



**PENGGUNAAN HIGH HYDROSTATIC PRESSURE (HHP) UNTUK
INAKTIVASI ENZIM UREASE DAN LIPOKSIGENASE
PADA PUREE EDAMAME**

SKRIPSI

Oleh

**Fatkur Rohman
NIM 121710101086**

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2018**



**PENGGUNAAN HIGH HYDROSTATIC PRESSURE (HHP) UNTUK
INAKTIVASI ENZIM UREASE DAN LIPOKSIGENASE
PADA PUREE EDAMAME**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Teknologi Hasil Pertanian (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Teknologi Pertanian

Oleh

**Fatkhur Rohman
NIM 121710101086**

Dosen Pembimbing:

**Dosen Pembimbing Utama : Dr. Ir. Jayus
Dosen Pembimbing Anggota : Ir. Muhammad Fauzi, M.Si.**

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2018**

PERSEMBAHAN

Syukur Alhamdulillah kepada Allah SWT. atas segala rahmat, hidayah serta inayah-Nya sehingga pada akhirnya diberikan kelancaran dalam menyelesaikan skripsi ini. Skripsi ini saya persembahkan kepada:

1. Ayahanda Bunamin dan Ibunda Siti Munawaroh atas cinta dan kasih yang selalu mengalir tanpa batas, selalu mendoakanku dan memberikan dukungan dalam segala hal;
2. Kakaku Mohammad Rofi'i dan Sofyan Hadi Purwanto, S.E., M.T. yang selalu mendoakan dan memberikan dukungan padaku;
3. Keluarga besar Bani Sarjan serta para saudaraku yang selalu memberikan semangat di mana pun dan kapan pun;
4. Guru-guruku sejak taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi;
5. Jajaran Dekanat Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember;
6. Almamater Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember.

MOTTO

"Bacalah dengan (menyebut) nama Tuhanmu yang menciptakan. Dia telah menciptakan manusia dari segumpal darah. Bacalah, dan Tuhanmulah Yang Maha Mulia. Yang mengajar (manusia) dengan pena. Dia mengajarkan manusia apa yang tidak diketahuinya."

(QS. Al-'Alaq, [96] : 1-5)

"Bila kaum muda yang telah belajar di sekolah menganggap dirinya terlalu tinggi dan pintar untuk melebur dengan masyarakat yang bekerja dengan cangkul dan hanya memiliki cita-cita yang sederhana, maka lebih baik pendidikan itu tidak diberikan sama sekali"

(Tan Malaka)

"Ngluruk Tanpa Bala, Menang Tanpa Ngasorake, Sekti Tanpa Aji-Aji, Sugih Tanpa Bandha -- Berjuang tanpa perlu membawa massa; Menang tanpa merendahkan atau mempermalukan; Berwibawa tanpa mengandalkan kekuasaan, kekuatan, kekayaan atau keturunan; Kaya tanpa didasari kebendaan"

(Sunan Kalijaga)

PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Fatkhur Rohman

NIM : 121710101086

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul **“Penggunaan High Hydrostatic Pressure (HHP) untuk Inaktivasi Enzim Urease dan Lipokksigenase pada Puree Edamame”** adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang dijunjung tinggi.

Dengan pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 11 Desember 2017

Yang menyatakan,



Fatkhus Rohman

NIM.121710101086

SKRIPSI

**PENGGUNAAN *HIGH HYDROSTATIC PRESSURE (HHP)* UNTUK
INAKTIVASI ENZIM UREASE DAN LIPOKSIGENASE
PADA PUREE EDAMAME**

Oleh

**Fatkhur Rohman
NIM 121710101086**

Dosen Pembimbing:

**Dosen Pembimbing Utama : Dr. Ir. Jayus
Dosen Pembimbing Anggota : Ir. Muhammad Fauzi, M.Si.**

PENGESAHAN

Skripsi berjudul "**Penggunaan High Hydrostatic Pressure (HHP) untuk Inaktivasi Enzim Urease dan Lipokksigenase pada Puree Edamame**" karya Fatkhur Rohman NIM 121710101086 telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember pada:

Hari, tanggal : Selasa, 28 November 2017

Tempat : Ruang Sidang 2 Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember

Dosen Pembimbing Utama

Dr. Ir. Jayus
NIP. 196805161992031004

Dosen Pembimbing Anggota

Ir. Muhammad Fauzi, M.Si.
NIP. 196307011989031004

Penguji I

Dr. Ir. Sih Yuwanti, M.P.
NIP. 196507081994032002

Penguji II

Dr. Nurhayati, S.TP., M.Si.
NIP. 197904102003122004

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Jember



Drs. Syahyo Soekarno S.TP., M.Eng.
NIP. 196809231994031009

RINGKASAN

Penggunaan High Hydrostatic Pressure (HHP) untuk Inaktivasi Enzim Urease dan Lipoksigenase pada Puree Edamame; Fatkhur Rohman, 121710101086; 2017; 60 halaman; Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Kedelai sayur (*vegetable soybean*) atau lebih populer dengan nama “edamame” termasuk spesies *Glycine max* L. Sesuai dengan namanya, kedelai sayur adalah jenis kedelai yang dipanen ketika polongnya masih muda dan hijau, yakni ketika pengisian biji mencapai 80-90% atau sudah hampir penuh. Edamame memiliki produktivitas tinggi di mana satu hektar bisa menghasilkan \pm 10 – 12 ton. Hal ini jauh lebih tinggi di atas rata-rata jenis kedelai lainnya yang berkisar 1,5– 3 ton per hektar. Kabupaten Jember merupakan salah satu daerah penghasil edamame terbesar di Indonesia. Melalui PT. Mitra Tani Dua Tujuh, salah satu anak usaha PT. Perkebunan Nusantara (PTPN) X, pada tahun 2015 ekspor edamame mencapai 6.016 ton, naik sekitar 47% dibanding ekspor tahun 2014 sebesar 4.097 ton. Melihat tingginya produktivitas edamame, perlu dilakukan pengembangan produk baru yang memiliki nilai jual tinggi.

Edamame mengandung nilai gizi yang tinggi. Dalam 100 g edamame mengandung 582 kkal, protein 11,4 g, karbohidrat 7,4 g, lemak 6,6 g, vitamin A 100 mg, B1 0,27 mg, B2 0,14 mg, B3 1 mg, dan vitamin C 27%. Selain dikonsumsi secara langsung setelah diblanching, edamame dapat diolah menjadi puree (bubur buah) yang merupakan produk setengah jadi sebagai bahan baku pembuatan sari edamame. Puree edamame memiliki sifat *perishable* (mudah rusak) sehingga tidak tahan lama apabila disimpan pada suhu kamar maka perlu dilakukan perlakuan pengawetan. Teknologi pengawetan non termal seperti *High Hydrostatic Pressure* (HHP) diharapkan mampu memperpanjang masa simpan puree edamame. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh tekanan dan waktu HHP serta perlakuan HTST terhadap daya simpan puree edamame berdasarkan aktivitas enzim urease, enzim lipoksigenase, warna, dan total mikroba pada puree edamame selama penyimpanan di refrigerator.

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental dengan empat tahap, yaitu: 1) pembuatan puree edamame, 2) perlakuan HTST, 3) perlakuan *high hydrostatic pressure* (HHP), dan 4) uji aktivitas enzim urease dan lipoksgigenase, pengukuran warna dan uji total mikroba (TPC). Rancangan penelitian menggunakan 2 faktor dengan 2 pengulangan. Faktor-faktor yang digunakan yaitu waktu tekanan (10 dan 30 menit) dan kuat tekanan (50 dan 200 MPa). Suhu masing-masing perlakuan (suhu air di tangki HHP) adalah 40 °C. Puree edamame yang digunakan adalah puree edamame tanpa perlakuan HTST dan puree edamame dengan perlakuan HTST pada 100 °C selama 10 detik. Pengolahan data penelitian dilakukan secara deskriptif yang dilengkapi dengan data dalam bentuk table dan grafik serta dikomparasi dengan literatur.

Hasil analisis menunjukkan bahwa variasi lama dan kuat tekanan dapat menurunkan aktivitas enzim urease dan lipoksgigenase. Setelah penyimpanan selama 13 hari, sampel NH-T2P2 (non HTST, 30 menit, 200 MPa) memiliki aktivitas enzim urease sebesar 0,09 pH Unit (menurun 92,11%) dan aktivitas lipoksgigenase 24,5 U/mL (menurun 87,12%). Sampel H-T2P2 (HTST, 30 menit, 200 MPa) memiliki aktivitas enzim urease sebesar 0,07 pH Unit (menurun 93,86%) dan aktivitas lipoksgigenase 20,5 U/mL (menurun 71,33%). Selama penyimpanan, terjadi penurunan nilai *hue angle*. Sample NH-T2P2 dan H-T2P2 mengalami penurunan paling rendah yaitu 152,36 (menurun 1,92%) dan 150,54 (menurun 2,8%). Mikroba mengalami perlambatan pertumbuhan. Pada hari ke-13 sampel NH-T2P2 memiliki total mikroba 3×10^4 CFU/mL dan sampel H-T2P2 $1,25 \times 10^4$ CFU/mL.

SUMMARY

Using High Hydrostatic Pressure (HHP) for Urease and Lipoxygenase Inactivation on Edamame Puree; Fatkhur Rohman, 121710101086; 2017; 60 pages; Department of Agricultural Product Technology Faculty of Agricultural Technology University of Jember.

Vegetable soybean called as "edamame" is species of *Glycine max* L. As the name, vegetable soybean is a type of soybeans are harvested when the pods are still young and green, while the seed is reaching 80-90% or almost full. Edamame has high productivity where one hectare can produce ± 10 - 12 tons. This is much higher than the average of other soybean varieties that the ranging from 1.5 to 3 tons per hectare. Jember City is one of the largest edamame producing regions in Indonesia. Through PT. Mitra Tani Dua Tujuh, one of the subsidiaries of PT. Perkebunan Nusantara (PTPN) X, in 2015 edamame export reached 6016 tons, it was up about 47% compared to 2014 export of 4,097 tons. Given the high productivity of edamame, it is necessary to develop a new product that has high selling value.

Edamame contains high nutrients. In 100 g of edamame contains 582 kcal, 11.4 g of protein, 7.4 g of carbohydrate, 6.6 g of fat, 100 mg of vitamin A, 0.27 mg of B1, 0.14 mg of B2, 1 mg of B2, and 27% of vitamin C. Edamame is consumed directly after blanching process, it can be processed into puree which is a semi-finished product as raw material of edamame extract. Edamame puree is a perishable product so it is not durable when stored at room temperature so it needs to be preserved. Non-thermal preservation technology such as High Hydrostatic Pressure (HHP) is expected to support the shelf life of edamame puree. The objective of these studies was to investigate the effect of HHP's time and pressure and HTST treatment on the shelf of edamame puree based on urease activity, lipoxygenase activity, color, and total microbial on edamame puree during storage in the refrigerator.

This research was conducted experimentally with four stages, i.e: 1) making of edamame puree, 2) treatment of HTST, 3) high hydrostatic pressure (HHP) treatment, and 4) measurement of urease and lipoxygenase activity, color and total microbial test (TPC test). The study design used two factors with two repetitions. The first factor was pressure time (10 and 30 minutes) and the second factor was pressure strength (50 and 200 MPa). The temperature of each treatment (temperature of water in the HHP tank) was 40 °C. There were two kinds of edamame puree i.e. native puree and HTST puree. The HTST puree was conducted at 100 °C for 10 seconds. The data were analyzed descriptively and shown in tables and graphs and it was compared to literature.

The results showed that the variation of duration and strength of pressure can decreased the urease and lipoxygenase activity. After 13 days of storage, NH-T2P2 sample (non HTST, 30 min, 200 MPa) had the urease activity of 0.09 pH Unit (decreased 92.11%) and 24.5 U/mL of lipoxygenase activity (decreased 87, 12%). H-T2P2 sample (HTST, 30 min, 200 MPa) had the urease activity of 0.07 pH Unit (decreased 93.86%) and lipoxygenase activity of 20.5 U/mL (decreased 71.33%). During storage, hue angle was decrease. NH-T2P2 and H-T2P2 sample were the lowest one which 152.36 (decreased 1.92%) and 150.54 (decreased 2.8%). Microbes growth slowly. On the 13th day, NH-T2P2 sample had of 3×10^4 CFU/mL of microbes and 1.25×10^4 CFU/mL of H-T2P2 sample.

PRAKATA

Segala puji dan syukur kepada Allah SWT karena berkat rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyusun dan menyelesaikan skripsi yang berjudul “Penggunaan *High Hydrostatic Pressure* (HHP) untuk Inaktivasi Enzim Urease dan Lipoksigenase pada Puree Edamame”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan Strata Satu (S1) pada Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Selama dalam menyusun skripsi ini, tidak jarang penulis mengalami kesulitan, kekalutan serta kekecewaan, namun puji syukur kepada Allah SWT, karena banyak bantuan yang tidak ternilai dari berbagai pihak baik moral maupun spiritual, fasilitas maupun bimbingan. Untuk itu penulis mengucapkan terima kasih setinggi-tingginya kepada :

1. Dr. Siswoyo Soekarno, S.TP., M. Eng. selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember;
2. Ir. Giyarto, M.Sc. selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember;
3. Dr. Ir. Jayus selaku Dosen Pembimbing Utama (DPU) yang selalu membimbing dan selalu melancarkan setiap usaha saya;
4. Ir. Muhammad Fauzi, M.Si. selaku Dosen Pembimbing Anggota (DPA) yang selalu membimbing dan memberikan saran bagi penulisan skripsi ini;
5. Prof. Shinjiro Ogita selaku Dosen Pembimbing di *Department of Life Sciences, Faculty of Life and Environmental Sciences, Prefectural University of Hiroshima*, Jepang;
6. Dr. Ir. Sih Yuwanti, M.P. dan Dr. Nurhayati, S.TP., M.Si. selaku Penguji Utama dan Penguji Anggota yang meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan saran serta arahan yang bermanfaat;
7. Bapak dan Ibu Dosen beserta segenap civitas akademik di lingkup Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember;

8. Ayahanda Bunamin dan Ibunda Siti Munawaroh atas cinta dan kasih yang selalu mengalir tanpa batas, selalu sabar, terus mendoakanku dan selalu memberikan dukungan dalam segala hal;
9. Kakakku Mohammad Roffi'i dan Sofyan Hadi Purwanto, S.E., M.T. yang selalu memberikan dukungan dan keceriaan padaku;
10. Keluarga besar Bani Sarjan dan para saudaraku yang selalu memberikan semangat dimanapun dan kapanpun;
11. Sahabat-sahabat terkasih M. Abduh Amiruddin (aka. Kober), Dheni Antra Pusuma (aka. Selang), Tri Wicaksono (aka. Cuyu), Robby Dwi Dharmawan, Rizaldy Adhisky dan Mila Damanik A. yang selalu memberikan semangat dan dukungan yang membangun di setiap langkahku;
12. Sahabatku Nirmala Yulisningati yang selalu mewarnai hari-hariku dan banyak membantu selama kuliah serta partner dalam menggapai cita-cita di negeri Sakura;
13. Mas Muhammad Ichsan yang selalu mendukung dalam hal moril dan material untuk menjalani kehidupan perkuliahan;
14. Dulur-dulur UKM-K Dolanan yang selalu menemani dan mendukung dalam berproses dan berkarya;
15. Teman-teman THP-B (The Bida), FTP angkatan 2012, dan lingkungan FTP yang telah memberikan semangat, doa, dan motivasi;
16. Semua pihak yang telah memberikan dukungan serta membantu pelaksanaan skripsi ataupun dalam penulisannya sehingga dapat terselesaikan dengan baik.

Dengan sepenuh hati penulis menyadari bahwa dalam penulisan ini terdapat banyak kekurangan dan ketidak sempurnaan. Oleh karena itu penulis selalu membuka diri terhadap kritik dan saran demi penyempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat memberi manfaat dan sumbangan ilmiah yang sebesar-besarnya bagi penulis dan pembaca.

Jember, 11 Desember 2017

Penulis

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|--|-------------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| HALAMAN PERSEMBAHAN | ii |
| HALAMAN MOTTO | iii |
| HALAMAN PERNYATAAN..... | iv |
| HALAMAN PEMBIMBING | v |
| HALAMAN PENGESAHAN..... | vi |
| RINGKASAN | vii |
| SUMMARY | ix |
| PRAKATA | xi |
| DAFTAR ISI..... | xiii |
| DAFTAR TABEL | xv |
| DAFTAR GAMBAR..... | xvi |
| DAFTAR LAMPIRAN..... | xvii |
| BAB 1. PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah | 3 |
| 1.3 Tujuan..... | 4 |
| 1.4 Manfaat | 4 |
| BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA..... | 5 |
| 2.1 Deskripsi dan Kandungan Gizi Edamame | 5 |
| 2.2 Deskripsi Puree | 6 |
| 2.3 Karakteristik Enzim Urease | 7 |
| 2.4 Karakteristik Enzim Lipoksgenase..... | 8 |
| 2.5 Metode <i>High Hydrostatic Pressure</i> (HHP) | 9 |
| 2.5.1 Deskripsi HHP | 9 |
| 2.5.2 Aplikasi HHP dalam Industri | 11 |
| 2.5.3 Efek HHP Terhadap Enzim..... | 11 |
| 2.5.4 Efek HHP Terhadap Mikroba | 12 |

| | |
|---|-----------|
| BAB 3. METODE PENELITIAN..... | 15 |
| 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian..... | 15 |
| 3.2 Bahan dan Alat Penelitian..... | 15 |
| 3.2.1 Bahan Penelitian | 15 |
| 3.2.2 Alat Penelitian..... | 15 |
| 3.3 Pelaksanaan Penelitian..... | 16 |
| 3.3.1 Rancangan Penelitian..... | 16 |
| 3.3.2 Pelaksanaan Penelitian..... | 16 |
| 3.3.3 Analisis Data..... | 20 |
| 3.4 Parameter Pengamatan | 20 |
| 3.5 Prosedur Pengukuran Parameter | 20 |
| 3.5.1 Aktivitas Enzim Urease | 20 |
| 3.5.2 Aktivitas Enzim Lipoksgigenase | 21 |
| 3.5.3 Perhitungan <i>Hue Angle</i> | 21 |
| 3.5.4 <i>Color Scanning</i> | 22 |
| 3.5.5 <i>Total Plate Count (TPC)</i> | 23 |
| BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN..... | 24 |
| 4.1 Aktivitas Enzim Urease Puree Edamame..... | 24 |
| 4.2 Aktivitas Enzim Lipoksgigenase Puree Edamame | 27 |
| 4.3 Nilai <i>Hue Angle</i> Puree Edamame... | 29 |
| 4.4 Total Mikroba Puree Edamame | 33 |
| BAB 5. PENUTUP..... | 35 |
| 5.1 Kesimpulan..... | 35 |
| 5.2 Saran | 35 |
| DAFTAR PUSTAKA | 36 |
| LAMPIRAN..... | 42 |

DAFTAR TABEL

| | Halaman |
|---|---------|
| 2.1 Kandungan gizi edamame | 5 |
| 2.2 Produk-produk yang menggunakan HHP | 11 |
| 2.3 Faktor yang mempengaruhi inaktivasi mikroba..... | 13 |
| 3.1 Kombinasi waktu (T), kekuatan tekanan (P), dan perlakuan HTST | 16 |
| 3.2 Deskripsi warna berdasarkan <i>hue angle</i> | 22 |
| 4.1 Nilai <i>hue angle</i> puree edamame tanpa pemanasan | 30 |
| 4.2 Nilai <i>hue angle</i> puree edamame dengan pemanasan..... | 31 |
| 4.3 Hasil <i>color scanning</i> puree edamame selama penyimpanan..... | 31 |
| 4.4 Total mikroba pada puree edamame tanpa pemanasan | 33 |
| 4.5 Total mikroba pada puree edamame dengan pemanasan..... | 33 |

DAFTAR GAMBAR

| | Halaman |
|---|---------|
| 2.1 Puree edamame | 7 |
| 2.2 Reaksi kimia enzim urease..... | 7 |
| 2.3 Reaksi kimia enzim lipoksgenase | 8 |
| 2.4 Mesin HHP horizontal | 10 |
| 2.5 Sistem HHP untuk produk cair | 10 |
| 2.6 Pengaruh lama dan kuat tekanan HHP terhadap mikroba..... | 14 |
| 4.1 Aktivitas enzim urease puree edamame tanpa HTST | 24 |
| 4.2 Aktivitas enzim urease puree edamame dengan HTST | 25 |
| 4.3 Pengaruh HTST dan HHP terhadap aktivitas enzim urease | 26 |
| 4.4 Aktivitas spesifik enzim lipoksgenase puree edamame tanpa HTST | 27 |
| 4.5 Aktivitas spesifik enzim lipoksgenase puree edamame dengan HTST | 28 |
| 4.6 Pengaruh HTST dan HHP terhadap spesifik enzim lipoksgenase | 29 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | Halaman |
|---|-----------|
| A. Data Uji Aktivitas Urease Puree Edamame sebelum Proses HHP | 42 |
| A.1 Data Uji Aktivitas Urease Puree Edamame dengan HTST | 42 |
| A.2 Data Uji Aktivitas Urease Puree Edamame tanpa HTST | 42 |
| A.3 Contoh Perhitungan Uji Aktivitas Urease | 42 |
| B. Data Uji Aktivitas Urease Puree Edamame Selama Penyimpanan..... | 43 |
| B.1 Data Uji Aktivitas Urease Puree Edamame dengan HTST | 43 |
| B.2 Data Uji Aktivitas Urease Puree Edamame dengan HTST (Lanjutan) ... | 44 |
| B.3 Data Uji Aktivitas Urease Puree Edamame tanpa HTST | 45 |
| B.4 Data Uji Aktivitas Urease Puree Edamame tanpa HTST (Lanjutan) | 46 |
| C. Data Uji Aktivitas Lipokksigenase sebelum Proses HHP..... | 47 |
| C.1 Data Uji Aktivitas Lipokksigenase Puree Edamame dengan HTST | 47 |
| C.2 Data Uji Aktivitas Lipokksigenase Puree Edamame tanpa HTST | 47 |
| C.3 Contoh Perhitungan Uji Aktivitas Lipokksigenase | 47 |
| D. Data Uji Aktivitas Urease Puree Edamame Selama Penyimpanan..... | 48 |
| D.1 Data Uji Aktivitas Lipokksigenase Puree Edamame dengan HTST | 48 |
| D.2 Data Uji Aktivitas Lipokksigenase Puree Edamame dengan HTST (Lanjutan) | 49 |
| D.3 Data Uji Aktivitas Lipokksigenase Puree Edamame tanpa HTST | 50 |
| D.4 Data Uji Aktivitas Lipokksigenase Puree Edamame tanpa HTST (Lanjutan) | 51 |
| E. Data Pengukuran a* dan b* Puree Edamame Sebelum Proses HHP ... | 52 |
| E.1 Data Pengukuran a* dan b* Puree Edamame dengan HTST Sebelum Proses HHP..... | 52 |
| E.2 Data Pengukuran a* dan b* Puree Edamame tanpa HTST Sebelum Proses HHP..... | 52 |
| F. Data Pengukuran a* dan b* Puree Edamame Selama Peyimpanan.... | 53 |
| F1. Data Pengukuran a* dan b* Puree Edamame dengan HTST Selama Penyimpanan | 53 |

| | |
|--|-----------|
| F2. Data Pengukuran a* dan b* Puree Edamame dengan HTST Selama Penyimpanan (Lanjutan 1)..... | 54 |
| F3. Data Pengukuran a* dan b* Puree Edamame dengan HTST Selama Penyimpanan (Lanjutan 2)..... | 55 |
| F4. Data Pengukuran a* dan b* Puree Edamame tanpa HTST Selama Penyimpanan | 56 |
| F5. Data Pengukuran a* dan b* Puree Edamame tanpa HTST Selama Penyimpanan (Lanjutan 1)..... | 57 |
| F6. Data Pengukuran a* dan b* Puree Edamame tanpa HTST Selama Penyimpanan (Lanjutan 2)..... | 58 |
| G. Perhitungan <i>Hue Angle</i> Puree Edamame Sebelum Proses HHP..... | 59 |
| G.1 Nilai <i>Hue Angle</i> Puree Edamame dengan HTST | 59 |
| G.2 Nilai <i>Hue Angle</i> Puree Edamame tanpa HTST | 59 |
| G.3 Contoh Perhitungan Nilai <i>Hue Angle</i> | 59 |
| H. Perhitungan Nilai <i>Hue Angle</i> Puree Edamame Selama Penyimpanan... 60 | |
| H.1 Perhitungan Nilai <i>Hue Angle</i> Puree Edamame dengan HTST Selama Penyimpanan | 60 |
| H.2 Perhitungan Nilai <i>Hue Angle</i> Puree Edamame tanpa HTST Selama Penyimpanan | 61 |
| I. Data Uji Total Mikroba Puree Edamame Selama Penyimpanan 62 | |
| I.1 Data Uji Total Mikroba Puree Edamame dengan HTST Selama Penyimpanan..... | 62 |
| I.2 Data Uji Total Mikroba Puree Edamame tanpa HTST Selama Penyimpanan..... | 63 |

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kedelai sayur (*vegetable soybean*) atau lebih populer dengan nama “edamame” termasuk spesies *Glycine max* L. Sesuai dengan namanya, kedelai sayur adalah jenis kedelai yang dipanen ketika polongnya masih muda dan hijau, yakni ketika pengisian biji mencapai 80-90% atau sudah hampir penuh (Konovsky *et al.*, 1994). Edamame memiliki produktivitas tinggi di mana satu hektar bisa menghasilkan ±10 – 12 ton. Hal ini jauh lebih tinggi di atas rata-rata jenis kedelai lainnya yang berkisar 1,5– 3 ton per hektar (Pusdatin, 2014).

Kabupaten Jember merupakan salah satu daerah penghasil edamame terbesar di Indonesia. Melalui PT. Mitra Tani Dua Tujuh, salah satu anak usaha PT. Perkebunan Nusantara (PTPN) X, pada tahun 2015 ekspor edamame mencapai 6.016 ton, naik sekitar 47% dibanding ekspor tahun 2014 sebesar 4.097 ton (Pujiastuti, 2015). Pasar international yang menjadi tujuan ekspor edamame adalah Jepang, Taiwan, Malaysia, Singapura, Eropa dan Amerika Serikat (Pusdatin, 2014).

Edamame mengandung nilai gizi yang tinggi. Dalam 100 g edamame mengandung 582 kkal, protein 11,4 g, karbohidrat 7,4 g, lemak 6,6 g, vitamin A 100 mg, B1 0,27 mg, B2 0,14 mg, B3 1 mg, dan vitamin C 27%, serta mineral-mineral seperti fosfor 140 mg, kalsium 70 mg, besi 1,7 mg, dan kalium 140 mg (Johnson *et al.* 1999; Nguyen, 2001). Melihat tingginya produktivitas dan nilai gizi edamame, perlu dilakukan pengembangan produk baru yang memiliki nilai jual tinggi. Selain dikonsumsi secara langsung setelah *di-blanching*, edamame dapat diolah menjadi puree. Menurut Wood dan Luth (1975) puree adalah hancuran daging buah atau sayur dengan penambahan air 40 – 60%. Puree merupakan produk setengah jadi yang dapat dikonsumsi secara langsung atau dipergunakan lebih lanjut menjadi bahan campuran dalam pembuatan minuman ringan.

Puree edamame memiliki sifat *perishable* (mudah rusak) sehingga tidak tahan lama apabila disimpan dalam suhu ruang. Menurut Cano *et al.* (1997) kerusakan produk pangan disebabkan adanya aktivitas mikroorganisme dan enzim yang dipengaruhi oleh nilai gizi, kemasan dan cara penyimpanan. Oleh karena itu, perlu dilakukan perlakuan pengawetan. Menurut Morris *et al.* (2007), salah satu teknologi pengawetan yang dapat digunakan adalah *high hydrostatic pressure* (HHP).

HHP adalah metode pasteurisasi dingin yang dapat mempengaruhi aktivitas mikroorganisme dan enzim melalui tekanan tinggi antara 50 – 1000 MPa (Tauscher, 1995). Metode ini dapat menginaktifkan mikroorganisme dan enzim-enzim endogen yang dapat menyebabkan perubahan-perubahan yang tidak diinginkan seperti rasa, tekstur, atau warna (Damar dan Balaban, 2006). Tedjo *et al.* (2000) melaporkan bahwa HHP dapat menghilangkan aktivitas enzim lipokksigenase dan peroksidase pada kedelai dan Kincal *et al.* (2006) menemukan bahwa aktivitas enzim urease dapat menurun sekitar 10% – 25%.

Kombinasi teknologi pengawetan non termal dan termal sudah banyak dilakukan dalam industri makanan (Raso dan Gustavo, 2003). Salah satu kombinasi teknologi pengawetan adalah penggunaan teknologi HHP dan *High Temperature Short Time* (HTST). HTST adalah metode pemanasan untuk menginaktifkan mikroorganisme pada suhu 70 – 100 °C selama 0,1 – 15 detik (IDFA, 2009). Mills *et al.* (1998) dalam Raso dan Gustavo (2003) melaporkan bahwa kombinasi HHP (400 MPa, 30 menit) dan HTST (70 °C, 10 detik) dapat menginaktifkan *B. coagulans* hingga $4 \log_{10}$. Cano *et al.* (1997) melaporkan bahwa perlakuan HHP (285 MPa, 15 menit) dan pemanasan (60 °C, 1 menit) dapat menginaktifkan enzim peroksidase dan polifenoloksidase hingga 75% dan 40%. Berdasarkan laporan tersebut, kombinasi metode HHP dan HTST berpotensi meningkatkan masa simpan (*shelf-life*) puree edamame. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian mengenai penggunaan metode HHP dan HTST untuk inaktivitasi enzim dan mikroorganisme pada puree edamame.

1.2 Rumusan Masalah

Edamame mengandung enzim urease dan lipokksigenase (Sheu dan Chen, 1991 & Prachayawarakorn *et al.*, 2006). Enzim-enzim tersebut berpotensi merusak dan mengurangi tingkat penerimaan konsumen. Enzim urease dapat menghidrolisis urea menjadi amonia dan karbondioksida dalam edamame sehingga menghasilkan bau busuk (Moblay *et al.*, 1995). Enzim lipokksigenase menyebabkan bau langu (*beany aroma*) dan tengik (*rancid flavor*) pada edamame karena dapat mengoksidasi asam linoleat (Masuda *et al.*, 1988). Aktivitas enzim umumnya akan menurun seiring meningkatnya kekuatan tekanan HHP (Hu *et al.*, 2013). Tedjo *et al.* (2000) melaporkan bahwa aktivitas enzim lipokksigenase kedelai dengan perlakuan HHP (35 °C, 15 menit) pada 10,3 MPa dapat menurun hingga 25%, sedangkan enzim lipokksigenase hampir seluruhnya inaktif pada tekanan 62,1 MPa.

Atribut warna merupakan salah satu penentu faktor kualitas suatu makanan. Metode HHP dapat mempengaruhi kualitas warna pada produk pangan (San Martin *et al.*, 2010). Perkins-Veazie *et al.* (2001) melaporkan bahwa terjadi perubahan nilai L*, a* dan b* yang tidak signifikan setelah perlakuan HHP. Aktivitas mikroba dalam produk pangan dapat mempengaruhi daya simpan (*shelf-life*) produk pangan (Liu *et al.*, 2012). Prestamo *et al.* (2000), melaporkan bahwa perlakuan HHP efektif dalam mengurangi aktivitas mikroba, bahkan pada tekanan 400 MPa mampu menghilangkan aktivitas mikroba dan spora seluruhnya.

HHP sebagai teknologi pengawetan *non-thermal* tidak boleh lebih tinggi dari 60 °C, karena suhu lebih dari 60 °C akan menurunkan kualitas makanan. Kuat tekanan dan lama perlakuan secara signifikan meningkatkan inaktivasi enzim oleh HHP (Hu *et al.*, 2013). Menurut Raso *et al.* (2003) kombinasi HHP dan HTST memberikan keuntungan bagi industri makanan yaitu dapat menurunkan waktu dan kuat tekanan yang diperlukan untuk proses HHP serta meningkatkan inaktivasi enzim dan mikroorganisme pada produk pangan. Pada penelitian inaktivasi enzim puree edamame menggunakan metode HHP, perlakuan variasi tekanan dan waktu HHP perlu dilakukan sehingga mendapatkan penurunan aktivitas enzim yang optimal.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

- 1) mengetahui pengaruh kuat tekanan dan waktu HHP serta perlakuan HHP terhadap aktivitas enzim urease dan enzim lipoksgigenase pada puree edamame selama penyimpanan;
- 2) mengetahui perubahan warna dan total mikroba pada puree edamame selama penyimpanan setelah perlakuan HHP dan HTST.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah:

- 1) Meningkatkan nilai ekonomi edamame;
- 2) Memberikan alternatif teknologi pengawetan makanan secara non termal.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Deskripsi dan Kandungan Gizi Edamame

Edamame merupakan sebutan yang digunakan untuk jenis kedelai hijau yang dapat dikonsumsi. Edamame merupakan tanaman kacang-kacangan yang penting di Asia. Jenis kacang-kacangan ini dipanen dan dikonsumsi saat masih belum matang sepenuhnya (Coolong, 2009). Edamame merupakan kedelai hijau yang dipanen saat puncak kematangan tetapi sebelum mencapai tahap pengerasan (*hardening*). Menurut Asadi (2009), edamame adalah jenis kedelai yang dipanen saat polongnya masih muda dan berwarna hijau, yaitu saat stadium R6 (pengisian biji 80 – 90% pengisian).

Menurut Johnson *et al.* (1999), kandungan gizi edamame Jepang yang diuji melalui analisis proksimat ditunjukkan pada **Tabel 2.1**. Aktivitas enzim urease pada edamame berkisar 2,39 – 2,86 pH U (Hercia *et al.*, 2011). Aktivitas lipoxygenase pada edamame berkisar 90 – 174 U/mL (Bonifacio *et al.*, 2009).

Tabel 2.1. Kandungan Gizi Edamame

| Komposisi | Jumlah per 100 g |
|--------------------|------------------|
| Energi (kkal) | 582,00 |
| Air (g) | 71,10 |
| Protein (g) | 11,40 |
| Karbohidrat (g) | 6,60 |
| Serat (g) | 7,40 |
| Serat pangan (g) | 1,90 |
| Abu (g) | 15,60 |
| Kalsium (mg) | 1,60 |
| Fosfor (mg) | 70,00 |
| Besi (mg) | 140,00 |
| Natrium (mg) | 1,70 |
| Kalium (mg) | 1,00 |
| Karoten (mg) | 140,00 |
| Vitamin B1 (mg) | 100,00 |
| Vitamin B2 (mg) | 0,27 |
| Niasin (mg) | 1,00 |
| Asam askorbat (mg) | 27,00 |

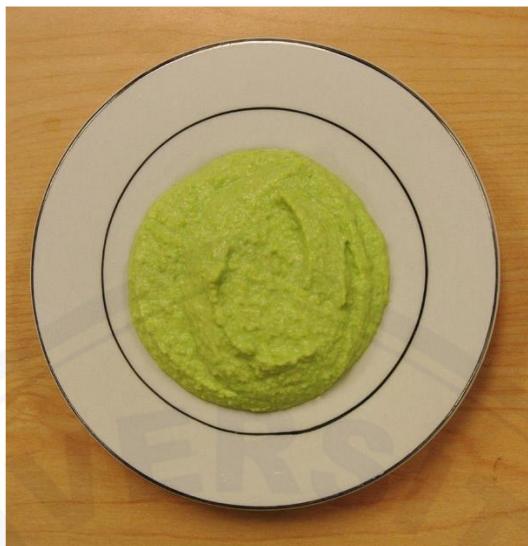
Sumber: Johnson *et al.* (1999)

Edamame dan kedelai kuning merupakan spesies yang sama, yaitu *Glycine max* (L.), tetapi edamame memiliki rasa yang lebih manis, aroma kacang-kacangan yang lebih kuat, tekstur yang lebih lembut, dan biji yang berukuran lebih besar daripada kedelai kuning, serta nutrisi yang terkandung dalam edamame lebih mudah dicerna oleh tubuh dibandingkan kedelai kuning (Rackis, 1972). Edamame atau yang sering disebut ‘kedelai sayur’ (*vegetable soybean*) juga mengandung lebih sedikit pati penghasil gas (Born, 2006). Edamame dikatakan memiliki banyak manfaat bagi kesehatan. Edamame mengandung isoflavon yang dapat berperan sebagai anti-kanker (Coolong, 2009).

2.2 Deskripsi Puree

Puree merupakan hancuran daging buah atau sayur yang mengandung *pulp* dengan penambahan air 40 – 60%. Puree merupakan produk setengah jadi yang dapat dikonsumsi secara langsung atau dipergunakan lebih lanjut menjadi bahan campuran dalam pembuatan minuman ringan (Wood dan Luth, 1975). Banyak puree yang mengandung serat pangan. Puree kacang-kacangan dan biji-bijian merupakan sumber serat yang baik (Dahl, 2016). Serat pangan mampu mengurangi resiko berbagai macam penyakit, seperti jantung koroner, diabetes tipe 2, dan beberapa penyakit kanker (Dahl dan Stewart, 2015). Serat pangan selain dari kacang-kacangan juga dapat ditemukan pada buah-buahan dan sayuran (Reicks *et al.*, 2014). Kenampakan puree dapat dilihat pada **Gambar 2.1**.

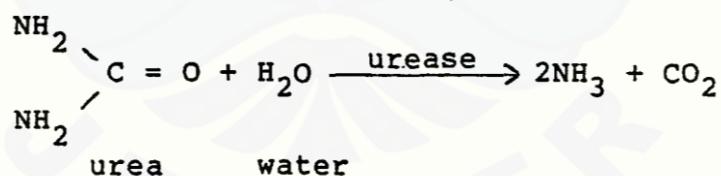
Proses pembuatan puree menurut Lee *et al.* (1998) adalah sebagai berikut: 1) pencucian bahan, 2) blanching pada suhu 82 °C selama 1 menit, 3) bahan direndam pada air es untuk menghentikan pemanasan, 4) penirisan, 5) penggilingan dengan menambahkan air sebanyak 60%. Penambahan air pada pembuatan puree dapat disesuaikan antara 40% - 60% tergantung tingkat viskositas yang diinginkan.



Gambar 2.1 Puree edamame (Sumber: dokumentasi penulis)

2.3 Karakteristik Enzim Urease

Enzim urease merupakan enzim yang mampu menghidrolisis urea menjadi amonia dan karbodioksida. Lebih khusus lagi, urease mampu menghidrolisis urea menjadi amonia dan karbamat. Karbamat yang dihasilkan kemudian terdegradasi oleh hidrolisis spontan untuk menghasilkan amonia lain dan asam karbonat (Zimmer, 2000). Reaksi kimia enzim urease dalam menghidrolisis urea dapat dilihat pada **Gambar 2.2**.



Gambar 2.2 Reaksi kimia enzim urease (Sumber: Anonim, 2004)

Kinerja urease tergantung nikel sebagai metalloenzim saat menghidrolisis urea menjadi amonia dan karbodioksida (Dian *et al.*, 2013). Amonia yang dihasilkan oleh urease mengakibatkan permasalahan dalam bidang pertanian dan kesehatan. Dalam pertanian, aktivitas urease yang tinggi akan mengakibatkan emisi amonia ke atmosfer. Sedangkan dalam kesehatan, beberapa *bacterial urea* (bakteria yang menghasilkan urea) akan mengakibatkan (Moblay *et al.*, 1995).

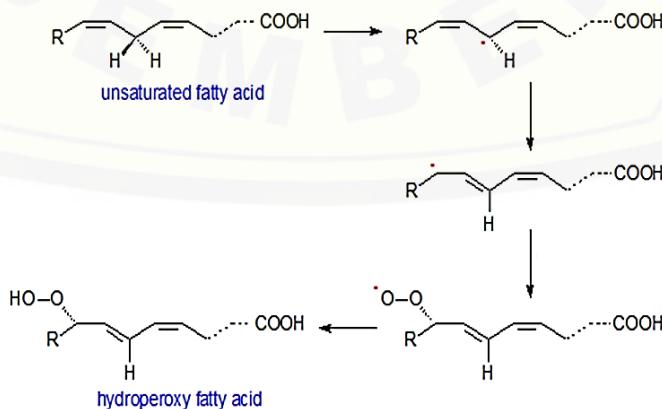
Aktivitas urease cenderung meningkatkan pH dari lingkungannya karena memproduksi amonia yang bersifat basa. Urease ditemukan di berbagai bakteri, jamur, ganggang, tanaman dan beberapa invertebrata, serta di tanah. Enzim urease mengandung nikel metalloenzim dengan berat molekul tinggi (Krajewska *et al.*, 2012).

Menurut Krajewska (2009), enzim urease mempunyai karakteristik sebagai berikut:

- Memiliki berat molekul 480 kDa atau 545 kDa untuk urease pada koro pedang (dihitung massa dari urutan asam amino).
- Optimum pada pH 7,9
- Suhu optimal hidrolisis 25°C
- Spesifik menghidrolisis urea
- Inhibitor logam berat yaitu Pb⁻ & Pb²⁺.

2.4 Karakteristik Enzim Lipoksgenase

Enzim lipoksgenase merupakan salah satu senyawa anti gizi yang terdapat dalam kedelai atau pun edamame. Lipoksgenase umumnya dapat ditemukan pada kacang-kacangan, serealia dan minyak biji-bijian. Ada tiga macam lipoksgenase dalam kedelai yaitu lipoksgenase I, II, dan III. Enzim lipoksgenase dapat mengoksidasi asam lemak tidak jenuh jika ada molekul oksigen (Ghafoor *et al.*, 2011). Mekanisme reaksi kimia enzim lipoksgenase dalam mengoksidasi asam lemak tidak jenuh dapat dilihat pada **Gambar 2.3**.



Gambar 2.3. Reaksi kimia enzim lipoksgenase dalam mengoksidasi asam lemak tidak jenuh (Sumber: Christie, 2016)

Menurut Whitaker (1975) enzim lipokksigenase dalam produk pangan dapat mengakibatkan beberapa kerugian, diantaranya:

- 1) Mendegradasi asam lemak, seperti linoleat, linolenat, dan asam arasidonat sehingga menghasilkan asam lemak hidroperoksida.
- 2) Mendegradasi asam lemak hidroperoksida sehingga menghasilkan komponen volatil seperti aldehid, keton, dan alkohol, yang mana dapat menyebabkan *off-flavor*.
- 3) Memproduksi radikal bebas yang dapat merusak komponen lain seperti vitamin dan mineral.

Menurut Ghafoor *et al.* (2011), di dalam produk kedelai dan edamame, *off-flavor* dipengaruhi oleh aktivitas enzim lipokksigenase. Hidroperoksida yang dihasilkan mengakibatkan ketengikan (*rancid flavor*) dan langu (*beany aroma*). Akan tetapi, berdasarkan data dari Brenda (2017b), enzim lipokksigenase akan inaktif pada suhu 60 °C, sehingga penggunaan pemanasan umum digunakan untuk mengatasi hal tersebut.

2.5 Metode *High Hydrostatic Pressure* (HHP)

2.5.1 Deskripsi HHP

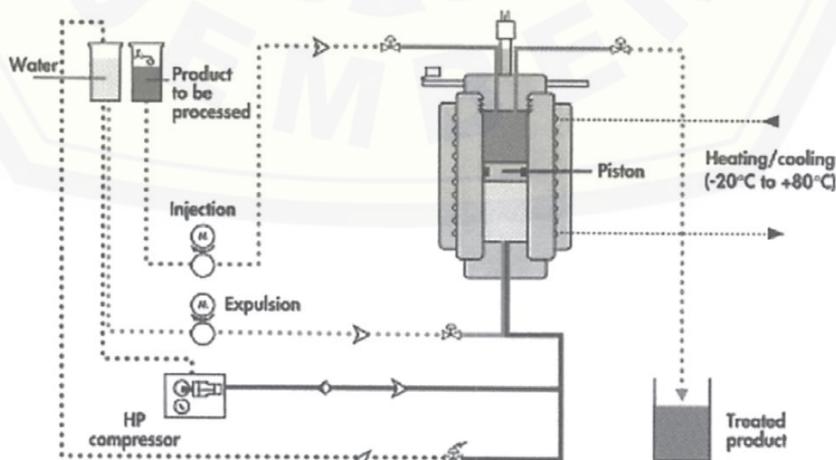
HHP adalah metode pasteurisasi dingin yang dapat mempengaruhi aktivitas mikroorganisme dan enzim melalui tekanan tinggi antara 50 – 1000 MPaatau 493 – 9869 Atm (Tauscher, 1995). Metode ini dapat menginaktifkan mikroorganisme dan enzim-enzim endogen yang dapat menyebabkan perubahan-perubahan yang tidak diinginkan seperti rasa, tekstur, atau warna (Damar dan Balaban, 2006).

Metode HHP diadopsi dan diadaptasi oleh industri makanan dari proses *isosatatic pressure* pada industri keramik terdahulu. Variasi proses HHP tergantung dari spesifikasi produk, suhu, dan transmisi tekanan fluida (gas atau air). Proses HHP merupakan proses yang sederhana. Sebagai saran, produk pangan (padat atau cair) dilakukan penekanan berkisar 50 – 900 MPa, akan tetapi di dalam industri makanan biasanya menggunakan tekanan 400 – 700 MPa (San Martin *et al.*, 2010). Mesin HHP dapat dilihat pada **Gambar 2.4**.



Gambar 2.4 Mesin HHP horizontal untuk pengawetan daging kemasan (Sumber: Patterson, 2014)

HHP secara umum dilakukan secara batch untuk makanan padat, akan tetapi dapat juga dilakukan secara *semicontinuous batch* untuk makanan cair. Sistem kerja HHP terdiri dari tangki bertekanan (*pressure vessel*) dan generator penekan (*pressure generator*). Produk pangan yang telah dikemas dimasukkan ke tangki dari atas kemudian ditutup. Fluida penekan, biasanya air, dipompakan ke tangki melalui bagian bawah tangki sehingga terjadi kontak antara air dengan produk. Selanjutnya kuat tekanan diatur. Setelah tekanan yang diinginkan sudah sesuai, kran ditutup dan proses HHP dibiarkan hingga waktu yang sudah ditentukan (Patterson, 2014). Sistem kerja mesin HHP dapat dilihat pada **Gambar 2.5**.



Gambar 2.5 Sistem HHP untuk produk cair (Sumber: San Martin, 2010)

2.5.2 Aplikasi HHP dalam Industri

Penggunaan untuk produk komersial mulai digunakan pada tahun 1990 untuk produk selai buah oleh perusahaan Meidaya Food Factory Co., Jepang. Sejak saat itu, banyak produk yang menggunakan perlakuan HHP sebagai teknologi pengawetan non termal di seluruh dunia. Teknologi ini mudah diterima oleh perusahaan berbasis pangan karena memiliki banyak keuntungan. Selain itu, HHP juga memiliki keunggulan untuk industri perikanan karena dapat secara langsung membersihkan dan melepas daging dari cangkang kerang (Patterson, 2014). Produk-produk yang menggunakan HHP dapat dilihat pada **Tabel 2.2**.

Tabel 2.2. Produk-produk yang menggunakan HHP di seluruh dunia

| Negara | Tahun | Produk |
|-----------------|-------|---|
| Jepang | 1990 | Selai buah |
| | 2004 | Bacon bebas nitrit dan sausage |
| Perancis | 1994 | Jus buah |
| Amerika Serikat | 1999 | Tiram |
| Amerika Serikat | 2001 | Ham |
| | 2005 | Lobster |
| Spanyol | 2006 | Ayam panggang Saos tomat Daging kalkun panggang |
| | 1998 | Ham |
| Itali | 2001 | Jus buah dan sayur Selai buah |
| | | |
| Australia | 2008 | Smoothies dan jus |
| Kanada | 2003 | Saus dan selai apel |

Sumber: Patterson (2014)

2.5.3 Efek HHP Terhadap Enzim

Respon enzim terhadap perlakuan HHP bervariasi tergantung dari jenis enzim, sifat substrat, tekanan, suhu, dan lama pemrosesan. Goodner *et al.* (1999) melaporkan bahwa stabilitas jus jeruk dipengaruhi oleh enzim pektinesterase. Mereka melaporkan bahwa tekanan lebih dari 500 MPa dan lebih dari 1 menit dapat meningkatkan stabilitas dengan membandingkan sampel yang tidak dilakukan HHP. Tekanan yang lebih tinggi serta waktu yang lebih lama akan didapatkan hasil yang lebih efektif. Perlakuan pada tekanan 500 MPa selama 10

menit, 700 MPa selama 1 menit dan 900 MPa selama 1 dan 10 menit menghasilkan produk dengan stabilitas hingga lebih dari 90 hari.

Beberapa enzim dilaporkan meningkat aktivitasnya setelah proses HHP, seperti poliphenoloksidase (PPO) pada tekanan 400 MPa dalam sampel jamur. Dalam beberapa penelitian ada yang melakukan kombinasi perlakuan antara perlakuan pendahuluan dan HHP. Palou *et al.* (1998) menunjukkan bahwa residu aktivitas PPO pada sampel puree pisang setelah perlakuan HHP (517 dan 689 MPa selama 10 menit) dan blanching mengalami penurunan lebih besar 5% dari pada sampel puree pisang yang tidak diblanching. Meningkatnya aktivitas enzim setelah perlakuan HHP juga dilaporkan oleh Gomes *et al.* (1998) bahwa enzim amilase pada *barley malt* meningkat 10% setelah penekanan antara 400 dan 600 MPa. Akan tetapi terjadi penurunan aktivitas enzim amilase setelah proses HHP berlangsung lebih dari 20 menit pada 600 MPa.

Efek perlakuan HHP terhadap biomembran seperti enzim dan sel mikroba dijelaskan lebih rinci oleh Kato dan Hayashi (1999) sebagai berikut:

- 1) Kelarutan dan kebocoran komponen intraseluler dari sitoplasma seperti asam amino pada tekanan lebih dari 250 MPa dengan maksimum 600 MPa dan setara dengan perlakuan pemanasan 100 °C selama 5 menit,
- 2) Bocornya ion logam pada enzim seperti ion K⁺, Mn²⁺, Ca²⁺ dan Na⁺ pada tekanan 300 MPa serta ion Mn²⁺ dan Zn²⁺ pada tekanan 400 MPa,
- 3) Perembesan komponen ekstraseluler ke dalam sel dan *tissue*, seperti masuknya NaCl ke dalam *tissue* sebesar 0,5% NaCl pada tekanan 400 MPa selama 10 menit.

2.5.4 Efek HHP Terhadap Mikroba

Efek HHP terhadap sel mikroba dipengaruhi oleh beberapa hal yaitu perlakuan HHP (tekanan, suhu, lama perlakuan), tipe HHP (*batch* atau *continuous*), spesies dan strain dari mikroba seperti bentuk dan tipe Gram, masa pertumbuhan mikroba, serta komposisi dan sifat dari medium seperti kuat dan jenis ion, water activity dan pH (San Martin *et al.*, 2010). Efek HHP terhadap mikroba mengakibatkan kerusakan sel membran dan inaktivasi enzim kunci (Patterson,

2014). Lebih jelas mengenai faktor-faktor yang mempengaruhi inaktivasi mikroba menggunakan HHP dapat dilihat pada **Tabel 2.3**.

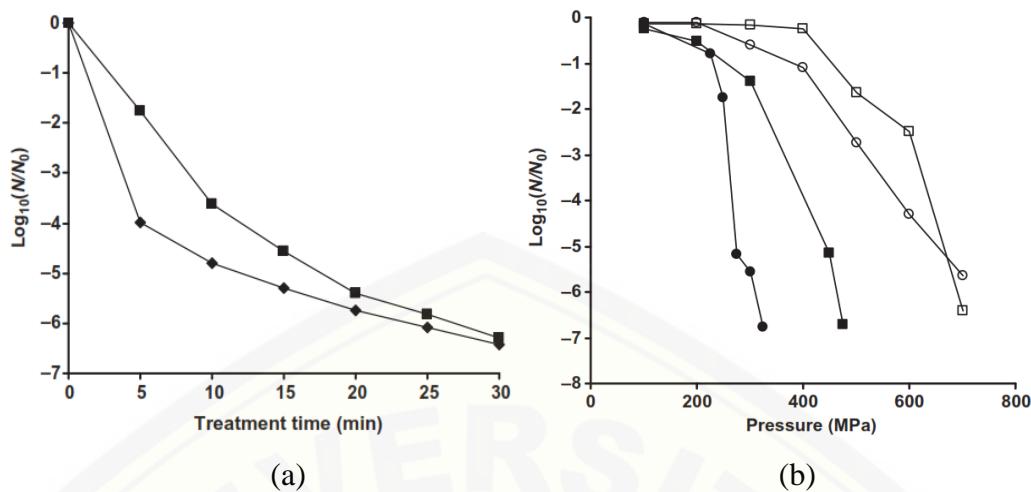
Tabel 2.3 Faktor-faktor yang mempengaruhi inaktivasi mikroba menggunakan HHP

| No. | Faktor-faktor yang Mempengaruhi |
|-----|---------------------------------------|
| 1. | Kuat tekanan |
| 2. | Suhu |
| 3. | Waktu tekanan (<i>holding time</i>) |
| 4. | Spesies dan strain |
| | - Bentuk |
| | - Jenis Gram |
| 5. | Masa pertumbuhan |
| 6. | Umur kultur |
| 7. | Komposisi dan sifat medium |
| | - Kuat dan tipe ion |
| | - <i>Water activity</i> |
| | - pH |

Sumber: Patterson (2014)

Efek HHP terhadap mikroba dilaporkan oleh Hayert *et al.* (1996) bahwa *Saccharomyces cerevisiae* mengalami penurunan hingga 10% pada 250 MPa selama 15 menit. Penurunan *Saccharomyces cerevisiae* dikarenakan terjadinya kebocoran ion Na^+ , Li^+ dan Ca^{2+} serta menurunnya *water activity* (a_w). Selain waktu dan tekanan, suhu juga mempengaruhi inaktivasi mikroba menggunakan HHP. Iwahashi *et al.* (1996) melaporkan bahwa *Saccharomyces cerevisiae* pada tekanan 180 MPa suhu 4 °C menunjukkan resistensnya terhadap HHP.

Menurut Patterson (2014) semakin besar dan semakin lama tekanan HHP, maka tingkat inaktivasi mikroba juga semakin besar. Perlakuan HHP terhadap aktivitas *Listeria innocua* (strain JK17 dan JK29) pada 400 MPa (20 °C) mengalami penurunan seiring lamanya perlakuan HHP (**Gambar 2.6 a**). Aktivitas mikroba patogen mengalami penurunan seiring bertambahnya kuat tekanan HHP pada suhu 20 °C (**Gambar 2.6 b**).



Gambar 2.6. (a) Pengaruh lama tekanan HHP terhadap inaktivasi strain *Listeria innocua* (*solid square* = strain JK17; *solid diamond* = JK29) pada 400 MPa selama 20 °C; (b) Pengaruh kuat tekanan terhadap inaktivasi mikroba patogen (*solid circle* = *Yersinia enterocolitica*; *solid square* = *Salmonella enteritidis*; *open circle* = *Escherichia coli* O157:H7; dan *open square* = *Staphylococcus aureus*) pada suhu 20 °C (Patterson, 2014)

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Waktu penelitian dimulai pada tanggal 18 Mei - 26 Juli 2016. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium *Plant Cell Manipulation, Faculty of Life and Environmental Sciences, Prefectural University of Hiroshima* dan *Food Technology Research Center, Hiroshima Prefectural Technology Research Institute*, Jepang.

3.2 Bahan dan Alat

3.2.1 Bahan

Edamame dibeli dari petani di Kota Shobara, Provinsi Hiroshima, Jepang. Bahan-bahan kimia yang digunakan untuk uji aktivitas enzim urease dan lipokksigenase adalah urea (Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Jepang), buffer fosfat (0,05 M; pH 7), buffer natrium borat (0,2 M; pH 9), buffer fosfat (0,2 M; pH 6,8), asam linoleat (Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Jepang), Tween 20 (Katayama Chemical, Jepang), NaOH 0,05 N (Chameleon Guaranteed Reagent, Jepang), toluen (Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Jepang). Bahan-bahan yang digunakan untuk uji total mikroba adalah pepton (Difco Laboratories, AS), D-Glukosa (Katayama Chemical, Jepang), *dried yeast extract* (Shinnihon Seiyaku, Co., Ltd., Jepang) dan agar (Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Jepang).

3.2.2 Alat

Alat-alat yang digunakan untuk inaktivasi enzim dan mikroba adalah mesin *high hydrostatic pressure* (Hikari Kouatsu, Co., Ltd., Jepang) dan panci HTST (Fujimaru Kogyo, Co., Ltd., Jepang). Pembuatan puree edamame menggunakan blender (Sanyo SM-G461, Jepang). Alat-alat yang digunakan untuk pengujian parameter adalah *colorimeter* (Konica Minolta CM-700d1, Jepang), *color scanner* (EPSON PM-850, Jepang), inkubator (Yamato IS42, Jepang), pH

meter (Horiba F51, Jepang), *rotary incubator* (Taitec HB-80, Jepang), kuvet (As One Corp., Tiongkok), mikropipet (Eppendorf, Perancis), spektrofotometer (Shimadzu BioSpec-mini, Jepang), 0,45 µm *millipore filter* (Carrigtwohill, Co. Cork., Irlandia), dan *cooled centrifuge* (Kubota 3700, Jepang).

3.3 Pelaksanaan Penelitian

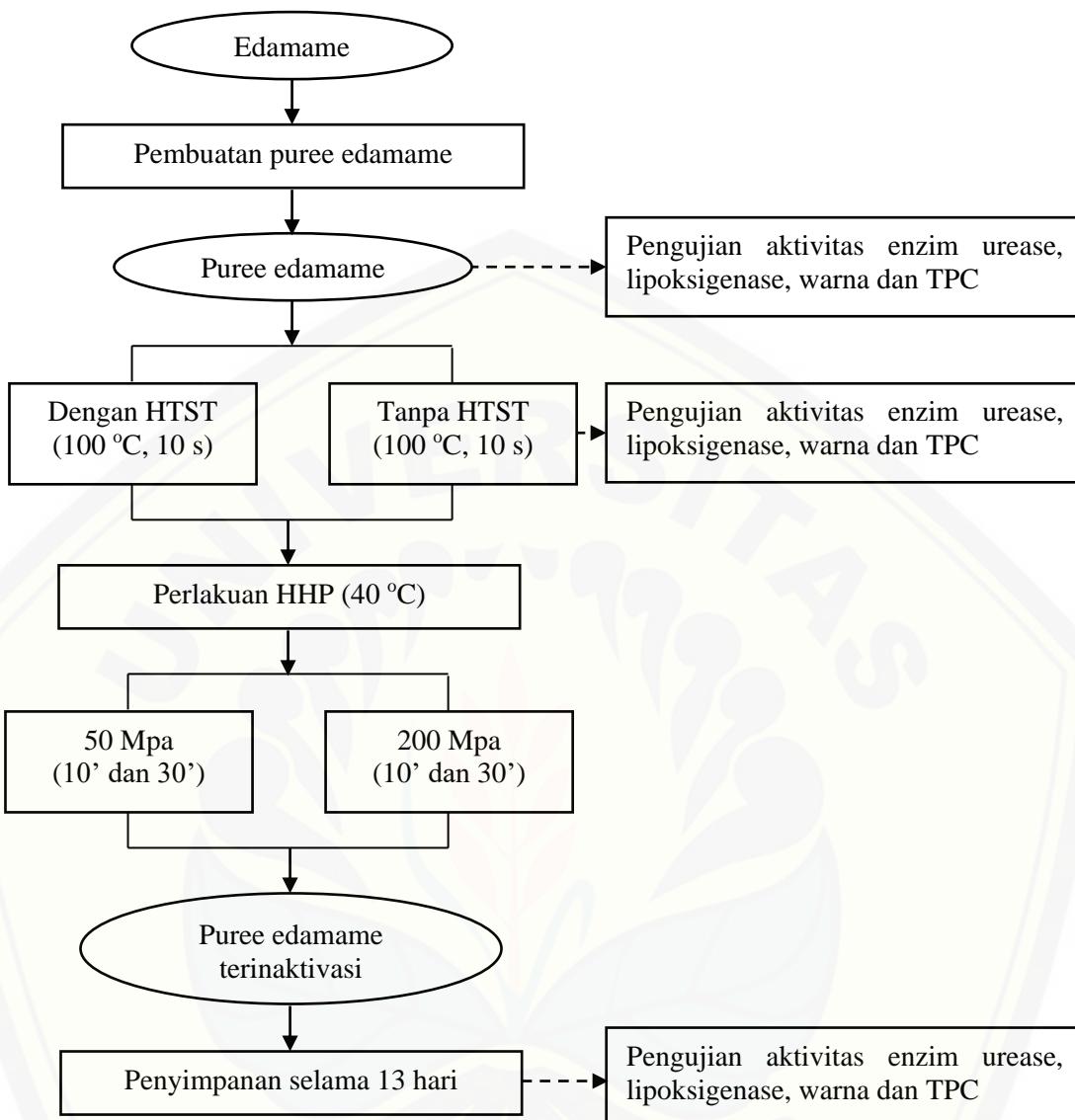
3.3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental dengan empat tahap, yaitu: 1) pembuatan puree edamame, 2) perlakuan HTST, 3) perlakuan *high hydrostatic pressure* (HHP), dan 4) uji aktivitas enzim, pengukuran warna serta uji total mikroba (TPC) pada puree edamame. Diagram alir rancangan penelitian dapat dilihat pada **Gambar 3.1**.

Rancangan penelitian ini menggunakan tiga faktor yaitu waktu tekanan atau *holding time*, kekuatan tekanan dan perlakuan HTST. Kombinasi perlakuan dilakukan sebanyak dua kali ulangan. Variasi waktu tekanan yang digunakan yaitu 10 menit (T1) dan 30 menit (T2), variasi kekuatan tekanan yang digunakan yaitu 50 Mpa (P1) dan 200 Mpa (P2) serta puree edamame tanpa perlakuan HTST (NH) dan puree edamame dengan perlakuan HTST pada 100 °C selama 10 detik (NH). Suhu masing-masing perlakuan (suhu air di tangki HHP) adalah 40 °C. Kombinasi perlakuan dalam rancangan percobaan ini dapat dilihat pada **Tabel 3.1**.

Tabel 3.1. Kombinasi waktu (T), kekuatan tekanan (P) dan perlakuan HTST dalam rancangan percobaan

| Tanpa HTST (<i>Non HTST/ NH</i>) | Dengan HTST (<i>HTST/ H</i>) |
|------------------------------------|--------------------------------|
| 1) NH-Kontrol | 6) H-Kontrol |
| 2) NH-T1P1 | 7) H-T1P1 |
| 3) NH-T1P2 | 8) H-T1P2 |
| 4) NH-T2P1 | 9) H-T2P1 |
| 5) NH-T2P1 | 10) H-T2P1 |



Gambar 3.1. Diagram alir rancangan penelitian

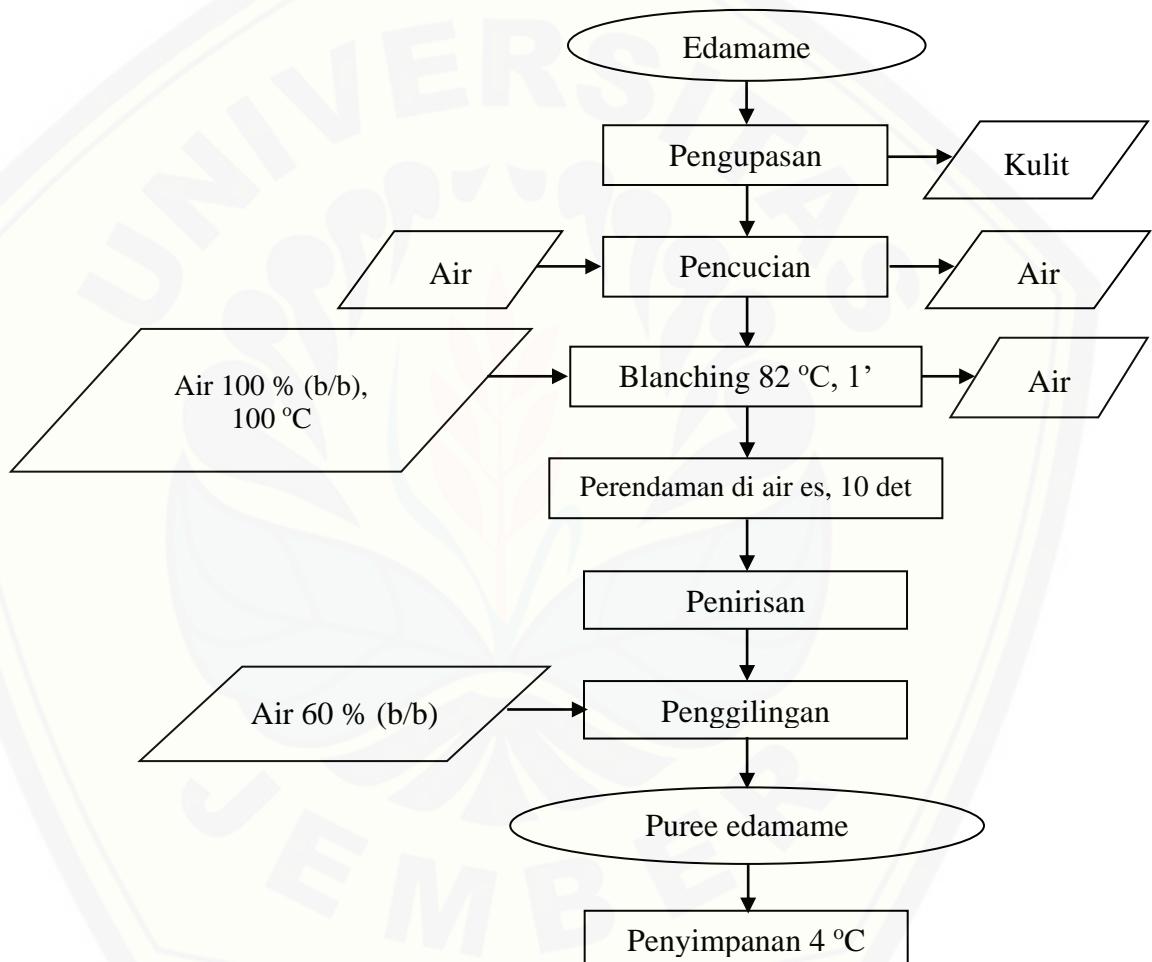
3.3.2 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam empat tahap, yaitu: 1) pembuatan puree edamame, 2) perlakuan HTST, 3) perlakuan *high hydrostatic pressure* (HHP), dan 4) uji aktivitas enzim, pengukuran warna dan uji total mikroba (TPC) puree edamame.

1) Pembuatan Puree Edamame

Edamame dikupas dari kulitnya kemudian dicuci. Setelah itu, 50 g edamame dimasukkan erlenmeyer 250 ml lalu ditambahkan air 50 ml bersuhu 100

°C hingga suhu air menurun sampai 82 °C. Selanjutnya air pada erlenmeyer dibuang dan diganti dengan air suhu 82 °C kemudian diblanching pada suhu 82 °C selama 1 menit menggunakan *water bath*. Air dibuang lagi, edamame kemudian direndam dalam air es selama 10 detik. Selanjutnya edamame ditiriskan dan digiling dengan penambahan air 60% (b/b). Puree edamame selanjutnya dianalisis atau disimpan pada suhu 4 °C (Lee *et al.*, 1998). Diagram alir pembuatan puree edamame ditampilkan pada **Gambar 3.2**.



Gambar 3.2. Diagram alir proses pembuatan puree edamame

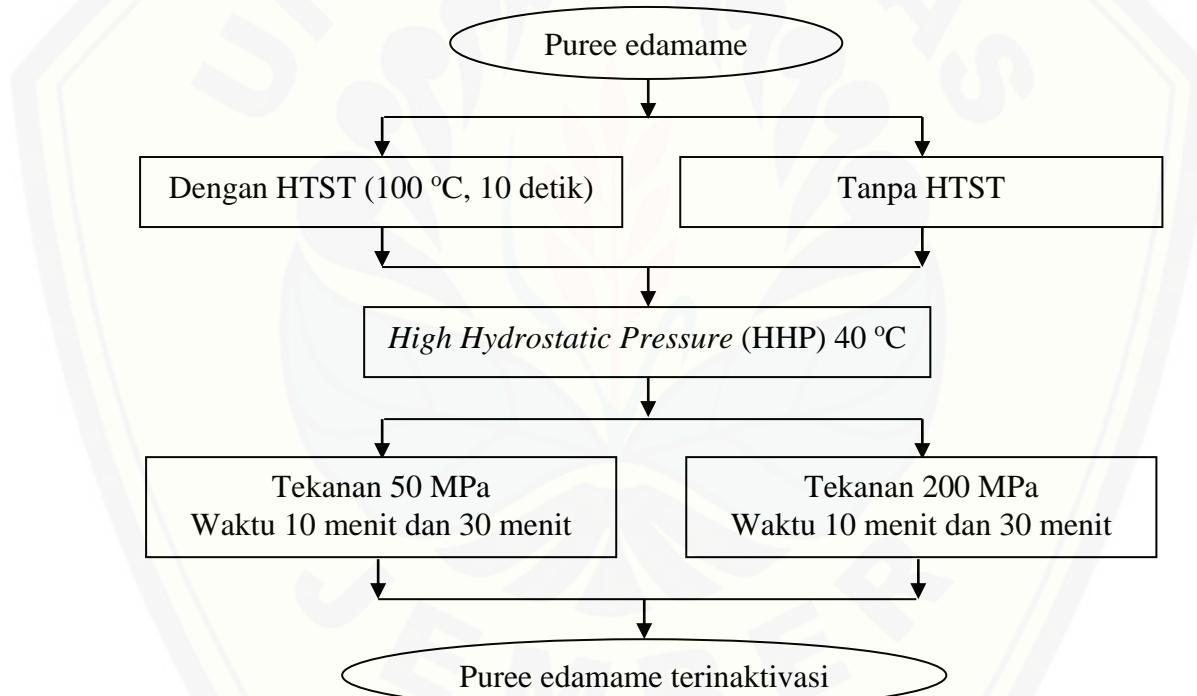
2) Perlakuan High Temperature Short Time (HTST)

Puree edamame sebanyak 15 g dikemas dalam plastik secara vakum kemudian dimasukkan dalam pangi HTST yang sebelumnya sudah diatur suhunya

hingga 100 °C. Selanjutnya didiamkan hingga 10 detik. Puree edamame yang sudah di-HTST kemudian dipersiapkan untuk perlakuan HHP.

3) Perlakuan *High Hydrostatic Pressure* (HHP)

Puree edamame sebanyak 15 g yang telah dikemas dalam plastik secara vakum kemudian ditempatkan di mesin HHP. Selanjutnya waktu dan tekanan diatur. Perlakuan HHP dilakukan dengan variasi waktu yaitu 10 dan 30 menit dan variasi kekuatan tekanan yaitu 50 dan 200 MPa. Suhu air tangki HHP diatur sebesar 40 °C. Setelah perlakuan, sampel segera dianalisis atau disimpan pada suhu 4 °C. Diagram alir metode HHP pada puree edamame ditampilkan pada **Gambar 3.3.**



Gambar 3.3. Diagram alir metode HHP pada puree edamame

4) Uji Aktivitas Enzim, Pengukuran Warna dan Uji Total Mikroba

Aktivitas enzim yang diuji meliputi aktivitas enzim urease dan lipokksigenase. Nilai a^* dan b^* dihitung sebagai warna puree edamame menggunakan rumus perhitungan *hue angle*. Pengukuran warna juga dilakukan menggunakan *color scanner* untuk melihat perbedaan warna secara visual. Uji

total mikroba dilakukan menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC). Uji-uji tersebut dilakukan pada sampel puree edamame sebelum perlakuan HHP dan puree edamame setelah perlakuan HHP selama penyimpanan 13 hari. Pengujian dilakukan setiap interval 2 hari. Prosedur pengujian di atas dijelaskan pada **Subbab 3.5**.

3.3.3 Analisis Data

Data uji aktivitas enzim urease dan enzim lipokksigenase, pengukuran warna, serta total mikroba dianalisis menggunakan metode deskriptif. Metode ini dilakukan dengan menghitung rata-rata dan standar deviasi yang dilengkapi dengan grafik atau tabel. Selanjutnya data tersebut dikomparasikan dengan studi literatur.

3.4 Parameter Pengamatan

Parameter yang diamati adalah sebagai berikut: 1) aktivitas enzim urease, 2) aktivitas enzim lipokksigenase, 3) *hue angle*, 4) *color scanning*, dan 5) *Total Plate Count* (TPC). Semua parameter diuji sebanyak dua kali ulangan, kecuali pengujian *hue angle* dilakukan sebanyak lima kali ulangan.

3.5 Prosedur Pengukuran Parameter

3.5.1 Aktivitas Enzim Urease

Aktivitas enzim urease diukur berdasarkan metode AACC No: 22-90.01 (2000). Sampel sebanyak 0,2 g yang telah dihaluskan, dilarutkan dalam 10 mL larutan urea (pH 7) menggunakan tabung reaksi dan dimasukkan inkubator pada suhu 30 °C selama 30 menit. Larutan urea dibuat dari 7,5 g urea yang dilarutkan dalam 250 mL buffer fosfat (0,05 M; pH 7). Selanjutnya 2,5 mL toluen ditambahkan sebagai pencegah pembentukan kapang. Preparasi blanko dilakukan dengan penambahan 10 mL buffer fosfat 0,05 M pada 0,2 g sampel lalu dimasukkan inkubator pada suhu 30 °C selama 30 menit. Setiap 5 menit selama inkubasi, sampel dan blanko dikeluarkan untuk dilakukan penggojokan. Selanjutnya perubahan pH diamati menggunakan pH meter setelah 5 menit

dikeluarkan dari inkubator. pH meter sebelum digunakan, terlebih dahulu dikalibrasi menggunakan buffer pH 7 – 9. Aktivitas enzim urease dihitung berdasarkan selisih pH sampel dengan pH blanko.

$$\text{Aktivitas urease (pH Unit)} = \text{pH sample} - \text{pH blanko}$$

Keterangan:

Blanko = sampel tanpa larutan urea

3.5.2 Aktivitas Enzim Lipoksgigenase

Sampel sebanyak 1 g diekstraksi dengan 50 mL buffer fosfat (0,2 M; pH 6,8) selama 2 jam pada suhu 25 °C menggunakan *magnetic stirer* kemudian disentrifugasi pada 15.000 rpm suhu 4 °C selama 10 menit. Selanjutnya supernatan disaring menggunakan 0,45 µm *milipore filter*. Supernatan digunakan dalam penentuan aktivitas lipoksgigenase. Larutan stok asam linoleat dibuat dengan menggunakan 140 mg asam linoleat, 140 mg Tween 20 dan 8 mL aquades kemudian ditambahkan 1,1 mL 0,5 N NaOH lalu ditera dengan aquades hingga 50 mL. Larutan stok asam linoleat diencerkan (1:40 v/v) dengan 0,2 M buffer natrium borat pH 9,0 sebelum digunakan. Selanjutnya 2,5 mL larutan asam linoleat ditambahkan 100 µL supernatan lalu digojok selama 5 detik kemudian densitas optik diukur pada λ 234 nm (Zhu *et al.*, 1996). Pengukuran absorbansi dilakukan selama 5 menit dan dicatat perubahannya. Satu unit enzim setara dengan peningkatan absorbansi 0,001 per menit (Yalcin dan Basman, 2015).

$$\text{Aktivitas lipoksgigenase (U)} = \frac{(\text{Absorbansi} / 0,001)}{5 \text{ menit}}$$

$$\text{Aktivitas spesifik lipoksgigenase (U/mL)} = \frac{\text{U}}{0,1 \text{ mL}}$$

3.5.3 Perhitungan *Hue Angle*

Pengukuran warna puree edamame menggunakan *colorimeter*. Pengukuran warna dibaca pada parameter a*, dan b* di 5 titik yang berbeda. Sebelum warna puree edamame diukur, *colorimeter* dikalibrasi terlebih dahulu menggunakan porselen khusus yang diketahui nilai standar pada kalibrator yaitu

$a^* = -5,75$ dan $b = 6,51$. Nilai a^* dan b^* yang didapatkan kemudian dimasukkan pada rumus konversi. Perhitungan nilai a^* dan b^* ditujukan untuk mendapatkan nilai *hue angle* sehingga sampel dapat dideskripsikan warnanya berdasarkan **Tabel 3.2**. Selanjutnya nilai a^* dan b^* yang didapat dimasukkan ke rumus sebagaimana berikut:

$$a^* = \frac{\text{nilai rata-rata } a \text{ di 5 titik} \times 5,75}{\text{nilai } a \text{ porselen standar}}$$

$$b^* = \frac{\text{nilai rata-rata } b \text{ di 5 titik} \times 6,51}{\text{nilai } b \text{ porselen standar}}$$

$$\text{Hue Angle} = 180 + (\tan^{-1}\left(\frac{b^*}{a^*}\right))$$

Tabel 3.2 Deskripsi warna berdasarkan *hue angle*

| ^o Hue [arc tan (b/a)] | Deskripsi warna |
|----------------------------------|--------------------------|
| 18 – 54 | <i>Red</i> (R) |
| 54 – 90 | <i>Yellow Red</i> (YR) |
| 90 – 126 | <i>Yellow</i> (Y) |
| 126 – 162 | <i>Yellow Green</i> (YG) |
| 162 – 198 | <i>Green</i> (G) |
| 198 – 234 | <i>Blue Green</i> (BG) |
| 234 – 270 | <i>Blue</i> (B) |
| 270 – 306 | <i>Blue Purple</i> (BP) |
| 306 – 342 | <i>Purple</i> (P) |
| 342 – 18 | <i>Red Purple</i> (RP) |

Sumber: Hutching (1999)

3.5.4 Color Scanning

Sampel ditimbang sebanyak 3 g kemudian diletakkan di *microplate* lalu ditutup. Selanjutnya sampel dipindai (*scan*) dari permukaan bawah *microplate* menggunakan *color scanner*. *Color scanning* bertujuan untuk mengetahui perbedaan warna puree edamame secara visual.

3.5.5 Total Plate Count (TPC)

Sampel sebanyak 1 g dilarutkan dalam 9 mL aquades steril lalu diencerkan hingga 6 seri pengenceran ($10^{-1} - 10^{-6}$). Selanjutnya 1 mL sampel dari 3 seri pengenceran tertinggi diletakkan dalam petridish, kemudian ditambahkan 10 mL PCA yang dibuat dari 5 g/L pepton, 2,5 g/L *dried yeast extract*, 1 g/L D-Glukosa, dan 15 g/L agar. Setelah itu, dilakukan pencampuran sampel dan PCA dengan melakukan gerakan zig zag angka 8 agar sebaran mikroba merata. Setelah PCA memadat, selanjutnya sampel diinkubasi pada suhu 35 °C selama 24 jam (Elisabeth *et al.*, 2010).

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- 1) Aktivitas enzim urease dan lipoksgenase pada puree edamame selama penyimpanan 13 hari mengalami penurunan seiring bertambahnya kuat tekanan dan lama penekanan HHP. Puree edamame dengan HTST mengalami penurunan aktivitas enzim urease dan lipoksgenase lebih besar daripada puree edamame tanpa HTST. Aktivitas enzim urease mengalami penurunan hingga 93,86% dan aktivitas spesifik enzim lipoksgenase menurun hingga 71,33%.
- 2) Kualitas warna puree edamame selama penyimpanan 13 hari mengalami penurunan setelah perlakuan HHP. Penggunaan HTST mengakibatkan kualitas warna puree edamame menurun semakin besar. Penurunan kualitas warna puree edamame berkisar antara 1,92% - 13,60%.
- 3) Total mikroba pada puree edamame selama penyimpanan 13 hari mengalami perlambatan tumbuh seiring bertambahnya kuat tekanan dan lama penekanan HHP. Penggunaan HTST mengakibatkan pertumbuhan mikroba semakin lambat. Sampel H-T2P2 (HTST, 30 menit, 200 MPa) mengalami pertumbuhan mikroba paling sedikit yaitu $1,7 \times 10^5$ CFU/mL.

5.2 Saran

Perlu adanya penelitian lebih lanjut tentang efek penggunaan metode HHP terhadap komponen bioaktif, sifat fisik dan sifat fungsional puree edamame selama penyimpanan.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2014. Opiniones de Urease. <http://www.datuopinion.com/ureasa> [4 Januari 2018].
- Asadi. 2009. Karakterisasi Plasma Nutfah untuk Perbaikan Varietas Kedelai Sayur (Edamame). *Buletin Plasma Nutfah*, 15 (2): 59 – 69.
- Balaban, M. O., Arreola, A. G., Marshall, M., Peplow, A., Wei, C. I., and Cornell, J. A. 1991. Inactivation of Pectinesterase in Orange Juice by Supercritical Carbon Dioxide. *J. Food Sci.* Vol. 56: 743–746.
- Bonifacio, S.J., Mercedes, C.C. dan Sandra, H.P. 2009. Chemical and physical composition of grain-type and food-type soybean for food processing. *Pesq. Agropec. Brasilia*. Vol. 44 (7): 777-784.
- Born, H. 2006. Edamame: Vegetable Soybean. <https://attra.ncat.org/attrapub/viewhtml.php?id=28>. [2Maret 2016].
- Brenda Comprehensive Enzyme Information System. 2017a. Information on EC 3.5.1.5-Urease. <http://www.brenda-enzymes.org/enzyme.php?ecno=3.5.1.5>. [12 Januari 2017].
- Brenda Comprehensive Enzyme Information System. 2017b. Information on EC 1.13.11.12 - Linoleat 13S - Lipoxygenase. <http://www.brenda-enzymes.org/enzyme.php?ecno=1.13.11.12>. [12 Januari 2017].
- Cano, M. P., Hernandez, A., dan De Ancos, B. 1997. High Pressure and Temperature Effects on Enzyme Inactivation in Strawberry and Orange Products. *J. Food. Sci.* Vol. 2 (1): 85-88.
- Chen, J. L., Zhang, J., Song, L. J., Jiang, Y., Wu, J. H. and Hu, X. S. 2010. Changes in Microorganism, Enzyme, Aroma of Hami Melon (*Cucumis melo* L.) Juice Treated with Dense Phase Carbon Dioxide and Stored at 4 °C. *Innov. Food Sci. Emerg.* Vol. 11: 623–329.
- Christie, W. W. 2016. Hydroxyeicosatetraenoic Acids and Related Mono-Oxygenated Fatty Acids. <http://www.lipidhome.co.uk/lipids/fa-eic/eic-hete/index.htm> [4 Januari 2018].
- Coolong, T. 2009. *Edamame*. College of Agriculture. Kentucky: University of Kentucky Press.
- Dahl, W.J. 2016. Pureed Food and Fiber. *UF/IFAS Extension*. Vol. 12 (16): 1-5.
- Dahl, W.J., dan Maria, L.S. 2015. Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: Health Implications of Dietary Fiber. *JAND*.Vol. 115 (11): 1861–1870.

- Damar, S. dan Balaban, M.O. 2006. Review of Dense Phase CO₂ Technology: Microbial and Enzyme Inactivation, and Effects on Food Quality. *J. Food Sci.* Vol. 71: R1–R11.
- Dian, W.W., Xiao, D.Y., Jian, H.H. dan Zu, Q.S. 2013. Inactivation of Jack Bean Urease by Scutellarin: Elucidation of Inhibitory Efficacy, Kinetics and Mechanism. *Fitoterapia*. Vol. 91: 60-67.
- Elisabeth, G.B.P., Martin, W.J., Han, J., Leon, G.M.G., dan Marcel, H.Z. 2010. Comparison of Two Optical Density Based Method and A Plate Count Method for Estimation of Growth Parameters of *Bacillus cereus*. *J. Appl. Environ. Microbiol.* Vol. 76 (5): 1399-1405.
- Fabroni, S., Amenta, M., Timpanaro, N. and Rapisarda, P. 2010. Supercritical Carbon Dioxide-Treated Blood Orange Juice as A New Product in The Fresh Fruit Juice Market. *Innov.Food Sci. Emerg.* Vol. 11: 477–484.
- Ghafoor, K., Al-Juhaimi, F.Y.I., dan Park, J. 2011. *High Pressure Treatmens of Soybean and Soybean Products in Recent Trend for Enhanching The Diversity and Quality of Soybean Products*. Edited by Dora Krezhova. Kroasia: Intech Publisher.
- Gomes, M. R. A., Clark, R., dan Ledward, D. A. 1998. Effects of high pressure on amylases and starch in wheat and barley flours. *Food Chem.* Vol. 63 (3): 363–372.
- Goodner, J. K., Braddock, R. J., Parish, M. E., dan Sims, C. A. 1999. Cloud stabilization of orange juice by high pressure processing. *J. Food. Sci.* Vol. 64 (4): 699-700
- Hayert, M., Perrier-Cornet, J. M., dan Gervais, P. 1996. Why do yeasts die under pressure? In: Heremans, K. (Ed), *High Pressure Research in the Biosciences and Biotechnology*. Belgium: Leuven University Press.
- Hercia, S.D.M., Leandro, M.C., Sonia, M.R.R. dan Elvira, D.M. 2011. Nutritional and Bioactive Compounds of Soybean: Benefits on Human Health, Soybean and Health, Prof. Hany El-Shemy (Ed.), ISBN: 978-953-307-535-8, InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/soybean-and-health/nutritional-and-bioactivecompounds-of-soybean-benefits-on-human-health>.
- Hu, W., Zhou, L., Xu, Z., Zhang, Y., dan Liao, X. 2013. Enzyme Inactivation in Food Processing using High Pressure Carbon Dioxide Technology. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* Vol. 53: 145–161.
- Hunter Lab. 2017. The Basic of Color Perception and Measurement. <https://www.hunterlab.com/duplicate-of-basics-of-color-theory.pdf?r=false>. [31 Maret 2017].
- Hutching, J.B. 1999. *Food Color and Appearance*. Maryland: Aspen Publication.
- IDFA. 2009. Pasteurization. <http://www.idfa.org/news-views/media-kits/milk/pasteurization> [4 Januari 2018].

- Indrawati, Loey, A.M.V., Ludikhuyze, L.R., dan Hendrickx, M.E. 1999. Soybean Lipoxygenase Inactivation by Pressure at Subzero and Elevated Temperatures. *J. Agric. Food. Chem.* Vol. 47: 2468-2474.
- Iwahashi, H., Obuchi, K., Fujii, S., Fujita, K., dan Komatsu, Y. 1996. The reason why trehalose is more important for barotolerance than hsp104 in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS Letters*. Vol. 416 (1): 1-5.
- Johnson D., S. Wang, and A. Suzuki. 1999. *Edamame: Vegetable Soybean for Colorado*. In Janick, J. (Ed.). Perspectives on New Crops and New Uses. p. 385-388. Alexandria, VA: ASHS Press.
- Kakade, M. L., Rackis, J. J., McGhee, J. E., dan Puski, G. 1974. Determination of Trypsin Inhibitor Activity of Soy Products: A Collaborative Analysis of An Improved Procedure. *Cereal Chemistry*. Vol. 51: 376-381.
- Kato, M. dan Hayashi, R. 1999. Effects of High Pressure on Lipid and Biomembranes for Understanding High Pressure Induced Biological Phenomena. *J. Biosci. Biotechnol. Biochem.* Vol. 63 (80): 1321-1328.
- Kincal, D., Hill, W.S., Balaban, M., Portier, K.M., dan Sims, C.A. 2006. A Continous High-Pressure Carbon Dioxide System for Cloud and Quality Retention in Orange Juice. *J. Food Sci.* Vol. 71 (6): C338-C344.
- Konovsky J., T.A. Lumpkin, dan D. McClary. 1994. *Edamame: The Vegetable Soybean*. In O'Rourke, A.D. (Ed.). Understanding The Japanese Food and Agrimarket: A Multifaceted Opportunity. p. 173-181. Binghamton: Haworth Press.
- Krajewska, B. 2009. Ureases I. Functional, Catalytic and Kinetic Properties: A Review. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*. Vol. 59 (1-3): 9-21.
- Krajewska, B., Van Eldik, R., dan Brindell, M. 2012. Temperatureand PressureDependent Stopped-Flow Kinetic Studies of Jack Bean Urease. Implications for The Catalytic Mechanism. *JBIC*. Vol. 17 (7): 1123-1134.
- Kumar, V., Rani, A., Tindwani, C., dan Jain, M. 2003. Lipoxygenase Isoenzymes and Trypsin Inhibitor Activities in Soybean as Influenced by Growing Location. *J. Food Chem.* Vol. 83: 79-83.
- Lee, J.H., Seog, E.J., dan Choi, Y.H. 1998. Color Characteristics of Soybeans as Influenced by Freezing and Cooking Conditions. *J. Food Sci. Nutr.* Vol. 3 (2): 105-110.
- Liu, Y., Zhao, X.Y., Zou, L., dan Hu, X.S. 2012. Effect of High Hydrostatic Pressure on Overall Quality Parameters of Watermelon Juice. *Food Sci. Tech. Inter.* Vol. 19 (3): 197-207.
- Masuda, R., K. Hashizume, dan K. Kaneko. 1988. Effect of Holding Time Before Freezing on The Constituents and The Flavor of Frozen Green Soybeans. *Nihon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*. Vol. 35: 763-770.

- Morris, C., Brody, A. L., dan Wicker, L. 2007. Non-Thermal Food Processing/Preservation Technologies: A Review with Packaging Implications. *Packag. Technol. Sci.* Vol. 20: 275–286.
- Nguyen, V.Q. 2001. Edamame (Vegetable Green Soybean). In The Rural Industrial. p. 49-56. <http://attar.ncut.org/attar-pub/edamame.html/> [1 Maret 2016].
- Oh, D.G., Jang, Y.K., Woo, J.E., Kim, J.S., dan Lee, C.H. 2016. Metabolomics Reveals The Effect of Garlic on Antioxidant- and Protease-Activities During *Cheonggukjang* (Fermented Soybean Paste) Fermentation. *Food Research International*. Vol. 82: 86-94.
- Palou, E., López-Malo, A., Barbosa-Cánovas, G. V., Welti-Chanes, J., dan Swanson, B. G. 1998. Oscillatory high hydrostatic pressure inactivation of *Zygosaccharomyces bailii*. *J. Food Protect.* Vol. 61 (9): 1213–1215.
- Park, S. J., Lee, J. I. and Park, J. 2002. Effects of A Combined Process of High-Pressure Carbon Dioxide and High Hydrostatic Pressure on The Quality of Carrot Juice. *J. Food Sci.* Vol. 67: 1827–1834.
- Patras, A., Brunton, N. P., Da Pieve, S., & Butler, F. 2009. Impact of High Pressure Processing on Total Antioxidant Activity, Phenolic, Ascorbic Acid, Anthocyanin Content and Colour of Strawberry and Blackberry Purées. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. Vol. 10 (3): 308–313.
- Patrigani, F. dan Lanciotti, R. 2012. Application of High and Ultra High pressure Homogenization for Food Safety. *Front. Microbiol.* Vol. 7: 1132.
- Patterson, M. 2014. High Pressure Treatment of Foods. *Encyclopedia of Food Microbiology*. Vol. 2: 206-212.
- Prachayawarakorn, S., Prachayawasin, P., dan Soponronnarit, S. 2006. Heating Process of Soybean Using Hot-Air and Superheated-Steam Fluidized-Bed Dryers. *LWT-Food Science and Technology*. Vol. 39, 770–778.
- Pujiastuti, L. 2015. Kedelai Jepang Made in Jember Rambah Pasar Eropa dan AS. <http://finance.detik.com/read/2015/07/21/145003/2972179/4/kedelai-jepang-made-in-jember-rambah-pasar-eropa-dan-as>. [2 Maret 2016].
- Pusdatin. 2014. Kedelai Jember Tembus Pasar Internasional. <http://setkab.go.id/kedelai-jember-tembus-pasar-internasional/>. [2 Maret 2016].
- Rackis, J.J., Hoing, D.H., Sessa, D.S., dan Moser, H.A. 1972. Lipoxygenase and Peroxidase Activities of Soybeans As Related to Flavor Profile During Maturation. *Cereal Chemistry*. Vol. 49: 586 – 595.
- Rao, M.B., Tanksale, A.M., Ghatge, M.S., dan Deshpande, V.V. 1998. Molecular and Biotechnological Aspects of Microbial Proteases. *J. List Microbiology and Molecular Biology Reviews*. Vol. 62 (3): 597- 635.

- Raso, J. dan Gustavo, V. B. C. 2003. Nonthermal Preservation of Foods Using Combined Processing Techniques. *Crit. Rev. in Food Sci. Nut.* Vol. 43 (3): 265-285.
- Reicks, M., Jonnalagadda, S., Albertson, A.M., dan Joshi, N. 2014. Total Dietary Fiber Intakes in The US Population are Related to Whole Grain Consumption: Results from The National Health and Nutrition Examination Survey 2009 to 2010. *Nutr. Res.* Vol. 34 (3): 226–34.
- Sadilova, E., Stintzing, F. C., Kammerer, D. R., & Carle, R. 2009. Matrix Dependent Impact of Sugar and Ascorbic Acid Addition on Color and Anthocyanin Stability of Black Carrot, Elderberry and Strawberry Single Strength and from Concentrate Juices Upon Thermal Treatment. *J. Food Research International.* Vol. 42 (8): 1023–1033.
- San Martin, M.F., Barbosa-Canovas, G.V., dan Swanson, B.G. 2010. Food precessing by High Hydrostatic Pressure. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* Vol. 42 (6): 627-645.
- Shin, D.J., Kim, W., dan Kim, Y. 2013. Physicochemical and Sensory Properties of Soy Bread Made with Germinated, Steamed and Roasted Soy Flour. *Food Chemistry.* Vol. 141: 517–523.
- Simonne, A.H., Smith, M., Weaver, D.B., Vail, T., Barnes, S., dan Wei, C.I. 2000. Retention and Changes of Soy Isoflavones and Carotenoids in Immature Seeds (Edamame) during Processing. *J. Agric. Food. Chem.* Vol. 48: 6061-6069.
- Terpstra, F.G., Rechtman, D.J., Lee, M.L., Van Hoeij, K., dan Berg, H. 2007. Antimicrobial and Antiviral Effect of High-Temperature Short-Time (HTST) Pasteurization Applied to Human Milk. *Breastfeeding Medicine.* Vol. 2 (1): 27-33.
- Whitaker, J.R. 1975. *Principles of Enzymology for the Food Sciences.* ISBN: 0824791487. New York: Marcel and Dekker.
- Wiriyaumpaiwong, S., Soponronnarit, S., dan Prachayawarakorn. S. 2007. Drying and Urease Inactivation Models of SoybeanUsing Two-dimensional Spouted Bed Technique. *Drying Technology: An International Journal.* Vol. 24 (12): 1673-1681.
- Yalcin, S. dan Basman, A. 2015. Effects of on Urease, Trypsin Inhibitor and Lipoxygenase Activities of Soybean Samples. *J. Food Chemistry.* Vol. 169: 203-210.
- Yoshimura, T., Furutera, M., Shimoda, M., Ishikawa, M., Miyake, M., Matsumoto, K., Osajima, Y., and Hayakawa, I. 2002. Inactivation Efficiency of Enzymes in Buffered System by Continuous Method with Microbubbles of Supercritical Carbon Dioxide. *J. Food Sci.* Vol. 67: 3227–3231.

- Zhou, L., Bi, X., Xu, Z., Yang, Y., dan Liao, X. 2015. Effects of High Hydrostatic Pressure Processing on Flavor, Texture, and Color of Foods. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* Vol. 55 (6): 750-768.
- Zimmer, M. 2000. Molecular Mechanics Evaluation of The Proposed Mechanisms for The Degradation of Urea by Urease. *J. Biomol Struct Dyn.* Vol. 17 (5): 787-97.
- Zue, S., Riaz, M.N., dan Lusas, E.W. 1996. Effect of Different Extrusion Temperatures and Moisture Content on Lipoxygenase Inactivation and Protein Solubility in Soybeans. *J. Agric. Food Chem.* Vol. 44: 3315-3318.

LAMPIRAN

A. Data Uji Aktivitas Enzim Urease pada Puree Edamame sebelum Proses HHP

A1. Data Uji Aktivitas Enzim Urease Puree Edamame dengan HTST Sebelum Proses HHP

| Ulangan | pH Sampel | pH Blanko | Akt. Urease (pH U) | \bar{X} | Akt. Urease (pH U) |
|---------|-----------|-----------|-----------------------|-----------|-----------------------|
| U1 | 7,08 | 6,82 | 0,26 | | 0,26 |
| | 7,12 | 6,82 | 0,3 | | |
| U2 | 7,06 | 6,86 | 0,2 | | 0,26 |
| | 7,13 | 6,86 | 0,27 | | |

A2. Data Uji Aktivitas Enzim Urease Puree Edamame tanpa HTST Sebelum Proses HHP

| Ulangan | pH Sampel | pH Blanko | Akt. Urease (pH U) | \bar{X} | Akt. Urease (pH U) |
|---------|-----------|-----------|-----------------------|-----------|-----------------------|
| U1 | 7,35 | 7,00 | 0,35 | | 0,34 |
| | 7,36 | 7,00 | 0,36 | | |
| U2 | 7,31 | 7,01 | 0,30 | | 0,34 |
| | 7,35 | 7,01 | 0,34 | | |

A3. Contoh Perhitungan Uji Aktivitas Enzim Urease

$$\begin{aligned}
 \text{Akt. Enzim Urease (pH U)} &= \text{pH Sampel} - \text{pH Blanko} \\
 &= 7,08 - 6,82 \\
 &= 0,26 \text{ pH U}
 \end{aligned}$$

B. Data Aktivitas Enzim Urease pada Puree Edamame Selama Penyimpanan

B1. Aktivitas Enzim Urease pada Puree Edamame dengan HTST Selama Penyimpanan

| Perlakuan | Ulangan | Hari Ke-2 | | | | Hari Ke-4 | | | | Hari Ke-6 | | | |
|-----------|---------|-----------|-----------|-------------|-----------------------|-----------|-----------|-------------|-----------------------|-----------|-----------|-------------|-----------------------|
| | | pH Sampel | pH Blanko | Akt. Urease | \bar{X} Akt. Urease | pH Sampel | pH Blanko | Akt. Urease | \bar{X} Akt. Urease | pH Sampel | pH Blanko | Akt. Urease | \bar{X} Akt. Urease |
| H-Kontrol | U1 | 7,16 | 6,87 | 0,29 | 0,32 | 7,12 | 6,85 | 0,27 | 0,29 | 7,25 | 6,95 | 0,30 | 0,29 |
| | | 7,20 | 6,87 | 0,33 | | 7,14 | 6,85 | 0,29 | | 7,27 | 6,95 | 0,32 | |
| | U2 | 7,14 | 6,83 | 0,31 | | 7,10 | 6,80 | 0,30 | | 7,23 | 6,96 | 0,27 | |
| | | 7,19 | 6,83 | 0,36 | | 7,09 | 6,80 | 0,29 | | 7,22 | 6,96 | 0,26 | |
| H-T1P1 | U1 | 7,19 | 6,92 | 0,27 | 0,24 | 7,16 | 6,95 | 0,21 | 0,20 | 7,24 | 7,01 | 0,23 | 0,21 |
| | | 7,21 | 6,92 | 0,29 | | 7,19 | 6,95 | 0,24 | | 7,28 | 7,01 | 0,27 | |
| | U2 | 7,16 | 6,94 | 0,22 | | 7,14 | 6,97 | 0,17 | | 7,20 | 7,04 | 0,16 | |
| | | 7,13 | 6,94 | 0,19 | | 7,14 | 6,97 | 0,17 | | 7,22 | 7,04 | 0,18 | |
| H-T2P1 | U1 | 7,23 | 6,98 | 0,25 | 0,26 | 7,24 | 7,06 | 0,18 | 0,19 | 7,13 | 6,90 | 0,23 | 0,21 |
| | | 7,26 | 6,98 | 0,28 | | 7,26 | 7,06 | 0,2 | | 7,16 | 6,90 | 0,26 | |
| | U2 | 7,23 | 6,98 | 0,25 | | 7,27 | 7,05 | 0,22 | | 7,11 | 6,93 | 0,18 | |
| | | 7,22 | 6,98 | 0,24 | | 7,22 | 7,05 | 0,17 | | 7,09 | 6,93 | 0,16 | |
| H-T1P2 | U1 | 7,09 | 6,86 | 0,23 | 0,21 | 7,03 | 6,86 | 0,17 | 0,18 | 7,39 | 7,19 | 0,2 | 0,18 |
| | | 7,11 | 6,86 | 0,25 | | 7,05 | 6,86 | 0,19 | | 7,40 | 7,19 | 0,21 | |
| | U2 | 7,03 | 6,88 | 0,15 | | 7,00 | 6,84 | 0,16 | | 7,34 | 7,20 | 0,14 | |
| | | 7,07 | 6,88 | 0,19 | | 7,03 | 6,84 | 0,19 | | 7,38 | 7,20 | 0,18 | |
| H-T2P2 | U1 | 7,11 | 6,97 | 0,14 | 0,16 | 7,12 | 6,99 | 0,13 | 0,11 | 7,16 | 7,02 | 0,14 | 0,12 |
| | | 7,14 | 6,97 | 0,17 | | 7,14 | 6,99 | 0,15 | | 7,19 | 7,02 | 0,17 | |
| | U2 | 7,13 | 6,97 | 0,16 | | 7,09 | 7,00 | 0,09 | | 7,12 | 7,05 | 0,07 | |
| | | 7,13 | 6,97 | 0,16 | | 7,07 | 7,00 | 0,07 | | 7,14 | 7,05 | 0,09 | |

B2. Aktivitas Enzim Urease pada Puree Edamame dengan HTST Selama Penyimpanan (Lanjutan)

| Perlakuan | Ulangan | Hari Ke-8 | | | | Hari Ke-13 | | | |
|-----------|---------|-----------|-----------|-------------|-----------------------|------------|-----------|-------------|-----------------------|
| | | pH Sampel | pH Blanko | Akt. Urease | \bar{X} Akt. Urease | pH Sampel | pH Blanko | Akt. Urease | \bar{X} Akt. Urease |
| H-Kontrol | U1 | 7,14 | 6,88 | 0,26 | 0,24 | 7,11 | 6,89 | 0,22 | 0,20 |
| | | 7,16 | 6,88 | 0,28 | | 7,10 | 6,89 | 0,21 | |
| | U2 | 7,10 | 6,90 | 0,20 | | 7,09 | 6,88 | 0,21 | |
| | | 7,12 | 6,90 | 0,22 | | 7,05 | 6,88 | 0,17 | |
| H-T1P1 | U1 | 7,23 | 7,02 | 0,21 | 0,21 | 7,17 | 6,99 | 0,18 | 0,18 |
| | | 7,20 | 7,02 | 0,18 | | 7,15 | 6,99 | 0,16 | |
| | U2 | 7,19 | 6,99 | 0,20 | | 7,15 | 6,97 | 0,18 | |
| | | 7,22 | 6,99 | 0,23 | | 7,15 | 6,97 | 0,18 | |
| H-T2P1 | U1 | 7,09 | 6,89 | 0,2 | 0,18 | 7,09 | 6,93 | 0,16 | 0,17 |
| | | 7,13 | 6,89 | 0,24 | | 7,11 | 6,93 | 0,18 | |
| | U2 | 7,04 | 6,93 | 0,11 | | 7,13 | 6,95 | 0,18 | |
| | | 7,08 | 6,93 | 0,15 | | 7,11 | 6,95 | 0,16 | |
| H-T1P2 | U1 | 7,38 | 7,19 | 0,19 | 0,17 | 7,26 | 7,12 | 0,14 | 0,14 |
| | | 7,40 | 7,19 | 0,21 | | 7,21 | 7,12 | 0,09 | |
| | U2 | 7,33 | 7,21 | 0,12 | | 7,24 | 7,07 | 0,17 | |
| | | 7,37 | 7,21 | 0,16 | | 7,22 | 7,07 | 0,15 | |
| H-T2P2 | U1 | 7,19 | 7,08 | 0,11 | 0,08 | 7,07 | 7,01 | 0,06 | 0,07 |
| | | 7,17 | 7,08 | 0,09 | | 7,08 | 7,01 | 0,07 | |
| | U2 | 7,13 | 7,06 | 0,07 | | 7,08 | 7,01 | 0,07 | |
| | | 7,11 | 7,06 | 0,05 | | 7,09 | 7,01 | 0,08 | |

B3. Aktivitas Enzim Urease pada Puree Edamame tanpa HTST Selama Penyimpanan

| Perlakuan | Ulangan | Hari Ke-2 | | | | Hari Ke-4 | | | | Hari Ke-6 | | | |
|------------|---------|-----------|-----------|-------------|-----------------------|-----------|-----------|-------------|-----------------------|-----------|-----------|-------------|-----------------------|
| | | pH Sampel | pH Blanko | Akt. Urease | \bar{X} Akt. Urease | pH Sampel | pH Blanko | Akt. Urease | \bar{X} Akt. Urease | pH Sampel | pH Blanko | Akt. Urease | \bar{X} Akt. Urease |
| NH-Kontrol | U1 | 7,25 | 6,86 | 0,39 | 0,39 | 7,26 | 6,94 | 0,32 | 0,32 | 7,35 | 7,00 | 0,35 | 0,34 |
| | | 7,28 | 6,86 | 0,42 | | 7,27 | 6,94 | 0,33 | | 7,36 | 7,00 | 0,36 | |
| | U2 | 7,22 | 6,86 | 0,36 | | 7,25 | 6,94 | 0,31 | | 7,31 | 7,01 | 0,30 | |
| | | 7,26 | 6,86 | 0,40 | | 7,26 | 6,94 | 0,32 | | 7,35 | 7,01 | 0,34 | |
| NH-T1P1 | U1 | 7,13 | 6,84 | 0,29 | 0,30 | 7,13 | 6,87 | 0,26 | 0,28 | 7,19 | 6,87 | 0,32 | 0,29 |
| | | 7,15 | 6,84 | 0,31 | | 7,11 | 6,87 | 0,24 | | 7,22 | 6,87 | 0,35 | |
| | U2 | 7,10 | 6,82 | 0,28 | | 7,16 | 6,84 | 0,32 | | 7,16 | 6,90 | 0,26 | |
| | | 7,14 | 6,82 | 0,32 | | 7,14 | 6,84 | 0,30 | | 7,13 | 6,90 | 0,23 | |
| NH-T2P1 | U1 | 7,14 | 6,88 | 0,26 | 0,27 | 7,15 | 6,91 | 0,24 | 0,20 | 7,18 | 6,91 | 0,27 | 0,23 |
| | | 7,16 | 6,88 | 0,28 | | 7,15 | 6,91 | 0,24 | | 7,16 | 6,91 | 0,25 | |
| | U2 | 7,15 | 6,87 | 0,28 | | 7,10 | 6,95 | 0,15 | | 7,14 | 6,93 | 0,21 | |
| | | 7,12 | 6,87 | 0,25 | | 7,13 | 6,95 | 0,18 | | 7,12 | 6,93 | 0,19 | |
| NH-T1P2 | U1 | 7,11 | 6,86 | 0,25 | 0,26 | 7,12 | 6,86 | 0,26 | 0,24 | 7,14 | 6,87 | 0,27 | 0,25 |
| | | 7,13 | 6,86 | 0,27 | | 7,12 | 6,86 | 0,26 | | 7,17 | 6,87 | 0,30 | |
| | U2 | 7,09 | 6,85 | 0,24 | | 7,10 | 6,87 | 0,23 | | 7,11 | 6,90 | 0,21 | |
| | | 7,12 | 6,85 | 0,27 | | 7,09 | 6,87 | 0,22 | | 7,10 | 6,90 | 0,20 | |
| NH-T2P2 | U1 | 7,16 | 6,99 | 0,17 | 0,17 | 7,17 | 7,01 | 0,16 | 0,15 | 7,17 | 7,00 | 0,17 | 0,16 |
| | | 7,19 | 6,99 | 0,20 | | 7,18 | 7,01 | 0,17 | | 7,19 | 7,00 | 0,19 | |
| | U2 | 7,13 | 6,98 | 0,15 | | 7,13 | 7,00 | 0,13 | | 7,14 | 7,01 | 0,13 | |
| | | 7,14 | 6,98 | 0,16 | | 7,15 | 7,00 | 0,15 | | 7,17 | 7,01 | 0,16 | |

B4. Aktivitas Enzim Urease pada Puree Edamame tanpa HTST Selama Penyimpanan (Lanjutan)

| Perlakuan | Ulangan | Hari Ke-2 | | | | Hari Ke-4 | | | |
|------------|---------|-----------|-----------|-------------|-----------------------|-----------|-----------|-------------|-----------------------|
| | | pH Sampel | pH Blanko | Akt. Urease | \bar{X} Akt. Urease | pH Sampel | pH Blanko | Akt. Urease | \bar{X} Akt. Urease |
| NH-Kontrol | U1 | 7,35 | 7,05 | 0,30 | 0,26 | 7,21 | 6,95 | 0,26 | 0,24 |
| | | 7,38 | 7,05 | 0,30 | | 7,24 | 6,95 | 0,29 | |
| | U2 | 7,31 | 7,08 | 0,23 | | 7,20 | 6,98 | 0,22 | |
| | | 7,30 | 7,08 | 0,22 | | 7,18 | 6,98 | 0,20 | |
| NH-T1P1 | U1 | 7,15 | 6,88 | 0,27 | 0,26 | 7,12 | 6,90 | 0,22 | 0,22 |
| | | 7,19 | 6,88 | 0,31 | | 7,09 | 6,90 | 0,19 | |
| | U2 | 7,16 | 6,92 | 0,24 | | 7,10 | 6,87 | 0,23 | |
| | | 7,14 | 6,92 | 0,22 | | 7,11 | 6,87 | 0,24 | |
| NH-T2P1 | U1 | 7,13 | 6,90 | 0,23 | 0,21 | 7,09 | 6,90 | 0,19 | 0,17 |
| | | 7,19 | 6,90 | 0,29 | | 7,14 | 6,90 | 0,24 | |
| | U2 | 7,11 | 6,95 | 0,16 | | 7,05 | 6,95 | 0,1 | |
| | | 7,10 | 6,95 | 0,15 | | 7,11 | 6,95 | 0,16 | |
| NH-T1P2 | U1 | 7,11 | 6,88 | 0,23 | 0,24 | 7,08 | 6,91 | 0,17 | 0,15 |
| | | 7,16 | 6,88 | 0,28 | | 7,10 | 6,91 | 0,19 | |
| | U2 | 7,13 | 6,92 | 0,21 | | 7,03 | 6,93 | 0,10 | |
| | | 7,15 | 6,92 | 0,23 | | 7,06 | 6,93 | 0,13 | |
| NH-T2P2 | U1 | 7,14 | 7,01 | 0,13 | 0,13 | 7,08 | 6,97 | 0,11 | 0,09 |
| | | 7,15 | 7,01 | 0,14 | | 7,11 | 6,97 | 0,14 | |
| | U2 | 7,12 | 7,00 | 0,12 | | 7,04 | 7,00 | 0,04 | |
| | | 7,11 | 7,00 | 0,11 | | 7,07 | 7,00 | 0,07 | |

C. Data Aktivitas Enzim Lipoksgigenase pada Puree Edamame sebelum Proses HHP

C1. Aktivitas Enzim Lipoksgigenase Puree Edamame dengan HTST Sebelum Proses HHP

| Abs 1 | Abs 2 | \bar{X} Abs | Akt. LOX (U/mL) | \bar{X} Akt. LOX (U/mL) |
|-------|-------|---------------|--------------------|------------------------------|
| 0,034 | 0,036 | 0,035 | 70 | 71,5 |
| 0,033 | 0,04 | 0,0365 | 73 | |

C2. Aktivitas Enzim Liposigenase Puree Edamame tanpa HTST Sebelum Proses HHP

| Abs 1 | Abs 2 | \bar{X} Abs | Akt. LOX (U/mL) | \bar{X} Akt. LOX (U/mL) |
|-------|-------|---------------|--------------------|------------------------------|
| 0,095 | 0,097 | 0,096 | 192 | 190 |
| 0,098 | 0,09 | 0,094 | 188 | |

C3. Contoh Perhitungan Uji Aktivitas Enzim Lipoksgigenase

$$\begin{aligned} \text{Akt. Enzim Lipoksgigenase (U)} &= \frac{\left(\frac{\text{Abs}}{0,001}\right)}{5 \text{ menit}} \\ &= \frac{\left(\frac{0,035}{0,001}\right)}{5 \text{ menit}} \\ &= 7 \text{ U} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Akt. Spesifik Lipoksgigenase (U/mL)} &= \frac{\text{U}}{0,1 \text{ mL}} \\ &= \frac{7 \text{ U}}{0,1 \text{ mL}} \\ &= 70 \text{ U/mL} \end{aligned}$$

D. Data Uji Aktivitas Enzim Lipokksigenase pada Puree Edamame Selama Penyimpanan

D1. Data Uji Aktivitas Enzim Lipokksigenase pada Puree Edamame dengan HTST Selama Penyimpanan

| Perlakuan | Hari Ke-2 | | | | | Hari Ke-4 | | | | | Hari Ke-6 | | | | |
|-----------|-----------|-------|---------------|-----------------|---------------------------|-----------|-------|---------------|-----------------|---------------------------|-----------|-------|---------------|-----------------|---------------------------|
| | Abs 1 | Abs 2 | \bar{X} Abs | Akt. LOX (U/mL) | \bar{X} Akt. LOX (U/mL) | Abs 1 | Abs 2 | \bar{X} Abs | Akt. LOX (U/mL) | \bar{X} Akt. LOX (U/mL) | Abs 1 | Abs 2 | \bar{X} Abs | Akt. LOX (U/mL) | \bar{X} Akt. LOX (U/mL) |
| H-Kontrol | 0,032 | 0,028 | 0,030 | 60 | 65 | 0,032 | 0,035 | 0,034 | 67 | 67 | 0,032 | 0,033 | 0,033 | 65 | 65 |
| | 0,031 | 0,039 | 0,035 | 70 | | 0,031 | 0,036 | 0,034 | 67 | | 0,030 | 0,035 | 0,033 | 65 | |
| H-T1P1 | 0,030 | 0,029 | 0,030 | 59 | 53 | 0,031 | 0,033 | 0,032 | 64 | 60 | 0,030 | 0,031 | 0,031 | 61 | 57 |
| | 0,033 | 0,030 | 0,032 | 63 | | 0,026 | 0,030 | 0,028 | 56 | | 0,028 | 0,025 | 0,027 | 53 | |
| H-T1P2 | 0,019 | 0,018 | 0,019 | 37 | 36 | 0,022 | 0,025 | 0,024 | 47 | 42,5 | 0,019 | 0,020 | 0,020 | 39 | 35 |
| | 0,016 | 0,019 | 0,018 | 35 | | 0,020 | 0,018 | 0,019 | 38 | | 0,015 | 0,016 | 0,016 | 31 | |
| H-T2P1 | 0,027 | 0,025 | 0,026 | 52 | 51 | 0,030 | 0,031 | 0,031 | 61 | 58 | 0,027 | 0,029 | 0,028 | 56 | 53 |
| | 0,025 | 0,024 | 0,025 | 49 | | 0,027 | 0,028 | 0,028 | 55 | | 0,024 | 0,026 | 0,025 | 50 | |
| H-T2P2 | 0,014 | 0,015 | 0,015 | 29 | 26 | 0,019 | 0,020 | 0,020 | 39 | 36,5 | 0,015 | 0,014 | 0,015 | 29 | 29 |
| | 0,010 | 0,013 | 0,012 | 23 | | 0,016 | 0,018 | 0,017 | 34 | | 0,013 | 0,016 | 0,015 | 29 | |

D2. Data Uji Aktivitas Enzim Lipoksigenase pada Puree Edamame dengan HTST Selama Penyimpanan (Lanjutan)

| Perlakuan | Hari Ke-8 | | | | | Hari Ke-13 | | | | |
|-----------|-----------|-------|---------------|-----------------|---------------------------|------------|-------|---------------|-----------------|---------------------------|
| | Abs 1 | Abs 2 | \bar{X} Abs | Akt. LOX (U/mL) | \bar{X} Akt. LOX (U/mL) | Abs 1 | Abs 2 | \bar{X} Abs | Akt. LOX (U/mL) | \bar{X} Akt. LOX (U/mL) |
| H-Kontrol | 0,029 | 0,027 | 0,028 | 56 | 55,5 | 0,025 | 0,024 | 0,025 | 49 | 47 |
| | 0,027 | 0,028 | 0,028 | 55 | | 0,023 | 0,022 | 0,023 | 45 | |
| H-T1P1 | 0,027 | 0,025 | 0,026 | 52 | 53 | 0,022 | 0,020 | 0,021 | 42 | 44 |
| | 0,026 | 0,028 | 0,027 | 54 | | 0,025 | 0,021 | 0,023 | 46 | |
| H-T1P2 | 0,018 | 0,017 | 0,018 | 35 | 32 | 0,014 | 0,012 | 0,013 | 26 | 27 |
| | 0,014 | 0,015 | 0,015 | 29 | | 0,015 | 0,013 | 0,014 | 28 | |
| H-T2P1 | 0,025 | 0,026 | 0,026 | 51 | 49 | 0,020 | 0,019 | 0,020 | 39 | 40,5 |
| | 0,022 | 0,025 | 0,024 | 47 | | 0,022 | 0,020 | 0,021 | 42 | |
| H-T2P2 | 0,014 | 0,012 | 0,013 | 26 | 25 | 0,010 | 0,012 | 0,011 | 22 | 20,5 |
| | 0,011 | 0,013 | 0,012 | 24 | | 0,008 | 0,011 | 0,010 | 19 | |

D3. Data Uji Aktivitas Enzim Lipoksigenase pada Puree Edamame Tanpa HTST Selama Penyimpanan

| Perlakuan | Hari Ke-2 | | | | | Hari Ke-4 | | | | | Hari Ke-6 | | | | |
|------------|----------------|----------------|-----------------|-----------------------|---------------------------------|----------------|----------------|------------------|-----------------------|---------------------------------|----------------|----------------|------------------|-----------------------|---------------------------------|
| | Abs 1 | Abs 2 | \bar{X} Abs | Akt. LOX (U/mL) | \bar{X} Akt. LOX (U/mL) | Abs 1 | Abs 2 | \bar{X} Abs | Akt. LOX (U/mL) | \bar{X} Akt. LOX (U/mL) | Abs 1 | Abs 2 | \bar{X} Abs | Akt. LOX (U/mL) | \bar{X} Akt. LOX (U/mL) |
| NH-Kontrol | 0,089 0,087 | 0,087 0,084 | 0,088 0,0855 | 176 171 | 174 | 0,091 0,093 | 0,089 0,092 | 0,09 0,0925 | 180 185 | 182,5 | 0,076 0,077 | 0,077 0,079 | 0,0765 0,078 | 153 156 | 154,5 |
| NH-T1P1 | 0,085 0,086 | 0,083 0,087 | 0,084 0,0865 | 168 173 | 171 | 0,086 0,085 | 0,089 0,082 | 0,0875 0,0835 | 175 167 | 171 | 0,063 0,066 | 0,061 0,062 | 0,062 0,064 | 124 128 | 126 |
| NH-T1P2 | 0,033 0,036 | 0,03 0,034 | 0,0315 0,035 | 63 70 | 67 | 0,034 0,034 | 0,036 0,031 | 0,035 0,0325 | 70 65 | 67,5 | 0,024 0,022 | 0,026 0,025 | 0,025 0,0235 | 50 47 | 48,5 |
| NH-T2P1 | 0,082 0,08 | 0,08 0,077 | 0,081 0,0785 | 162 157 | 160 | 0,083 0,08 | 0,086 0,089 | 0,0845 0,0845 | 169 169 | 169 | 0,051 0,048 | 0,056 0,045 | 0,0535 0,0465 | 107 93 | 100 |
| NH-T2P2 | 0,02 0,017 | 0,026 0,019 | 0,023 0,018 | 46 36 | 41 | 0,025 0,022 | 0,027 0,017 | 0,026 0,0195 | 52 39 | 45,5 | 0,018 0,015 | 0,019 0,014 | 0,0185 0,0145 | 37 29 | 33 |

D4. Data Uji Aktivitas Enzim Lipoksigenase pada Puree Edamame Tanpa HTST Selama Penyimpanan (Lanjutan)

| Perlakuan | Hari Ke-8 | | | | | Hari Ke-13 | | | | |
|------------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|---------------------------|----------------|----------------|------------------|-----------------|---------------------------|
| | Abs 1 | Abs 2 | \bar{X} Abs | Akt. LOX (U/mL) | \bar{X} Akt. LOX (U/mL) | Abs 1 | Abs 2 | \bar{X} Abs | Akt. LOX (U/mL) | \bar{X} Akt. LOX (U/mL) |
| NH-Kontrol | 0,058 0,051 | 0,06 0,054 | 0,059 0,0525 | 118 105 | 111,5 | 0,039 0,034 | 0,038 0,04 | 0,0385 0,037 | 77 74 | 75,5 |
| NH-T1P1 | 0,051 0,055 | 0,053 0,056 | 0,052 0,0555 | 104 111 | 107,5 | 0,035 0,031 | 0,031 0,036 | 0,033 0,0335 | 66 67 | 66,5 |
| NH-T1P2 | 0,02 0,019 | 0,018 0,017 | 0,019 0,018 | 38 36 | 37 | 0,016 0,015 | 0,014 0,011 | 0,015 0,013 | 30 26 | 28 |
| NH-T2P1 | 0,043 0,046 | 0,041 0,04 | 0,042 0,043 | 84 86 | 85 | 0,032 0,033 | 0,031 0,034 | 0,0315 0,0335 | 63 67 | 65 |
| NH-T2P2 | 0,016 0,012 | 0,014 0,01 | 0,015 0,011 | 30 22 | 26 | 0,012 0,009 | 0,013 0,015 | 0,0125 0,012 | 25 24 | 24,5 |

E. Data Pengukuran Nilai a* dan b* Puree Edamame Sebelum Proses HHP

E1. Data Pengukuran Nilai a* dan b* Puree Edamame dengan HTST Sebelum Proses HHP

| Parameter | U1 | U2 | U3 | U4 | U5 | Rerata | \bar{X} Rerata |
|-----------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|---------------------|
| a* | -7,90 | -7,93 | -8,14 | -8,18 | -7,68 | -7,97 | -7,99 |
| | -7,72 | -7,87 | -7,98 | -8,23 | -8,25 | -8,01 | |
| b* | 20,88 | 20,74 | 21,25 | 21,57 | 20,40 | 20,97 | 21,06 |
| | 21,30 | 21,62 | 21,39 | 20,84 | 20,65 | 21,16 | |

E2. Data Pengukuran Nilai a* dan b* Puree Edamame tanpa HTST Sebelum Proses HHP

| Parameter | U1 | U2 | U3 | U4 | U5 | Rerata | \bar{X} Rerata |
|-----------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|---------------------|
| a* | -8,10 | -8,31 | -8,08 | -8,52 | -8,23 | -8,25 | -8,47 |
| | -8,30 | -8,61 | -8,79 | -8,93 | -8,78 | -8,68 | |
| b* | 22,96 | 21,75 | 21,09 | 21,75 | 21,54 | 21,82 | 21,83 |
| | 21,88 | 21,69 | 21,90 | 22,13 | 21,62 | 21,84 | |

F. Data Pengukuran Nilai a* dan b* Puree Edamame Selama Penyimpanan

F1. Data Pengukuran Nilai a* dan b* Puree Edamame dengan HTST Selama Penyimpanan

| Indikator | Perlakuan | Hari Ke-2 | | | | | | | Hari Ke-4 | | | | | | |
|-----------|-----------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|------------------|
| | | U1 | U2 | U3 | U4 | U5 | Rerata | \bar{X} Rerata | U1 | U2 | U3 | U4 | U5 | Rerata | \bar{X} Rerata |
| a* | H-Kontrol | -7,83 -7,80 | -7,69 -7,74 | -7,83 -7,91 | -7,67 -7,93 | -7,83 -7,73 | -7,77 -7,82 | -7,80 | -7,03 -7,76 | -7,61 -7,77 | -7,80 -7,72 | -7,75 -7,57 | -7,68 -7,11 | -7,57 -7,59 | -7,58 |
| | H-T1P1 | -7,23 -7,44 | -7,46 -7,52 | -7,39 -7,49 | -7,54 -7,28 | -7,52 -7,55 | -7,43 -7,46 | -7,44 | -7,04 -6,56 | -7,09 -7,50 | -6,90 -7,44 | -7,46 -7,11 | -7,39 -7,16 | -7,18 -7,15 | -7,17 |
| | H-T1P2 | -7,62 -7,90 | -7,64 -7,56 | -7,83 -7,58 | -7,53 -7,75 | -7,56 -7,68 | -7,64 -7,69 | -7,67 | -7,86 -7,98 | -7,26 -7,16 | -7,03 -8,22 | -8,10 -7,30 | -7,95 -7,78 | -7,64 -7,69 | -7,66 |
| | H-T2P1 | -7,53 -7,59 | -7,83 -7,51 | -7,61 -7,38 | -7,54 -7,67 | -7,43 -7,90 | -7,59 -7,61 | -7,60 | -7,69 -7,85 | -7,10 -7,43 | -7,74 -7,60 | -7,31 -7,54 | -7,52 -7,02 | -7,47 -7,49 | -7,48 |
| | H-T2P2 | -7,73 -7,70 | -7,68 -7,48 | -7,67 -7,66 | -7,52 -7,69 | -7,61 -7,72 | -7,64 -7,65 | -7,65 | -7,61 -6,85 | -7,82 -7,69 | -6,95 -7,40 | -7,77 -7,57 | -7,41 -7,65 | -7,51 -7,43 | -7,47 |
| b* | H-Kontrol | 20,19 20,24 | 20,09 20,28 | 20,21 20,11 | 20,23 20,16 | 20,13 20,21 | 20,17 20,20 | 20,19 | 19,32 21,34 | 21,41 21,44 | 21,42 21,45 | 21,37 19,47 | 21,22 21,23 | 20,95 20,99 | 20,97 |
| | H-T1P1 | 20,62 20,43 | 20,64 20,91 | 20,37 20,79 | 20,84 20,58 | 20,81 20,65 | 20,66 20,67 | 20,66 | 20,64 20,56 | 20,67 20,43 | 20,43 20,53 | 20,91 20,71 | 20,44 20,78 | 20,62 20,60 | 20,61 |
| | H-T1P2 | 20,78 20,66 | 20,82 20,82 | 20,67 20,85 | 20,73 20,81 | 20,81 20,89 | 20,76 20,81 | 20,78 | 22,66 22,49 | 22,62 22,17 | 22,05 22,63 | 22,38 22,74 | 22,10 22,19 | 22,36 22,44 | 22,40 |
| | H-T2P1 | 20,67 20,70 | 20,97 21,02 | 20,67 20,92 | 20,95 20,99 | 20,87 20,74 | 20,83 20,87 | 20,85 | 21,19 21,15 | 20,45 20,95 | 21,11 21,23 | 20,84 20,52 | 21,15 21,25 | 20,95 21,02 | 20,98 |
| | H-T2P2 | 20,98 20,77 | 20,87 20,84 | 20,69 20,92 | 20,83 20,95 | 20,91 20,87 | 20,86 20,87 | 20,86 | 21,05 22,27 | 22,74 20,63 | 20,55 22,40 | 22,31 20,58 | 20,67 20,98 | 21,46 21,37 | 21,42 |

F2. Data Pengukuran Nilai a* dan b* Puree Edamame dengan HTST Selama Penyimpanan (Lanjutan 1)

| Indikator | Perlakuan | Hari Ke-6 | | | | | | | Hari Ke-8 | | | | | | |
|-----------|-----------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|------------------|
| | | U1 | U2 | U3 | U4 | U5 | Rerata | \bar{X} Rerata | U1 | U2 | U3 | U4 | U5 | Rerata | \bar{X} Rerata |
| a* | H-Kontrol | -7,18 -7,19 | -7,29 -7,03 | -7,11 -7,25 | -7,23 -7,27 | -7,01 -7,22 | -7,16 -7,19 | -7,18 | -4,44 -4,15 | -4,29 -4,23 | -4,00 -3,89 | -4,05 -3,96 | -4,19 -4,87 | -4,19 -4,22 | -4,21 |
| | H-T1P1 | -6,50 -6,12 | -6,36 -5,15 | -6,08 -5,19 | -5,12 -6,40 | -5,12 -6,48 | -5,84 -5,87 | -5,85 | -4,74 -4,64 | -4,58 -4,66 | -4,58 -4,73 | -4,58 -4,37 | -4,59 -4,81 | -4,61 -4,64 | -4,63 |
| | H-T1P2 | -6,86 -5,22 | -6,52 -5,21 | -5,12 -5,98 | -5,14 -6,79 | -6,08 -5,63 | -5,94 -5,77 | -5,86 | -6,88 -6,78 | -6,69 -6,72 | -6,69 -6,58 | -6,65 -6,73 | -6,70 -6,84 | -6,72 -6,73 | -6,73 |
| | H-T2P1 | -7,29 -7,16 | -7,13 -7,55 | -7,13 -7,01 | -6,42 -7,34 | -6,99 -7,02 | -6,99 -7,22 | -7,10 | -4,53 -4,50 | -4,42 -4,64 | -4,52 -4,69 | -4,46 -4,45 | -4,59 -4,38 | -4,50 -4,53 | -4,52 |
| | H-T2P2 | -7,83 -7,44 | -7,92 -7,02 | -7,46 -7,04 | -6,89 -7,85 | -7,08 -7,82 | -7,44 -7,43 | -7,44 | -6,82 -7,04 | -6,90 -6,46 | -6,72 -6,78 | -6,73 -6,74 | -6,67 -6,69 | -6,77 -6,74 | -6,76 |
| b* | H-Kontrol | 21,39 21,19 | 21,16 21,43 | 21,17 21,25 | 21,38 21,12 | 21,19 21,44 | 21,26 21,29 | 21,27 | 19,20 18,28 | 18,13 18,97 | 17,38 17,64 | 17,12 17,22 | 17,68 17,19 | 17,90 17,86 | 17,88 |
| | H-T1P1 | 21,13 20,15 | 20,12 20,17 | 20,07 20,11 | 20,27 20,19 | 20,24 20,32 | 20,37 20,19 | 20,28 | 19,80 19,38 | 18,84 19,44 | 19,45 19,78 | 19,50 19,76 | 19,28 19,55 | 19,37 19,58 | 19,48 |
| | H-T1P2 | 19,63 19,98 | 19,41 19,56 | 19,84 19,37 | 20,02 19,58 | 19,44 19,44 | 19,67 19,59 | 19,63 | 20,65 20,20 | 19,85 20,13 | 20,04 20,17 | 21,17 20,73 | 20,09 20,32 | 20,36 20,31 | 20,34 |
| | H-T2P1 | 21,42 20,83 | 20,67 20,67 | 20,74 20,68 | 19,77 20,74 | 20,75 20,36 | 20,67 20,66 | 20,66 | 19,10 19,25 | 17,02 18,43 | 18,12 18,09 | 19,21 17,12 | 18,37 19,23 | 18,36 18,42 | 18,39 |
| | H-T2P2 | 21,64 20,15 | 21,38 20,32 | 21,67 21,74 | 20,13 21,44 | 21,29 21,97 | 21,22 21,12 | 21,17 | 20,60 21,14 | 21,24 21,27 | 20,57 20,57 | 20,99 20,03 | 19,85 20,68 | 20,65 20,74 | 20,69 |

F3. Data Pengukuran Nilai a* dan b* Puree Edamame dengan HTST Selama Penyimpanan (Lanjutan 2)

| Indikator | Perlakuan | Hari Ke-13 | | | | | | |
|-----------|-----------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|------------------|
| | | U1 | U2 | U3 | U4 | U5 | Rerata | \bar{X} Rerata |
| a* | H-Kontrol | -3,64 -3,93 | -3,86 -3,74 | -3,84 -3,95 | -3,87 -3,99 | -3,68 -3,72 | -3,78 -3,87 | -3,82 |
| | H-T1P1 | -3,15 -3,19 | -3,11 -3,37 | -3,20 -3,41 | -3,20 -3,05 | -3,24 -3,23 | -3,18 -3,25 | -3,22 |
| | H-T1P2 | -6,06 -6,29 | -5,97 -5,67 | -5,98 -5,82 | -5,71 -6,78 | -5,74 -6,09 | -5,89 -6,13 | -6,01 |
| | H-T2P1 | -2,93 -2,94 | -2,88 -2,73 | -2,84 -2,25 | -2,94 -2,67 | -2,80 -2,41 | -2,88 -2,60 | -2,74 |
| | H-T2P2 | -6,68 -6,32 | -6,44 -6,47 | -6,47 -6,59 | -6,41 -6,75 | -6,34 -6,52 | -6,47 -6,53 | -6,50 |
| b* | H-Kontrol | 19,14 19,19 | 18,39 19,24 | 18,54 19,27 | 19,05 18,38 | 18,24 18,68 | 18,67 18,95 | 18,81 |
| | H-T1P1 | 17,79 17,98 | 17,47 17,27 | 20,14 17,55 | 18,13 17,72 | 17,16 20,36 | 18,14 18,18 | 18,16 |
| | H-T1P2 | 19,80 17,87 | 18,71 19,48 | 19,66 19,92 | 17,96 19,75 | 19,32 19,34 | 19,09 19,27 | 19,18 |
| | H-T2P1 | 15,97 15,71 | 16,01 16,52 | 17,04 16,38 | 15,65 15,02 | 16,37 15,84 | 16,21 15,89 | 16,05 |
| | H-T2P2 | 20,87 20,81 | 20,59 20,22 | 20,97 20,85 | 20,66 20,43 | 20,24 20,67 | 20,67 20,60 | 20,63 |

F4. Data Pengukuran Nilai a* dan b* Puree Edamame tanpa HTST Selama Penyimpanan

| Indikator | Perlakuan | Hari Ke-2 | | | | | | | Hari Ke-4 | | | | | | |
|-----------|------------|-----------|-------|-------|-------|-------|--------|------------------|-----------|-------|-------|-------|-------|--------|------------------|
| | | U1 | U2 | U3 | U4 | U5 | Rerata | \bar{X} Rerata | U1 | U2 | U3 | U4 | U5 | Rerata | \bar{X} Rerata |
| a* | NH-Kontrol | -8,08 | -7,69 | -7,92 | -7,83 | -7,89 | -7,88 | -7,89 | -7,91 | -7,89 | -7,89 | -7,78 | -7,74 | -7,84 | -7,83 |
| | | -8,13 | -8,09 | -7,82 | -7,65 | -7,81 | -7,90 | | -7,87 | -7,89 | -7,65 | -7,81 | -7,84 | -7,81 | |
| | NH-T1P1 | -6,98 | -6,69 | -6,73 | -6,85 | -6,83 | -6,82 | -6,83 | -6,94 | -6,23 | -6,62 | -6,57 | -6,63 | -6,60 | -6,62 |
| | | -6,71 | -6,46 | -6,53 | -6,61 | -7,94 | -6,85 | | -6,43 | -6,95 | -6,57 | -6,68 | -6,59 | -6,64 | |
| | NH-T1P2 | -6,86 | -7,39 | -7,25 | -6,63 | -6,86 | -7,00 | -6,99 | -7,25 | -6,83 | -7,36 | -6,76 | -7,11 | -7,06 | -7,05 |
| b* | | -6,96 | -6,58 | -6,74 | -7,23 | -7,42 | -6,99 | | -6,44 | -7,12 | -7,14 | -7,21 | -7,23 | -7,03 | |
| | NH-T2P1 | -6,69 | -6,87 | -7,21 | -6,73 | -6,82 | -6,86 | -6,83 | -6,68 | -5,88 | -6,07 | -7,34 | -6,90 | -6,57 | -6,60 |
| | | -7,31 | -6,66 | -6,91 | -6,43 | -6,70 | -6,80 | | -6,53 | -6,40 | -6,48 | -6,86 | -6,88 | -6,63 | |
| | NH-T2P2 | -7,28 | -7,39 | -6,89 | -6,97 | -6,83 | -7,07 | -7,05 | -7,13 | -7,78 | -6,48 | -6,05 | -6,67 | -6,82 | -6,69 |
| | | -7,40 | -7,31 | -7,01 | -6,72 | -6,68 | -7,02 | | -7,22 | -6,91 | -6,10 | -6,14 | -6,46 | -6,57 | |
| b* | NH-Kontrol | 20,96 | 21,04 | 21,00 | 21,29 | 21,37 | 21,13 | 21,16 | 21,27 | 21,33 | 21,65 | 21,71 | 21,60 | 21,51 | 21,52 |
| | | 21,09 | 21,32 | 21,44 | 21,07 | 21,01 | 21,19 | | 21,68 | 21,69 | 21,57 | 21,30 | 21,37 | 21,52 | |
| | NH-T1P1 | 19,68 | 19,79 | 19,68 | 19,93 | 19,54 | 19,72 | 19,74 | 19,07 | 19,08 | 19,31 | 19,29 | 19,88 | 19,33 | 19,35 |
| | | 19,70 | 19,93 | 19,62 | 19,74 | 19,81 | 19,76 | | 19,28 | 19,39 | 19,91 | 19,12 | 19,14 | 19,37 | |
| | NH-T1P2 | 19,31 | 19,29 | 19,51 | 19,27 | 18,89 | 19,25 | 19,26 | 19,58 | 17,83 | 20,32 | 17,82 | 19,69 | 19,05 | 19,04 |
| b* | | 19,55 | 19,30 | 18,87 | 19,29 | 19,34 | 19,27 | | 19,66 | 17,89 | 19,48 | 17,75 | 20,36 | 19,03 | |
| | NH-T2P1 | 19,35 | 18,63 | 18,29 | 18,57 | 18,74 | 18,72 | 18,97 | 18,95 | 17,69 | 17,91 | 20,12 | 18,30 | 18,59 | 18,58 |
| | | 19,34 | 19,62 | 19,71 | 18,58 | 18,89 | 19,23 | | 19,98 | 17,87 | 18,38 | 18,91 | 17,64 | 18,56 | |
| | NH-T2P2 | 20,83 | 20,96 | 20,67 | 20,34 | 20,63 | 20,69 | 20,68 | 20,33 | 21,72 | 18,65 | 17,87 | 17,53 | 19,22 | 19,25 |
| | | 20,64 | 20,31 | 20,58 | 20,94 | 20,85 | 20,66 | | 20,45 | 18,72 | 17,91 | 17,58 | 21,69 | 19,27 | |

F5. Data Pengukuran Nilai a* dan b* Puree Edamame tanpa HTST Selama Penyimpanan (Lanjutan 1)

| Indikator | Perlakuan | Hari Ke-6 | | | | | | | Hari Ke-8 | | | | | | |
|-----------|------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|------------------|
| | | U1 | U2 | U3 | U4 | U5 | Rerata | \bar{X} Rerata | U1 | U2 | U3 | U4 | U5 | Rerata | \bar{X} Rerata |
| a* | NH-Kontrol | -7,40 -6,60 | -6,50 -7,23 | -7,29 -7,25 | -7,29 -7,44 | -6,85 -6,69 | -7,07 -7,04 | -7,05 | -4,53 -4,70 | -4,35 -4,63 | -4,84 -4,49 | -4,73 -4,37 | -4,68 -4,75 | -4,63 -4,59 | -4,61 -4,59 |
| | NH-T1P1 | -6,38 -6,66 | -6,15 -6,13 | -6,02 -6,14 | -5,77 -6,01 | -6,03 -6,10 | -6,07 -6,21 | -6,14 | -3,91 -3,76 | -4,05 -4,14 | -4,02 -4,09 | -3,72 -4,05 | -4,13 -3,98 | -3,97 -4,00 | -3,99 -4,00 |
| | NH-T1P2 | -7,49 -7,48 | -6,83 -7,58 | -6,57 -6,87 | -7,55 -6,11 | -6,03 -6,20 | -6,89 -6,85 | -6,87 | -7,39 -7,14 | -7,10 -6,12 | -7,12 -6,79 | -6,16 -7,42 | -6,81 -7,18 | -6,92 -6,93 | -6,92 -6,93 |
| | NH-T2P1 | -7,25 -7,34 | -7,20 -7,42 | -7,32 -7,85 | -6,84 -7,30 | -7,61 -7,67 | -7,24 -7,52 | -7,38 | -4,47 -4,86 | -7,56 -4,68 | -4,68 -4,47 | -4,63 -4,53 | -4,42 -4,55 | -5,15 -4,62 | -4,89 -4,62 |
| | NH-T2P2 | -7,56 -7,19 | -6,86 -6,59 | -7,46 -6,84 | -7,17 -7,49 | -6,62 -7,51 | -7,13 -7,12 | -7,13 | -7,00 -6,35 | -6,89 -7,19 | -6,36 -6,33 | -7,16 -6,91 | -6,30 -6,98 | -6,74 -6,75 | -6,75 -6,75 |
| b* | NH-Kontrol | 21,11 20,14 | 20,09 20,89 | 21,05 21,14 | 20,97 21,11 | 20,13 20,05 | 20,67 20,67 | 20,67 | 17,67 18,99 | 16,87 18,52 | 18,89 18,45 | 18,41 16,90 | 18,43 17,64 | 18,05 18,10 | 18,08 18,10 |
| | NH-T1P1 | 20,88 20,14 | 21,02 20,86 | 19,40 21,23 | 20,16 19,32 | 20,09 20,39 | 20,31 20,39 | 20,35 | 16,60 17,01 | 16,82 16,79 | 16,92 16,42 | 16,84 16,94 | 16,34 16,63 | 16,70 16,76 | 16,73 16,76 |
| | NH-T1P2 | 21,12 21,52 | 18,42 18,74 | 17,80 18,56 | 21,42 17,90 | 18,68 21,09 | 19,49 19,56 | 19,53 | 20,06 19,68 | 20,31 17,55 | 19,61 20,46 | 17,54 20,38 | 20,31 20,14 | 19,57 19,64 | 19,60 19,64 |
| | NH-T2P1 | 21,27 21,77 | 20,01 20,58 | 21,65 20,59 | 20,63 20,10 | 20,64 21,36 | 20,84 20,88 | 20,86 | 18,59 18,94 | 16,93 18,60 | 18,96 18,23 | 18,13 18,26 | 18,32 18,87 | 18,19 18,58 | 18,38 18,58 |
| | NH-T2P2 | 21,35 20,13 | 20,30 20,19 | 20,02 20,42 | 20,20 20,44 | 20,36 20,49 | 20,45 20,33 | 20,39 | 21,00 21,36 | 20,04 20,22 | 19,96 20,12 | 21,22 19,86 | 19,99 20,19 | 20,44 20,35 | 20,40 20,35 |

F6. Data Pengukuran Nilai a* dan b* Puree Edamame tanpa HTST Selama Penyimpanan (Lanjutan 2)

| Indikator | Perlakuan | Hari Ke-13 | | | | | | |
|-----------|------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|------------------|
| | | U1 | U2 | U3 | U4 | U5 | Rerata | \bar{X} Rerata |
| a* | NH-Kontrol | -4,68 -4,01 | -4,39 -4,28 | -4,30 -4,41 | -4,39 -4,72 | -4,04 -4,34 | -4,36 -4,35 | -4,36 |
| | NH-T1P1 | -3,72 -3,45 | -3,54 -3,44 | -3,47 -3,69 | -3,39 -3,80 | -3,68 -3,56 | -3,56 -3,59 | -3,57 |
| | NH-T1P2 | -6,72 -6,43 | -6,57 -6,82 | -6,39 -6,47 | -6,76 -6,54 | -6,45 -6,68 | -6,58 -6,59 | -6,58 |
| | NH-T2P1 | -3,44 -3,50 | -3,44 -3,43 | -3,46 -3,49 | -3,46 -3,42 | -3,45 -3,53 | -3,45 -3,47 | -3,46 |
| | NH-T2P2 | -6,69 -6,89 | -7,30 -6,84 | -6,79 -7,20 | -7,17 -6,74 | -6,85 -7,27 | -6,96 -6,99 | -6,97 |
| b* | NH-Kontrol | 19,89 17,72 | 21,74 17,98 | 17,19 16,18 | 18,44 21,96 | 15,69 19,61 | 18,59 18,69 | 18,64 |
| | NH-T1P1 | 18,70 18,73 | 18,54 19,67 | 18,66 18,19 | 19,61 18,77 | 18,10 18,52 | 18,72 18,78 | 18,75 |
| | NH-T1P2 | 19,77 18,42 | 19,86 19,61 | 19,58 20,76 | 18,38 19,65 | 20,67 19,84 | 19,65 19,66 | 19,65 |
| | NH-T2P1 | 17,02 17,16 | 17,19 17,49 | 17,06 17,33 | 17,34 17,24 | 17,23 17,05 | 17,17 17,25 | 17,21 |
| | NH-T2P2 | 19,98 20,20 | 21,60 20,24 | 20,15 20,19 | 21,19 19,89 | 20,17 21,65 | 20,62 20,43 | 20,53 |

G. Perhitungan Nilai *Hue Angle* Puree Edamame Sebelum Proses HHP

G1. Nilai *Hue Angle* Puree Edamame dengan HTST

| a* | b* | A* | B* | X | Hue |
|-------|-------|--------|-------|--------|--------|
| -7,99 | 21,06 | -41,76 | 19,59 | -25,13 | 154,87 |

G2. Nilai *Hue Angle* Puree Edamame tanpa HTST

| a* | b* | A* | B* | X | Hue |
|-------|-------|--------|-------|--------|--------|
| -8,47 | 21,83 | -44,25 | 20,30 | -24,65 | 155,35 |

G3. Contoh Perhitungan Nilai *Hue Angle*

$$\begin{aligned}
 A^* &= \frac{a^* \times \text{nilai standar } a^* \text{ papan kalibrasi}}{\text{nilai standar } a^*} \\
 &= \frac{-7,99 \times 5,75}{1,1} \\
 &= -41,76
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 B^* &= \frac{b^* \times \text{nilai standar } b^* \text{ papan kalibrasi}}{\text{nilai standar } b^*} \\
 &= \frac{21,06 \times 6,51}{7} \\
 &= 19,59
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 {}^0\text{Hue} &= 180^0 + (\tan^{-1} \left(\frac{B^*}{A^*} \right)) \\
 &= 180^0 + (\tan^{-1} \left(\frac{19,59}{-41,76} \right)) \\
 &= 180^0 + (-24,13) \\
 &= 154,87^0
 \end{aligned}$$

H. Perhitungan Nilai *Hue Angle* Puree Edamame Selama Penyimpanan

H1. Perhitungan Nilai *Hue Angle* Puree Edamame dengan HTST Selama Penyimpanan

| Perlakuan | Hari Ke-2 | | | | | | Hari Ke-4 | | | | | |
|-----------|-----------|-------|--------|-------|--------|--------|-----------|-------|--------|-------|--------|--------|
| | a* | b* | A* | B* | x | Hue | a* | b* | A* | B* | x | Hue |
| H-Kontrol | -7,80 | 20,19 | -40,75 | 18,77 | -24,73 | 155,27 | -7,58 | 20,97 | -39,62 | 19,50 | -26,20 | 153,80 |
| H-T1P1 | -7,44 | 20,66 | -38,90 | 19,22 | -26,29 | 153,71 | -7,17 | 20,61 | -37,45 | 19,17 | -27,10 | 152,90 |
| H-T1P2 | -7,67 | 20,78 | -40,07 | 19,33 | -25,75 | 154,25 | -7,66 | 22,40 | -40,06 | 20,83 | -27,48 | 152,52 |
| H-T2P1 | -7,60 | 20,85 | -39,72 | 19,39 | -26,02 | 153,98 | -7,48 | 20,98 | -39,10 | 19,52 | -26,52 | 153,48 |
| H-T2P2 | -7,65 | 20,86 | -39,97 | 19,40 | -25,89 | 154,11 | -7,47 | 21,42 | -39,06 | 19,92 | -27,02 | 152,98 |

| Perlakuan | Hari Ke-6 | | | | | | Hari Ke-8 | | | | | |
|-----------|-----------|-------|--------|-------|--------|--------|-----------|-------|--------|-------|--------|--------|
| | a* | b* | A* | B* | x | Hue | a* | b* | A* | B* | x | Hue |
| H-Kontrol | -7,18 | 21,27 | -37,52 | 19,78 | -27,80 | 152,20 | -4,21 | 17,88 | -21,99 | 16,63 | -37,10 | 142,90 |
| H-T1P1 | -5,85 | 20,28 | -30,59 | 18,86 | -31,65 | 148,35 | -4,63 | 19,48 | -24,19 | 18,11 | -36,83 | 143,17 |
| H-T1P2 | -5,86 | 19,63 | -30,61 | 18,25 | -30,81 | 149,19 | -6,73 | 20,34 | -35,16 | 18,91 | -28,28 | 151,72 |
| H-T2P1 | -7,10 | 20,66 | -37,13 | 19,22 | -27,36 | 152,64 | -4,52 | 18,39 | -23,62 | 17,11 | -35,92 | 144,08 |
| H-T2P2 | -7,44 | 21,17 | -38,86 | 19,69 | -26,87 | 153,13 | -6,76 | 20,69 | -35,31 | 19,25 | -28,59 | 151,41 |

| Perlakuan | Hari Ke-13 | | | | | |
|-----------|------------|-------|--------|-------|--------|--------|
| | a* | b* | A* | B* | x | Hue |
| H-Kontrol | -3,82 | 18,81 | -19,98 | 17,50 | -41,21 | 138,79 |
| H-T1P1 | -3,22 | 18,16 | -16,81 | 16,89 | -45,14 | 134,86 |
| H-T1P2 | -6,01 | 19,18 | -31,42 | 17,84 | -29,58 | 150,42 |
| H-T2P1 | -2,74 | 16,05 | -14,32 | 14,93 | -46,19 | 133,81 |
| H-T2P2 | -6,50 | 20,63 | -33,97 | 19,19 | -29,46 | 150,54 |

H2. Perhitungan Nilai *Hue Angle* Puree Edamame tanpa HTST Selama Penyimpanan

| Perlakuan | Hari Ke-2 | | | | | | Hari Ke-4 | | | | | |
|------------|-----------|-------|--------|-------|--------|--------|-----------|-------|--------|-------|--------|--------|
| | a* | b* | A* | B* | x | Hue | a* | b* | A* | B* | x | Hue |
| NH-Kontrol | -7,89 | 21,16 | -41,25 | 19,68 | -25,50 | 154,50 | -7,83 | 21,52 | -40,91 | 20,01 | -26,06 | 153,94 |
| H-T1P1 | -6,83 | 19,74 | -35,72 | 18,36 | -27,20 | 152,80 | -6,62 | 19,35 | -34,61 | 17,99 | -27,47 | 152,53 |
| H-T1P2 | -6,99 | 19,26 | -36,55 | 17,91 | -26,11 | 153,89 | -7,05 | 19,04 | -36,83 | 17,71 | -25,68 | 154,32 |
| H-T2P1 | -6,83 | 18,97 | -35,72 | 17,64 | -26,29 | 153,71 | -6,60 | 18,58 | -34,51 | 17,27 | -26,59 | 153,41 |
| H-T2P2 | -7,05 | 20,68 | -36,84 | 19,23 | -27,56 | 152,44 | -6,69 | 19,25 | -34,99 | 17,90 | -27,09 | 152,91 |

| Perlakuan | Hari Ke-6 | | | | | | Hari Ke-8 | | | | | |
|------------|-----------|-------|--------|-------|--------|--------|-----------|-------|--------|-------|--------|--------|
| | a* | b* | A* | B* | x | Hue | a* | b* | A* | B* | x | Hue |
| NH-Kontrol | -7,05 | 20,67 | -36,87 | 19,22 | -27,53 | 152,47 | -4,61 | 18,08 | -24,08 | 16,81 | -34,92 | 145,08 |
| H-T1P1 | -6,14 | 20,35 | -32,09 | 18,92 | -30,53 | 149,47 | -3,99 | 16,73 | -20,83 | 15,56 | -36,76 | 143,24 |
| H-T1P2 | -6,87 | 19,53 | -35,92 | 18,16 | -26,82 | 153,18 | -6,92 | 19,60 | -36,19 | 18,23 | -26,74 | 153,26 |
| H-T2P1 | -7,38 | 20,86 | -38,58 | 19,40 | -26,70 | 153,30 | -4,89 | 18,38 | -25,54 | 17,10 | -33,80 | 146,20 |
| H-T2P2 | -7,13 | 20,39 | -37,27 | 18,96 | -26,97 | 153,03 | -6,75 | 20,40 | -35,27 | 18,97 | -28,27 | 151,73 |

| Perlakuan | Hari Ke-13 | | | | | |
|------------|------------|-------|--------|-------|--------|--------|
| | a* | b* | A* | B* | x | Hue |
| NH-Kontrol | -4,36 | 18,64 | -22,77 | 17,34 | -37,28 | 142,72 |
| H-T1P1 | -3,57 | 18,75 | -18,68 | 17,44 | -43,02 | 136,98 |
| H-T1P2 | -6,58 | 19,65 | -34,41 | 18,28 | -27,98 | 152,02 |
| H-T2P1 | -3,46 | 17,21 | -18,10 | 16,01 | -41,49 | 138,51 |
| H-T2P2 | -6,97 | 20,53 | -36,46 | 19,09 | -27,64 | 152,36 |

I. Data Uji Total Mikroba Puree Edamame Selama Penyimpanan

11. Data Uji Total Mikroba Puree Edamame dengan HTST Selama Penyimpanan

| Perlakuan | Hari Ke-2 | | | Hari Ke-4 | | | Hari Ke-6 | | |
|-----------|-------------------|-----------------|---------------------------------|-----------------|-------------------|---------------------------------|-------------------|-------------------|---------------------------------|
| | U1 | U2 | \bar{X} Tot. Mikroba (CFU/mL) | U1 | U2 | \bar{X} Tot. Mikroba (CFU/mL) | U1 | U2 | \bar{X} Tot. Mikroba (CFU/mL) |
| H-Kontrol | 7×10^4 | 5×10^4 | 6×10^4 | 2×10^5 | $1,3 \times 10^5$ | $1,7 \times 10^5$ | $2,2 \times 10^5$ | $1,6 \times 10^5$ | $1,9 \times 10^5$ |
| H-T1P1 | $1,1 \times 10^5$ | 8×10^4 | $9,5 \times 10^4$ | 2×10^5 | 9×10^4 | $1,4 \times 10^5$ | $1,9 \times 10^5$ | $1,1 \times 10^5$ | $1,5 \times 10^5$ |
| H-T1P2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| H-T2P1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| H-T2P2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

| Perlakuan | Hari Ke-8 | | | Hari Ke-13 | | |
|-----------|-------------------|-------------------|---------------------------------|-------------------|-------------------|---------------------------------|
| | U1 | U2 | \bar{X} Tot. Mikroba (CFU/mL) | U1 | U2 | \bar{X} Tot. Mikroba (CFU/mL) |
| H-Kontrol | $4,8 \times 10^5$ | $3,9 \times 10^5$ | $4,35 \times 10^5$ | $5,2 \times 10^5$ | $5,8 \times 10^5$ | $4,6 \times 10^5$ |
| H-T1P1 | $5,3 \times 10^5$ | $4,4 \times 10^5$ | $4,9 \times 10^5$ | $5,9 \times 10^5$ | $6,7 \times 10^5$ | $6,3 \times 10^5$ |
| H-T1P2 | 0 | 0 | 0 | $4,1 \times 10^5$ | $3,4 \times 10^5$ | $3,8 \times 10^5$ |
| H-T2P1 | $3,9 \times 10^5$ | $2,4 \times 10^5$ | $3,2 \times 10^5$ | $2,8 \times 10^5$ | $3,7 \times 10^5$ | $3,3 \times 10^5$ |
| H-T2P2 | 0 | 0 | 0 | $1,2 \times 10^4$ | $1,7 \times 10^4$ | $1,25 \times 10^4$ |

I2. Data Uji Total Mikroba Puree Edamame tanpa HTST Selama Penyimpanan

| Perlakuan | Hari Ke-2 | | | Hari Ke-4 | | | Hari Ke-6 | | |
|------------|-------------------|-------------------|---------------------------------|-------------------|-------------------|---------------------------------|-------------------|-------------------|---------------------------------|
| | U1 | U2 | \bar{X} Tot. Mikroba (CFU/mL) | U1 | U2 | \bar{X} Tot. Mikroba (CFU/mL) | U1 | U2 | \bar{X} Tot. Mikroba (CFU/mL) |
| NH-Kontrol | $1,6 \times 10^5$ | $0,9 \times 10^5$ | $1,25 \times 10^5$ | $3,5 \times 10^5$ | $2,9 \times 10^5$ | $3,2 \times 10^5$ | $3,2 \times 10^5$ | $4,4 \times 10^5$ | $3,8 \times 10^5$ |
| NH-T1P1 | $2,8 \times 10^5$ | $1,6 \times 10^4$ | $2,2 \times 10^4$ | $1,7 \times 10^5$ | $2,9 \times 10^5$ | $2,3 \times 10^5$ | $3,3 \times 10^5$ | $2,6 \times 10^5$ | $2,9 \times 10^5$ |
| NH-T1P2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| NH-T2P1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| NH-T2P2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

| Perlakuan | Hari Ke-8 | | | Hari Ke-13 | | |
|------------|-------------------|--------------------|---------------------------------|-------------------|-------------------|---------------------------------|
| | U1 | U2 | \bar{X} Tot. Mikroba (CFU/mL) | U1 | U2 | \bar{X} Tot. Mikroba (CFU/mL) |
| NH-Kontrol | $1,9 \times 10^6$ | $1,06 \times 10^6$ | $1,5 \times 10^6$ | $2,4 \times 10^6$ | $1,4 \times 10^6$ | $1,9 \times 10^6$ |
| NH-T1P1 | $7,6 \times 10^5$ | $9,2 \times 10^5$ | $8,55 \times 10^5$ | $7,2 \times 10^5$ | $8,7 \times 10^5$ | $7,95 \times 10^5$ |
| NH-T1P2 | 4×10^4 | 2×10^4 | 3×10^4 | $5,5 \times 10^5$ | $6,2 \times 10^5$ | $5,85 \times 10^5$ |
| NH-T2P1 | $1,5 \times 10^5$ | $1,1 \times 10^5$ | $1,35 \times 10^5$ | $4,4 \times 10^5$ | $3,8 \times 10^5$ | $4,1 \times 10^5$ |
| NH-T2P2 | 2×10^4 | 10^4 | $1,5 \times 10^4$ | 3×10^4 | 3×10^4 | 3×10^4 |