

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Apel

Apel adalah tanaman buah yang biasa tumbuh di iklim sub tropis. Apel di Indonesia dikembangkan di beberapa wilayah, terutama di wilayah Pasuruan, khususnya di Kecamatan Tuter Nongkojajar. Nama latin apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill). (Bambang Soelarso, 1997).

Divisi : *Spermatophyte*

Subdivisi : *Angiosperma*

Klas : *Dicotyledonae*

Ordo : *Rosales*

Famili : *Rosaceae*

Genus : *Malus*

Species : *Malus sylvestris* Mill

Buah apel berbentuk bulat, keras tetapi renyah, dan airnya sedikit. Bila buah sudah tua warnanya ada yang merah, kuning, atau hijau (Sunarjono, 2005). Salah satu varietas unggul yang telah dilepas adalah Manalagi. Warna buahnya hijau muda kekuningan, pori kulit buahnya putih, dan aromanya sedap. (Kusumo, 1986).

Apel termasuk buah yang dapat mengalami reaksi pencoklatan enzimatis apabila mengalami kerusakan berupa memar ataupun pengirisan dan pemotongan (Winarno, 1997). Hal ini disebabkan di dalam apel terkandung senyawa phenol yang apabila berinteraksi dengan enzim *poliphenol oksidase* dengan bantuan

oksigen akan mengalami pencoklatan (*browning*). Senyawa phenol yang terkandung pada apel meliputi asam *klorogenat*, *catekol*, *catekin*, *asam kafeat*, *3,4-dihidroksifenilalanin (DOPA)*, *p-kresol*, *4-metil catekol*, *leukosianidin*, dan *flavonol glikosida* (Marshall *et al.*, 2000).

B. Buah Potong Segar

Buah apel merupakan buah klimaterik sehingga setelah dipanen akan mengalami perubahan-perubahan sifat fisik dan kimianya, yang disebabkan oleh berlanjutnya kegiatan metabolisme. Kandungan gula, asam, tekstur, warna, laju respirasi, kandungan air, total tanin maupun beta karoten akan berubah seiring dengan perkembangan fisiologis buah sehingga kemudian akan terjadi kerusakan produk potong segar merupakan produk sayuran dan buah yang diproses secara minimal dan masih dalam keadaan segar. Proses minimal ini antara lain meliputi pengupasan, pemotongan, pencucian, sanitasi, pengeringan dan pengemasan produk, sehingga produk akhir dapat langsung dikonsumsi. Produk potong segar dapat dikenali sebagai buah atau sayur dalam kemasan yang sudah diiris, dikupas menjadi produk yang dapat langsung dimanfaatkan. Tidak adanya tahap pematian mikrobial dalam proses minimal dan rawannya jaringan tanaman terhadap pertumbuhan mikrobial akan berakibat mudah terjadinya kontaminasi dan pembusukan sehingga akan mempersingkat umur simpan produk potong segar. Dengan demikian, standar kualitas dan keamanan pangan yang tinggi sangat penting untuk menjaga pertumbuhan industri produk potong segar. (Perera, 2007)

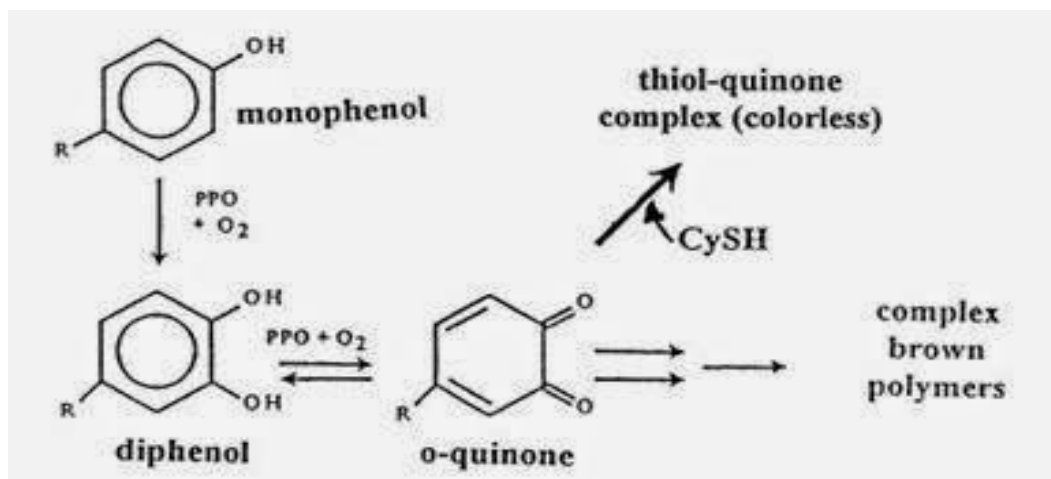
Buah potong segar (*fresh cut*) merupakan pengolahan buah atau sayuran yang melibatkan pencucian, pengupasan, dan pengirisan sebelum dikemas dan menggunakan suhu rendah untuk penyimpanan sehingga mudah dikonsumsi tanpa menghilangkan kesegaran dan nilai gizi yang dikandungnya (Perera, 2007). Akan tetapi proses pemotongan produk-produk tersebut dapat mengakibatkan kerusakan sel dan mempercepat kerusakan mutu (Baldwin dan Nisperros-Carriedo, 1993).

Perlakuan-perlakuan pada produk potong segar seperti pengupasan dan pemotongan dapat menyebabkan perubahan kimia dan biokimia yang selanjutnya menyebabkan kerusakan mutu. Perubahan tersebut meliputi peningkatan respirasi, produksi etilen, perubahan warna, *flavor*, pembentukan metabolit sekunder, dan peningkatan pertumbuhan mikroba (Baldwin, 2007). Perlakuan tambahan dapat diberikan untuk mengatasi masalah yang timbul akibat pengolahan minimal yang bertujuan mempertahankan kualitas dan memperpanjang masa simpan, di antaranya adalah (i) penggunaan bahan tambahan pangan (BTP), dan (ii) penggunaan pelapis *edibel*. Penggunaan BTP seperti asam askorbat untuk buah mangga dan rambutan, *tri sodium phosphate* atau Na-alginat untuk melon terbukti dapat memperpanjang masa simpan. Pelapis *edibel* dapat digunakan sebagai pengemas primer yang dapat dimakan dan berfungsi untuk mengawetkan dan mempertahankan kesegaran serta kualitas produk (Hasbullah, 2006).

C. Browning

Proses *browning* enzimatis disebabkan karena adanya aktivitas enzim pada bahan pangan segar, seperti pada susu segar, buah-buahan dan sayuran.

Pencoklatan enzimatik terjadi pada buah-buahan yang banyak mengandung substrat *phenolik*, *katekin*, *tirosin*, *asam kafeat*, *asam klorogenat*, serta *leukoantosianin* dapat menjadi substrat proses pencoklatan. Senyawa phenolik dengan jenis *ortodihidroksi* atau *trihidroksi* yang saling berdekatan merupakan substrat yang baik untuk proses pencoklatan. Reaksi ini dapat terjadi bila jaringan tanaman terpotong, terkupas dan karena kerusakan secara mekanis yang dapat menyebabkan kerusakan integritas jaringan tanaman. Hal ini menyebabkan enzim dapat kontak dengan substrat yang biasanya merupakan asam amino *tirosin* dan komponen *phenolik* seperti *katekin*, *asam kafeat*, dan asam klorogena sehingga substrat *phenolik* pada tanaman akan *dihidroksilasi* menjadi 3,4-*dihidroksifenilalanin* (dopa) dan *dioksidasi* menjadi kuinon oleh enzim *phenolase* (Wiley-Blackwell,2012).



Sumber :Sumber: <https://steemkr.com/science/@jamhuery/chemistry-reaction-of-apple-browning-process>

Gambar 1. Proses Terjadinya *Browning*

Pencoklatan enzimatis merupakan reaksi pewarnaan yang banyak terjadi pada buah dan sayuran sebagai akibat interaksi oksigen, senyawa phenol, dan enzim *poliphenol oksidase* (PPO). Pencoklatan biasanya diawali dengan oksidasi enzimatis monophenol menjadi *o-diphenol* dan kemudian *o-diphenol* menjadi kuinon, yang selanjutnya akan mengalami polimerisasi non enzimatis sehingga terbentuk pigmen berwarna coklat. Pencoklatan enzimatis akan menurunkan kualitas buah dan sayuran potong-segar, meskipun di sisi lain proses ini justru menguntungkan pada beberapa produk perkebunan seperti teh, kopi, dan kakao. Beberapa varietas buah dan sayuran seperti apel, pir, pisang, persik, selada, dan kentang sangat peka terhadap pencoklatan enzimatis selama pemrosesan dan penyimpanan. Pencoklatan tidak hanya berpengaruh terhadap tampilan produk potong segar, tetapi akan berpengaruh pula terhadap kualitas sensoris lainnya seperti rasa, aroma, tekstur, dan kandungan gizi (Jiang Y. 2004).

Reaksi pencoklatan pada kuinon sebagai produk dari oksidasi senyawa phenolik pada tanaman yang dikatalisis PPO ketika tanaman mengalami kerusakan struktur sel (Ho dkk., 1992; Mallick, 2011). *Poliphenol oksidase* atau *polyphenol oxidase* (PPO) adalah enzim yang bertanggung jawab atas reaksi pencoklatan pada tanaman akibat adanya kerusakan sel pada tanaman tersebut. PPO telah diisolasi dari buah apel (*Malus domestica*) dalam bentuk *crude*-PPO diperoleh dengan cara isolasi dengan hasil yang cukup akurat. Aktivitas PPO dalam *crude*-PPO apel Malang sebesar 47,2892 unit/ml terhadap substrat phenol 0,25 mM dalam pelarut bufer fosfat 50 mM pada kondisi optimum pH 7 dan suhu ruang 25°C. PPO mampu mengkatalisis perubahan berbagai senyawa aromatik

yang memiliki dua kelompok senyawa phenolik. Oksidasi kelompok senyawa phenolik menghasilkan sejumlah produk kuinon. Kuinon tersebut sangat reaktif sehingga dapat bereaksi satu sama lainnya, hal inilah yang menyebabkan pencoklatan sebagai kuinon yang lama kelamaan berwarna kecoklatan (pigmen coklat tua) sebagai senyawa melanin (Cheng dkk., 2005; Ekinici dkk., 2007; Ho dkk., 1992) .

Pencoklatan enzimatis pada bahan pangan memiliki dampak menguntungkan dan juga dampak yang merugikan. Reaksi pencoklatan enzimatis bertanggung jawab pada warna dan *flavor* yang terbentuk. Dampak yang menguntungkan, misalnya enzim *poliphenol oksidase* bertanggung jawab terhadap karakteristik warna coklat keemasan pada buah-buahan yang telah dikeringkan seperti kismis, buah prem dan buah ara. Dampak merugikannya adalah mengurangi kualitas produk bahan pangan segar sehingga dapat menurunkan nilai ekonomisnya. Sebagai contoh Selang beberapa saat ketika memotong buah apel atau pisang, bagian yang dipotong tersebut akan berubah warna menjadi coklat. (Wiley-Blackwell, 2012).

Perubahan warna ini tidak hanya mengurangi kualitas visual tetapi juga menghasilkan perubahan rasa serta hilangnya nutrisi. Reaksi pencoklatan ini dapat menyebabkan kerugian perubahan dalam penampilan dan sifat organoleptik dari makanan serta nilai pasar dari produk tersebut. Kecepatan perubahan pencoklatan enzimatis pada bahan pangan dapat dihambat melalui beberapa metode berdasarkan prinsip inaktivasi enzim, penghambatan reaksi substrat dengan enzim, penggunaan *chelating agents*, oksidator maupun inhibitor enzimatis.

Adapun cara konvensional yang biasa dilakukan adalah perlakuan perendaman bahan pangan dalam air, larutan asam sitrat maupun larutan sulfat. (Wiley-Blackwell, 2012).

Senyawa *phenol* tersubstitusi telah banyak digunakan sebagai antioksidan. Kerja antioksidan dalam reaksi oksidasi adalah menghambat terbentuknya radikal bebas pada tahap inisiasi atau menghambat kelanjutan reaksi berantai pada tahap propagasi dari reaksi antioksidasi. Antioksidan yang baik adalah senyawa yang mampu membuat radikal phenol dari antioksidan menjadi lebih stabil. Senyawa turunan phenol tersubstitusi ini banyak terdapat pada berbagai tumbuhan tropis berupa senyawa turunan poliphenol. Poliphenol merupakan suatu kelompok antioksidan yang secara alami terdapat pada sayur-sayuran, buah-buahan, dan minuman seperti teh dan anggur (Pambudi, 2004). Poliphenol ini mempunyai kemampuan untuk menghambat reaksi oksidasi dan menangkap radikal bebas. Selain itu, poliphenol juga mempunyai aktivitas sebagai antioksidan dan antiradikal (Burda dan Oleszek, 2001). Pada umumnya antioksidan melindungi sel dengan cara mengorbankan dirinya untuk teroksidasi oleh radikal bebas. *Phenol* merupakan senyawa yang mudah teroksidasi, oleh karena itu sering digunakan sebagai antioksidan. Penggunaannya sebagai antioksidan dapat melindungi sel agar tidak teroksidasi oleh radikal bebas dengan cara mengikat radikal bebas tersebut secara tidak langsung yang teroksidasi adalah phenol tersebut.

D. Pencegahan *Browning*

Pencegahan pencoklatan dapat dilakukan dengan cara sebagai berikut: Pengurangan oksigen (O₂) atau penggunaan antioksidan, misalnya vitamin C ataupun senyawa sulfit. Antioksidan dapat mencegah oksidasi komponen-komponen *phenolat* menjadi *quinon* berwarna gelap. Sulfit dapat menghambat enzim *phenolase* pada konsentrasi satu ppm secara langsung atau mereduksi hasil oksidasi *quinon* menjadi bentuk *phenolat* sebelumnya, sedangkan penggunaan vitamin C dapat mereduksi kembali *quinon* berwarna hasil oksidasi (*oquinon*) menjadi senyawa *phenolat* (*o-diphenol*) tak berwarna. Asam askorbat selanjutnya dioksidasi menjadi asam *dehidroaskorbat*. Ketika vitamin C habis, komponen berwarna akan terbentuk sebagai hasil reaksi polimerisasi dan menjadi produk antara yang *irreversibel*. Jadi produk berwarna hanya akan terjadi jika vitamin C yang ada habis dioksidasi dan *quinon* terpolimerisasi.

Mengontrol reaksi *browning* enzimatis dengan menambahkan enzim *mometiltransferase* sebagai penginduksi. Mengurangi komponen-komponen yang bereaksi *browning* melalui deaktivasi enzim *phenolase* yang mengandung komponen Cu (suatu kofaktor esensial yang terikat pada enzim PPO). *Chelating agent* EDTA atau garamnya dapat digunakan untuk melepaskan komponen Cu dari enzim sehingga enzim menjadi inaktif. Pemanasan untuk menginaktivasi enzim-enzim. Enzim umumnya bereaksi optimum pada suhu 30-40°C. Pada suhu 45°C enzim mulai terdenaturasi dan pada suhu 60°C mengalami dekomposisi.

Penambahan larutan sulfit yang bertujuan untuk mencegah terjadinya *browning* secara enzimatis maupun non enzimatis, selain itu juga sulfit berperan

sebagai pengawet. Pada *browning* non enzimatis, sulfit dapat berinteraksi dengan gugus *karbonil* yang mungkin ada pada bahan. Hasil reaksi tersebut akan mengikat *melanoidin* sehingga mencegah timbulnya warna coklat. Sedangkan pada *browning* enzimatis, sulfit akan mereduksi ikatan disulfida pada enzim, sehingga enzim tidak dapat mengkatalis oksidasi senyawa phenolik penyebab *browning*. Sulfit merupakan racun bagi enzim, dengan menghambat kerja enzim esensial. Sulfit akan mereduksi ikatan disulfida enzim mikroorganisme, sehingga aktivitas enzim tersebut akan terhambat. Dengan terhambatnya aktivitas enzim, maka mikroorganisme tidak dapat melakukan metabolisme dan akhirnya akan mati. Sulfit akan lebih efektif dalam bentuk yang bebas atau tidak terdisosiasi, sehingga sebelum digunakan sulfit dipanaskan terlebih dahulu. Selain itu, sulfit yang tidak terdisosiasi akan lebih terbentuk pada pH rendah (2,5 – 4), dan pada pembuatan manisan bengkoang ini, pH rendah atau suasana asam diperoleh dari penambahan asam sitrat.

Asam sitrat adalah asam *trikarboksilat* yang tiap molekulnya mengandung tiga gugus karboksilat. Selain itu ada satu gugus hidroksil yang terikat pada atom karbon di tengah. Asam sitrat termasuk *asidulan*, yaitu senyawa kimia yang bersifat asam dan ditambahkan pada proses pengolahan makanan dengan berbagai tujuan. *Asidulan* dapat bertindak sebagai penegas rasa dan warna atau menyelubungi *after taste* yang tidak disukai. Sifat senyawa ini dapat mencegah pertumbuhan mikroba dan bertindak sebagai pengawet. Asam sitrat (yang banyak terdapat dalam lemon) sangat mudah teroksidasi dan dapat digunakan sebagai pengikat oksigen untuk mencegah buah berubah menjadi berwarna coklat. Ini

sebabnya mengapa bila potongan apel direndam sebentar dalam jus lemon, warna putih khas apel akan lebih tahan lama. Asam ini ditambahkan pada manisan buah dengan tujuan menurunkan pH manisan yang cenderung sedang sampai di bawah 4,5. Penurunan pH memungkinkan mikroba berbahaya yang tumbuh semakin kecil. Selain itu pH yang rendah akan mendisosiasi sulfat dan benzoat menjadi molekul.

E. Arginin

L-arginine digunakan untuk memacu produksi NO (*Nitric Oxide*) karena L-arginine adalah asam amino *semi-esensial* yang saat ini dipasarkan ke masyarakat umum untuk kepentingan kesehatan yang sebagian besar terkait dengan manfaat untuk memacu produksi NO (*Nitric Oxide*) (Exam.com, 2015). Penelitian pascapanen yang dilakukan Zhang *etal.*, (2010,2013) menggunakan L-arginine, dengan cara mencelupkan tomat dalam larutan arginin 0,2 mM pada tekanan sub atmosfer (35 kpa) dalam penyimpanan 2-4 minggu pada suhu 2⁰C dan mendapatkan hasil 20% pengurangan kerusakan yang terjadi akibat chilling injury. Perlakuan dengan pemberian l-arginine menghasilkan peningkatan *nitric oxide* di dalam jaringan buah tomat setelah beberapa hari pertama penyimpanan dapat meningkatkan aktivitas NOS (*Nitric Oxide System*) di seluruh buah tomat yang disimpan. Sementara di dalam penelitian itu tidak menyebutkan pencelupan pada tekanan lingkungan. Tekanan lingkungan dapat mendorong penyerapan secara bersamaan, penggunaan pencelupan di suhu ruang untuk mendorong peningkatan penyerapan L-arginin ke dalam buah.

Nitrit oxide (NO) adalah molekul gas yang mempengaruhi berbagai sistem metabolisme pada hewan dan tumbuhan. Efek NO pada metabolisme hasil pascapanen pertama kali dilakukan oleh Leshem and Haramaty (1996) yang menambahkan NO ke daun kacang dan menemukan kaitan antara NO dan etilen. Sejak saat itu penelitian yang cukup besar mengenai berbagai komoditas hasil pascapanen dilakukan perlakuan dengan menggunakan gas NO atau mencelupkan di senyawa NO untuk memperpanjang umur hasil pascapanen dengan menghambat pematangan buah klimakterik dan penuaan produk non-klimakterik dan dengan menunda pengembangan *chilling injury* dan berbagai gangguan fisiologi hasil pascapanen. Industri di berbagai negara telah menyatakan minatnya pada penggunaan NO untuk pascapanen buah dan sayuran.

F. Hipotesis

Pemberian arginin 50 Mm dan lama perendaman 10 menit diduga sudah mampu menghambat *browning* pada buah potong segar apel Malang (*Malus sylvestris mill*). Hipotesis ini berdasarkan penelitian Willis (2016), bahwa pemberian arginine dalam konsentrasi terkecil dan dengan waktu perendaman 10 menit menunjukkan hasil yang sudah baik pada buah apel *Granny smhit*.