

Ulasan Ilmiah/Review

FLAVOR ALAMI: PRODUKSI, SUMBER, TEKNIK ISOLASI DAN RECOVERY

Natural Flavour: Production, Sources, Isolation and Recovery Techniques

Lukman Junaidi

Balai Besar Industri Agro

Jl. Ir. H. Juanda 11 Bogor. 16122

ABSTRACT: A flavor is a substance which may be a single chemical entity, or a blend of chemicals of natural or synthetic origin whose primary purpose is to provide all or part of the particular flavor effect to any food or other product taken in the mouth. A vast array of compounds may be responsible for the aroma of the food products, such as alcohols, aldehydes, esters, dicarbonyls, short to medium-chain free fatty acids, methyl ketones, lactones, phenolic compounds and sulphur compounds. At present, due to the high cost or lack of availability of natural flavor extracts, most commercial flavorants are chemically synthesized, mostly from petroleum-derived precursors. Because chemical synthesis often uses environmentally unfriendly production processes, it is desirable to switch to bioproduction, including the extraction from natural sources, *de novo* microbial process (fermentation), and bioconversion of natural precursors using micro-organisms or isolated enzymes. Natural flavour compounds usually exist at very low concentrations. To recover the flavour compounds at a purity of interest for practical applications, a suitable separation process must be applied. Currently, conventional techniques including solvent extraction, flash distillation and adsorption are being used in industry. These techniques, unfortunately, suffer from such problems as product contamination and degradation as well as high energy consumption. These challenges inspire and encourage the development of a safer and more economical separation technique, such as: pervaporation techniques, head-space techniques, and supercritical fluid extraction. The scope of this paper covers the development in the bioflavor production, sources, isolation and recovery techniques. This paper is aimed at providing the information related on natural flavor issue which can be used as an additional information to the researcher on the natural flavor industry

Keywords: Natural flavour, source, pervaporation, head-space, supercritical fluid extraction

PENDAHULUAN

Flavor merupakan hasil dari berbagai komponen volatil dan non-volatil yang memiliki beragam sifat-sifat kimia dan psikokimia. Senyawa non-volatil utamanya memberikan ciri untuk rasa, sedangkan senyawa volatil memberikan ciri untuk rasa dan aroma. Rangkaian yang sangat beragam dari senyawa tersebut menentukan ciri aroma dari bahan pangan, seperti alkohol, aldehyd, ester, dikarbonil, FFA (*Free Fatty Acid*) rantai pendek sampai menengah, metal keton, lakton, senyawa fenol, dan senyawa sulfur (Gatfield, 1988).

Dalam dunia perdagangan flavor dapat dikategorikan menjadi: (1) flavor alami (*natural flavour*), (2) tipe flavor alami (*natural flavour type/WONF*), (3) flavor alami dan flavor buatan (*natural and artificial flavour/N&A*), dan (4) flavor buatan (*artificial flavour*) (Anonymous, 2008). Flavor alami dapat berupa minyak atsiri, oleoresin, *essence* atau bahan ekstrak yang

mengandung bahan-bahan flavor yang diperoleh dari sumber-sumber alami, dan memberikan pengkayaan flavor terhadap produk tertentu.

Tipe flavor alami merupakan gabungan flavor alami dan flavor buatan yang dimaksudkan untuk meningkatkan kekuatan flavor alami. Hal ini menghasilkan flavor campuran (*blend*) yang dikategorikan sebagai WONF (*with other natural flavour*). Minyak atsiri dan ekstrak tumbuhan umumnya mengandung *ingredient* tambahan tersebut.

Jenis flavor alami dan flavor buatan (N&A) merupakan kombinasi antara flavor alami dan flavor buatan (*artificial*). Dalam banyak hal, flavor N&A memberikan rasa alami yang lebih baik dikarenakan komponen volatil flavor alami yang hilang selama proses dapat digantikan oleh flavor buatan.

Flavor buatan didefinisikan sebagai bahan yang berfungsi untuk memberi kesan flavor, yang bukan berasal dari bahan alami. Walaupun banyak *ingredient* flavor buatan

secara kimiawi identik dengan senyawa flavor yang ditemukan di alam, jenis tersebut tetap harus dikelompokkan sebagai flavor buatan jika bahan tersebut diperoleh bukan dari sumber alam (Anonymous, 2008).

Sudah sejak lama senyawa flavor, baik dalam bentuk senyawa tunggal maupun senyawa kompleks, diekstrak secara langsung dari sumber tumbuhan. Dalam perkembangan berikutnya, melalui penelitian kimiawi ditemukan struktur flavor alami tersebut, sehingga dapat dilakukan proses kimiawi untuk menghasilkan senyawa flavor sintetik. Saat ini disebabkan biaya tinggi dan kurangnya ketersediaan ekstrak flavor alami, secara umum flavor komersial diproduksi melalui proses sintesis kimia dan disintesis dari prekursor asal petroleum (Guentert, 2007). Oleh karena proses sintesis kimiawi sering menggunakan proses produksi yang tidak ramah lingkungan, seperti penggunaan katalis logam berat, perlu dicari alternatif proses produksi flavor yang ramah lingkungan. Alternatif tersebut berupa proses produksi biologis, meliputi ekstraksi dari sumber alami, proses mikrobial, dan biokonversi prekursor alami menggunakan mikroorganisme atau isolasi enzim (Guentert, 2007).

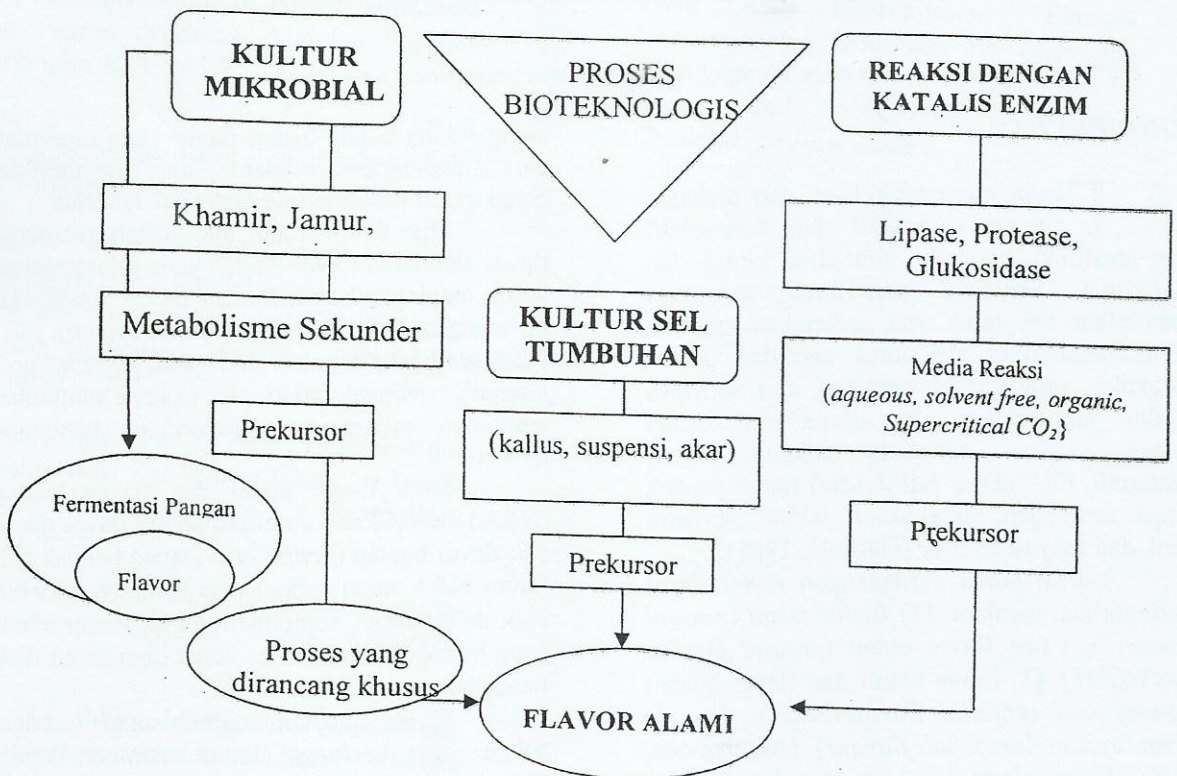
Berbagai tahapan proses produksi untuk memperoleh bahan flavor alami dapat dilakukan antara lain: ekstraksi, destilasi, pemurnian (*rectification*), dan pemekatan (*concentration*).

Metode atau teknik yang harus dilakukan pada setiap tahap tersebut cukup beragam dan memiliki keuntungan dan kelemahan masing-masing. Pilihan teknologi produksi flavor alami sangat menentukan efektivitas dan efisiensi proses. Berbagai metode ekstraksi yang dapat digunakan, antara lain: ekstraksi dengan pelarut, ekstraksi dengan fluida superkritis, pemisahan (*separation*) dan konsentrasi menggunakan teknik pervaporasi (*pervaporation*) dan sebagainya.

Tulisan ini bertujuan untuk memberikan ulasan berkaitan dengan sumber-sumber flavor alami dan teknologi produksi flavor alami. Dengan demikian diharapkan tulisan ini dapat memberikan informasi untuk penelitian berkaitan dengan flavor alami.

SUMBER FLAVOR ALAMI

Flavor alami dapat dihasilkan melalui proses: (1) ekstraksi langsung dari tumbuhan dan hewan, dan (2) produksi melalui proses bioteknologis (biosintesis atau biokonversi). Proses biosintesis atau biokonversi yang populer dilakukan adalah biosintesis atau biokonversi mikrobial dan kultur jaringan (Longo dan Sanroman, 2006). Secara skematik proses bioteknologis untuk menghasilkan flavor alami ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Proses bioteknologis untuk produksi senyawa flavor alami (Longo dan Sanroman, 2006)

Kultur Mikroba

Mikroorganisme sudah sejak lama digunakan untuk menghasilkan flavor dalam bahan makanan. Produk seperti yogurt, cuka, sayur yang difermentasi, memiliki flavor yang dihasilkan oleh mikroorganisme. Kultur mikroba dapat digunakan untuk memproduksi senyawa

flavor, baik yang dirancang khusus untuk bahan tambahan makanan maupun yang dihasilkan sebagai bagian (*in situ*) dari proses fermentasi makanan. Senyawa flavor dapat dikelompokkan berdasarkan struktur kimia, fisiko-kimia atau karakteristik sensori-nya, seperti ditunjukkan pada Tabel 1.

Table 1. Klasifikasi senyawa flavor pangan berdasarkan struktur kimia¹⁾

No	Senyawa	Jenis-jenis
1	Alkohol	1,2-butanediol, 2-butanol, 2,3-butanediol, etanol, 2-etilbutanol, 2-etilheksanol, 2-heptanol, heksanol, isobutanol, 2-metilbutanol, 3-metilbutanol, 2-metilpropanol, 2-nonanol, (Z)-1,5-oktadien-3-ol, 2-oktanol, 1-okten-3-ol, 1-pentanol, feniletanol, 2-feniletanol, 1-nonanol
2	Aldehida	asetaldehida, dekanal, heptanal, (Z)-4-heptenal, heksanal, 2-heksenal, isoheksanal, 2-metilbutanal, 3-metilbutanal, 2-metilpropanal, nonanal, (E,E)-2,4-nonadienal, (Z)-2-nonanal, (E)-2-nonanal, oktanal, butanal, pentanal, propanal, propenal, tiofen-2-aldehida
3	Ester	metil asetat, etil asetat, etil butirir, etil heksanoat, etil isobutanoat, etil oktanoat, etil butanoat, isobutil butanoat, 2-metil-1-butil asetat, 3-metil-1-butil asetat, 3-oktil asetat, pentil asetat, fenetil asetat, 2-hidroksietil, 2-metil-2-etil-3-hidroksiheksil propionat, etil 2-metilbutanoat, etil 3 metilbutanoat
4	Asam lemak	asetat, butirir, kaproat, dekanolat, isobutirat, asam 2-metilbutirat, asam 3-metilbutirat, oktanoat, fenilasetat, propionat, valerat, etil butirir, propil butirir
5	Keton	asetofenon, aseton, 2,3-butanedion, 2,3-pentandion, 2-butanon, 3-hidroksi-2-butanon, 2-heptanon, 2-heksanon, 3-metil-2-butanon, 4-metil-2-pentanon, 2-nonanon, 2-oktanon, 1-okten-3-on, 2-pentanon, 3-pentanon, 2-tridekanon
6	Lakton	α -dekalakton, γ -dekalakton, γ -butirolakton, δ -dodekalakton, δ -oktalakton, (Z)-6-dodeken- δ -lakton
7	Aromatik	vanillin, benzaldehida, β -fenetil alkohol, trimetilbenzen
8	Pirazin	2,3-dietil-5-metilpirazin, 2-etil-3,5-dimetilpirazin, 2-metoksi-3-isopropilpirazin

¹⁾Sumber: Longo dan Sanroman, 2006

Disamping itu pengelompokan senyawa flavor dilakukan berdasarkan fungsi dari kelompok kimia prekursor yang digunakan dalam proses produksi melalui biosintesis/biokonversi. Beberapa jenis flavor pangan yang diproduksi melalui kultur mikroba antara lain: diasetil, lakton, ester, pirazin, terpen, alkohol, vanillin, benzaldehida, metal keton (Longo dan Sanroman, 2006).

Kultur Sel Tumbuhan

Kultur Sel Tumbuhan merupakan salah satu alternatif proses produksi flavor alami. Setiap sel kultur tumbuhan memiliki informasi genetika yang penting untuk memproduksi berbagai komponen kimia yang membentuk flavor alami (Longo dan Sanroman, 2006). Dengan memasukkan (*feeding*) *intermediate* dari jalur biosintesis (*biosynthetic pathway*) dapat

meningkatkan produksi dari metabolit flavor melalui biotransformasi prekursor.

Rao dan Ravishankar (2002) serta Mulabagal dan Tsay (2004) menyebutkan beberapa keuntungan teknologi kultur sel tumbuhan dibandingkan produksi pertanian konvensional, yaitu: (1) menyediakan proses yang tidak tergantung pada variasi geografis dan musim, (2) memberikan sistem produksi yang stabil sehingga dapat menjamin kontinuitas produksi, keseragaman mutu dan rendemen, (2) menghasilkan senyawa yang sangat bernilai (*novel compound*) yang tidak umum ditemukan pada tumbuhan induk, baik produksi secara langsung maupun melalui biotransformasi prekursor yang murah, (3) menghasilkan produktivitas tinggi apabila dapat dilakukan seleksi kultur sel tumbuhan yang baik, (4) menekan biaya produksi dan meningkatkan produktivitas melalui otomatisasi kendali

pertumbuhan sel dan pengaturan proses produksi metabolit, (5) menyediakan proses pemanenan produk yang efisien dan (6) menghasilkan produksi lebih cepat.

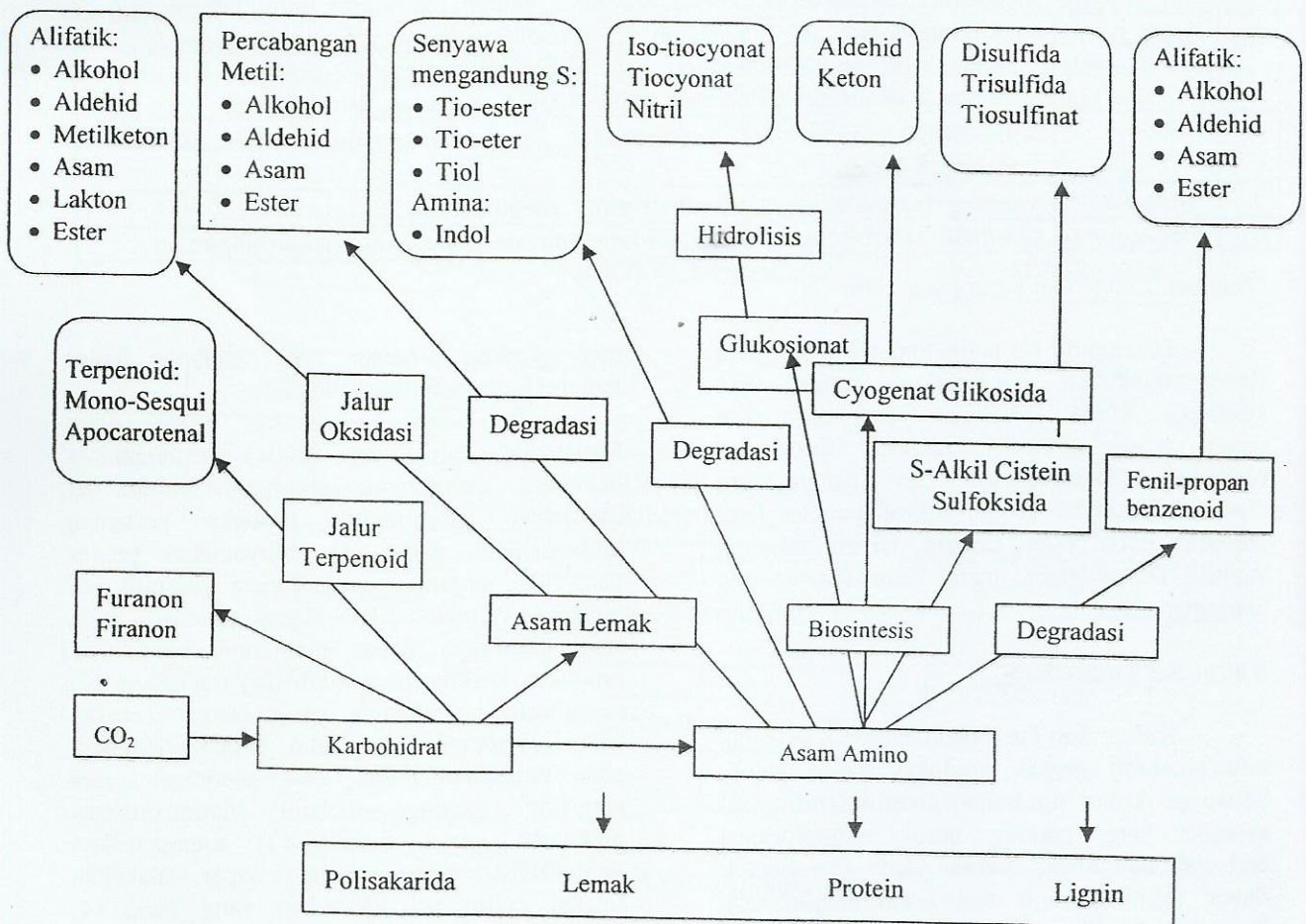
Beberapa faktor yang perlu diperhatikan dalam penerapan teknologi Kultur Sel Tumbuhan, yaitu: (1) sensitivitas terhadap tekanan (*shear stress*), (2) siklus pertumbuhan yang relatif panjang, (3) rendemen produksi rendah, (4) kehilangan aktivitas biosintesis, (5) sekresi produk terhambat. Untuk mengatasi kelemahan tersebut dapat dilakukan beberapa strategi, antara lain: (1) melakukan optimisasi kondisi kultur, (2) melakukan seleksi *strain* dengan produktivitas tinggi, (3) menambahkan prekursor, (4) menggunakan sel immobilisasi, (5) mempertahankan densitas sel tetap tinggi dan mengurangi tekanan *shear stress* (Dicosmo dan Misawa, 1995).

Sumber Tumbuhan

Selain dari proses bioteknologis dan kultur sel tumbuhan, flavor alami juga dapat dihasilkan melalui proses ekstraksi langsung dari

tumbuhan. Tumbuhan memiliki kapasitas untuk sintesis, akumulasi dan emisi volatil yang dapat berfungsi sebagai molekul flavor (Schwab, *et al*, 2008). Bahan dengan berat molekul rendah ini, berasal dari kelompok asam lemak, asam amino, dan karbohidrat yang membentuk kelompok molekul heterogen berbentuk jenuh dan tidak jenuh, rantai lurus, rantai bercabang, dan struktur cincin, dengan berbagai kelompok fungsional (alkohol, aldehid, keton, ester, dan eter).

Berdasarkan perspektif kimia molekul flavor mengandung kelompok senyawa heterogen yang memiliki struktur rantai lurus, rantai bercabang, aromatik, dan hetero-aromatik yang membentuk kelompok kimia fungsional seperti: hidroksil, karbonil, karboksil, ester, lakton, amina, dan tiol. Jalur biosintesis (*biosynthetic pathways*) dari senyawa volatil penting tumbuhan telah ditelusuri sampai metabolisme intermediet primer, sehingga dapat disebutkan bahwa karbohidrat, asam lemak, dan asam amino mewakili kelompok karbon alami untuk pembentukan senyawa flavor (Croteau dan Karp, 1991). Secara skematik ini digambarkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Pengelompokan karbon alami untuk produksi senyawa flavor dan jalur biosintesis (Schwab, *et al*, 2008)

PRODUKSI FLAVOR ALAMI

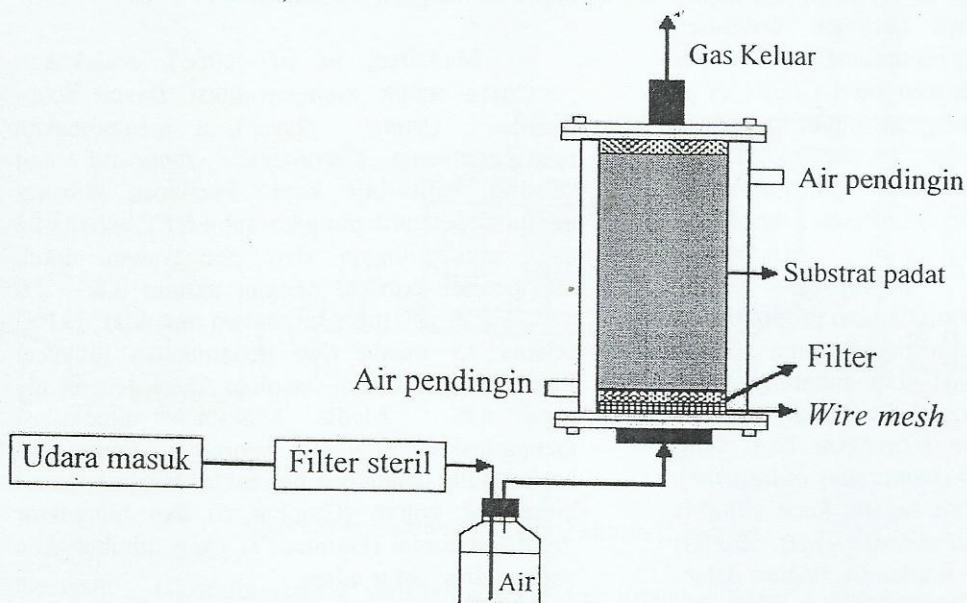
Fermentasi Substrat Padat

Fermentasi substrat padat (*solid substrate fermentation*) merupakan salah satu teknologi untuk menghasilkan flavor alami. Produksi flavor alami melalui proses fermentasi, meliputi: persiapan mikroorganisme, inokulum, dan substrat. Salah satu hal yang sangat menentukan keberhasilan proses fermentasi adalah desain bioreaktor yang digunakan. Terdapat berbagai tipe reaktor untuk proses fermentasi substrat padat antara lain: (1) Tipe Rak (*tray*), (2) *Packed-bed*, (3) Drum Horizontal, (4) *Fluidised-bed*, dan (5) *Immersion bioreactor*.

Bioreaktor Tipe Rak tersusun dari rak datar dimana proses fermentasi berlangsung. Substrat ditebar pada setiap rak membentuk lapisan tipis dengan ketebalan beberapa sentimeter. Reaktor berada pada ruang dengan suhu konstan yang dialiri sirkulasi udara yang dilembabkan. Kelemahan utama Fermentor Tipe Rak adalah membutuhkan jumlah rak yang banyak serta volume ruang besar sehingga kurang sesuai digunakan untuk produksi skala besar (Pandey, *et al*, 2001).

Bioreaktor *Packed-bed* terdiri dari kolom kaca atau plastik yang dilengkapi dengan dasar (*plat*) berpori tempat substrat ditebar. Proses fermentasi dimulai dengan menempatkan substrat padat pada dasar yang berpori, kemudian udara yang dilembabkan dialirkan melalui substrat tersebut. Untuk mengendalikan suhu fermentasi, bioreaktor biasanya dilapisi dengan *jacket* untuk sirkulasi air selama fermentasi (Gambar 3). Kelemahan utama dari reaktor tipe ini adalah kesulitan dalam mengambil produk, pertumbuhan mikroba yang tidak seragam, pelepasan panas yang kurang lancar, dan permasalahan dalam *scale-up* (Durand, *et al*, 1993).

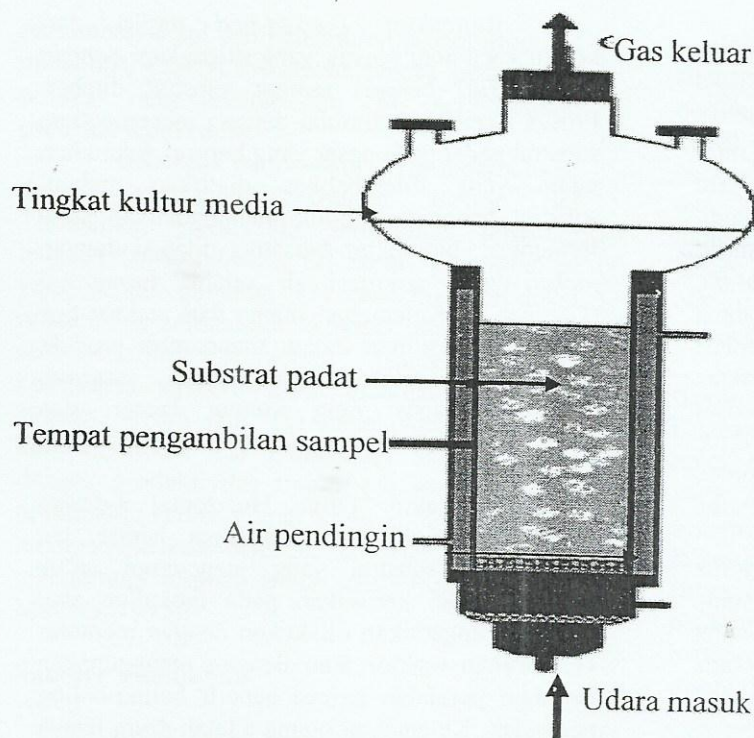
Bioreaktor Drum Horizontal didesain untuk memungkinkan dicapainya aerasi dan pengadukan substrat yang mencukupi untuk meminimalkan kerusakan pada inokulum atau produk. Pengadukan dilakukan dengan memutar keseluruhan reaktor atau dengan menggunakan berbagai peralatan agitasi seperti baling-baling pengaduk. Kelemahan utama adalah drum hanya dapat diisi sampai kapasitas 30%, apabila kapasitas ditambah mengakibatkan pengadukan tidak efisien (Dominguez, *et al*, 2001).



Gambar 3. Skema bioreaktor *Packed-bed* (Cauto dan Sanroman, 2006)

Bioreaktor *Fluidised-bed*, didesain untuk menghindari terjadinya pelekatan (*adhesion*) dan penggumpalan (*aggregation*) dari partikel substrat. Desain ini memberikan agitasi secara kontinu menggunakan udara yang dipompa. Walaupun laju perpindahan panas, aerasi dan

pengadukan substrat ditingkatan, kerusakan inokulum dan penumpukan panas akibat tekanan gesek (*shear stress*) dapat mempengaruhi rendemen akhir produk (Cauto dan Sanroman, 2006).

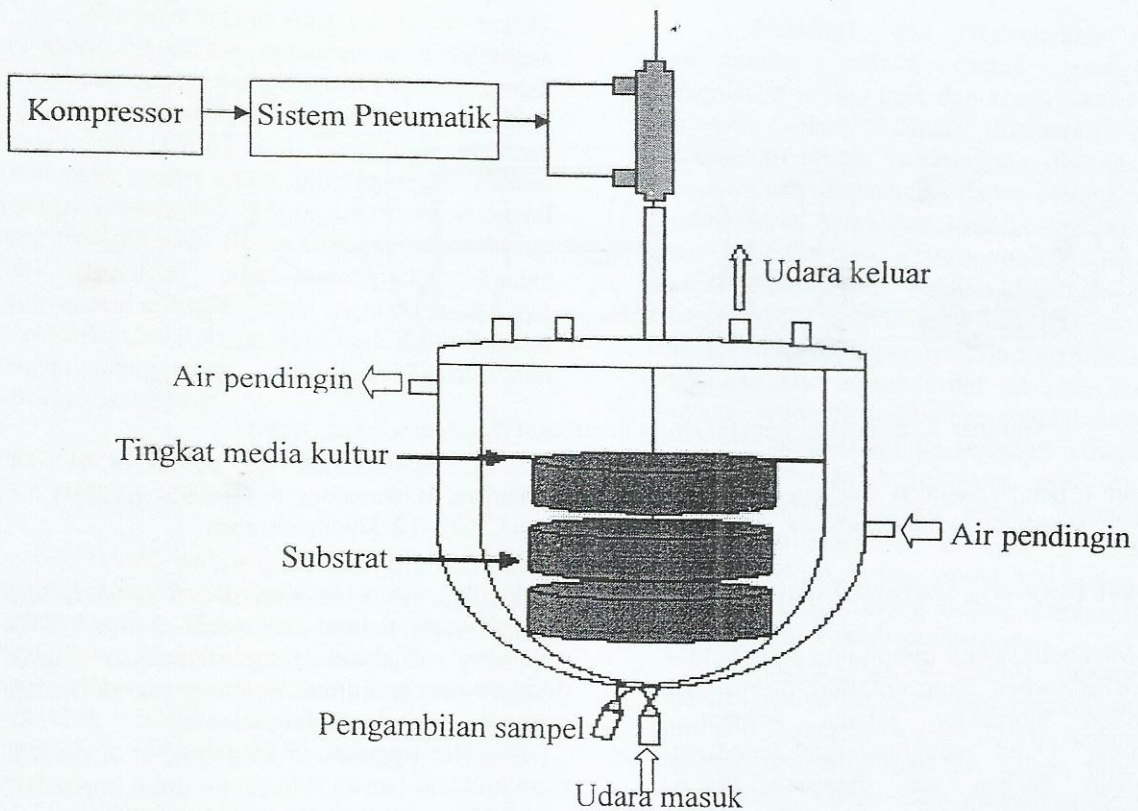


Gambar 4. Skema bioreaktor *fluidised-bed* (Cauto dan Sanroman, 2006)

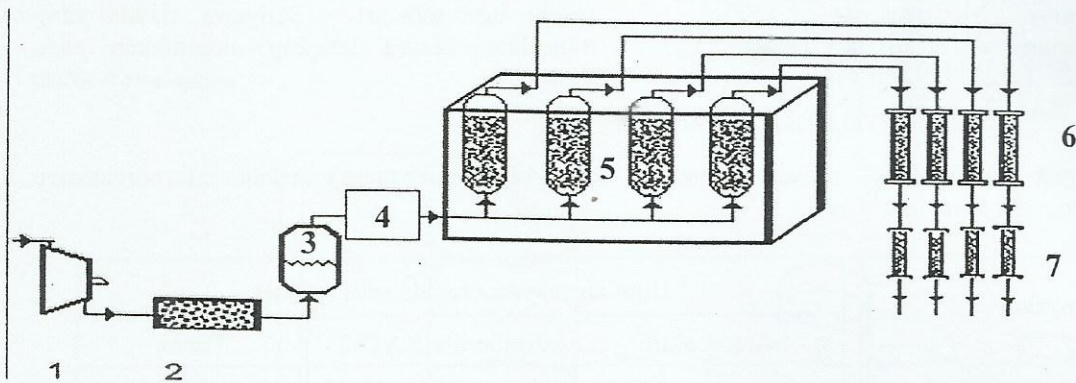
Berbagai kelemahan yang terdapat pada desain bioreaktor yang disebutkan terdahulu mendorong dilakukannya berbagai penelitian untuk menyempurnakan bioreaktor. Salah satu penelitian tersebut dilakukan oleh Couto, *et al* (2002), yang mengusulkan rancangan bioreaktor untuk menjalankan proses fermentasi substrat padat dengan melakukan pengembangan bioreaktor baru atau memodifikasi rancangan bioreaktor yang sudah ada. Rancangan bioreaktor tersebut diharapkan dapat dioperasikan secara kontinu dengan produktivitas tinggi pada jangka waktu lama tanpa adanya permasalahan operasional dan memungkinkan dilakukan *scale up* proses. Penelitian tersebut menghasilkan rancangan bioreaktor baru yang disebut bioreaktor celup (*immersion bioreactor*). Bioreaktor ini terdiri dari bejana kaca silindris berlapis (*jacketed cylindrical glass vessel*) dengan dasar berbentuk lingkaran, bagian dalam diberi beberapa keranjang yang terbuat dari jaring kawat halus yang diisi dengan substrat

yang diinokulasi. Secara skematik bioreaktor dapat dilihat pada Gambar 5.

Medeiros, *et al* (2006), melakukan penelitian untuk memproduksi flavor buah-buahan (*fruity flavor*), menggunakan mikroorganisme *Ceratocystis fimbriata*, dan substrat kulit biji kopi. Persiapan substrat meliputi: pengeringan pada suhu 60°C selama 24 jam, penggilingan dan pengayakan untuk memperoleh partikel dengan ukuran 0,8 – 2,0 mm, sterilisasi material dalam autoklaf 121°C selama 15 menit, dan penambahan glukosa. Kadar air medium di tetapkan 65 % dengan pH awal 6,0. Media kemudian diinokulasi menggunakan $1 - 10^7$ spora/g. Fermentasi berlangsung dalam dua bioreaktor terpisah, yaitu: bioreaktor kolom (Gambar 6) dan bioreaktor drum horizontal (Gambar 7) yang dihubungkan dengan distributor udara.



Gambar 5. Skema *Immersion bioreactor* (Couto, *et al*, 2002)

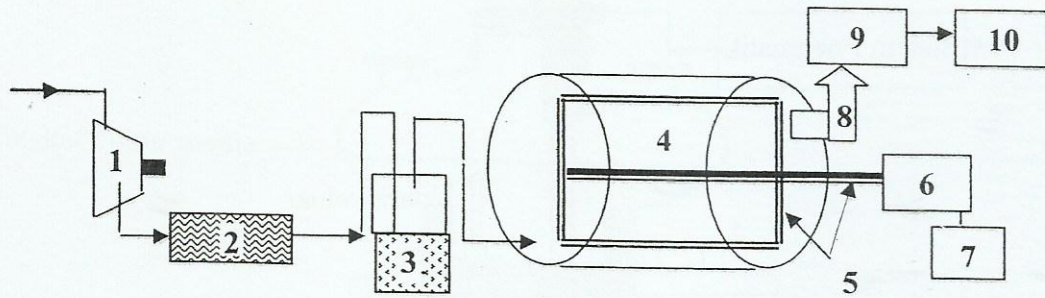


Gambar 6. Skema bioreaktor kolom (Medeiros, *et al*, 2006)

Keterangan: 1: pompa udara, 2: saringan udara, 3: unit pelembab udara, 4: distributor udara, 5: kolom dalam *water bath*, 6: kolom CaCl_2 , 7: kolom adsorben

Proses fermentasi dimulai dengan mengisi kolom kaca berdiameter 4 cm dan panjang 20 cm dengan substrat (kulit biji kopi) kemudian diinokulasi dengan suspensi spora. Suhu penangas air dipertahankan pada 30°C .

Substrat diperkaya dengan 20% fraksi massa glukosa yang dilarutkan dalam air, untuk melembabkan substrat. Laju aerasi ditetapkan pada 0,6 l/jam/kolom dengan fermentasi berlangsung selama 192 jam.



Gambar 7. Skema bioreaktor drum horizontal (Medeiros, *et al*, 2006)

Keterangan: 1: pompa udara, 2: saringan udara, 3: unit pelembab udara, 4: bioreaktor, 5: *rotatory agitator*, 6: motor, 7: *rpm controller*, 8: *gas outlet*, 9: kolom CaCl_2 , 10: kolom adsorben

Pemanenan (*recovery*) Senyawa Volatil

Metabolit volatil ditampung pada kolom yang berisi adsorben, yang dipasang pada *outlet* dari kolom bioreaktor selama fermentasi berlangsung. Untuk menghindarkan terjadinya pencampuran dengan air, dipasang kolom pendahuluan (berisi CaCl_2) yang ditempatkan sebelum kolom berisi adsorben. Kolom adsorben terbuat dari kaca dengan ukuran panjang 10 cm, diameter dalam 6 mm dan dilapisi dengan 320 mg butiran arang aktif dengan ukuran mesh 6 – 8 mm. Kolom dibungkus dengan *glass wool*. Dalam penelitiannya, Medeiros, *et al* (2006), juga mencoba penggunaan adsorben yang terbuat dari resin polimer Tenax-TA (60 – 80 Supelco) dan Amberlite XAD-2. Senyawa volatil yang

teradsorpsi secara kontinu dicuci (*eluted*) tiga kali dengan pelarut sejumlah 3 mL/kolom adsorben. Pelarut yang digunakan adalah dikloro-metana (untuk kolom arang aktif) dan metanol (untuk dua kolom lainnya)

Hasil penelitian Medeiros, *et al* (2006), menunjukkan bahwa, bioreaktor drum horizontal memberikan hasil 6 kali lebih tinggi dibandingkan dengan bioreaktor kolom. Hasil ini memberikan prospek yang baik untuk pengembangan *scale-up* proses produksi flavor melalui teknologi fermentasi substrat padat dengan menggunakan substrat yang berasal dari residu agro-industri. Senyawa flavor yang dihasilkan secara lengkap ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Senyawa volatil hasil proses fermentasi kulit biji kopi menggunakan mikroorganisme *Ceratomyces fimbriata*¹⁾

Senyawa	Jumlah senyawa teradsorpsi (μmol)		
	Arang aktif	Amberlite XAD-2	Tenax
Asetaldehid	2,36	519,09	649,70
Etanol	24,47	107,32	69,37
Etil asetat	108,68	610,76	128,19
Propil asetat	–	0,85	0,06
Etil isobutirat	–	2,38	0,27
Isobutil asetat	–	3,90	1,47
Etil butirat	–	1,76	–
Isoamil asetat	–	0,06	–

¹⁾Sumber: Medeiros, *et al* (2006)

Senyawa utama yang dihasilkan berupa etil asetat, etanol dan asetaldehida. Keberadaan flavor buah-buahan yang dihasilkan ditandai oleh produksi senyawa ester dengan massa molekul rendah yang terdiri dari asam dan senyawa turunannya seperti asetat, propionat, dan butirrat. Sebagai contoh etil butirrat and isoamil asetat yang terdapat pada flavor strawberi dan pisang. Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa penggunaan adsorben resin Amberlite XAD-2 memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan penggunaan adsorben Tenax dan adsorben arang aktif.

TEKNIK ISOLASI DAN RECOVERY FLAVOR ALAMI

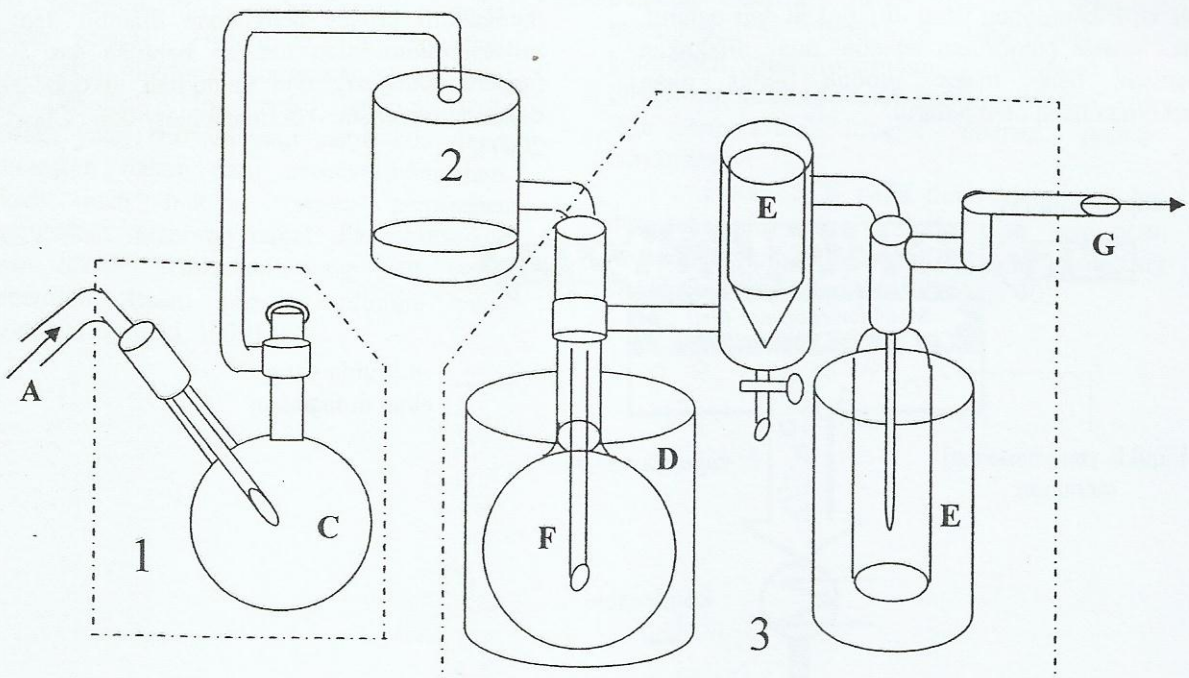
Teknik isolasi flavor dan aroma seperti distilasi, ekstraksi, dan adsorpsi telah digunakan dalam produksi flavor dan aroma sejak lama. Perlu diperhatikan bahwa teknik isolasi tersebut menggunakan proses fisik dan kimia yang dapat mengubah isolat (senyawa volatil) yang diperoleh dibandingkan dengan kondisi alamnya.

Beberapa teknik isolasi dan *recovery* flavor alami yang dikembangkan akhir-akhir ini untuk mengatasi permasalahan dan kelemahan yang disebutkan di atas, antara lain: Teknik *Aqua-space* (Ishikawa, *et al*, 2004), Teknik Pervaporasi, dan Teknik Ekstraksi dengan Fluida Superkritis.

Teknik *Aqua-space*

Werkhoff, dan Bretschneider (1987), menyebutkan bahwa untuk menghindari penggunaan proses fisik dan kimia dalam isolasi senyawa volatil, dapat dilakukan dengan menerapkan teknik isolasi yang disebut teknik "*head-space*". Teknik ini dapat menghindarkan produk isolat terekspos kepada kondisi kimia yang dapat merusak atau mengubah sifat aroma dari sifat alaminya. Namun demikian dengan adanya variasi tingkat volatilitas dan solubilitas dari senyawa aromatik terhadap air dan adanya perbedaan daya adsorpsi oleh adsorben terhadap senyawa aromatik tertentu, mengakibatkan sulit untuk menangkap semua senyawa volatil yang terkandung bahan baku yang akan diisolasi. Untuk menyempurnakan teknik "*head-space*" tersebut, Ishikawa, *et al* (2004) melakukan penelitian teknik isolasi aroma dari bunga hidup secara langsung. Teknik isolasi tersebut mereka namai sebagai Teknik *Aqua-space*.

Ishikawa, *et al* (2004) menguraikan, pada prinsipnya Teknik *Aqua-space* didasarkan pada teori kelembaban (*humidity*). Kelembaban berkaitan dengan difusi dari aroma tumbuhan. Secara umum bunga akan mengeluarkan aroma lebih banyak dalam kondisi lembab. Hal ini menunjukkan atmosfer yang lembab tidak hanya sesuai untuk proses difusi aroma tetapi juga sesuai untuk penangkapan senyawa volatil tersebut. Kerangka teori inilah yang mendasari dalam mengembangkan teknik "*head-space*" yang baru, menggunakan udara yang dilembabkan sebagai gas pembawa (*gas carrier*). Secara skematik peralatan isolasi yang digunakan ditunjukkan pada Gambar 8.



Gambar 8. Teknik isolasi menggunakan prinsip *Aqua-space* (Ishikawa *et al*, 2004)

Keterangan Gambar 8: peralatan isolasi terdiri dari 3 bagian yaitu: (1) Bagian nomor 1: bejana pelembab yang diisi dengan air distilasi, (2) bejana untuk tempat bunga (tumbuhan) hidup (nomor 2), dan (3) rangkaian perangkat dingin berupa es kering, etanol dan campuran air dan es (no. 3). A: udara masuk; B: arang aktif; C: air; D: campuran air/es; E: es kering/etanol; F: tempat produk terkondensasi; G: udara keluar

Pompa udara yang dihubungkan dengan inlet dari bejana nomor 1 menghisap udara kering melewati saringan arang aktif. Bunga/tumbuhan hidup yang ditempatkan secara tertutup pada bejana nomor 2 dipertahankan dalam simulasi kondisi alami yang memungkinkan tumbuhan hanya terkena sedikit tekanan (*stress*). Perangkat nomor 3 pada tahap ketiga dari sistem didinginkan dengan campuran air/es dan es kering/etanol.

Teknik Pervaporasi (*Pervaporation* - PV)

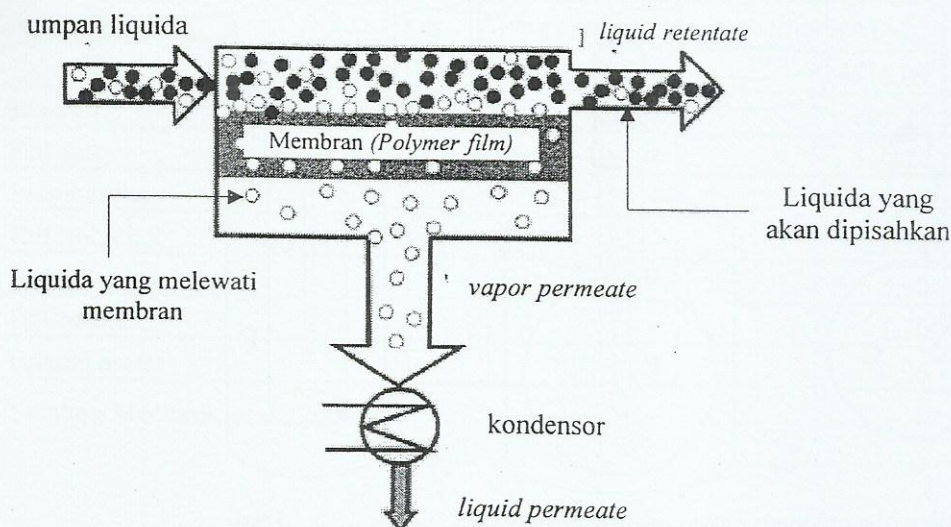
Senyawa flavor/aroma alami terdapat dalam jumlah yang sangat sedikit, biasanya dalam ukuran bagian per sejuta (ppm) (Börjesson, 1996). Untuk memanen (*recover*) senyawa flavor pada tingkat kemurnian yang diinginkan, proses pemisahan (*separation*) yang sesuai perlu digunakan.

Saat ini teknik pemisahan konvensional, meliputi ekstraksi menggunakan pelarut, *flash distillation* dan *adsorption*, digunakan dalam industri flavor (Lipnizki, *et al*, 2002). Kekurangan dari teknik ini berkaitan dengan kontaminasi dan degradasi produk dan konsumsi energi yang tinggi (Schafer, *et al*, 1999). Pada proses ekstraksi, pelarut tertentu digunakan untuk menarik komponen yang ingin diisolasi, dan proses separasi selanjutnya diperlukan untuk menarik komponen yang diinginkan dari pelarut. Jika proses pemisahan tersebut tidak dilakukan dengan baik maka produk akhir akan terkontaminasi oleh pelarut.

Proses distilasi tidak hanya mahal karena konsumsi energi yang sangat besar, tetapi juga tidak sesuai untuk produk yang sensitif terhadap panas. Pada temperatur operasi yang tinggi, sifat alami flavor akan rusak karena terdegradasi dan proses oksidasi dapat terjadi, merubah flavor menjadi senyawa lain.

Masalah-masalah yang disebutkan di atas mendorong peneliti untuk mencari dan mengembangkan teknik pemisahan yang lebih aman dan ekonomis. Teknik Pervaporasi (*permeation-vaporization*), merupakan proses separasi dengan menggunakan membran, dipandang sebagai alternatif yang sangat potensial untuk mengatasi masalah-masalah pemisahan yang disebut di atas. Istilah *pervaporation* berasal kata *permeation* dan *evaporation* (Bowen, 2003), yang merupakan dua mekanisme utama dalam proses ini.

Pada proses pervaporasi (PV), komponen cairan volatil yang diumpangkan akan menyeberang (*permeate*) melalui membran *non-porous* dan menguap ke ruang *permeate* (Gambar 9). Umpan liquida mengalir di sepanjang satu sisi membran kemudian berbagai komponen umpan secara selektif mengalami permeasi ke dalam dan melewati membran. Liquida yang tidak melewati membran (*liquid retentate*) dapat dikembalikan sebagai umpan untuk pengulangan proses. Liquida yang melewati membran dan mengalami proses penguapan diambil dengan proses vakum atau dengan bantuan gas *inert* (seperti nitrogen), dan kemudian dikondensasi dalam kondensor (Schleiffelder dan Claudia, 2001).



Proses pervaporasi telah berhasil dikembangkan untuk dehidrasi alkohol (utamanya etanol and isopropanol). Penggunaan lain yang telah berhasil adalah untuk penghilangan senyawa organik volatil dari air yang terkontaminasi. Dua penggunaan yang berbeda tersebut (satu untuk memisahkan air sedangkan yang lain untuk memisahkan bahan organik) menunjukkan bahwa dengan penggunaan membran selektif yang sesuai (hidrofilik atau hidrofobik), maka proses pervaporasi dapat digunakan untuk memisahkan berbagai campuran, termasuk untuk *recovery* senyawa flavor dari larutan *aqueous*. Keuntungan teknik pervaporasi meliputi: (1) tidak ada kontaminasi produk, karena tidak menggunakan bahan penangkap (seperti pelarut), (2) konsumsi energi rendah, (3) selektivitas tinggi, (4) ramah lingkungan, (5) proses operasi mudah, dan (6) tidak membutuhkan ruang besar untuk peralatan dan mudah instalasinya (Lipnizki *et al*, 2002 dan Asada, 1991).

Pemisahan menggunakan membran merupakan cara yang sangat efektif untuk melakukan proses konsentrasi (pemekatan) distilat maupun ekstrak flavor. Jumlah yang sangat besar dari distilat maupun ekstrak flavor dapat dipisahkan dengan efisiensi energi yang sangat tinggi. Hal ini dikarenakan pemisahan menggunakan membran tidak membutuhkan panas laten untuk pemisahan air. Dengan demikian proses dapat berlangsung dalam suhu kamar (*ambient temperature*), sehingga tidak ada resiko produk rusak karena panas (Dziezak, 1990). Hal ini sangat menguntungkan dalam proses produksi flavor yang sangat sensitif terhadap panas. Disamping itu pemisahan menggunakan membran merupakan proses yang sangat fleksibel. Ini berarti berbagai jenis membran yang berbeda satu sama lain dapat digabungkan dalam satu proses pemisahan. Emikian juga halnya, proses pemisahan menggunakan membran dapat dikombinasikan dengan teknik pemisahan yang lain untuk memperoleh desain proses optimum yang diinginkan (Lipnizki, 1999).

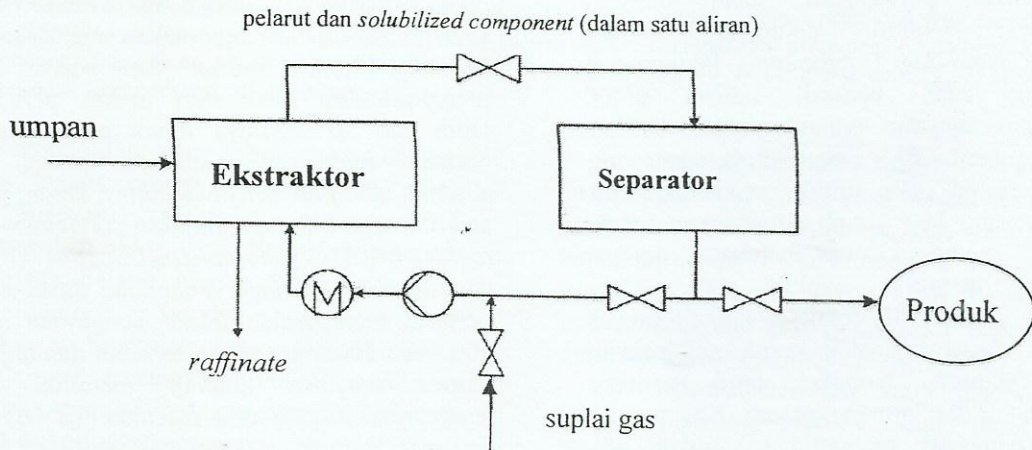
Proses pemisahan senyawa flavor dari larutan *aqueous* menggunakan membran telah banyak diteliti. Baudot dan Marin (1997) mengkompilasi hasil dari proses pervaporasi lebih dari 50 senyawa flavor pada kelompok organik fungsional meliputi: lakton, ester, alkohol, aldehida, senyawa sulfur, keton, pirazin and hidrokarbon, menggunakan *poly(ether-block-amide)* (PEBA), *poly(dimethylsiloxane)* (PDMS) dan membran lainnya. Penelitian tersebut telah berhasil memperoleh faktor pengayaan sampai 100 kali. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa senyawa alkohol memiliki faktor pengayaan (2 - 22) kali, aldehida (16 - 67) kali, dan ester sampai 100 kali (Baudot dan Marin, 1997).

Börjesson (1996) melakukan penelitian perbandingan jenis membran untuk mengevaluasi efektivitas membran (PDMS-1060, PDMS-1070, PDMS-PT1100, POMS-PEI, POMS-PVDF dan PEBA) dan membuktikan bahwa membran PDMS-PT1100, POMS-PEI, dan POMS-PVDF merupakan membran yang paling baik untuk proses pervaporasi jus apel.

Supercritical Fluid Extraction

Ekstraksi Fluida Superkritis (*Supercritical Fluid Extraction/SFE*) berlangsung melalui kontak secara kontinu antar matriks padatan dengan pelarut pada tekanan tinggi. Substrat padat dimasukkan ke dalam ekstraktor, membentuk lapisan tetap partikel (*fixed bed*), kemudian fluida superkritis (SCF) dialirkan melalui substrat padat tersebut sehingga memungkinkan terjadinya solubilisasi dari komponen yang diinginkan. Komponen yang diinginkan tersebut secara kontinu diekstrak oleh fase superkritis hingga matriks padatan berkurang.

Proses SFE pada dasarnya terdiri dari dua tahapan, yaitu: ekstraksi dan pemisahan komponen yang terekstraksi dan pelarut. Secara skematik ditunjukkan pada Gambar 10.



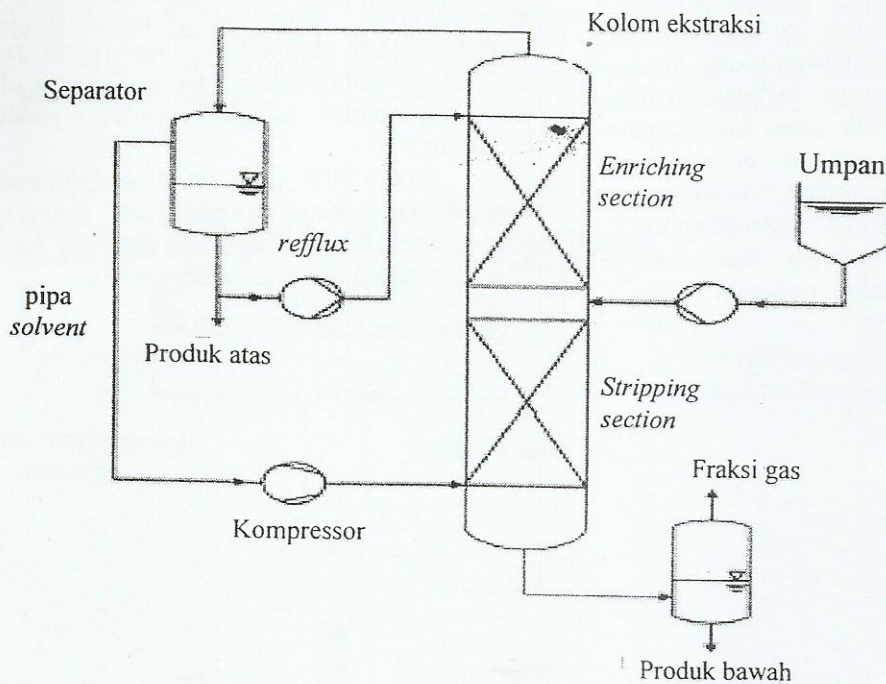
Gambar 10. Diagram alir SFE (Danielski, 2007).

Countercurrent Multistage Extraction

Jika rendemen ekstraksi menggunakan peralatan satu tahap sederhana tidak memadai, umpan liquida dan pelarut superkritik dapat dilewatkan secara *countercurrent* ke dalam peralatan/kolom pemisahan yang disebut *countercurrent multistage column*. Kolom pemisahan tersebut dapat menjalankan tahapan kesetimbangan ganda (*multiple equilibrium stages*) melalui peningkatan area transfer massa antara fase gas dan liquida sehingga dapat meningkatkan efisiensi proses. Secara skematik peralatan *Countercurrent Multistage Extraction* tersebut ditunjukkan pada Gambar 11.

Danielski. (2007) melakukan penelitian penggunaan SFE untuk ekstraksi dan deterpenasi

komponen aroma dari minyak kulit jeruk mandarin (*mandarin peel oil* (MPO)). Penelitian dilakukan dengan teknik *countercurrent* menggunakan CO₂ bertekanan tinggi (8 – 11,5 MPa) dan variasi suhu 50°C, 60°C and 70°C. Penelitian bertujuan untuk memisahkan fraksi terpen yang tidak diinginkan (limonen ± 95%) dari buangan (*raffinate*) yang mengandung komponen aktif utama (*aromatic substances*) yang dikumpulkan pada dasar kolom. Dengan menggunakan ekstraksi gas *countercurrent*, selektivitas tinggi dapat diperoleh antara terpen dan fraksi aroma. Selektivitas tersebut tergantung pada konsentrasi dan komposisi fraksi aroma.



Gambar 11. Skema proses ekstraksi *countercurrent multistage* (Danielski, 2007).

Proses selanjutnya adalah adsorpsi (menggunakan *silica gel* sebagai adsorben) diikuti dengan desorpsi selektif pada variasi tekanan berbeda menghasilkan dua fraksi dengan kemurnian tinggi. Kondisi optimal proses disimpulkan adalah: suhu 40°C dan tekanan 8 dan 20 MPa untuk masing-masing desorpsi terpen dan komponen aroma. Percobaan *scale-up* juga dilakukan dan membuktikan teknik ekstraksi fluida superkritis dapat secara sempurna diterapkan untuk proses deterpenasi minyak jeruk dan fraksinasi selektif komponen aroma yang dikandungnya.

PENUTUP

Flavor alami dapat diperoleh dari berbagai sumber, di antaranya adalah: ekstraksi langsung dari tumbuhan, produksi metabolit melalui proses fermentasi dan enzimatis, biosintesis dan biotransformasi, serta penggunaan teknologi kultur sel tumbuhan. Saat ini industri flavor alami masih tertinggal dibandingkan dengan industri flavor buatan (*artificial flavor*). Walaupun demikian minat untuk memperoleh produk alami, termasuk flavor alami, makin meningkat, seiring dengan kesadaran konsumen untuk menghindari produk-produk hasil proses kimiawi.

Untuk meningkatkan produksi flavor alami perlu dilakukan penelitian-penelitian untuk memperoleh proses yang efisien, sehingga layak untuk diterapkan di industri dan perdagangan. Penelitian-penelitian yang masih perlu dilakukan, berkaitan dengan: (1) pencarian dan pengkajian sumber-sumber falvor alami yang ekonomis untuk diproses, (2) desain proses dan peralatan yang dapat meningkatkan rendemen proses dan kemurnian produk sehingga meningkatkan efisiensi proses/industri.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous (2008). Learn About Flavours. (<http://www.Embassyfood.com>, akses: 10 Agustus 2008).
- Asada, T. (1991) "Pervaporation membrane plant, industrial experience and plant design in Japan", In: *Pervaporation Membrane Separation Processes*, Huang, R.Y.M. (ed.), Elsevier, Amsterdam.
- Baudot, A. and Marin, M. (1997) "Pervaporation of aroma compounds: Comparison of membrane performances with vapour-liquid equilibria and engineering aspects of process Improvement". *Food and Bioproducts Processing, Transactions of the Institution of Chemical Engineers, Part C* 75 117-142.
- Börjesson, J. (1996) "Pervaporation of a model apple juice aroma solution: comparison of membrane performance". *Journal of Membrane Science* 119, pp: 229-239
- Couto, R.S. and Sanroman M.A. (2006) Application of solid-state fermentation to food industry - A review. *Journal of food engineering* 76, pp. 291-302
- Couto, R.S., Barreiro, M., Rivela, I., Longo, M.A., and Sanroman, A. (2002). "Performance of a solid-state immersion bioreactor for ligninolytic enzyme production: evaluation of different operational variables". *Process Biochemistry*, 38, pp: 219-227.
- Croteau, R. and Karp, F. (1991) "Origin of natural odorants", In *Perfumes. Art, Science and Technology* (Muller, P.M. and Lamparsky, D., eds). London: Elsevier Applied Science, pp. 101-126.
- Danielski, L. (2007) *Extraction and Fractionation of Natural Organic Compounds from Plant Materials with Supercritical Carbon Dioxide*, Thesis PhD. Technischen Universität Hamburg-Harburg
- Dicosmo, F. and Misawa, M. (1995) "Plant cell and tissue culture: alternatives for metabolite production". *Biotechnol. Adv.* 13, pp: 425-453.
- Dziezak, J.D. (1990) "Membrane separation technology offers processors unlimited potential". *Food Technology*, pp: 108-111
- Dominguez, A., Rivela, I., Couto R.S., and Sanroman, M.A. (2001). "Design of a new rotating drum bioreactor for ligninolytic enzyme production by *Phanerochaete chrysosporium* grown on

- an inert support". *Process Biochemistry*, 37, pp: 549-554.
- Durand, A., Renaud, R., Almanza, S., Maratray, J., Diez, M., and Desgranges, C. (1993). Solid-state fermentation reactors: from lab scale to pilot plant. *Biotechnology Advances*, 11, pp: 591-597.
- Gatfield, I.L. (1998). "Production of flavour and aroma compounds by biotechnology". *Food Technol.* 10, pp.110-122
- Guentert, M. (2007) The flavor and fragrance industry – past, present and future. In *Flavors and Fragrances* (Berger, R.G., ed). Berlin: Springer, pp. 1-13.
- Ishikawa, M., Honda, T., Fujita, A., Kurobayashi, Y., and Kitahara, T. (2004) "Aqua-space, a new headspace method for isolation of natural floral aromas using humidified air as a carrier gas". *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 68 (2), pp: 454 - 457
- Lipnizki, F., Olsson, J. and Tragardh G., (2002) "Scale-up of pervaporation for the recovery of natural aroma compounds in the food industry. Part 1: simulation and performance", *J. Food Eng.*, 54, 183.
- Lipnizki, F. (1999) "Pervaporation-based hybrid process: a review of process design, applications and economics". *Journal of Membrane Science* 153, pp: 183-210.
- Longo, M.A. and Sanroman, M.A.. (2006). "Production of Food Aroma Compounds", *Food Technol. Biotechnol.* 44 (3), pp: 335-353
- Medeiros, A.B.P., Pandey, A., Vandenberghe, L. P. S., Pastore, G. M. and Soccol, C.R. (2006) "Production and recovery of aroma compounds produced by fermentation, *Food Technol. Biotechnol.* 44 (1), pp: 47-51
- Mulabagal, V. and Tsay, H.S. (2004) "Plant cell cultures - an alternative and efficient source for the production of biologically important secondary metabolites, *Int. J. Appl. Sci. Eng.* 2, pp: 29-48.
- Pandey, A., Soccol, C. R., Rodriguez-Leon, J. and Nigam, P. (2001). *Solid-state Fermentation in Biotechnology*. Asiatech Publishers Inc. New Delhi:
- Rao, S.R. and Ravishankar, G.A. (2002) "Plant cell cultures: chemical factories of secondary metabolites", *Biotechnol. Adv.* 20, pp: 101-153.
- Schafer, T., Bengtson, G. Pingel, H. Boddeker K. W. and Crespo, J.P.S.G. (1999) "Recovery of aroma compounds from a wine-must fermentation by organophilic pervaporation". *Biotech. and Bioeng.* 62, p: 412.
- Schleiffelder, M. and Claudia, S. B. (2001). "Crosslinkable copolyimides for the membranebased separation of p-/o-xylene mixtures." *Reactive and Functional Polymers* 49 (3): 205-213.
- Schwab, W, Rikanati, R.D and Lewinsohn, E. (2008) "Biosynthesis of plant-derived flavor compounds". *The Plant Journal* 54, pp: 712-732.
- Werkhoff, P. and Bretschneider, W. (1987). "Dynamic head space gas chromatography: concentration of volatile components after thermal desorption by intermediate cryofocusing in a cold trap". *J. Chromatogr.* 408, pp: 97 - 98.