

# **Teknologi Co<sub>2</sub> Superkritis Untuk Pengolahan Udang**

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

**Kutipan Pasal 72 :**

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

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

# **Teknologi Co<sub>2</sub> Superkritis Untuk Pengolahan Udang**

Maria Erna Kustyawati



PUSAKA MEDIA

Perpustakaan Nasional RI:  
Katalog Dalam Terbitan (KDT)

**TEKNOLOGI CO<sub>2</sub> SUPERKRITIS  
UNTUK PENGOLAHAN UDANG**

**Penulis**

Maria Erna Kustyawati

**Desain Cover & Layout**

PusakaMedia Design

x + 73 hal : 15.5 x 23.5 cm

Cetakan November 2019

**ISBN: 978-623-7560-16-6**

Penerbit

**Pusaka Media**

Jl. Endro Suratmin, Pandawa Raya. No. 100

Korpri Jaya Sukarame Bandarlampung

082280035489

email : [cspusakamedia@yahoo.com](mailto:cspusakamedia@yahoo.com)

Website : [www.pusakamedia.com](http://www.pusakamedia.com)

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

# KATA PENGANTAR

Buku berjudul “TEKNOLOGI CO<sub>2</sub> SUPERKRITIS UNTUK PENGOLAHAN UDANG”, merupakan kumpulan hasil penelitian penulis dan diperkaya oleh beberapa penelitian lain yang berkaitan. Penelitian ini telah dilakukan sejak tahun 2010 hingga buku ini diterbitkan.

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

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

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

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

Penulis

# TEKNOLOGI CO<sub>2</sub> SUPERKRITIS UNTUK PENGOLAHAN UDANG

## ABSTRAK

Pada era kini pengolahan tanpa panas menjadi pusat perhatian bagi pelaku industri pangan, ilmuwan maupun konsumen yang mengutamakan sifat alami produk meliputi kesegaran, nilai gizi, dan sifat fungsionalnya. Teknologi pengolahan menggunakan karbondioksida superkritis merupakan teknologi tanpa panas, karena pada tekanan 1099 psi (7,4 MPa) dan suhu 31,1°C karbon dioksida berada dalam kondisi superkritis yang dicirikan dengan memiliki tegangan permukaan nol, kerapatan rendah seperti gas dan memiliki kelarutan tinggi sehingga mudah berdifusi dan terlarut dalam padatan dan mengakibatkan perubahan struktur senyawa penyusun suatu produk. Semula, teknologi karbon dioksida superkritis digunakan sebagai metode ekstraksi untuk memisahkan komponen-komponen dalam suatu cairan atau padatan menggunakan CO<sub>2</sub> sebagai pelarut. Namun, baru baru ini telah ditemukan bahwa teknologi CO<sub>2</sub> superkritis maupun subkritis CO<sub>2</sub> dapat diterapkan sebagai metode pengolahan tanpa panas untuk produk pangan maupun minuman. Udang mempunyai nilai keutamaan bagi kesehatan manusia terutama adanya asam lemak tidak jenuh, tinggi protein dan karotenoid (astaxantin) sebagai antioksidan, sehingga sangat rentan terhadap proses pengolahan terutama penggunaan panas. Aplikasi teknologi superkritis dan subkritis CO<sub>2</sub> sebagai pengolahan tanpa panas pada udang dikaji di dalam buku ini meliputi perubahan terhadap sifat kimia, fisik, dan fungsional agar dapat diupayakan teknologi yang tepat untuk memperpanjang masa simpannya.

**Kata kunci:** CO<sub>2</sub> superkritis, CO<sub>2</sub> subkritis, perubahan fisik, kimia, aroma udang.

# DAFTAR ISI

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



## DAFTAR TABEL

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

# DAFTAR GAMBAR

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

# BAB I

## PENDAHULUAN

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

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

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

# BAB II

## KEMUNDURAN MUTU UDANG

### 2.1. Kerusakan Mutu Udang

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

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

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

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

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

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

pemasakan. Proses menggoreng menyebabkan penurunan kandungan gizi yang sangat signifikan karena penggorengan menggunakan suhu yang tinggi sehingga zat gizi seperti protein mengalami kerusakan. Sedangkan proses perebusan menyebabkan berkurangnya kandungan zat gizi karena banyak zat gizi terlarut dalam air rebusan. Semua cara masak atau pengolahan makanan juga dapat mengurangi kandungan gizi makanan. Secara khusus, memaparkan bahan makanan kepada panas yang tinggi, cahaya, dan atau oksigen akan menyebabkan kehilangan zat gizi yang besar pada makanan. Zat gizi juga dapat tercuci keluar oleh air yang digunakan untuk memasak. Proses pemasakan dengan menggoreng termasuk paling sering dilakukan. Suhu menggoreng biasanya mencapai 160<sup>o</sup> C, oleh karena itu sebagian zat gizi diperkirakan akan rusak, diantaranya vitamin dan protein. Penurunan mineral berkisar antara 5-40%, terutama kalsium, yodium, seng, selenium dan zat besi.

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

## **2.2. Kerusakan Nilai Gizi Udang**

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

serta komponen volatile aroma yang mudah rusak oleh panas dapat dipertahankan, sekaligus diharapkan dapat memperpanjang masa simpan. Teknologi superkritis CO<sub>2</sub> menjadi salah satu solusi untuk mengatasi pangan maupun bahan pangan yang mudah rusak selama pengolahan sehingga dapat memperpanjang masa simpan pangan tersebut pada kondisi tertentu. Kebutuhan konsumen akan pangan tidak hanya dari segi kesehatan dan keamanan pangan saja tetapi pangan dengan pengolahan minimal (*minimally processed foods*) yang dapat mempertahankan kualitas kesegaran dan cita rasa pada lama penyimpanan tertentu juga menjadi perhatian konsumen.

Beberapa penelitian Calvo and Torres (2010; Valverde et al. (2010) telah menerapkan teknologi karbon dioksida bertekanan tinggi untuk mengawetkan produk buah, sayur dan susu segar. Pengawetan dengan karbon dioksida bertekanan tinggi dapat mempertahankan warna, tekstur, dan aroma produk sekaligus mengurangi jumlah bakteri, sehingga masa simpan produk dapat diperpanjang (Kadam et al., 2012). Disamping itu, penerapan karbon dioksida bertekanan tinggi dalam produk pangan tidak berbahaya, tidak beracun dan tidak meninggalkan residu. Teknologi karbondioksida superkritis menjadi salah satu alternatif metode pengolahan karena mempunyai kelebihan dapat mematikan mikroorganisme dan menginaktifkan enzim dalam udang tanpa menggunakan panas, sehingga karakteristik kesegaran, nutrisi terutama protein dan asam lemak tidak jenuh yang mudah rusak oleh panas dapat dipertahankan. Oleh karena itu aplikasi pengolahan CO<sub>2</sub> superkritis untuk udang dapat dilakukan pada tekanan, suhu, dan lama waktu pengolahan tertentu dalam upaya meminimalkan perubahan dalam komponen pangan udang. Perubahan dapat terjadi terhadap sifat fisik terutama warna dan tekstur serta aroma udang setelah pengolahan tanpa panas, sifat kimia terutama kadar air, protein dan lemak, serta komponen bioaktif udang seperti karotenoid (*astaxanthin*) dan asam lemak omega 3, serta kandungan kolesterol udang. Mengingat CO<sub>2</sub> superkritis memiliki sifat non polar dan sedikit polar maka hanya terdapat perubahan yang tidak signifikan terhadap komponen pangan polar.



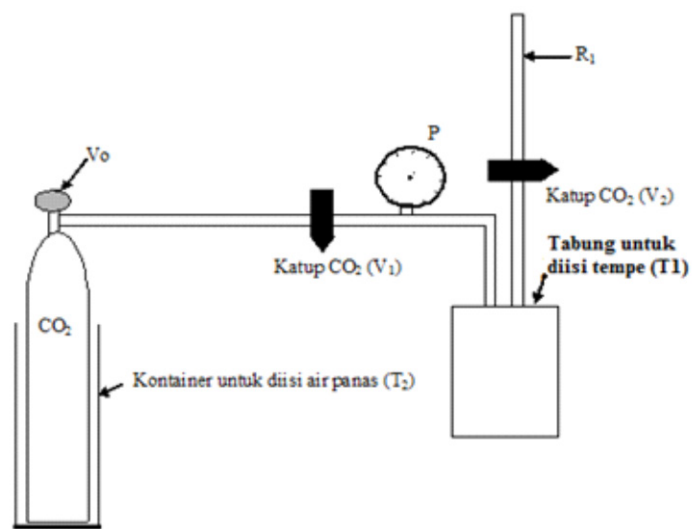
# BAB III

## TEKNOLOGI KARBON DIOKSIDA SUPERKRITIS

Teknologi karbon dioksida bertekanan tinggi berpotensi sebagai teknologi untuk mempertahankan kesegaran disamping keamanan pangan mudah rusak merupakan salah satu solusi pengolahan udang. Kelebihan utama dari teknologi bertekanan tinggi CO<sub>2</sub> adalah mampu mengolah makanan pada suhu ambient atau lebih rendah, mampu memancarkan tekanan secara cepat dan seragam keseluruh sistem tanpa memperhatikan ukuran dan geometri, dan dapat digunakan untuk membuat inovasi ingredien pangan yang bersifat fungsional. Perlakuan bertekanan tinggi pada umumnya akan merusak ikatan kovalen di dalam molekul jika diberi tekanan yang besar. Oleh karena itu berbeda dengan perlakuan yang mendayagunakan panas, penerapan karbondioksida bertekanan tinggi tidak merusak kandungan nutrisi, flavor, rasa, warna, dan kandungan vitamin, dan bahan pangan. Komponen mikromolekul bahan pangan meliputi asam amino, vitamin, dan komponen aroma tidak rusak oleh karbondioksida bertekanan tinggi, tetapi protein, enzim, polisakarida, dan asam nukleat yang tergolong komponen makromolekul pangan akan mengalami perubahan struktur. Mengingat CO<sub>2</sub> superkritis memiliki sifat non polar dan sedikit polar maka hanya terdapat perubahan yang tidak signifikan terhadap komponen pangan polar.

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

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



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

### 3.1. Proses Pengolahan CO<sub>2</sub> Superkritis

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

untuk analisa warna, tekstur, mikrobiologi, mikrostruktur, dan proksimat, serta organoleptik. Suhu dan tekanan karbon dioksida bertekanan tinggi diatur dengan menambahkan air panas atau es sebagai berikut: pada suhu  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ , tekanan gas  $\text{CO}_2$  pada 900 psi (6,3MPa), suhu  $27\pm 2^{\circ}\text{C}$  tekanan gas  $\text{CO}_2$  950 psi (6,6MPa) dan untuk mencapai tekanan 1100 Psi (7,6MPa) suhu dinaikkan sampai  $35\pm 2^{\circ}\text{C}$  dengan menambahkan air panas ke dalam kontainer. Sebaliknya untuk menurunkan suhu ditambahkan es ke dalam kontainer.

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

### **3.2. Mekanisme Pengolahan $\text{CO}_2$ Superkritis**

Mekanisme proses  $\text{CO}_2$  bertekanan tinggi melibatkan sebuah tahapan pasturisasi menggunakan  $\text{CO}_2$  dengan mengatur lama waktu penetrasi  $\text{CO}_2$  ke dalam sel mikroorganisme, dan diikuti suatu dekompresi secara tiba tiba sehingga menimbulkan suatu ledakan. Dekompresi ledakan ini hasil dari ekspansi gas yang cepat dalam sel mikroba. Suhu untuk proses pasturisasi dengan  $\text{CO}_2$  tekanan tinggi berkisar  $20^{\circ}\text{C}$  hingga  $60^{\circ}\text{C}$  untuk menghindari kerusakan termal terhadap makanan olahan, sementara rentang tekanan proses antara 7,0 MPa untuk 40,06 MPa. Kenaikan suhu yang disebabkan oleh tekanan yang ditingkatkan hampir nol karena tekanan yang relatif rendah yang terlibat dalam proses. Lama waktu perlakuan pengolahan berkisar dari sekitar 3 dan 9 menit hingga sekitar 120 dan 140 menit tergantung pada tipe peralatan HPCD, yaitu tipe kontinyu, semi-kontinyu atau batch. Lama waktu perlakuan juga tergantung pada jenis makanan yang sedang diproses.

Beberapa tahapan/langkah dalam proses inaktivasi sel mikroorganisme dengan  $\text{CO}_2$  tekanan tinggi dapat disederhanakan

seperti di bawah ini. Langkah-langkah ini tidak terjadi secara berurutan selama proses tetapi akan berlangsung serentak dalam kompleks dan dengan cara yang saling terkait. (1) Pelarutan  $\text{CO}_2$  bertekanan di luar fase cair, (2) Modifikasi membran sel, (3) Penurunan pH intraseluler, (4) Inaktivasi enzim kunci/ penghambatan metabolisme sel karena penurunan pH internal, (5) efek (penghambatan) langsung  $\text{CO}_2$  molekuler dan  $\text{HCO}_3^-$  pada metabolisme, (6) Gangguan keseimbangan elektrolit intraseluler, (7) pemindahan konstituen vital dari sel dan sel membrane.

Pelarutan  $\text{CO}_2$  bertekanan di luar fase cair, dalam makanan dengan kadar air tinggi,  $\text{CO}_2$  (yang terdapat dalam headspace reactor) dapat terlarut dalam air untuk membentuk asam karbonat ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ) yang berdisosiasi menjadi bikarbonat, karbonat dan spesies ion hidrogen. Air bersentuhan dengan  $\text{CO}_2$  bertekanan umumnya menjadi asam karena pembentukan dan disosiasi  $\text{H}_2\text{CO}_3$ , yang membebaskan  $\text{H}^+$  ion. Menurunnya pH ekstraseluler dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Hal ini juga dapat menurunkan resistensi mikroba terhadap inaktivasi karena konsumsi energi meningkat mempertahankan pH homeostasis.

### **3.3. Sistem dalam Pengolahan $\text{CO}_2$ Superkritik**

Beberapa system untuk pengolahan menggunakan  $\text{CO}_2$  bertekanan tinggi adalah meliputi system batch, dan system Continuous micro-bubble.

*System Batch.* Pada system Batch, sampel diletakkan ke dalam tabung bertekanan dan dilakukan pengaturan suhu gas  $\text{CO}_2$  sesuai yang diperlukan. Selanjutnya, gas  $\text{CO}_2$  dialirkan ke dalam tabung bertekanan melalui pipa pipa baja hingga seluruh sampel berada pada kondisi jenuh dengan cara mengatur suhu dan tekanan pada instrument atau unit pengolahan  $\text{CO}_2$  bertekanan tinggi. Sampel dibiarkan di dalam tabung bertekanan selama periode waktu tertentu sesuai yang diperlukan, selanjutnya pipa outlet dibuka untuk membebaskan gas  $\text{CO}_2$ . Beberapa instrument  $\text{CO}_2$  bertekanan tinggi memiliki agitator untuk mengurangi waktu yang diperlukan sampel hingga mencapai jenuh dengan  $\text{CO}_2$ .

*Sistem Continuous micro-bubble.* Pada system ini larutan campuran CO<sub>2</sub> dan garam dialirkan ke dalam tabung bertekanan melalui pipa baja. Sebuah evaporator digunakan untuk mengkonversi CO<sub>2</sub> liquid menjadi gas dan kemudian didispersikan ke dalam larutan garam dari filter baja dengan ukuran pori pori 10µm. Gelembung mikro bergerak ke atas bersamaan dengan proses pelarutan ke dalam larutan garam. Kemudian, larutan garam yang telah jenuh dengan CO<sub>2</sub> dialirkan melalui pemanas hingga mencapai suhu yang diinginkan dan suspensi mikroorganisme dipompa ke tabung berisi larutan garam jenuh CO<sub>2</sub>. Sebuah kumparan lain dengan pemanas digunakan untuk menyesuaikan waktu tinggal.

# BAB IV

## KEUTAMAAN UDANG

### 4.1. Nilai Gizi Udang

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

Pada udang terkandung senyawa aktif yang bermanfaat bagi manusia. Senyawa aktif memiliki peran penting untuk kesehatan, pertumbuhan dan perkembangan tubuh manusia. Senyawa aktif seperti asam lemak (omega-3 dan omega-6) pada udang dan ikan bermanfaat untuk perkembangan otak anak, untuk bayi, untuk ibu hamil. Dalam udang terkandung senyawa aktif yang dapat ditemukan adalah kitosan, mineral, lipid, karotenoid, protein memiliki nilai ekonomis yang tinggi dan sumber senyawa aktif tertinggi untuk golongan asam amino. Diantara senyawa aktif seperti omega-3, omega6 serta kitosa, dalam udang terdapat senyawa astaksantin sebagai protein karotenoid yang terkandung dalam kulit udang.

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

#### **4.2. Senyawa Bioaktif Udang**

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

#### **Asam Lemak Omega-3 ( $\Omega$ -3 (Pufa)**

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

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



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

### **Astaksantin**

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

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

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

## **Protein**

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

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

## **Vitamin**

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

### 4.3. Pengolahan Pangan

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

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

### **1. Pengolahan Tradisional dan Modern**

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

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

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

#### **4.4. Pengolahan dengan CO<sub>2</sub> Superkritis**

Karbon dioksida (CO<sub>2</sub>) adalah gas tidak beracun, memiliki sifat anti-mikroba, dan penggunaan CO<sub>2</sub> sebagai ingredient diterima oleh industri makanan maupun minuman. CO<sub>2</sub> efektif untuk memperpanjang umur simpan makanan yang mudah rusak dengan memperlambat pertumbuhan mikroba. Efek keseluruhan dari CO<sub>2</sub> adalah untuk meningkatkan baik fase lag dan waktu generasi (t) mikroorganisme pembusuk dan pada tekanan tertentu CO<sub>2</sub> dapat membunuh bakteri, khamir dan kapang. Efek CO<sub>2</sub> terhadap kematian mikroorganisme bersifat sinergis dengan kenaikan suhu, keasaman pH, dan antagonistik dengan A<sub>w</sub> yang menurun. Substrat atau media yang digunakan dalam teknologi CO<sub>2</sub> tekanan tinggi ini adalah CO<sub>2</sub> subkritis atau CO<sub>2</sub> superkritis. Produk pangan dipapar dalam medium CO<sub>2</sub> subkritis maupun CO<sub>2</sub> superkritis agar terjadi kontak antara produk dengan medium dengan besaran tekanan dan lama waktu tertentu baik dalam system batch, semi-batch atau berkelanjutan.

Karbon dioksida superkritis (SCCO<sub>2</sub>), disebut juga sebagai karbon dioksida fase padat, memiliki potensi sebagai alternatif dalam penggunaan pelarut kimia. Selama tiga dekade terakhir, teknologi SCCO<sub>2</sub> ini telah dipelajari dan digunakan untuk ekstraksi dan isolasi senyawa bernilai tinggi yang berasal dari bahan alami, dan khususnya bahan nabati. SCCO<sub>2</sub> berupa suatu fluida yang bukan padat maupun cair, namun demikian SCCO<sub>2</sub> ini memiliki kerapatan yang tinggi sehubungan dengan sifatnya yang berupa gas CO<sub>2</sub>. Pada tekanan dan suhu yang relatif rendah, karbon dioksida berubah ke fase superkritis yaitu berupa fluida. Pada bentuk fluida SCCO<sub>2</sub> mempunyai karakteristik yang mudah berpenetrasi ke dalam substrat, hal inilah yang mengawali penggunaan SCCO<sub>2</sub> di berbagai

area mulai dari bioremediasi hingga ekstraksi produk alami. Teknologi SCCO<sub>2</sub> mengalami perkembangan lebih lanjut yaitu sebagai metode alternative pasturisasi untuk makanan. Tujuan utama dari teknologi ini adalah mengeliminasi mikroorganisme patogen dan pembusuk dengan pengolahan yang tidak mengakibatkan kerusakan terhadap kualitas makanan tersebut. Teknologi pasturisasi makanan dengan SCCO<sub>2</sub> ini mampu menginaktivasi mikroorganisme di dalam makanan cair maupun padat, baik inaktivasi sel vegetative maupun spora bakteri.

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

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

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



#### 4.5. Sifat 3Karbon Dioksida Superkritis.

Karbon dioksida terdapat di udara dalam bentuk gas dan dapat juga larut di dalam air, tidak bersifat dipol (nonpolar), tidak beracun, tidak reaktif dan tidak mudah terbakar. Molekul  $\text{CO}_2$  bersifat nonpolar karena muatan parsial positif terdapat pada atom C dan muatan parsial negatif terdapat pada atom O sehingga momen ikatan pada  $\text{CO}_2$  memiliki arah dari atom C ke atom O, dan saling meniadakan akibatnya momen dipolnya bernilai nol (Shakhasiri, 2008). Karbon dioksida adalah suatu gas yang dapat berbentuk padat, cair dan fluida superkritis pada tekanan dan suhu tertentu (Labouteur et al., 2015), seperti pada Gambar 2. Pada titik kritis dan di daerah superkritis (suhu  $31,1^\circ\text{C}$  dan tekanan  $7,35 \text{ MPa}$ ),  $\text{CO}_2$  berada pada fase superkritis dan fluida yang homogen, meningkatnya suhu atau tekanan di atas titik kritis tidak menghasilkan perubahan fase  $\text{CO}_2$ . Di bawah titik kritis dan di atas titik triple ( $-55,66^\circ\text{C}$  dan  $5,11 \text{ atm}$ ),  $\text{CO}_2$  berada dalam fase cair. Pada fase yang sama dengan suhu yang berbeda  $\text{CO}_2$  mempunyai kelarutan yang berbeda. Pada Tabel 1, fluida superkritis mempunyai keunggulan karena mempunyai kedua sifat fisik gas dan sifat fisik cairan sehingga lebih mudah dilakukan manipulasi di laboratorium. Diantara fluida superkritis,  $\text{CO}_2$  sebagai salah satu senyawa yang digunakan secara luas oleh beberapa alasan, antara lain yaitu: (1) suhu dan tekanan kritis yang rendah sehingga memudahkan proses instrumentasi dan tidak ada degradasi analit, (2) polar seperti alkohol, asetonitril, dan apolar seperti pada toluene, hexan, (3) toksisitanya rendah, tidak berbau, tidak mudah terbakar, tidak mudah korosi, (4) mudah diperoleh dalam jumlah besar dengan kualitas tinggi dengan harga rendah.

Fluida superkritis memiliki densitas seperti cairan, viskositas seperti gas, dan sifat kompresibilitas seperti gas. Fluida superkritis mempunyai sifat kompresibilitas yang sangat tinggi sehingga sifat ini menunjukkan bahwa densitas fluida dapat berubah-ubah dengan berubahnya tekanan dan suhu. Berbeda dengan  $\text{CO}_2$  pada fase cair yang memiliki densitas constant pada tekanan di bawah  $300 \text{ bar}$ . Disamping itu, polaritas fluida superkritis meningkat sejalan dengan densitas yang berarti bahwa perubahan tekanan dan/atau suhu mengakibatkan kekuatan elusi bervariasi. Fluida superkritis

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

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

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

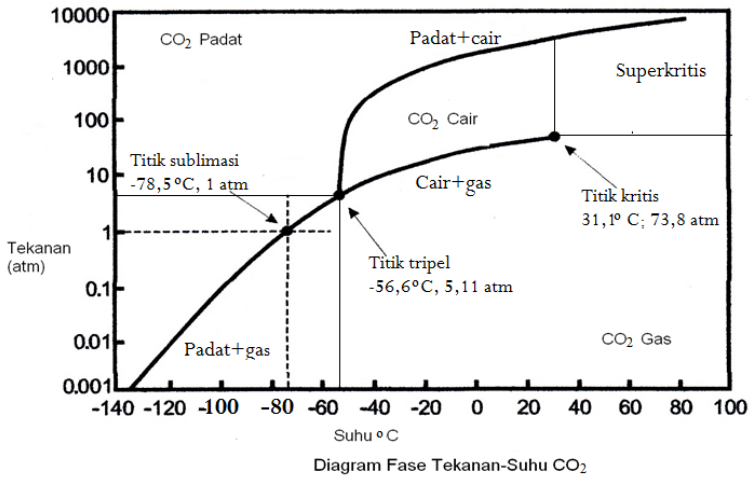
| Karakteristik      | Densitas (kg/dm <sup>3</sup> ) | Viskositas (Pa s)              | Difusivitas (m <sup>2</sup> /s) |
|--------------------|--------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| Gas                | (0,6-2,0) x 10 <sup>-3</sup>   |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

**Sumber: Labouteur et al., 2015**

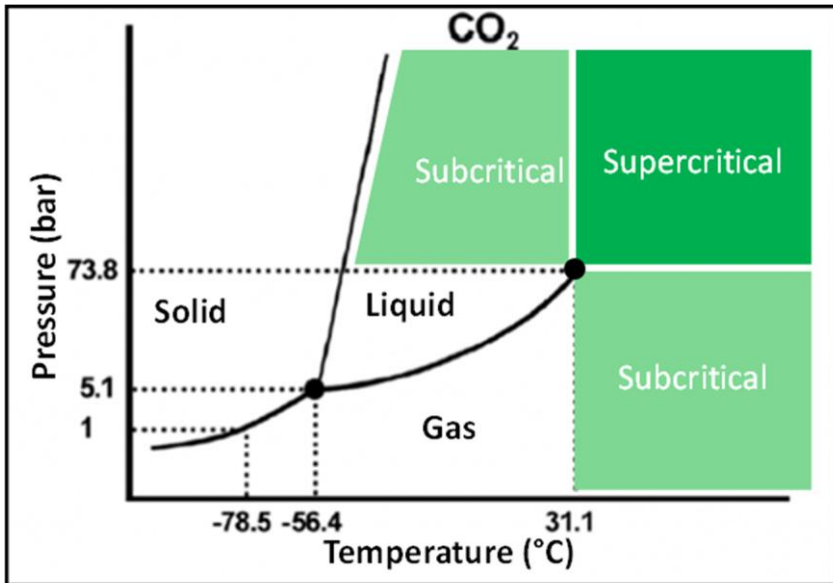
Tabel 2. Suhu dan tekanan kritis beberapa pelarut dalam fluida superkritis.

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

**Sumber: Labouteur et al., 2015**



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



Gambar 2b. Diagram Fase CO<sub>2</sub> pada tekanan dan suhu yang berbeda. Sumber: Labouteur et al., 2015

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

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

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

membran terganggu. Disamping karena difusi, kerusakan membran juga disebabkan oleh tekanan tinggi. Difusi yang terus menerus menyebabkan akumulasi CO<sub>2</sub> di dalam membran sitoplasma dan dapat mengakibatkan sel pecah (bursting) karena tekanan tinggi.

#### **4.6. Prinsip dan Mekanisme Pengolahan CO<sub>2</sub> Superkritis.**

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

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

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

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

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

#### **4.7. Pengawetan Udang.**

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

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

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

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



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

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

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

# BAB V

## APLIKASI TEKNOLOGI

### KARBON DIOKSIDA SUPERKRITIS

### UNTUK PENGOLAHAN UDANG

#### 5.1. Perubahan Sifat Fisik, Kimia, Mikrobiologi udang oleh Pengolahan CO<sub>2</sub> Superkritis

##### **Fisik.**

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

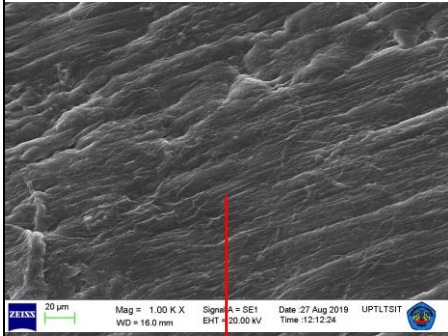
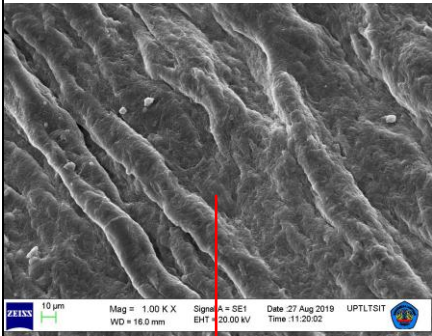
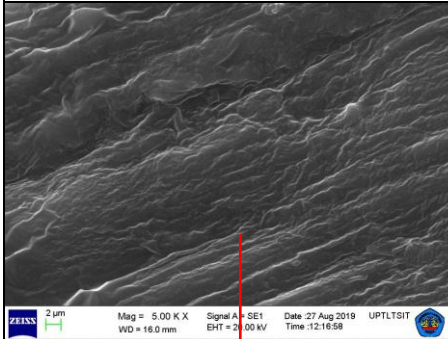
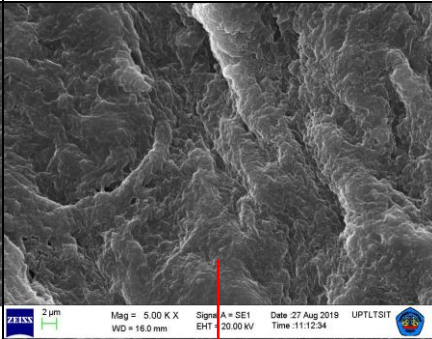
## Warna udang

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

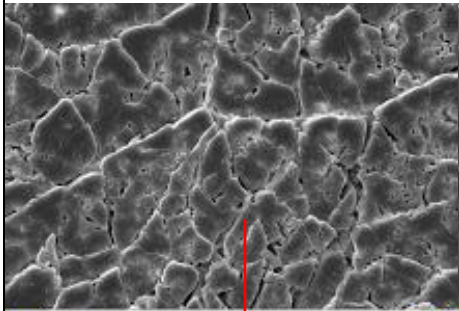
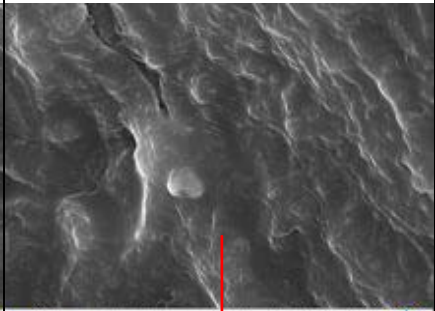
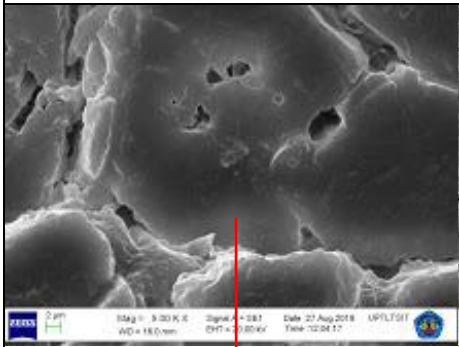
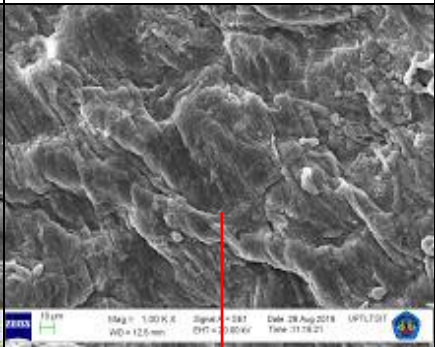
## Tekstur.

Pengolahan pangan menggunakan subkritis dan superkritis CO<sub>2</sub> mempengaruhi tekstur bahan pangan tersebut. Struktur jaringan daging udang yang terpapar pada perlakuan pengolahan dengan karbon dioksida bertekanan tinggi pada tekanan, suhu dan lama kontak bahan pangan dengan CO<sub>2</sub> superkritis menunjukkan perubahan pada kekompakan jaringan daging (Gambar 5). Struktur jaringan daging udang kontrol (tanpa pengolahan) menunjukkan jaringan kompak saling terkait antara jaringan penyusun daging dan padat, baik pada penampang melintang maupun pada penampang membujur irisan daging udang.

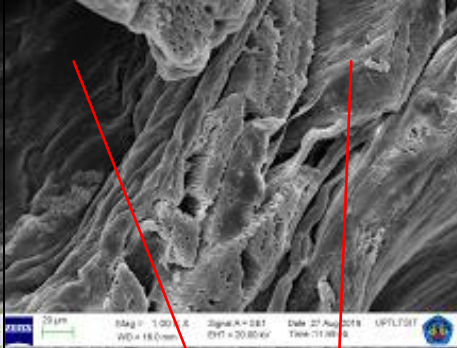
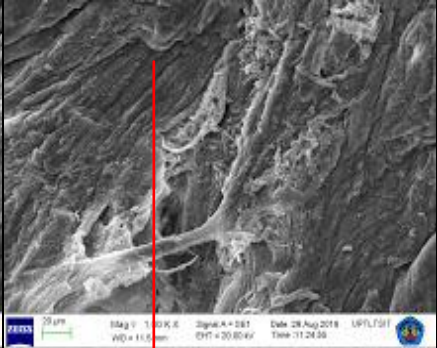
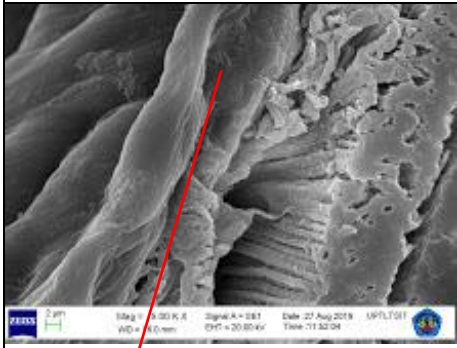
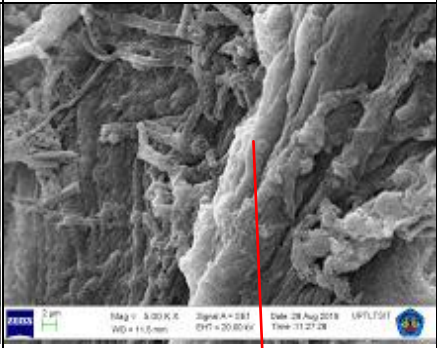
A.

|  |   |
|--|---|
|  <p>ZEISS 20 µm Mag = 1.00 K X Signal A = SE1 Date 27 Aug 2019 UPTLTSIT<br/>EHT = 20.00 kV Time :12:12:24</p> |  <p>ZEISS 10 µm Mag = 1.00 K X Signal A = SE1 Date 27 Aug 2019 UPTLTSIT<br/>EHT = 20.00 kV Time :11:20:02</p> |
| <p>Pada pembesaran 100x, penampang melintang udang menunjukkan struktur daging udang padat.</p>  | <p>Pada pembesaran 100x, penampang membujur pada permukaan udang menunjukkan struktur padat.</p>  |
|  <p>ZEISS 2 µm Mag = 5.00 K X Signal A = SE1 Date 27 Aug 2019 UPTLTSIT<br/>EHT = 20.00 kV Time :12:16:58</p> |  <p>ZEISS 2 µm Mag = 5.00 K X Signal A = SE1 Date 27 Aug 2019 UPTLTSIT<br/>EHT = 20.00 kV Time :11:12:34</p> |
| <p>Pada pembesaran 500x, penampang meintang udang menunjukkan struktur yang kompak.</p>  | <p>Pada pembesaran 500x, penampang membujur pada permukaan udang menunjukkan struktur padat dan kompak..</p>  |

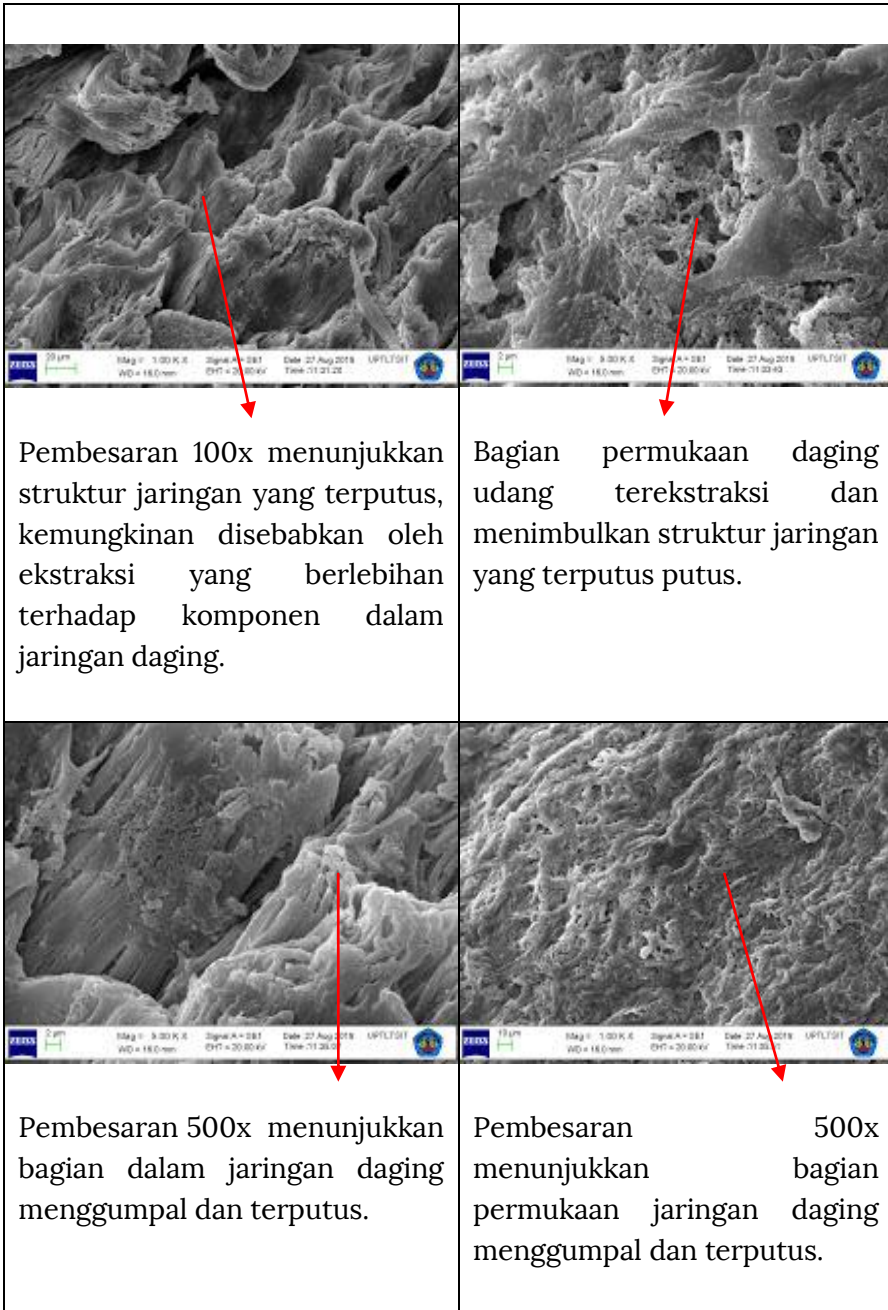
B

|   |  |
|---|--|
|  <p>SEM image showing a cross-section of shrimp muscle cells at 100x magnification. The cells appear swollen and clumped, indicating protein denaturation.</p> |  <p>SEM image showing a longitudinal section of shrimp muscle cells at 100x magnification. The cells exhibit swelling, characteristic of denaturation.</p> |
| <p>Penampang melintang pembesaran 100x menunjukkan struktur daging dengan sel membengkak dan menggumpal yang disebabkan kemungkinan terjadi denaturasi protein.</p>   | <p>Penampang membujur pembesaran 100x menunjukkan pembengkakan sel daging udang.</p>   |
|  <p>SEM image showing a longitudinal section of shrimp muscle cells at 500x magnification. The swelling of the cells is clearly visible.</p>                  |  <p>SEM image showing a cross-section of shrimp muscle cells at 500x magnification. The swelling of the cells on the surface is clearly visible.</p>      |
| <p>Pembesaran 500x memperjelas telah terjadi membengkakan sel daging udang.</p>   | <p>Pembesaran 500x memperjelas juga telah terjadi membengkakan sel daging udang di bagian permukaan.</p>   |

C

|   |  |
|---|--|
|  <p>FEEDS 20 μm Mag: 1.00 K.E Signal: A+SEI Date: 27 Aug 2018 UPLT501<br/>WD: 18.0 mm EHT: 20.00 kV Time: 11:08:54</p> |  <p>FEEDS 20 μm Mag: 1.00 K.E Signal: A+SEI Date: 28 Aug 2018 UPLT501<br/>WD: 11.5 mm EHT: 20.00 kV Time: 11:24:58</p> |
| <p>Penampang melintang daging mengkerut dan terbentuk rongga diantara daging yang menunjukkan kemungkinan terjadi ekstraksi komponen daging udang.</p>  | <p>Penampang membujur permukaan udang menunjukkan pengkerutan dan penggumpalan yang kemungkinan disebabkan oleh denaturasi protein.</p>  |
|  <p>FEEDS 2 μm Mag: 5.00 K.E Signal: A+SEI Date: 27 Aug 2018 UPLT501<br/>WD: 8.0 mm EHT: 20.00 kV Time: 11:32:04</p>  |  <p>FEEDS 2 μm Mag: 5.00 K.E Signal: A+SEI Date: 28 Aug 2018 UPLT501<br/>WD: 11.5 mm EHT: 20.00 kV Time: 11:27:28</p> |
| <p>Pada pembesaran 500x memperjelas terjadi pengkerutan jaringan daging.</p>  | <p>Bagian permukaan daging yang mengkerut dan membentuk rongga rongga.</p>   |

D



Gambar 3. Perubahan struktur udang setelah pengolahan menggunakan CO<sub>2</sub> tekanan tinggi, A. Udang kontrol (tanpa pengolahan), B. Udang dengan pengoahan pada



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

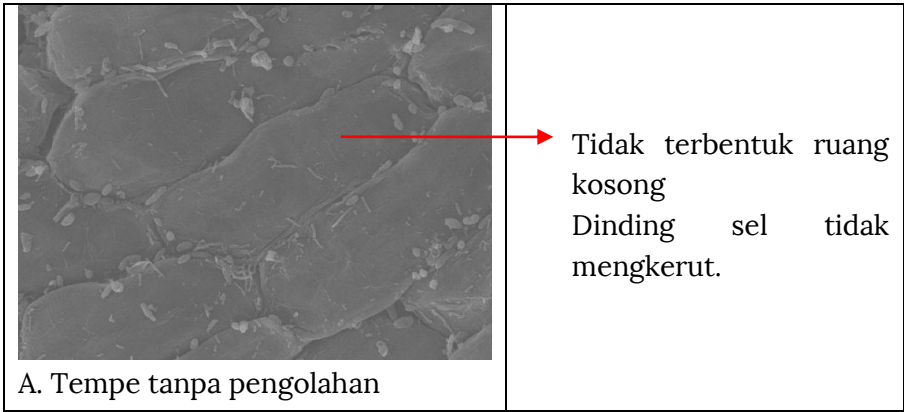
**Sumber Kustyawati, 2019 (unpublished).**

Kustyawati et al. (2015) mempelajari tekstur dan aroma tempe yang dioalah menggunakan teknik sub kritis CO<sub>2</sub> (Gambar 3). Tekstur tempe yang diolah dengan subkritis CO<sub>2</sub> tetap kompak namun lebih lunak dan kenyal, yang dikatakan sebagai setengah matang (half cook). Proses pelunakan tekstur ini disebabkan oleh perubahan mikrostruktur matrik tempe antara lain yaitu protein tempe mengalami denaturasi parsial menghasilkan sifat kenyal, daya ikat air pada protein menurun, lemak terekstraksi dengan meninggalkan ruang ruang kosong di dalam matrik (Gambar 4). Perubahan struktur matrik udang seperti ditunjukkan pada Gambar 5. Selama proses pengolahan, CO<sub>2</sub> subkritis berinteraksi dengan senyawa penyusun matrik tempe melalui ikatan nonkovalen dan membentuk suatu bentukan senyawa baru. Pada saat pelepasan tekanan, CO<sub>2</sub> kembali menjadi bentuk gas dan keluar dari sitem dengan meninggalkan senyawa bentukan baru di dalam matrik. Senyawa baru ini yang kemungkinan menghasilkan tekstur kenyal tempe setengah matang.

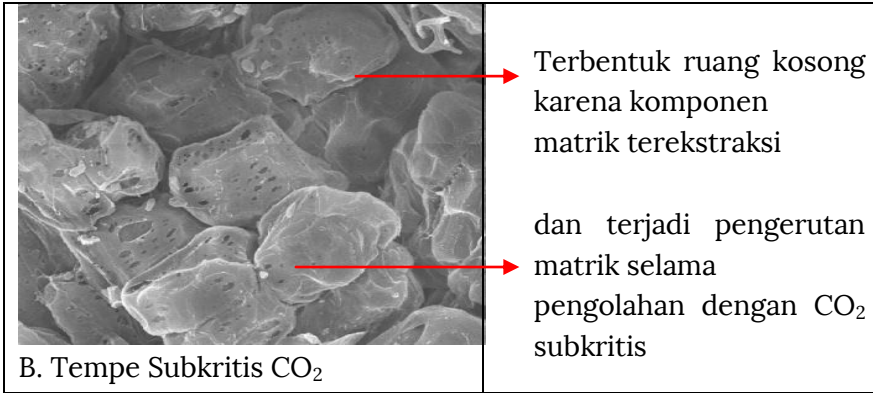


Gambar 4. Warna tempe yang diolah dengan subkritis CO<sub>2</sub> (6,3MPa, 10menit) memiliki miselium dan warna kedelai yang menonjol dibanding warna tempe biasa putih.

**Sumber Kustyawati et al. (2015)**



Tidak terbentuk ruang kosong  
Dinding sel tidak mengkerut.



Gambar 5. Perbedaan mikrostruktur matrik tempe tanpa (A) dan dengan pengolahan (B) subkritis CO<sub>2</sub> yang ditunjukkan dengan SEM pada pembesaran 5000x irisan melintang tempe.

Sumber Kustyawati et al. (2015).

### Aroma.

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

Tabel 3. Senyawa volatile aroma pada udang tanpa pengolahan dan udang yang diolah dengan CO<sub>2</sub> superkritis.

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

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

**Sumber Kustyawati, 2019 (unpublished)**

Aroma tempe dihasilkan oleh aktivitas enzimatik kapang selama fermentasi. Kapang menghasilkan enzim protease, lipase, lipoksigenase yang memecah protein, lemak, dan asam lemak kedelai menjadi komponen aroma. Volatilitas senyawa kimia dapat dikelompokkan berdasarkan berat molekulnya yaitu volatil, semi-volatil dan non-volatil (Belitz *et al.*, 2009). Kelarutan senyawa volatil di dalam air dapat digolongkan kedalam polar, semi polar, dan non-polar. Identifikasi komponen aroma tempe tanpa perlakuan dan yang diperlakukan dengan CO<sub>2</sub> tekanan tinggi perlu dilakukan dan diharapkan perlakuan CO<sub>2</sub> tekanan tinggi dapat mempertahankan aroma khas tempe. Analisa komponen volatil tempe menggunakan metode *headspace*-SPME agar mendapatkan senyawa volatil tempe segar karena ekstraksi dilakukan pada suhu rendah (40°C). Prinsip ekstraksi SPME yaitu jarum SPME yang di dalamnya terdapat fiber dengan *coating* CAR/PDMS dimasukkan ke dalam *headspace vial*, fiber mengabsorpsi senyawa volatil dalam *headspace* selama 30 menit kemudian jarum dilepas dan diinjeksikan ke dalam GC untuk proses desorpsi. Khromatogram tempe kontrol disajikan pada Gambar 6. Tempe kedelai mempunyai karakteristik aroma khas tempe yang berasal dari senyawa volatil kedelai dan senyawa hasil aktivitas mikroorganisme selama fermentasi (Kustyawati *et al.*, 2017).

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

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

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

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

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

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

Berdasarkan hasil identifikasi maka perlakuan CO<sub>2</sub> tekanan tinggi menghilangkan aroma *kobis busuk* yang ditimbulkan oleh disulfide dimetil. Beberapa senyawa volatil ester dan asam karboksilat terekstraksi oleh CO<sub>2</sub> tekanan 7,6MPa. Namun demikian semua tempe perlakuan dalam penelitian ini masih mempunyai aroma khas tempe. Tempe tekanan 6,3MPa mengandung aroma lebih kuat dibanding tekanan 7,6MPa yang disebabkan antara lain adanya senyawa aromatis benzaldehid dan tidak ditemukan heksanal. Sementara itu aplikasi pengolahan dengan subkritis dan superkritis CO<sub>2</sub> terhadap udang segar juga telah dipelajari oleh Kustyawati *et al.*, (2019). Identifikasi senyawa volatile aroma udang kontrol tanpa pengolahan dan udang yang diolah dengan superkritis CO<sub>2</sub> seperti disajikan pada Tabel 3.



Tempe diproses dengan subkritis CO<sub>2</sub> (6,4MPa, 25°C, 10 menit).

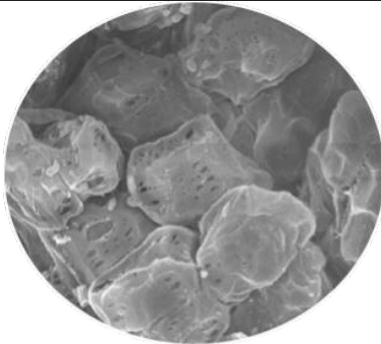


Miselium sebagian tersapu oleh CO<sub>2</sub> superkritis pada waktu proses pelepasan tekanan sehingga tampak warna kedelai di beberapa bagian.

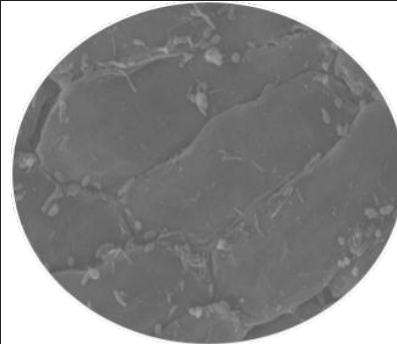
Tempe tanpa proses



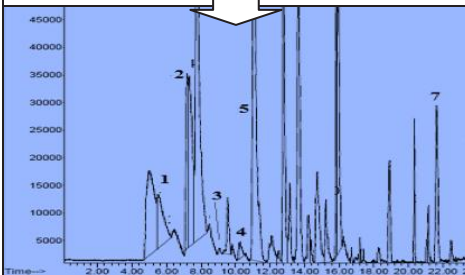
Miselium mengikat kedelai dan menyelimuti permukaan tempe.



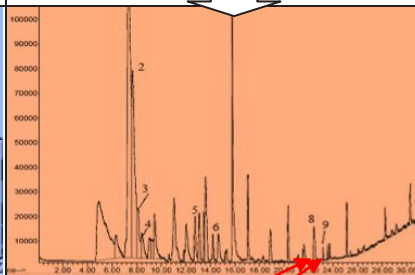
Struktur tempe menunjukkan butiran kedelai mengkerut atau terekstraksi dan menimbulkan ruang kosong di dalam matrik tempe.



Struktur tempe menunjukkan kedelai yang kompak.



Kromatogram tempe yang menunjukkan munculnya senyawa volatile baru sebagai hasil rekasi antara CO<sub>2</sub> fluida superkritis



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

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

Gambar 6. Perubahan senyawa dalam tempe dengan pengolahan CO<sub>2</sub> superkritis. Sumber Kustyawati et al. (2015, 2017).

## Mikrobiologi

Karbon dioksida superkritis lebih efektif dalam menonaktifkan mikroorganisme daripada CO<sub>2</sub> dibawah kondisi subkritis (Tabel 4). Meningkatnya kematian mikroba pada kondisi CO<sub>2</sub> subkritis bisa dikaitkan dengan sifat fisik-kimia, yang berada di antara kedua fase cair dan gas. CO<sub>2</sub> superkritis lebih mempunyai sifat yang kepadatan seperti cairan, sementara sifat transportasi massa lebih mendekati sifat gas. Kepadatan seperti cairan memiliki sifat solvasinya lebih tinggi dibandingkan dengan keadaan gas. Di sisi lain, sifat transportasi massa seperti gas meningkatkan laju difusi bila dibandingkan dengan fase cairan. Penggunaan CO<sub>2</sub> superkritis sebagai media inaktivasi dengan demikian mempengaruhi membrane sel dan konstituen isi sel secara signifikan mengakibatkan peningkatan gangguan sistem biologis.

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

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

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

**Sumber Kustyawati et al. (2018).**

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

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

Sementara itu, proses pengolahan pangan dengan teknologi sub atau superkritis CO<sub>2</sub> tidak mematikan semua jenis mikroba di dalam bahan, namun ada beberapa mikroba yang masih hidup atau dengan kata lain resisten terhadap proses CO<sub>2</sub> tekanan tinggi. Sel bakteri yang tidak mati oleh perlakuan CO<sub>2</sub> tekanan tinggi karena mempunyai ketahanan yang tinggi terhadap perlakuan CO<sub>2</sub> tinggi pada kisaran 6,3MPa suhu 35°C dan 7,6MPa suhu 35°C atau dapat juga mengalami injury. Ketahanan mikroorganisme terhadap tekanan CO<sub>2</sub> tinggi dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya oleh senyawa kimia penyusun dinding sel dan dinding membran sel vegetatifnya, substrat dan senyawa penyusun substrat tempat

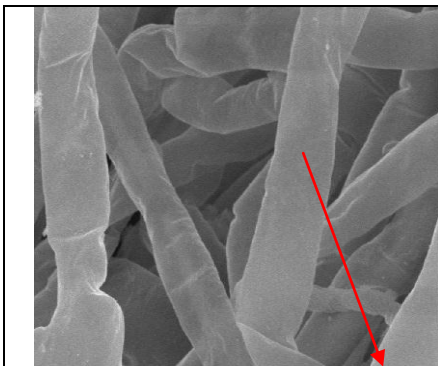
mikroorganisme tumbuh, serta bentuk spora. Protein, lemak dan senyawa bioaktif tempe dapat berfungsi sebagai agensia pelindung mikroorganisme terhadap CO<sub>2</sub> tekanan tinggi. Sel yang membentuk spora lebih tahan terhadap CO<sub>2</sub> tekanan tinggi disebabkan penyusunan dinding sel sporanya. Menurut Dillow et al. (2008), efektivitas kelarutan CO<sub>2</sub> di dalam produk pangan dipengaruhi oleh sifat matrik dan komponen penyusunnya, dimana efek CO<sub>2</sub> lebih tinggi di dalam matrik berbentuk cair dan sebaliknya matrik berbentuk padat menghambat difusitas CO<sub>2</sub> superkritis. Sementara itu, sel yang mengalami injury akan mampu tumbuh pada kondisi yang menguntungkan. Keasaman media pertumbuhan dapat menyebabkan terganggunya sistem biologi sel tetapi relatif tidak menyebabkan kematian karena keasaman yang ditimbulkan oleh efek CO<sub>2</sub> tekanan tinggi terlalu rendah untuk dapat menyebabkan kematian. Keadaan tersebut menurut dapat mengakibatkan sel mengalami injury. Bakteri Gram positif tahan terhadap tekanan tinggi disebabkan oleh susunan dinding selnya. Dinding sel bakteri Gram positif sangat tebal dimana 90% dari dinding selnya terdiri dari lapisan peptidoglikan sedangkan lapisan lainnya adalah lapisan tipis asam teikoat. Peptidoglikan terdiri dari asam N-asetil muramat dan N-asetil glukosamin serta ikatan-ikatan asam amino yang kuat. Faktor tersebut menyebabkan bakteri Gram positif mempunyai ketahanan terhadap gangguan fisik yang tinggi. Bakteri Gram negatif mempunyai dinding sel yang tersusun atas lipopolisakarida di bagian luar dan lapisan tipis peptidoglikan. Karbon dioksida superkritis mempunyai sifat hidrofobik dan dapat menembus dinding sel, melarutkan lapisan lipopolisakarida dan mengakibatkan kematian sel karena kerusakan dinding sel (Guo et al., 2011). Oleh karena itu, CO<sub>2</sub> superkritis dengan waktu 20 menit mempunyai efek disinfektansi selektif terhadap bakteri tempe karena difusitas yang tinggi dapat menembus dinding sel bakteri Gram negatif dan menyebabkan kematian, tetapi bakteri Gram positif lebih resisten terhadap efek difusivitas CO<sub>2</sub> superkritis tersebut sehingga tidak mengakibatkan semua yang tidak mati. Resistensi bakteri Gram positif disebabkan oleh adanya lapisan peptidoglikan dinding sel yang tebal. Komposisi medium atau bahan pangan tempat bakteri

tumbuh dapat juga melindungi bakteri terhadap proses pengolahan CO<sub>2</sub> tekanan tinggi, misalnya makromolekul yang kompleks dalam bahan pangan, atau adanya senyawa bioaktif yang dapat meningkatkan resistensi bakteri terhadap gangguan fisik.

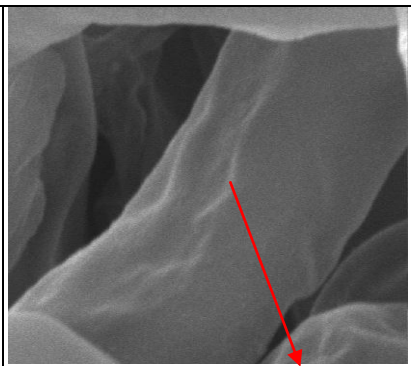
Penurunan jumlah kapang disebabkan oleh efek difusivitas CO<sub>2</sub> superkritis. Mekanisme kematian kapang dapat disebabkan oleh difusivitas CO<sub>2</sub> superkritis yang tinggi dan adanya efek ekstraksi. Kapang mempunyai dinding sel yang tersusun dari lapisan ganda fosfolipid dan glikoprotein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

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

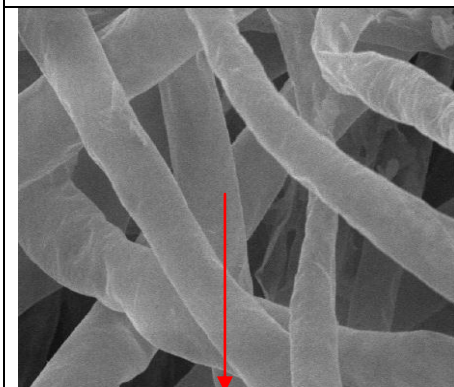
pada pertumbuhan fase log. Sebagai contoh, pengolahan HPCD pada suhu 30°C dan tekanan CO<sub>2</sub> 6,9MPa, laju inaktivasi sel *L. plantarum* lebih tinggi ketika sel *L. plantarum* berada pada akhir fase log akhir dibanding sel pada fase stasioner. Disamping itu, pengolahan dengan CO<sub>2</sub> tekanan tinggi pada suhu lebih rendah dari suhu optimum pertumbuhan mikroba, menunjukkan peningkatan resistensi mikroba terhadap perlakuan dengan CO<sub>2</sub> bertekanan tinggi pada suhu 30°C dan tekanan 6,9 MPa dibandingkan pertumbuhan mikroba pada fase stasioner.



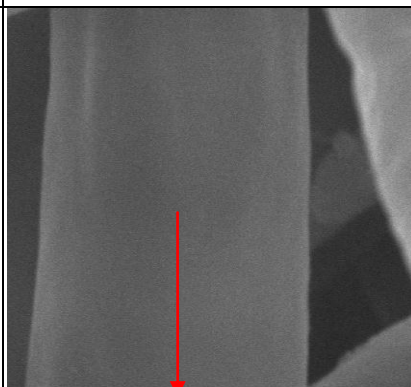
a. Hifa miselium tempe perlakuan CO<sub>2</sub> tekanan 6,3MPa dengan pembesaran 2000×, menunjukkan adanya pengerutan oleh karena difusi CO<sub>2</sub> superkritis.



b. Hifa miselium tempe perlakuan dengan pembesaran 10000×. Dinding sel yang tidak rata disebabkan oleh proses difusi dan pelepasan tekanan CO<sub>2</sub>



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



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

Gambar 7. Perbedaan penampang dinding sel hifa *R. oligosporus* pada tempe tanpa dan tempe dengan pengolahan dengan CO<sub>2</sub> superkritis.

**Sumber Kustyawati et al. (2018).**

Modifikasi membran sel, Saat mendekati permukaan sel mikroba, cairan CO<sub>2</sub> dapat berdifusi ke dalam membran dan mungkin terakumulasi kedalam lapisan bagian dalam fosfolipid, selanjutnya CO<sub>2</sub> tersebut bisa terlarut dalam fosfolipid. Jumlah CO<sub>2</sub> yang terakumulasi dalam fase lipid mungkin menyebabkan sel membrane mengalami kerusakan secara struktural dan fungsional karena hilangnya urutan rantai lipid, yang dapat meningkatkan fluiditas membran. Penurunan pH intraseluler, karena terjadi peningkatan permeabilitas, maka CO<sub>2</sub> bertekanan, dengan mudah menembus melalui membran sel bakteri dan terakumulasi di dalam bagian interior sitoplasma sel bakteri. Di daerah tersebut, konsentrasi relatif dari kedua cairan CO<sub>2</sub> dan HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> segera dikendalikan oleh buffer pH internal sebagai hasil homeostasis pH agar dapat mempertahankan pH sitoplasma di atas atau di bawah konstan.

Efek penghambatan langsung CO<sub>2</sub> molekuler dan HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> pada metabolisme, Efek yang nyata dari HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> dan CO<sub>2</sub> terlarut adalah terhadap reaksi karboksilasi dan reaksi dekarboksilasi. Dalam kedua reaksi tersebut, CO<sub>2</sub> berperan baik pada biosintesis substrat dalam reaksi karboksilasi atau produk metabolik dari reaksi dekarboksilasi. Sejauh reaksi yang terjadi adalah dekarboksilasi, maka dekarboksilasi menghasilkan CO<sub>2</sub> dalam bentuk terlarut (unhydrated).

Gangguan keseimbangan elektrolit intraseluler, kerusakan mematikan pada sistem biologis sel mungkin bisa disebabkan ketika CO<sub>2</sub> bertekanan terakumulasi di dalam interior sitoplasma sel bakteri. Akumulasi CO<sub>2</sub> bertekanan mengkonversi HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> menjadi CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> yang dapat mengendapkan elektrolit anorganik intraseluler dari sel dan membran sel. Karena elektrolit anorganik ini membantu dalam menjaga hubungan osmotik antara sel dan media sekitarnya, hal ini bisa menghasilkan efek menyusut pada volume sel.



Pemindahan konstituen vital dari sel dan sel membrane, pertama kali CO<sub>2</sub> bertekanan menembus ke dalam sel untuk meningkatkan kepadatan hingga ke tingkat kritis dalam sel, setelah itu CO<sub>2</sub> bertekanan memindahkan konstituen intraseluler untuk mengganggu atau mengubah struktur bio-membran dan/atau keseimbangan sistem biologis., sehingga mendorong proses inaktivasi. Proses removal constituent sel distimulasi oleh pelepasan CO<sub>2</sub> bertekanan secara tiba tiba, dan mengakibatkan transfer komponen intraseluler. Laju inaktivasi dapat ditingkatkan dengan mengulangi pelepasan dan pengisian kembali CO<sub>2</sub> bertekanan di dalam bejana tekan selama perlakuan/proses.

Kandungan lemak dan karbohidrat dalam media atau dalam komponen matrik makanan menurunkan inaktivasi mikroba atau meningkatkan resistensi mikroba terhadap pengolahan dengan CO<sub>2</sub> tekanan tinggi. Lemak dan karbohidrat menurunkan laju penetrasi CO<sub>2</sub> tekanan tinggi. Hal ini mengakibatkan laju penetrasi CO<sub>2</sub> tekanan tinggi ke dalam sel mikroba menurun karena terjadi perubahan pada struktur dinding sel dan membrane yang mengandung lipida. Laju inaktivasi mikroba sangat dipengaruhi oleh konstituen dari media tempat tumbuh mikroba dan sifat makanan selama pengolahan dengan CO<sub>2</sub> tekanan tinggi. Laju inaktivasi menurun sangat nyata jika lingkungan fisikokimia makanan yang kompleks jika dibandingkan dengan system pada larutan sederhana.

### **Proksimat**

Pengolahan dengan CO<sub>2</sub> superkritis dan subkritis menghasilkan perubahan yang signifikan terhadap kadar proksimat bahan pangan meliputi kadar protein, lemak, air dan karbohidrat by different, seperti pada tempe (Tabel 5). Tekanan adalah parameter yang mengontrol laju kelarutan CO<sub>2</sub> dan kelarutan total CO<sub>2</sub> dalam medium. Oleh karena itu, semakin tinggi tekanan semakin meningkat tingkat kelarutan CO<sub>2</sub> dimana hal ini mempermudah proses pengasaman media serta kontak CO<sub>2</sub> dengan sel. Namun demikian, efek stimulasi tekanan CO<sub>2</sub> ini tidak terus menerus, dan dibatasi oleh tingkat kejenuhan kelarutan CO<sub>2</sub> di dalam medium, yaitu bahwa pada tekanan di atas 10MPa, kelarutan CO<sub>2</sub> kurang

dipengaruhi oleh tekanan. Laju inaktivasi meningkat dengan meningkatnya suhu. Suhu yang sangat tinggi juga terbukti menyebabkan efek kerusakan tertentu terhadap kualitas makanan. Suhu tinggi menstimulasi difusi CO<sub>2</sub> dan juga meningkatkan fluiditas membrane sel sehingga memudahkan proses penetrasi CO<sub>2</sub>. Oleh karena itu, peningkatan suhu menstimulasi modifikasi membrane sel. Namun, diatas suhu kritis CO<sub>2</sub>, solubilitas CO<sub>2</sub> menurun cukup cepat dengan meningkatnya suhu. Secara umum, suatu peningkatan tekanan menghasilkan peningkatan secara proporsional dalam inaktivasi mikroba. Sebagai akibatnya, pada tekanan yang lebih tinggi, maka diperlukan paparan yang lebih pendek untuk menonaktifkan sel mikroba pada konsentrasi yang sama.

### **Kadar air.**

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

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

Tabel 5. Kadar proksimat bahan pangan tempe yang diolah menggunakan CO<sub>2</sub> tekanan tinggi

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

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

**Sumber Kustyawati et al. (2015).**

Tabel 6. Perubahan nilai kadar proksimat udang (*Litopenaeus vannamei*) setelah diproses dengan CO<sub>2</sub> tekanan tinggi.

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

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

**Sumber: Kustyawati ME., 2019 (unpublished)**

### **Kadar lemak.**

Lemak menurun pada tekanan tinggi karena terekstraksi oleh CO<sub>2</sub> tekanan tinggi (7,6MPa) seperti pada kandungan lemak tempe maupun udang (Tabel 5 dan 6). Kadar lemak dalam bahan semakin menurun dengan meningkatnya waktu pada suhu dan tekanan sama, hal ini berarti lemak terekstraksi terhadap penambahan waktu perlakuan CO<sub>2</sub> tekanan tinggi. Semakin meningkat waktu konsentrasi CO<sub>2</sub> yang berdifusi ke dalam matrik tempe semakin tinggi sehingga semakin banyak molekul lemak yang terekstraksi. Sementara itu, kadar lemak yang meningkat dapat disebabkan oleh kandungan air di dalam bahan pangan. Lemak bersifat non polar dan larut dalam CO<sub>2</sub> non polar (*like dissolved like*). Air di dalam bahan meningkatkan polaritas CO<sub>2</sub>, dan hal ini mengakibatkan makin sedikit lemak terekstraksi. Menurut Park *et al.* (2013), air merupakan *cosolvent* yang dapat meningkatkan polaritas CO<sub>2</sub> superkritik.

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

## **Kolesterol**

Kolesterol terekstraksi oleh CO<sub>2</sub> superkritis pada tekanan 900 psi, 950 psi, dan 1100 psi, seperti yang terjadi pada kandungan kolesterol udang (Tabel 7). Pada CO<sub>2</sub> tekanan 900 psi kolesterol terlarut lebih besar dari kelarutannya pada CO<sub>2</sub> tekanan 950 maupun 1100 psi. Hal ini dapat disebabkan oleh adanya sifat polaritas kolesterol dan fluida CO<sub>2</sub>. Kolesterol adalah turunan lipida yang mempunyai sifat polar, sementara itu fluida CO<sub>2</sub> tekanan tinggi pada 900 psi adalah berupa fluida cair dan mempunyai sifat lebih polar. Oleh karena itu kolesterol lebih terlarut dalam fluida CO<sub>2</sub> pada tekanan 900 psi. Pada CO<sub>2</sub> tekanan 1100 psi, CO<sub>2</sub> berupa fluida superkritis dan bersifat lebih ke non polar, sedangkan pada tekanan 950 psi, CO<sub>2</sub> berupa fluida subkritis atau mendekati titik superkritis sehingga fluida CO<sub>2</sub> yang berada di daerah ini bersifat lebih non polar dan sedikit polar. Fluida superkritis mempunyai kelebihan yaitu tegangan permukaan fluida adalah nol, atau tidak ada batas antara fluida, hal inilah yang menyebabkan fluida superkritis mempunyai kelarutan yang sangat tinggi dan difusitas yang sangat besar sehingga mampu menembus ke seluruh permukaan dan matrik suatu medium atau bahan pangan.

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

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

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

Tabel 7. Efek tekanan dan suhu CO<sub>2</sub> subkritis terhadap kolesterol udang.

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

**Sumber: Kustyawati ME., 2019 (unpublished).**

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

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

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

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

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

**Sumber: Dayal et al. (2013).**

### **Kadar Protein.**

Menurunnya kadar protein pada bahan disebabkan oleh denaturasi protein yang mengakibatkan protein menggumpal dan kelarutannya menurun. Karbon dioksida berinteraksi dengan gugus samping polipeptida hidrofilik melalui ikatan ionik dan dengan komponen hidrofobik di bagian dalam struktur protein, tetapi tidak merusak ikatan hidrogen di dalam susunan  $\alpha$ - helix dan  $\beta$ -sheet struktur sekunder. Hal ini mengakibatkan struktur protein terbentang dan mudah membentuk gumpalan. Bentuk struktur terbentang menyebabkan protein membentuk agrerat dan tidak larut dalam air. Hal ini terjadi pada tempe tekanan 7,6MPa (1100 psi) waktu 5 menit. Petterson (2005) melaporkan bahwa CO<sub>2</sub> tekanan tinggi merusak struktur tersier protein tetapi meningkatkan kestabilan struktur sekunder yang terdiri dari susunan  $\alpha$ - helix-DNadan  $\beta$ -sheet dan ikatan peptida dalam stuktur primer.

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



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

## **pH**

Menurunnya pH dalam bahan pangan yang diolah dengan CO<sub>2</sub> bertekanan tinggi antara lain disebabkan oleh kadar air bahan yang menurun. Air berinteraksi dengan CO<sub>2</sub> menghasilkan asam karbonat. Asam karbonat menyumbangkan ion <sup>+</sup>H ke dalam medium dan mengakibatkan menurunnya pH. Semakin meningkat waktu nilai pH semakin menurun karena semakin banyak molekul air yang bereaksi dengan CO<sub>2</sub>. Perubahan pH tempe perlakuan juga dapat disebabkan oleh sifat keasaman bahan pangan. Bahan pangan pada kisaran 6,7 sampai 7,1 menyebabkan asam karbonat dan bikarbonat mudah terdisosiasi dan mengakibatkan keasaman medium meningkat. Asam karbonat dan bikarbonat mudah terdisosiasi di dalam medium yang mempunyai pH pada kisaran pH 6 hingga 7, dan bahwa asam karbonat dan bikarbonat tidak terdisosiasi di dalam jus jeruk yang mempunyai pH 3,7 hingga 3,8 karena disosiasi konstan asam karbonat pada pKa 6,57 dan bikarbonat pada pKa 10,62, sedangkan pada pengolahan susu menggunakan CO<sub>2</sub> tekanan 5,52MPa suhu 38°C waktu 5 menit, asam karbonat dan bikarbonat mudah terdisosiasi di dalam susu yang mempunyai pH 6 hingga 7, dan mengakibatkan pH susu menurun 0,3 hingga 0,5 unit. pH awal substrat atau lingkungan sangat mempengaruhi kinerja CO<sub>2</sub> dalam system HPCD. Sebagai contoh, pH awal yang rendah meningkatkan inaktivasi mikroba dalam pangan yang diolah dengan teknik HPCD. Hal ini disebabkan oleh meningkatnya permeabilitas sel sehingga mempermudah penetrasi CO<sub>2</sub> ke dalam sel.

## **Vitamin dan Mineral.**

Kadar kalsium yang rendah karena terlarut dalam karbon dioksida tekanan tinggi (Tabel 5). Di dalam tempe kalsium berada dalam bentuk bebas (Ca<sup>2+</sup>) setelah terurai dari kalsium fitat (Watanabe *et al.*, 2011). Kalsium dalam bentuk bebas mudah berinteraksi melalui ikatan ionik dengan CO<sub>2</sub> tekanan tinggi. Menurut James and Eastoe (2012), kalsium merupakan *surfactant*

counterion yang berfungsi untuk meningkatkan solvabilitas CO<sub>2</sub> superkritis. Hal ini dapat menjelaskan meningkatnya kalsium pada perlakuan P<sub>1</sub> pada CO<sub>2</sub> tekanan 7,6MPa suhu 35°C (superkritis). Disamping itu, kadar kalsium tempe perlakuan P<sub>2</sub> (0,77) yang rendah dapat juga disebabkan kalsium masih dalam bentuk *Ca-fitat* dan tidak terlarut oleh perlakuan CO<sub>2</sub> cair. Menurut Watanabe (2011), hanya 50% asam fitat yang terurai oleh enzim fitase selama fermentasi.

Menurunnya vitamin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub> karena terekstraksi oleh CO<sub>2</sub> tekanan tinggi (Tabel 8). Vitamin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub> mudah larut dalam air dan tidak larut dalam CO<sub>2</sub> gas sedangkan CO<sub>2</sub> superkritis dapat berinteraksi dengan vitamin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub> melalui gugus aktif karboksil (-COOH) sehingga pada saat tekanan dibebaskan sebagian vitamin akan terekstraksi keluar.

Tabel 9. Efek tekanan dan lama proses pengolahan CO<sub>2</sub> superkritis terhadap vitamin B tempe.

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

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

**Sumber Kustyawati et al. (2015).**

**Enzim.**

Berbagai jenis enzim seperti lipase, beberapa fosfatase, dehidrogenase, oksidase, amilase dan lainnya dapat bereaksi dengan CO<sub>2</sub> superkritis (SC-CO<sub>2</sub>). Stabilitas dan aktivitas enzim yang

terpapar dengan karbon dioksida di bawah tekanan tinggi tergantung pada jenis enzim, kadar air dalam larutan, dan pada tekanan dan suhu dari sistem reaksi. Struktur tiga dimensi enzim mungkin dapat berubah secara signifikan dalam kondisi ekstrim, dan menyebabkan enzim terdenaturasi dan konsekuensinya enzim kehilangan aktivitasnya. Jika kondisi pengolahan CO<sub>2</sub> superkritis tidak berakibat merusak maka struktur protein sebagian besar dapat dipertahankan. Perubahan minor terhadap struktur enzim dapat menyebabkan perubahan fase protein aktif dengan mengubah aktivitas, spesifikasi dan stabilitas enzim.

*Reaksi enzim yang terjadi selama proses superkritis CO<sub>2</sub>*

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

Inaktivasi enzim kunci/ penghambatan metabolisme sel karena penurunan pH internal, Enzim, yang membentuk sebagian besar protein di dalam sitosol, memiliki aktivitas maksimal pada pH optimal, dan aktivitasnya menurun tajam diluar kondisi optimal. Oleh karena itu, menurunnya pH sitoplasma dapat menyebabkan penghambatan dan/atau inaktivasi enzim kunci yang esensial untuk metabolisme dan proses regulasi, seperti glikolisis, pengangkutan asam amino dan peptida, pengangkutan ion aktif, dan translokasi proton. Beberapa enzim kehilangan aktivitasnya secara signifikan, dan sebagian lain hanya sedikit terpengaruh oleh CO<sub>2</sub> bertekanan. Hal ini karena karena menurunnya pH menyebabkan presipitasi pada enzim yang memiliki pH isoelektrik asam, dan enzim dengan titik isoelektrik basa tidak terpengaruh.

## BAB 6

# RINGKASAN

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

Udang makanan asal laut yang bernilai gizi tinggi dan sebagai sumber asam lemak omega-3, omega-6, protein dan antioksidan yang berasal dari senyawa karotenoid astxanthin. Namun sebagian keawatiran sebagian orang akan kandungan kolesterol udang. Oleh karena itu, udang perlu diolah menggunakan pengolahan tanpa panas untuk mempertahankan nilai gizi dan fungsionalnya disamping keamanan mikrobiologinya. Kolesterol udang yang diolah pada pengolahan subkritis CO<sub>2</sub> pada tekanan 900psi/25°C selama 10 menit menurun dibanding udang tanpa pengolahan karena terlarut dalam fluida CO<sub>2</sub> cair. Kandungan asam lemak udang menurun berbeda tidak nyata dibanding kontrol. Karotenoid terlarut selama proses dan menyebabkan warna udang yang diolah dengan subkritis CO<sub>2</sub> berubah menjadi sedikit merah. Disamping itu juga timbul senyawa pirazin yang mengindikasikan bahwa udang menjadi masak (cooked). Oleh karena itu pengolahan dengan subkritis CO<sub>2</sub> menghasilkan udang dengan kolesterol rendah dan udang menjadi setengah masak (half cooked).

Karbon dioksida pada tekanan 900 psi/25°C berupa fluida cair yang mempunyai sifat polaritas yang polar. sementara CO<sub>2</sub> pada tekanan 950psi/29°C berupa fluida mendekati superkritis mempunyai polaritas yang non polar dan sedikit polar. CO<sub>2</sub> pada tekanan 1100psi/35°C adalah fluida superkritis dan mempunyai

polaritas yang non polar. Kemungkinan teknologi pengolahan CO<sub>2</sub> superkritis sebagai alternative pengawetan udang sangat perlu dikembangkan mengingat dapat mengurangi mikroorganisme dalam pangan, dan mempertahankan fungsi protein sekaligus menurunkan kadar kolesterol udang.

## DAFTAR PUSTAKA

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

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

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



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

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

Xu,Z., Zhang, L., Wanga,Y., Bi,X., Buckow,R., Liao,X. 2011. Effects of high pressure CO<sub>2</sub> treatments on microflora, enzymes and some quality attributes of apple juice. *J Food Eng.* 104 : 577 - 584.

# GLOSARIUM

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

CO<sub>2</sub> superkritis yaitu suatu fase fluida CO<sub>2</sub> dimana CO<sub>2</sub> berada pada atau di atas titik kritis CO<sub>2</sub>. Pada umumnya CO<sub>2</sub> berbentuk gas di udara pada suhu dan tekanan standard/normal. CO<sub>2</sub> berada dalam fase padat dan disebut sebagai dry ice (es kering) jika berada di bawah suhu -56,6°C dan tekanan 5,11 atm.

CO<sub>2</sub> subkritis yaitu suatu fase CO<sub>2</sub> dimana CO<sub>2</sub> berada di daerah di bawah titik kritis (31,1°C dengan tekanan 7,4MPa). CO<sub>2</sub> yang berada di daerah subkritis berupa fluida CO<sub>2</sub> cair.

High pressure carbon dioxide (HPCD) yaitu teknologi tanpa panas dimana makanan tidak terpapar pada panas, karena CO<sub>2</sub> berada di atas titik kritis pada suhu 31,1°C dengan tekanan 7,4MPa.

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

Titik kritis CO<sub>2</sub> yaitu titik dimana CO<sub>2</sub> berada pada suhu kritis (31,1°C) dan tekanan kritis (7,4 MPa), di atas titik tersebut CO<sub>2</sub> berubah menjadi fluida dan region atau daerah di atas titik kritis disebut daerah superkritis.

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

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

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

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

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

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

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

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

Pirazin yaitu suatu senyawa organik aromatik heterosiklik dengan formula kimia  $C_4H_4N_2$ .

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

