96
2	1	11,11
2	1,5	10,48
2	2	9,34
3	1	10,76
3	1,5	10,67
3	2	9,86



Gambar 2. Spektra FT-IR dari serbuk penyedap rasa dari cangkang udang
 Figure 2. FT-IR spectrum of shrimp shell flavoring powder

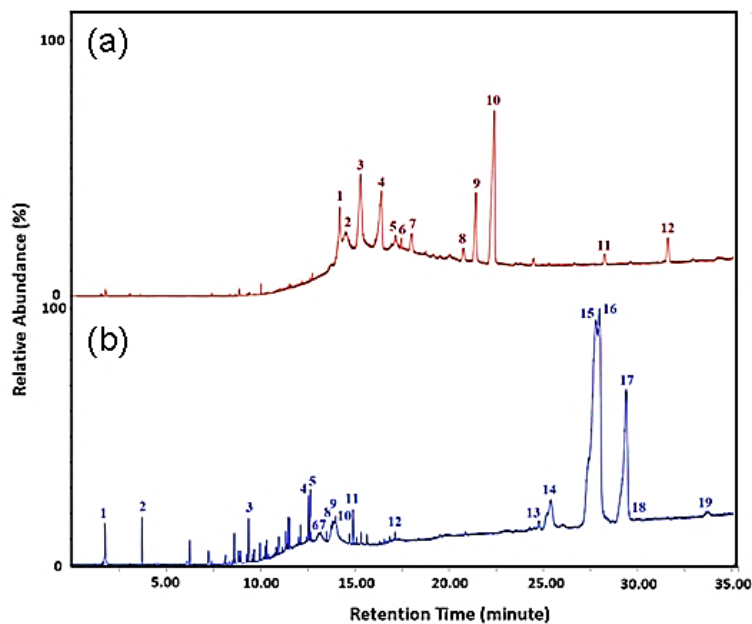
menunjukkan adanya peptida dengan berat molekul rendah dan asam amino. Kandungan protein yang ditemukan pada ekstrak cangkang udang mentah sangat berhubungan dengan kandungan asli dari protein dari cangkang udang vanamei mentah yang ditunjukkan pada spektra 1653 cm^{-1} dengan adanya gugus C=O amida (Gbenebor et al., 2017).

Analisis GC-MS pada Kedua Filtrat Hasil Ekstraksi

Senyawa yang ditunjukkan pada Gambar 3 (a) diidentifikasi dari kaldu pertama tanpa penambahan

bromelain namun ditambahkan larutan natrium klorida dan (b) menggunakan enzim bromelin, yaitu kaldu ke-2 untuk mendapatkan kaldu protein secara optimal. Hasil senyawa yang diprediksi ditunjukkan pada Tabel 3.

Senyawa yang didapatkan dari hasil ekstraksi ionik karena hidrolisis seperti yang ditunjukkan pada Gambar 1a. yang terdeteksi oleh instrumen GC-MS adalah dan asam lemak berturut-turut adalah asam oktadekanoat, eikosanoat (asam karboksilat); dietil n-heksadakil malonat (ester); glisidol stearat (ester); (asam karboksilat); N-metil-



Gambar 3. Kromatogram GC-MS kaldu (a) tanpa dan (b) dengan penambahan enzim bromelain
 Figure 3. Chromatogram GC-MS of flavoring powder without (a) and with (b) bromelain enzyme addition

Tabel 3. Hasil analisis GC-MS senyawa yang terdapat pada kaldu pertama dan kaldu kedua
 Table 3. GC-MS analysis results of first extracted flavoring and second extracted flavoring compound

No	Kaldu Pertama/First Extracted Flavor			Kaldu Kedua/Second Extracted Flavor		
	Waktu Retensi/ Retention Time	Luas/ Area (%)	Senyawa/ Compound	Waktu Retensi/ Retention Time	Luas/ Area (%)	Senyawa/ Compound
1	14.14	7.8	Asam Oktadekanoat/ Octadecanoic acid	1.74	0.49	Dimetilamina/ Dimethylamine
2	14.45	6.4	Asam 15-Hidroksipentadekanoat/ 15-Hydroxypentadecanoic acid	3.72	0.31	Metil disulfida/ Methyl disulfide
3	15.25	11.44	Asam Eikosoat/ Eicosanoic acid	9.38	0.18	2-Undekenal/2 -Undecenal
4	16.34	8.31	Diethyl n-heksadekil malonat/ Diethyl n-hexadecyl malonate	12.54	0.29	9-Octadekenal/ 9-Octadecenal
5	17.08	5.18	7a-Isopropenil-4,5- dimetiloktahidroindena-4-asam karboksilat/7a-Isopropenyl-4,5- dimethyloctahydroindene-4- carboxylic acid	12.65	0.2	Heksadekanal/ Hexadecanal
6	17.39	2.56	Asam Oktadekanoat/ Octadecanoic acid	13.09	0.33	Asam Oktadekanoat/ Octadecanoic acid
7	17.93	6.3	N-Metil-9- Fenantrenametanamina/ N-Methyl-9- phenanthrenemethanamine	13.21	0.18	Siklopentadekanol/ Cyclopentadecanol
8	21.32	2.27	Dietil n-heksadekil malonat/ Diethyl n-hexadecyl malonate	13.76	0.3	Asam Oktadekanoat/ Octadecanoic acid
9	22.3	6.58	Dimetil(dodek-2-eniloksi) heptiloksilana/Dimethyl(dodec-2- enyloxy) heptyloxysilane	13.83	0.32	Asam Oktadekanoat/ Octadecanoic acid
10	24.38	0.2	Sitosterol asetat/Sitosterol acetate	13.98	0.11	δ -tetradekalaktona/ δ -tetradecalactone
11	28.12	0.28	Dietil n-heksadekil malonat/ Diethyl n-hexadecyl malonate	14.91	0.21	Alil nonanoat/ Allyl nonanoic
12	31.45	0.77	16-Hentriakontanona/16- Hentriacontanone	17.14	0.17	AsamTetradekanedioat/ Tetradecanedioic acid
13				24.75	0.25	Dietil n-heksadekil malonat/ Diethyl n-hexadecyl malonate
14				25.39	2.73	cis-Asam Vaccenik/ cis-Vaccenic acid
15				27.98	30.00	7-Pentatriakontena/ 7-Pentatriacontene
16				29.39	8.98	18-Pentatriakontanona/ 18-Pentatriacontanone
17				30.03	0.67	Glisidol stearate/Glycidol stearate
18				30.27	0.46	cis-13-Asam Eikosoat/ cis-13-Eicosenoic acid
19				33.99	0.92	

9-fenantrenametanamina (amina). Senyawa ini disebabkan oleh penambahan larutan NaCl yang terion selama refluks pertama mengakibatkan mulainya cangkang terhidrasi untuk mengikat molekul air. Pelepasan senyawa flavor disebabkan oleh peningkatan mobilitas akibat proses refluks dan pemanasan, disertai dengan penurunan molekul air akibat terlarutnya senyawa flavor (Emorine et al., 2021). Senyawa heterosiklik yang diturunkan dari Maillard seperti furan (Hamid et al., 2013) dan oksidasi kelompok sistein-tiol dari timbal protein (Trnková et al., 2015). Reaksi Maillard termasuk pencoklatan non-enzimatik, yang memainkan peran penting dalam menghasilkan senyawa rasa yang mudah menguap saat dimasak (Hamid et al., 2013). Selanjutnya, senyawa yang tersisa didominasi oleh alkena, keton, dan eter, yang tersedia dengan persentase lebih tinggi, dimana senyawa alkena terkandung dalam cangkang udang (Trnková et al., 2015). Selain itu, senyawa keton dan eter berasal dari selulosa, seperti kitin dan kitosan (Younes & Rinaudo, 2015).

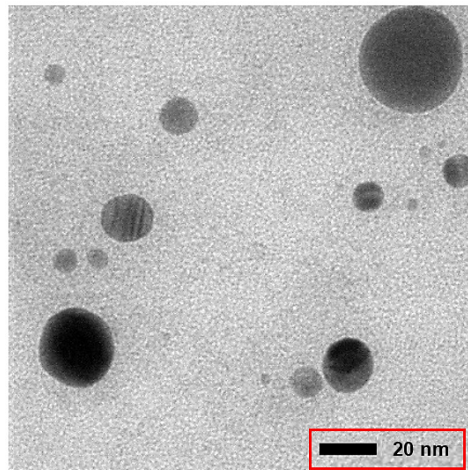
Identifikasi dari filtrat kedua dengan penambahan bromelain ditunjukkan pada Gambar 1b dengan adanya senyawa-senyawa hasil ekstraksi enzimatis atau isulfid. Senyawa-senyawa isulfid, dan dari waktu retensi terendah akibat adanya reaksi enzimatis menyebabkan sebagian besar senyawa amina. Trimethylamine adalah salah satu asam amino yang dihasilkan oleh enzim bromelain. Tanda penurunan kualitas ikan (udang), trimetilamina (TMA) adalah amina tersier yang berbentuk gas pada suhu kamar dan berbau khas ikan busuk. (Rengga et al., 2019). Oleh karena itu, sudah sepantasnya (Hamid et al., 2013) bahwa ikan segar memiliki nilai TMA yang rendah, rasa yang enak, dan secara umum diterima dengan baik. Proses oksidasi yang terlibat dalam ikatan silang protein yang rusak melalui produksi basa Schiff menghasilkan bahan kimia karbonil (keton dan aldehida). Aldehida, yang merupakan produk sampingan dari oksidasi lipid, dan gugus amino dari rantai samping protein bereaksi membentuk basa Schiff (Lorido et al., 2019; Trnková et al., 2015). Oleh karena itu, gangguan ikatan isulfid dan isulfid dengan memanaskan kaldu kedua pada suhu optimal enzim dapat menghasilkan pembentukan produk sulfida (Martins et al., 2014).

Berdasarkan sifat enzim bromelain sebagai enzim hidrolase, terutama pada kelompok proteinase sistein, akan memecah ikatan peptida dari protein hasil filtrat kaldu cangkang udang

menjadi asam amino (Rengga et al., 2019). Asam amino yang disebabkan oleh bromelain dapat berupa dimetilamina, dan senyawa ini telah diidentifikasi sebagai ekstrak cangkang udang. Analisis FT-IR menunjukkan puncak pada waktu retensi pertama dan kedua. Dimetilamina diidentifikasi sebagai amina sekunder, sedangkan trimetilamina adalah tersier. Keduanya mencerminkan tingkat degradasi senyawa protein yang teridentifikasi sebagai aroma spesifik udang (Cai et al., 2017). Adanya trimetilamina dalam bentuk gas menandakan penurunan kualitas udang dengan ciri khas bau busuk (Liu et al., 2021). Sesuai dengan (Hamid et al., 2013) bahwa ikan segar mengandung nilai TMA yang lebih rendah, rasa yang baik, dan sangat dapat diterima. Senyawa lainnya adalah sisa asam lemak rantai panjang dari kaldu pertama dan senyawa karbonil. Senyawa karbonil (keton dan aldehida) dihasilkan dari oksidasi protein yang terlibat dalam pengikatan silang protein yang rusak melalui pembentukan basa Schiff. Basa schiff adalah mekanisme reaksi antara produk oksidasi lipida (aldehida) dan gugus amino dari rantai samping protein (Lorido et al., 2019; Trnková et al., 2015). Senyawa sulfida dari kaldu kedua muncul dari proses pemanasan di atas suhu optimum enzim, yang mengganggu ikatan peptida dan disulfida (Martins et al., 2014). Hal ini juga didukung oleh adanya struktur amida atau amina yang terbentuk melalui ikatan hidrogen intramolekul antara gugus karbonil oksigen (-CO) dan amino hidrogen (NH-) di antara rantai polipeptida (Li et al, 2022).

Analisis TEM

Analisis TEM digunakan untuk mengetahui morfologi dan mengamati detail struktur permukaan bagian dalam serbuk penyedap rasa dari cangkang udang putih yang telah diisi tepung terigu dan tepung jagung serta bahan tambahan. Hasil analisis morfologi permukaan serbuk penyedap rasa dengan pembesaran 20 nm disajikan pada Gambar 4. Bentuknya bulat dengan diameter ukuran partikel didominasi 10 nm, sebanyak 41,6% dari variasi ukuran 5-25 nm pada ukuran partikel bubuk penyedap dari udang putih. Ukuran partikel yang bervariasi disebabkan karena penghalusan bubuk penyedap hanya menggunakan mortar tanpa proses homogenisasi. Sifat fisik bumbu makanan nabati mengandung partikel kecil terbesar dengan diameter <0,5 mm (68,11-84,04%) (Tahmaz et al., 2022).



Gambar 4. Hasil analisis morfologi serbuk penyedap rasa
 Figure 4. Morphology of flavoring powder

Demikian pemanfaatan limbah cangkang udang dan segar yang dimanfaatkan menggunakan larutan garam dan enzim proteolitik. Kaldu yang diperoleh masih mengandung protein berupa amina dan lemak minyak berupa asam lemak udang (C15 sampai C20). Campuran kaldu dan rempah-rempah, serta tepung terigu dan jagung dapat memberikan rasa dan aroma pada udang dengan ukuran partikel nano dan tidak menggumpal, yang dapat digunakan sebagai aplikasi produk pangan dari alam.

KESIMPULAN

Limbah cangkang udang (*L. vannamei*) yang diekstraksi dengan metode refluks dengan bantuan katalis enzim bromelain menghasilkan filtrat yang mengandung protein berupa senyawa dimetilamina dan trimetilamina, serta asam lemak cangkang udang yang memberikan rasa penyedap udang. Formulasi filtrat dan bahan pendukung diramu menjadi serbuk penyedap rasa pada kondisi operasi optimal suhu sebesar 55°C dengan konsentrasi enzim bromelain 2% selama 1,5 jam dengan kadar protein 28,84%, dan kadar air 11,11%. Ukuran partikel serbuk penyedap rasa mencapai 5 s.d 25 nm yang memudahkan proses pelarutan pada aplikasinya.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Universitas Negeri Semarang pada Laboratorium Teknik Kimia, dan Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi Republik Indonesia dengan dana penelitian no 2.23.4/UN37/PPK.3.1/2020, April 23, 2020.

DAFTAR PUSTAKA

- Ambigaipalan, P., & Shahidi, F. (2017). Bioactive peptides from shrimp shell processing discards: Antioxidant and biological activities. *Journal of Functional Foods*, 34, 7-17. doi: 10.1016/j.jff.2017.04.013
- Amiguet, V. T., Kramp, K. L., Mao, J., McRae, C., Goulah, A., Kimpe, L. E., Blais, J. M., & Arnason, J. T. (2012). Supercritical carbon dioxide extraction of polyunsaturated fatty acids from Northern shrimp (*Pandalus borealis* Kreyer) processing by-products. *Food Chemistry*, 130(4), 853-858. doi: 10.1016/j.foodchem.2011.07.098
- Borzova, V. A., Markossian, K. A., Chebotareva, N. A., Kleyenov, S. Y., Poliansky, N. B., Muranov, K. O., Stein-Margolina, V.A., Shubin, V.V., Markov, D.I. & Kurganov, B. I. (2016). Kinetics of thermal denaturation and aggregation of bovine serum albumin. *PLoS one*, 11(4), e0153495. doi: 10.1371/journal.pone.0153495
- Bougatef A. (2013). Trypsins from fish processing waste: characteristics and biotechnological applications-comprehensive review. *Journal of Cleaner Production*. 57, 257-265. doi: 10.1016/j.jclepro.2013.06.005
- Cai, L., Wang, Q., Dong, Z., Liu, S., Zhang, C., & Li, J. (2017). Biochemical, nutritional, and sensory quality of the low salt fermented shrimp paste. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 26(6), 706-718. doi: 10.1080/10498850.2016.1276111
- Dayakar, B., Xavier, K. M., Ngasotter, S., Layana, P., Balange, A. K., Priyadarshini, B., & Nayak, B. B. (2022). Characterization of spray-dried carotenoprotein powder from Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) shells and head waste extracted using papain: Antioxidant, spectroscopic, and microstructural properties. *LWT*, 159, 113188. doi: 10.1016/j.lwt.2022.113188
- Emorine, M., Septier, C., Martin, C., Cordelle, S., Sémon, E., Thomas-Danguin, T., & Salles, C. (2021). Salt and aroma compound distributions influence flavour release and temporal perception while eating hot-

- served flans. *Molecules*, 26(5), 1300. doi:10.3390/molecules26051300
- Fu X., Zhu L., Li L., Zhang T., Li M., Mou H. (2019). Eco-friendly preparation of chitooligosaccharides with different degrees of deacetylation from shrimp shell waste and their effects on the germination of wheat seeds. *Marine Life Science & Technology*. (1), 95–103. doi:10.1007/s42995-019-00012-3
- Gbenebor, O. P., Adeosun, S. O., Lawal, G. I., Jun, S., & Olaleye, S. A. (2017). Acetylation, crystalline and morphological properties of structural polysaccharide from shrimp exoskeleton. *Engineering Science and Technology, an International Journal*, 20(3), 1155-1165. doi: 10.1016/j.jestch.2017.05.002
- Hamid, M. A., Wang, X., & Zhao, X. (2013). Measurement of trimethylamine contents and evaluation of pig meat natural quality by spectrophotometric method. *Scientific Research and Essays*, 8(47), 2281-2288. doi:10.5897/SRE11.2195
- Haque, R., Sawant, P. B., Sardar, P., Xavier, K. M., Varghese, T., Chadha, N. K., Pattanaik, S. S, Jana, P. & Naik, V. A. (2021). Synergistic utilization of shrimp shell waste-derived natural astaxanthin with its commercial variant boosts physio metabolic responses and enhances colouration in discus (*Symphysodon aequifasciatus*). *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, 15, 100405. doi: 10.1016/j.enmm.2020.100405
- Hongkulsup, C., Khutoryanskiy, V. V., & Niranjana, K. (2016). Enzyme assisted extraction of chitin from shrimp shells (*Litopenaeus vannamei*). *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 91(5), 1250-1256. doi:10.1002/jctb.4714
- Kim Y., Park R. D. (2015). Progress in bioextraction processes of chitin from crustacean biowastes. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 58 545–554. doi:10.1007/s13765-015-0080-4
- Kimbuathong, N., Leelaphiwat, P., & Harnkarnsujarit, N. (2020). Inhibition of melanosis and microbial growth in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) using high CO₂ modified atmosphere packaging. *Food Chemistry*, 312, 126114. doi: 10.1016/j.foodchem.2019.126114
- Kumar, M., Tomar, M., Potkule, J., Verma, R., Punia, S., Mahapatra, A., Belwal, T., Dahuja, A., Joshi, S., Berwal, M. K., Sarankar, V., Bhoite, A. G., Kaur, C., & Kennedy, J. F. (2021). Advances in the plant protein extraction: Mechanism and recommendations. *Food Hydrocolloids*, 115, 106595. doi: 10.1016/j.foodhyd.2021.106595
- Li, H., Zheng, R., Zuo, F., Qian, C., Yao, Z., Dong, R., Zhao, D., & Li, C. (2022). Influence of Proteolysis on the Binding Capacity of Flavor Compounds to Myofibrillar Proteins. *Foods*, 11(6), 891. doi:10.3390/foods11060891
- Liu, Z., Liu, Q., Wei, S., Sun, Q., Xia, Q., Zhang, D., Shi., W., Ji, H & Liu, S. (2021). Quality and volatile compound analysis of shrimp heads during different temperature storage. *Food chemistry: X*, 12, 100156. doi: 10.1016/j.fochx.2021.100156
- Lorido, L., Pizarro, E., Estévez, M., & Ventanas, S. (2019). Emotional responses to the consumption of dry-cured hams by Spanish consumers: A temporal approach. *Meat science*, 149, 126-133. doi: 10.1016/j.meatsci.2018.11.015
- Martins, B. C., Rescolino, R., Coelho, D. F., Zanchetta, B., Tambourgi, E. B., & Silveira, E. (2014). Characterization of bromelain from ananas comosus agroindustrial residues purified by ethanol fractional precipitation. *Chemical engineering transactions*, 37, 781-786. doi:10.3303/CET1437131
- Mizani, M. A. R. Y. A. M., Aminlari, M., & Khodabandeh, M. (2005). An effective method for producing a nutritive protein extract powder from shrimp-head waste. *Food science and technology international*, 11(1), 49-54. doi: 10.1177/1082013205051271
- Mohan, R., Sivakumar, V., Rangasamy, T., & Muralidharan, C. (2016). Optimisation of bromelain enzyme extraction from pineapple (*Ananas comosus*) and application in process industry. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 12(3), 188-195. doi:10.3844/ajbbsp.2016.188.195
- Nanda, E. V., Pratiwi, Y., & Putri, E. R. (2022, July). Characteristic and Photostability of Astaxanthin Extract from Shrimp Shells by Microwave Assisted Extraction Using Nades Solvent. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 2309, No. 1, p. 012036). IOP Publishing. doi: 10.1088/1742-6596/2309/1/012036
- Pattanaik, S. S., Sawant, P. B., KA, M. X., Srivastava, P. P., Dube, K., Sawant, B. T., & Chadha, N. K. (2021). Dietary carotenoprotein extracted from shrimp shell waste augments growth, feed utilization, physio-metabolic responses and colouration in Oscar, *Astronotus ocellatus* (Agassiz, 1831). *Aquaculture*, 534, 736303. doi: 10.1016/j.aquaculture.2020.736303
- Pattanaik, S. S., Sawant, P. B., Xavier, K. M., Dube, K., Srivastava, P. P., Dhanabalan, V., & Chadha, N. K. (2020). Characterization of carotenoprotein from different shrimp shell waste for possible use as supplementary nutritive feed ingredient in animal diets. *Aquaculture*, 515, 734594, doi:10.1016/j.aquaculture.2019.734594
- Plotka-Wasyłka, J., Rutkowska, M., Owczarek, K., Tobiszewski, M., & Namieśnik, J. (2017). Extraction with environmentally friendly solvents. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 91, 12-25. doi: 10.1016/j.trac.2017.03.006
- Poonsin, T., Simpson, B. K., Benjakul, S., Visessanguan, W., & Klomklao, S. (2017). Albacore tuna (*Thunnus alalunga*) spleen trypsin partitioning in an aqueous two-phase system and its hydrolytic pattern on Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) shells. *International Journal of Food Properties*, 20(10), 2409-2422. doi:10.1080/10942912.2016.1240180
- Prasetyaningsih, A., Najoran, G. C., Wisaksono, A., & Rahardjo, D. (2021). Ekstraksi Astaxanthin Kulit Udang (*Litopenaeus vannamei*) Pantai Gunung Kidul Menggunakan Pelarut Minyak Bunga Matahari dan Etanol. *Jurnal Ilmiah Biosaintropis (Bioscience-Tropic)*, 7(1), 33-43. doi: 10.33474/e-jbst.v7i1.384

- Raghavan, S. (2006). Handbook of spices, seasonings, and flavorings. CRC press
- Rengga, W. D. P., Salsabiil, K. A., Oktavia, S. E., & Ansori, M. (2019, November). Flavored powder from shrimp shells with bromelain enzymatic process and adding of flour and spices. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 1367, No. 1, p. 012080). IOP Publishing. doi: 10.1088/1742-6596/1367/1/012080
- Robinson, P. K. (2015). *Enzymes: principles and biotechnological applications*. Essays in biochemistry, 59, 1.
- Rodrigues, R. C., Ortiz, C., Berenguer-Murcia, Á., Torres, R., & Fernández-Lafuente, R. (2013). Modifying enzyme activity and selectivity by immobilization. *Chemical Society Reviews*, 42(15), 6290-6307. doi: 10.1039/c2cs35231a
- Setiati, R., Siregar, S., Wahyuningrum, D., & Rinanti, A. (2021, April). Synthesis method of chitin become chitosan polymer from shrimp shells for enhanced oil recovery. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 737, No. 1, p. 012048). IOP Publishing. doi:10.1088/1755-1315/737/1/012048
- Sowmya, R., & Sachindra, N. M. (2012). Evaluation of antioxidant activity of carotenoid extract from shrimp processing by-products by in vitro assays and in membrane model system. *Food Chemistry*, 134(1), 308-314. doi: 10.1016/j.foodchem.2012.02.147
- Suryawanshi, N., Ayothiraman, S., & Eswari, J. S. (2020). Ultrasonication mode for the expedition of extraction process of chitin from the maritime shrimp shell waste. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics (IJBB)*, 57(4), 431-438. doi: 10.56042/ijbb.v57i4.29626
- Tahmaz, J., Begić, M., Oručević Žuljević, S., Mehmedović, V., Alkić-Subašić, M., Jurković, J., & Djulančić, N. (2022, May). In *10th Central European Congress on Food: Proceedings of CE-Food 2020* (pp. 14-32). doi:10.1007/978-3-031-04797-8_2
- Trnková, L., Dršata, J., & Boušová, I. (2015). Oxidation as an important factor of protein damage: Implications for Maillard reaction. *Journal of biosciences*, 40(2), 419-439. doi:10.1007/s12038-015-9523-7
- Wijayanti, I., Romadhon, R., & Rianingsih, L. (2016). Karakteristik Hidrolisat Protein Ikan Bandeng (*Chanos chanos* Forsk) dengan Konsentrasi Enzim Bromelin yang Berbeda Characteristic of Milkfish (*Chanos chanos* Forsk) Protein Hydrolysate as effect of Different Bromelin Enzyme Concentration. *Saintek Perikanan: Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology*, 11(2), 129-133. doi:10.14710/ijfst.11.2.129-133
- Wyban, J. (2019). Selective breeding of *Penaeus vannamei*: impact on world aquaculture and lessons for future. *Journal of Coastal Research*, 86(SI), 1-5. <https://doi.org/10.2112/SI86-001.1>
- Xin, R., Wancui, X., Zhiying, X., Hongxia, C., Zuoxing, Z., and Xihong, Y. (2020). Efficient extraction of chitin from shrimp waste by mutagenized strain fermentation using atmospheric and room-temperature plasma. *International Journal of Biological Macromolecules*. 155, 1561–1568. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.11.133
- Younes, I., & Rinaudo, M. (2015). Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications. *Marine drugs*, 13(3), 1133-1174. doi: 10.3390/md13031133