

KARAKTERISTIK KIMIA DAN TEKSTUR TEMPE SETELAH DIPROSES DENGAN KARBON DIOKSIDA BERTEKANAN TINGGI

Chemical Characteristics and Texture of Tempe Processed with High Pressure Carbon Dioxides

Maria Erna Kustyawati, Filli Pratama, Daniel Saputra, Agus Wijaya

Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian Universitas Lampung
Jl. S. Brojonegoro, No.1, Bandar Lampung 34145
Email: maria.erna@fp.unila.ac.id

ABSTRAK

Karakteristik khas tempe dihasilkan dari komponen makro dan mikromolekul penyusunnya sehingga perubahan konsentrasi senyawa di dalam tempe akan mengubah karakteristiknya. Karbon dioksida bertekanan tinggi merupakan teknologi pengolahan tanpa panas yang dapat mempertahankan kualitas gizi produk walaupun dapat mempengaruhi senyawa nonpolar dan senyawa dengan ikatan non kovalen. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi karakteristik kimia dan tekstur tempe setelah diproses dengan karbon dioksida bertekanan tinggi. Percobaan menggunakan rancangan acak kelompok yang disusun faktorial dengan dua faktor perlakuan dan tiga kali pengulangan. Tempe yang dipelakukan dengan tekanan 7,6 MPa selanjutnya disebut tempe PS sedangkan yang dipelakukan dengan tekanan 6,3 MPa disebut tempe PC. Faktor pertama adalah tekanan dengan dua level perlakuan meliputi 7,6 MPa dan 6,3 MPa, sedangkan faktor ke dua adalah lama waktu tekanan dengan 4 level yaitu 5, 10, 15, 20 menit. Parameter yang diamati meliputi tekstur, kadar air, protein, lemak, abu dan karbohidrat, mineral kalsium, dan vitamin B₁, B₂, B₃ pada tempe kontrol dan tempe perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tekanan, lama waktu tekanan dan interaksinya berpengaruh nyata terhadap kadar air, protein, lemak dan abu, tetapi tidak berpengaruh terhadap tekstur. Karbon dioksida tekanan tinggi baik pada 7,6 MPa maupun 6,3 MPa menurunkan kadar air dan lemak, tetapi kadar air tempe PC lebih tinggi dibanding tempe PS. CO₂ tekanan 7,6 MPa yang menurunkan kadar protein. Perlakuan tekanan tinggi (7,6 MPa dan 6,3 MPa) juga menurunkan mineral kalsium tetapi tidak mempengaruhi kandungan vit B₁, B₂, B₃ tempe.

Kata kunci: Karakteristik kimia, CO₂, tekanan tinggi, tempe

ABSTRACT

The chemical compositions of tempe indicated their typical characteristics. As a result, the micro or macromolecule changes were likely to produce difference characteristic of tempe. High pressure carbon dioxide was a non-thermal processing method that could retain nutrition qualities, but it affects nonpolar and non covalent bond of substances. This research was conducted to evaluate chemical characteristics of tempe after being processed with high pressure carbon dioxides. The experimental design was carried out in factorial completely randomized design with two factors, that were pressure at 7,6 MPa and 6,3 MPa, and holding time for 5, 10, 15, and 20 minutes. The proximate, calcium, vitamin B and texture were determined in control and treated tempe. The results showed that the treatments of pressures, the holding time and their interactions had significant effect on water, protein, fat, and ash contents, but they did not affect the textures. The high pressure of both 7,6 MPa and 6,3 MPa sharply reduced the fat content of all the treated tempe and water content as well. It was only the pressure of 7,6 MPa decreased the protein content. The high pressure treatments increased the calcium of treated tempe but they did not affect the vitamin B₁, B₂, B₃.

Keywords: Chemical characteristics, carbon dioxide, high pressure, tempe

PENDAHULUAN

Tempe adalah produk fermentasi kedelai oleh aktivitas enzimatik kapang *Rhizopus oligosporus*. Selama fermentasi, kapang menghidrolisis senyawa kompleks kedelai menjadi senyawa sederhana dan mengakibatkan derajat ketidakterlarutan asam lemak tempe meningkat, protein dalam bentuk terlarut, produksi vitamin B meningkat, dan ketersediaan mineral tertentu meliputi besi, kalsium, magnesium dan zink meningkat serta menghasilkan rasa dan aroma khas tempe (Nout dan Kiers, 2005; Shurtleff dan Aoyagi, 2001; Mulyowidarso dkk., 1991). Warna putih dengan tekstur padat dan kompak pada tempe juga dihasilkan dari pertumbuhan miselium kapang (Sparringa dkk., 2002). Perubahan konsentrasi makromolekul maupun mikromolekul penyusun tempe pada saat pengolahan sangat mungkin menghasilkan karakteristik tempe yang berbeda. Suatu alternatif metode pengolahan yang dapat menghasilkan tempe dengan perbedaan karakteristik yang tidak signifikan perlu dipelajari.

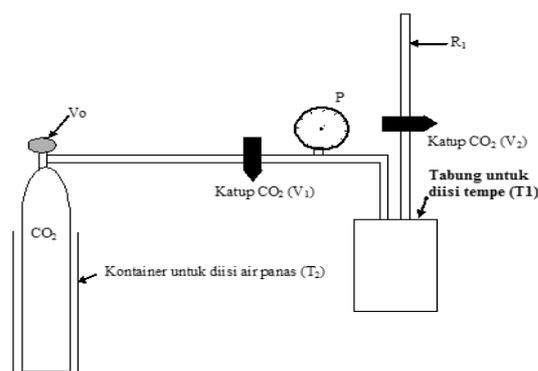
Karbon dioksida bertekanan tinggi merupakan teknologi pengolahan tanpa menggunakan panas (Rastogi dkk., 2007; White dkk., 2006), karena pada tekanan 1099 psi (7,3 MPa) dan suhu 31,1°C CO₂ berada dalam kondisi superkritik. Karbon dioksida superkritik memiliki tegangan permukaan nol, kerapatan rendah seperti gas dan memiliki kelarutan tinggi sehingga mudah berdifusi dan terlarut dalam padatan dan mengakibatkan perubahan struktur senyawa penyusun suatu produk. Pengolahan jus lychee menggunakan CO₂ pada tekanan 8 MPa, suhu 36°C, lama tekanan 2 menit tidak mempengaruhi konsentrasi polifenol dan terdapat peningkatan jumlah asam amino secara signifikan (Guo dkk., 2011). Sementara itu, pengolahan menggunakan CO₂ pada tekanan 5,52 MPa, suhu 38°C selama 5 menit menghasilkan keasaman susu meningkat dan pengendapan kasein (VanHekken dkk., 2000). Komponen makromolekul pangan yang bersifat nonpolar dan memiliki berbagai ikatan kimia meliputi ikatan non-kovalen (hidrogen, hidrofobik) sensitif terhadap CO₂ tekanan tinggi sedangkan komponen pangan yang bersifat polar dengan berat molekul rendah seperti senyawa-senyawa yang berperan dalam sensori dan nutrisi produk tidak rusak oleh CO₂ tekanan tinggi (Liao dkk., 2010; Jung dkk., 2009; Rastogi dkk., 2007; Parton dkk., 2007). Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik kimia (proksimat, kalsium, vitamin B₁, B₂, B₃) dan tekstur pada tempe setelah diproses dengan karbon dioksida bertekanan tinggi.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan utama dalam penelitian ini adalah tempe yang diperoleh dari PRIMKOPTI Macan Lindungan Palembang, dan gas karbon dioksida (CO₂) dari PT. Pusri Palembang, serta bahan-bahan untuk analisis kimia yang meliputi HCl 0,1 N, indikator *methyl orange*, NaOH 30 %, NH₄.2C₂O₄ 10%, H₂SO₄ 25%, KMnO₄ 0,1 N, H₃BO₃, heksana, dan alkohol 70%.

Alat-alat yang digunakan meliputi satu unit peralatan bertekanan tinggi untuk perlakuan yang terdiri dari tabung tahan tekanan tinggi, tabung gas karbon dioksida, jaket pemanas, dan pipa yang tahan tekanan tinggi. Diagram peralatan untuk proses perlakuan dengan karbon dioksida bertekanan tinggi seperti pada Gambar 1.



Gambar 1. Diagram alat untuk proses perlakuan dengan karbon dioksida bertekanan tinggi

Pelaksanaan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak kelompok yang disusun secara faktorial dengan dua faktor perlakuan dan tiga kali pengulangan. Faktor I adalah tekanan karbon dioksida yang terdiri dari PS yaitu tekanan 7,6 MPa, suhu 35°C (CO₂ superkritik) dan PC yaitu tekanan 6,3 MPa, suhu 25°C (CO₂ cair), dan faktor II adalah lama waktu tekanan (T) yang terdiri dari empat level yaitu T1, T2, T3, T4 masing-masing 5, 10, 15, dan 20 menit. Penentuan besarnya tekanan dan lama waktu perlakuan berdasar pada penelitian yang dilakukan oleh Garcia-Gonzales dkk. (2009); Parton dkk. (2007), dan pada penelitian pendahuluan.

Proses Perlakuan Tempe

Proses perlakuan tempe dengan gas CO₂ bertekanan tinggi seperti yang diterangkan oleh Pratama dkk. (2007) adalah sebagai berikut: tempe yang berbentuk silinder panjang (± 10 cm, $\theta \pm 3$ cm) diletakkan kedalam tabung tekan, kemudian setelah tabung ditutup aliran gas CO₂ dimasukkan

sampai tekanan mencapai tekanan 6,3 MPa dan 7,6 MPa dengan mengatur suhu. Suhu dikontrol dengan menambahkan air panas atau es ke dalam kontainer. Tekanan dilakukan selama 5, 10, 15, dan 20 menit, kemudian gas dilepas dari tabung dengan membuka katup secara perlahan-lahan untuk menghindari kerusakan tempe dan menahan aroma tempe. Dalam penelitian ini diperlukan waktu 2-3 menit untuk membebaskan tekanan dari dalam tabung. Tempe kemudian dikeluarkan dari tabung tekan dan dianalisis. Analisis dilakukan terhadap tempe kontrol, dan tempe perlakuan tekanan 7,6 MPa (tempe PS) dan tempe perlakuan tekanan 6,3 MPa (tempe PC).

Parameter yang Diamati

Parameter yang diamati adalah: parameter proksimat meliputi kadar air, protein (total Nitrogen dengan *Kjeldahl*), lemak kasar (metode *Soxhlet*), karbohidrat (*by difference*) dan abu (metode *furnace*), mengikuti prosedur dalam AOAC (2005), kalsium dengan titrasi (AOAC, 2005), dan vitamin B₁, B₂, dan B₃. Penentuan vitamin B₁, B₂, dan B₃ dilakukan dengan metode HPLC mengikuti prosedur di dalam Aslam dkk. (2008) menggunakan satu unit HPLC (Hewlett Packard Series 1100 system) yang dilengkapi dengan pompa (HP 1100 series Binary Pump), *injector sampel* (model 7725/7725i), dan UV detector (HP 1100 series Diode Array Detector) dan sebuah *loop* 20 µl. Pengukuran menggunakan kolom µ-Bondapak C18, detektor ultra violet pada panjang gelombang 254 nm, dan *eluen* yang digunakan adalah campuran metanol/larutan bufer asetat pH 3,6 (15 + 85) dengan menambahkan 0,005 M garam natrium I-heptan asam sulfonat. Sampel tempe dalam bentuk kering dihaluskan dan ditimbang sebanyak 7 g ditambah 10 ml HCL 0,1 N dan disimpan semalam pada

suhu 35°C. Campuran tersebut ditambah natrium asetat 2,5 M sebanyak 5ml, selanjutnya diinkubasi pada suhu 42°C selama 2 jam. Selanjutnya disentrifugasi dan diambil filtratnya, lalu disaring dan sebanyak 2,50 µL diinjeksikan pada HPLC. Kondisi HPLC yang digunakan adalah laju aliran 1,5 ml/menit, kepekaan 0,05 dan total run 20 menit. Untuk analisis secara kuantitatif dibuat kurva kalibrasi larutan standar dengan plot luas area terhadap konsentrasi (ppm). Kadar vitamin B₁, B₂, B₃ dapat dihitung sebagai berikut:

$$\text{Konsentrasi vitamin B}_1, \text{ B}_2, \text{ B}_3 \text{ (mg/Kg)} =$$

$$\frac{\text{Luas area sampel} \times \text{fp (faktor pengenceran)}}{\text{Slope} \times \text{Bobot sampel}}$$

Untuk mengetahui pengaruh setiap perlakuan dilakukan analisis data dengan menggunakan analisis keragaman (ANOVA) melalui program SAS versi 6,12. Bagi perlakuan yang berbeda nyata dilakukan uji lanjut Duncan pada taraf 5%, untuk mengetahui perbedaan kadar kalsium, vitamin B1, B2, B3 tempe perlakuan dengan kontrol dilakukan uji *Dunnet* pada taraf 5% (Gomez dan Gomez, 1995), dan perlakuan terbaik akan ditentukan menggunakan indeks efektivitas.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Proksimat Tempe

Hasil analisis menunjukkan interaksi antara tekanan dan lama waktu berpengaruh nyata terhadap kadar abu dan sangat nyata terhadap kadar air, protein, lemak dan karbohidrat pada tingkat kepercayaan 95% (Tabel 1).

Tabel 1. Pengaruh tekanan dan lama waktu terhadap nilai proksimat tempe

Perlakuan	Kadar air (%)	Kadar protein (% bk)	Kadar lemak (% bk)	Kadar abu (% bk)	Karbohidrat by difference (%bk)
Kontrol	66,74± 0,84	24,35±0,07	12,16±0,51	0,85± 0,02	62,64±0,72
PST1	60,07±0,15 ^a	16,79± 0,38 ^a	7,21± 0,16 ^e	2,80±0.042 ^h	73,27±0.026 ^a
PST2	59,56± 0,25 ^a	19,87±0,39 ^b	6,14± 0,06 ^d	2,21±0.02 ^{ef}	71,76±0.032 ^b
PST3	60,07± 1,26 ^a	23,04 ± 0,15 ^c	5,79 ±0,02 ^{cd}	2,18±0.10 ^e	68,99±0.010 ^c
PST4	59,57± 0,46 ^a	23,08±0,1 ^{de}	3,82 ±0,17 ^a	2,29±0.09 ^{fg}	70,8±0.068 ^d
PCT1	65,22± 0,50 ^c	24,28±0,23 ^e	10,1 ±0,55 ^h	1,53±0.02 ^a	64,09±0.030 ^e
PCT2	65,33± 0,05 ^{cd}	24,23±0,21 ^e	10,33± 0,15 ^{hg}	1,85±0.01 ^c	63,59±0.050 ^f
PCT3	63,18± 0,66 ^b	23,67±0,64 ^d	9,61± 0,15 ^f	1,76±0.04 ^b	64,96±0.050 ^g
PCT4	64,35± 0,67 ^{bc}	23,45±0,07 ^e	5,56± 0,22 ^{bc}	1,92±0.04 ^{cd}	69,07±0.026 ^h

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata pada taraf 5%. PS=7,6 MPa dan PC=6,3 MPa, dan T (waktu menit) T₁=5, T₂=10, T₃=15, T₄=20.

Kadar Air

Tabel 1 menunjukkan bahwa kadar air semua tempe perlakuan berkisar antara 59,56% sampai dengan 65,33%. Kadar air tempe yang rendah karena air terekstraksi oleh tekanan tinggi pada fase superkritis. Menurut Beckman (2004), pada proses pengolahan dengan CO₂ superkritis kelarutan CO₂ dalam air sangat tinggi karena air mempunyai polaritas yang besar. Pada saat pelepasan tekanan CO₂ kembali menjadi gas dan mengakibatkan kadar air bahan menurun. Hal ini terjadi pada tempe perlakuan tekanan 7,6 MPa selama 20 menit mempunyai kadar air paling rendah 59,57% dan semua tempe perlakuan tekanan 7,6 MPa (superkritis) mempunyai kadar air yang tidak berbeda nyata (Tabel 1). Pada fase cair kelarutan CO₂ dalam air lebih rendah dibanding fase superkritis dan hal ini mengakibatkan kadar air menurun sedikit karena densitas CO₂ cair lebih rendah sehingga tidak banyak air yang terlarut. Hal ini terjadi pada tempe dengan perlakuan 6,3 MPa selama 10 menit mempunyai kadar air paling tinggi (65,33%) (Tabel 1). Menurut Park dkk. (2013), air meningkatkan polaritas CO₂ dan mengakibatkan kelarutannya dalam CO₂ superkritis lebih tinggi dibanding CO₂ cair.

Kadar Protein

Pada Tabel 1 menunjukkan kadar protein dalam tempe perlakuan berkisar antara 16,79% hingga 24,45%. Kadar protein yang rendah pada tempe disebabkan oleh denaturasi protein yang mengakibatkan protein menggumpal dan kelarutannya menurun. Karbon dioksida superkritis berinteraksi dengan gugus samping polipeptida hidrofilik melalui ikatan ionik dan dengan komponen hidrofobik melalui ikatan nonkovalen di bagian dalam struktur protein, tetapi tidak merusak ikatan hidrogen di dalam susunan α -*helix* dan β -*sheet* struktur sekunder. Hal ini mengakibatkan struktur protein terbentang dan mudah membentuk gumpalan. Bentuk struktur terbentang menyebabkan protein membentuk agrerat dan tidak larut dalam air. Hal ini terjadi pada tempe tekanan 7,6 MPa waktu 5 menit. Liu dkk. (2004); Petterson (2005) melaporkan bahwa CO₂ tekanan tinggi merusak struktur tersier protein tetapi meningkatkan kestabilan struktur sekunder yang terdiri dari susunan α -*helix*-DNA dan β -*sheet* dan ikatan peptida dalam struktur primer. Protein terdenaturasi apabila struktur lipatan (*folded structure*) molekulnya rusak atau terbentang (*unfolded*), struktur sekunder dan tersiernya berubah tetapi ikatan peptida antara asam amino nya tetap utuh (Murray dkk., 2006).

Sementara itu, makin lama waktu perlakuan kadar nitrogen terukur makin besar karena kelarutan protein di dalam CO₂ makin meningkat. Pada tekanan dan suhu yang sama penambahan waktu perlakuan meningkatkan konsentrasi CO₂ dan mengakibatkan makin banyak molekul

protein berinteraksi dengan molekul CO₂. Menurut Pansurya dan Singhal (2009), pada kondisi CO₂ superkritis peningkatan waktu meningkatkan kejenuhan CO₂, dan meningkatnya konsentrasi CO₂ meningkatkan laju reaksi karena ketersediaan reaktan untuk bereaksi dengan CO₂ makin banyak (Calvo dan Torres, 2010). Pada fase cair, kelarutan CO₂ di dalam protein rendah karena sifatnya yang nonpolar hanya bereaksi dengan gugus protein yang nonpolar. Hal ini mengakibatkan kandungan protein yang tidak berbeda nyata yaitu pada tempe tekanan 6,3 MPa dengan lama waktu 5 menit, 10 menit, dan 20 menit., dan berbeda nyata dengan tempe tekanan 6,3 MPa dengan lama waktu 15 menit (Tabel 1). Menurut Wimmer dan Zarevucka (2010), stabilitas protein pada CO₂ tekanan tinggi dipengaruhi oleh besarnya tekanan dan suhu dalam sistem, dan struktur tiga-dimensi protein tidak mengalami perubahan nyata pada tekanan di bawah superkritis. Penelitian ini sejalan dengan Froning dkk. (1998) yang menemukan bahwa telur yang telah diperlakukan dengan CO₂ superkritis menghasilkan *sponge cake* dengan volume yang menurun secara nyata karena protein telur telah terdenaturasi.

Kadar Lemak

Pada Tabel 1 menunjukkan kadar lemak tempe perlakuan berkisar antara 3,82 hingga 10,33%. Menurunnya kadar lemak karena terekstraksi oleh CO₂ tekanan tinggi. Lemak bersifat non-polar dan mudah terlarut dalam molekul CO₂. Densitas CO₂ yang tinggi pada kondisi superkritis mengakibatkan molekul CO₂ bereaksi dengan bagian non-polar trigliserida, memutuskan ikatan ester dan menghasilkan asam lemak bebas. Menurut Tomasula dkk. (2003); Brunner (2005), CO₂ tekanan tinggi mempunyai densitas tinggi sehingga kelarutannya di dalam molekul hidrofobik dan non-polar meningkat. Menurut Warner dan Hotckiss (2006); Muljana dkk. (2010); Ferrentino dan Spilimbergo (2011), pengolahan dengan CO₂ superkritis mempunyai pengaruh ekstraksi lemak lebih besar dibanding fase mendekati superkritis (*near-supercritic*), karena makin tinggi densitas CO₂ meningkatkan daya pelarutnya ke dalam bahan. Hal ini terjadi pada tempe PST4 (perlakuan tekanan 7,6 MPa selama 20 menit) mengandung lemak 3,82% (Tabel 1). Pada tekanan CO₂ 6,3 MPa (fase cair), makin sedikit lemak yang terekstraksi karena densitas CO₂ makin rendah. Hasil penelitian ini sejalan dengan Al-Matar dkk. (2012); Hashim dkk. (2013) yang menemukan bahwa kolesterol lemak daging merah (kambing dan sapi) menurun makin besar pada tekanan CO₂ makin tinggi karena densitas yang tinggi pada CO₂ superkritis meningkatkan kelarutan kolesterol dalam CO₂. Sementara itu, semakin lama waktu kadar lemak menurun berbeda nyata. Hal ini dapat dijelaskan bahwa pada tekanan yang sama penambahan waktu meningkatkan kejenuhan konsentrasi CO₂, dan mengakibatkan makin banyak molekul lemak terlarut di dalam CO₂. Pada perlakuan selama 20 menit

makin banyak lemak yang terekstraksi dan mengakibatkan kadar lemak di dalam tempe paling rendah. Kadar lemak tempe tekanan 6,3 MPa lama waktu 20 menit lebih rendah dibanding tempe tekanan 6,3MPa lama waktu 15 menit, dan demikian juga tempe tekanan 7,6 MPa lama waktu 5 menit lebih tinggi dibanding tempe tekanan 7,6 MPa lama waktu 10 menit (Tabel 1). Menurut Hubbard dkk. (2004); King dkk. (1989), laju ekstraksi lemak di dalam pangan oleh CO₂ superkritis tergantung pada konsentrasi lemak terlarut di dalam CO₂, makin tinggi konsentrasi lemak ekstraksi makin cepat.

Kadar Kalsium dan Vitamin

Hasil uji *Dunnet* pada Tabel 2 menunjukkan bahwa kadar kalsium (Ca²⁺) tempe perlakuan lebih tinggi dari kontrol pada tingkat kepercayaan 95%.

Tabel 2. Hasil uji *Dunnet* pengaruh tekanan dan tanpa tekanan (kontrol) terhadap nilai kalsium, vit B1, B2, dan B3 tempe (dalam mg/100gbk).

Perlakuan	Kalsium	Vit B ₁	Vit. B ₂	Vit B ₃
Kontrol	0,20±0,02	13,65±0,19	0,67±0,02	2,06 ±0,02
PST1	1,13 ±0,01**	2,36±0,26**	0,55 ±0,01*	1,2 ±0,02*
PST2	1,01±0,01**	2,01± 0,13**	0,53 ±0,01*	1,15± 0,01*
PST3	0,70± 0,01**	1,97± 0,11**	0,50± 0,01*	1,1±2 0,01*
PST4	0,61± 0,01**	1,85± 0,13**	0,48± 0,01*	1,0± 0,02*
PCT1	1,04± 0,05**	13,42±0,38*	0,56 ±0,01*	2,17±0,01 ^{tn}
PCT2	0,79±0,03**	13,40± 0,02*	0,55± 0,02*	2,15± 0,03 ^{tn}
PCT3	0,66±0,01**	13,35± 0,03*	0,53± 0,02*	2,13± 0,02 ^{tn}
PCT4	0,58±0,01**	13,10± 0,24*	0,51± 0,01*	2,1± 0,01 ^{tn}

Keterangan: ** = berbeda sangat nyata pada taraf 5%, * = berbeda nyata, tn= tidak nyata pada taraf 5% pada kolom yang sama. PS=7,6 MPa dan PC=6,3 MPa, dan T (waktu menit) T₁=5, T₂=10, T₃=15, T₄=20

Kalsium yang terikat di dalam asam fitat terekstraksi oleh karbon dioksida superkritis karena adanya ikatan ionik, dan menghasilkan kalsium bebas. Karbon dioksida tekanan tinggi bersifat memiliki tegangan permukaan nol sehingga mudah penetrasi ke dalam matriks tempe dan melarutkan Ca-fitat yang masih terdapat di dalam biji kedelai. Menurut James dan Eastoe (2012), kalsium dapat berfungsi sebagai *surfactant counterion* untuk meningkatkan karaktersitik solvabilitas CO₂, berarti kelarutan CO₂ superkritis di dalam Ca-fitat tinggi. Kadar kalsium tempe kontrol lebih rendah karena kalsium masih terikat dalam Ca-fitat. Hal ini dapat dilihat dari meningkatnya kalsium di dalam tempe setelah perlakuan tekanan tinggi.

Uji *Dunnet* pengaruh tekanan dan kontrol terhadap kandungan vitamin B₁, B₂, B₃ (Tabel 2) menunjukkan bahwa semua tempe perlakuan lebih rendah dibanding kontrol pada

tingkat kepercayaan 95%. Vitamin B₁, B₂, B₃ tempe perlakuan tekanan 7,6 MPa lebih tinggi dibanding tekanan 6,3 MPa. Kandungan vitamin B yang lebih rendah karena melarut dalam CO₂ tekanan tinggi melalui interaksi asam *Lewis-basa Lewis*. Molekul vitamin B mempunyai gugus COOH sebagai basa *Lewis* berperan sebagai donor ion H⁺. Menurut Raveendran dan Wallen (2002), gugus karbonil mempunyai kelarutan tinggi di dalam CO₂ superkritis disebabkan oleh interaksi asam-*Lewis* LA) – basa-*Lewis* (LB) antara CO₂ dengan karbon karbonil (CO-OH). Ion H⁺ pada gugus karbonil (COOH) sebagai basa-*Lewis* berikatan dengan O⁻ pada CO₂ sebagai asam-*Lewis*.

Sementara itu, semakin meningkat lama waktu kadar kalsium, vit B₁, B₂, dan B₃ semakin menurun. Hal ini dapat dijelaskan bahwa kelarutan kalsium, vit B₁, B₂, dan B₃ dalam CO₂ tekanan tinggi semakin meningkat karena konsentrasi CO₂ makin meningkat dengan penambahan waktu pada tekanan yang sama.

Analisis Tekstur

Hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa semua perlakuan baik tekanan maupun lama waktu tekanan dan interaksinya tidak berpengaruh pada tekstur pada taraf 5%.

Tabel 5. Pengaruh tekanan dan lama waktu terhadap tekstur tempe.

Perlakuan	Tekstur (gf)
Kontrol	356,67±0,09
PST1	314,7±6,01 ^{ab}
PST2	302±6,03 ^a
PST3	291,5±7,04 ^a
PST4	273,1±2,05 ^a
PCT1	300,2±2,02 ^a
PCT2	292,1±5,2 ^a
PCT3	295,1±0,77 ^a
PCT4	293,8±0,99 ^a

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata pada taraf 5%. PS=7,6 MPa dan PC=6,3 MPa, T (waktu menit), T₁=5, T₂=10, T₃=15, T₄=20

Pada Tabel 5 menunjukkan tekstur tempe perlakuan tekanan 6,3 MPa selama 5 menit sebesar 314,72 berbeda tidak nyata dengan tekstur tempe perlakuan lainnya pada tingkat kepercayaan 95%. Semua tempe perlakuan mempunyai tekstur lebih rendah dibanding kontrol (356,67gf) yang mengindikasikan lebih lunak.

Tekstur tempe dipengaruhi antara lain oleh kandungan protein dan air. Di dalam matriks tempe, molekul CO₂ berinteraksi dengan molekul protein melalui ikatan

nonkovalen yaitu ikatan hidrogen dan hidrofobik. Interaksi antara molekul CO₂ superkritis dengan protein mengakibatkan protein terdenaturasi. Protein yang terdenaturasi membentuk struktur gel. Menurunnya kadar air karena terekstraksi oleh CO₂ tekanan tinggi mendukung terbentuknya tekstur elastis. Menurut Aquila, dkk. (2006), tekstur bahan dipengaruhi oleh kadar air dan komponen penyusun bahan pangan. Menurut Rastogi dkk. (2007), protein kedelai yang diperlakukan dengan CO₂ tekanan tinggi terjadi proses gelasi dan menghasilkan gel yang lebih lunak dibanding gel yang terbentuk oleh proses pemanasan. Proses pelepasan tekanan menghasilkan ruang-ruang kosong antara sel-sel biji kedelai yang menyusun tempe karena dinding selnya mengkerut (Brown, 2010). Pada waktu tekanan dilepaskan CO₂ kembali berbentuk gas dan senyawa baru struktur gel bentukan protein yang terdenaturasi tertinggal didalam ruang-ruang kosong antara sel kedelai. Hal ini menghasilkan tekstur tempe lunak dan kenyal. Tempe yang mendapat tekanan tinggi CO₂ baik tekanan 6,3 MPa maupun 7,6 MPa mempunyai tekstur lunak dan kenyal, dan mengandung komponen senyawa terlarut lebih tinggi. Karakteristik tersebut mungkin akan berpengaruh pada umur simpan tempe.

KESIMPULAN

Perlakuan CO₂ tekanan 7,6 MPa dan 6,3 MPa mempengaruhi kadar abu, kadar air, lemak, protein serta karbohidrat, tetapi tidak mempengaruhi tekstur tempe. Perlakuan tekanan 6,3 MPa dan lama waktu 5 menit adalah perlakuan terbaik dan menghasilkan tempe dengan persen perubahan komponen protein terhadap kontrol sebesar 7,0% paling rendah diantara tempe perlakuan lain. Teknologi CO₂ cair dapat digunakan sebagai alternatif metode pengolahan tempe. Pengaruh perubahan karakteristik kimia terhadap laju kerusakan tempe selama penyimpanan perlu dilakukan penelitian lebih lanjut.

DAFTAR PUSTAKA

- Aguila, J.S., Sasaki, F.F., Heiffig, L.S., Ortega, E.M.M., Jacomino, A.P. dan Kluge, R.A. (2006). Fresh-cut radish using different cut types and storage temperatures. *Postharvest Biology Technology* **40**:149-154.
- Al-Matar, A. dan Shawish, S. (2012). Influence of cosolvents on the solubility of cholesterol in supercritical CO₂. *The Sixth Jordan International Chemical Engineering Conference*. 12-14 March 2012, Amman, Jordan.
- AOAC (2005). *Officials Methods of an Analysis of Official Analytical Chemistry*. AOAC International, United States of America.
- Aslam, J., Mohajir, M.S., Khan, S.A. dan Khan, A.Q. (2008). HPLC analysis of water-soluble vitamins (B₁, B₂, B₃, B₅, B₆) in in vitro and ex vitro germinated chickpea (*Cicer arietinum* L.). *African Journal of Biotechnology* **7**(14): 2310-2314.
- Beckman, E.J. (2004). Supercritical and near-critical CO₂ in green chemical synthesis and processing. *Journal of Supercritical Fluid* **28**: 121-191.
- Brown, Z.K., Fryer, P.J, Norton, I.T. dan Bridson, R.H. (2010). Drying of agar gels using supercritical carbon dioxide. *Journal of Supercritical Fluid* **54**: 89-95.
- Brunner, G. (2005). Supercritical fluids: Technology and application to food processing. *Journal of Food Engineering* **67**(1-2): 21-33.
- Ferrentin, G. dan Spilimbergo, S. (2011). High pressure CO₂ pasteurization of solid food: Current knowledge and future outlooks. *Trends in Food Science and Technology* **22**: 427-441.
- Frowning, G.W., Wehling, R.L., Cuppett, S. dan Niemann, L. (1998). Moisture content and particle size of dehydrated egg yolk affect lipid and cholesterol extraction using supercritical carbon dioxide. *Poultry Science* **77**: 1718-1722.
- Gomez, K.A. dan Gomez, A.A. (1995). *Prosedur Statistik untuk Penelitian Pertanian*, Edisi ke-2. Penerbit UI-Press.
- Garcia-Gonzales, L., Geeraerd, A.H., Elst, K., Van-Ginneken, L., Van-Impe, J.F. dan Devlieghere, F. (2009). Inactivation of naturally occurring microorganisms in liquid whole egg using high pressure carbon dioxide processing as an alternative to heat pasteurization. *The Journal of Supercritical Fluids* **51**(1): 74-80.
- Hashim, I.B., Nuaimi, S.A., Afifi, H.S., Taher, H., Al-Zuhair, S. dan Al-Marzouqi, A. (2013). Quality characteristics of low fat lamb meat produces by supercritical CO₂ extraction. *Global Journal of Biology and Agriculture Health Science* **2**(1): 5-9.
- James, C. dan Eastoe, J. (2012). Ion specific effects with CO₂-philic surfactants. *Current Opinion in Colloid and Interface Science* **18**(1): 40.
- Jung, W.Y., Choi, Y.M. dan Rhee, M.S. (2009). Potential use of supercritical carbon dioxide to decontaminate *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella typhimurium* in Alfalfa sprouted seeds. *International Journal of Food Microbiology* **136**(1): 66-70.

- Kadam, P.S., Jadhav, B.A., Salve, R.V. dan Machewad G.M. (2012). Review on the high pressure technology (HPT) for food preservation. *Journal of Food Processing Technology* **3**(1): 1-5.
- Liao, H., Zhang, L., Hu, X. dan Liao, X. (2010). Effect of high pressure CO₂ and mild heat processing on natural microorganisms in apple juice. *International Journal of Food Microbiology* **137**(1): 81-87.
- Liu, H.L., Hsieh, W.C. dan Liu, H.S. (2004). Molecular dynamics simulations to determine the effect of supercritical CO₂ on the structural integrity of hen egg white lysozyme. *Biotechnology Progress* **20**: 930-938.
- Muljana, H., Knoop, S., Keijzer, D. dan Picchioni, F. (2010). Synthesis of fatty acid starch esters in supercritical CO₂. *Carbohydrate Polymers* **82**: 346-354.
- Murray, R.K., Granner, D.K. dan Rodwell, V.W. (2006). *Biokimia Kedokteran*. Edisi 27. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Nout, M.J.R. dan Kiers, J.L. (2005). Tempe fermentation, innovation and functionality: Up date into the third millennium. *Journal of Applied Microbiology* **98**: 789-805.
- Park, J.Y., Back, S.S. dan Chun, B.S. (2008). Protein properties of mackerel viscera extracted by supercritical carbon dioxide. *Journal of Environmental Biology* **29**(4): 443-448.
- Park, H.S., Choi, H.J. dan Kim, K.H. (2013). Effect of supercritical CO₂ modified with water cosolvent on the sterilization of fungal spore-contaminated barley seeds and the germination of barley seeds. *Journal of Safety* **33**(1): 1-18.
- Parton, T. A., Bertucco, A. dan Bertoloni, G. (2007). Pasteurization of grape must and tomato paste by dense-phase CO₂. *Italian Journal Food Science* **19**(4): 425-437.
- Patterson, M.P. (2005). Microbiology of pressure-treated foods. A Review. *Journal of Applied Microbiology* **98**: 1400-1409.
- Pratama, F., Saputra, D. dan Yuliati, K. (2007). Metode pencucian udang segar yang mengandung kloramfenikol dengan menggunakan karbon dioksida fase superkritik. Paten ID 0020002 (29-10-2007). Data Granted Paten Lembaga Penelitian Universitas Sriwijaya, Palembang.
- Rastogi, N.K., Raghavarao, K.S.M.S., Balasubramaniam, V.M., Niranjan, K. dan Knorr, D. (2007). Opportunities and challenges in high pressure processing of foods. *Critical Review in Food Science and Nutrition* **47**(1): 69-112.
- Raveendran, P. dan Wallen, S.L. (2002). Sugar acetates as novel renewable CO₂-philes. *Journal of American Chemical Society* **124**: 7274-7275.
- Sparringa, R.A., Kendall, M., Westby, A. dan Owens, J.D. (2002). Effects of temperature, pH, water activity and CO₂ concentration on growth of *Rhizopus oligosporus* NRRL 2710. *Journal of Applied Microbiology* **92**: 329-337.
- Taylor, D.L. dan Larick, D.K. (1995). Investigations into the effect of supercritical CO₂ extraction on the fatty acid and volatile profiles of cooked chicken. *Journal of Agriculture Food Chemistry* **43**: 2369-2374.
- Tisi, D.A. (2004). *Effect of Dense Phase CO₂ on Enzyme Activity and Casein Protein in Raw Milk*. Thesis. Cornell University.
- Tomasula, P.M. dan Craig, J.C. (2003). Preparation of casein using carbon-dioxide. *Journal of Dairy Science* **78**(3): 506-514.
- Werner, B.G. dan Hotchkiss, J.H. (2006). Continuous flow nonthermal CO₂ processing: The lethal effects of subcritical and supercritical CO₂ on total microbial population and bacterial spores in raw milk. *Journal of Dairy Science* **89**: 872-881.
- White, A., Burns, D. dan Christensen, T.W. (2006). Effective terminal sterilization using supercritical carbon dioxide. *Journal of Biotechnology* **7**: 1-12.