

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Apel

Apel atau *Malus sylvestris* Mill pertama kali ditanam di Asia Tengah. Kini apel berkembang di banyak daerah di dunia yang bersuhu rendah. Buah apel biasanya berwarna merah kulitnya jika masak dan siap dimakan, namun bisa juga kulitnya berwarna hijau atau kuning. Klasifikasi botani pohon apel adalah sebagai berikut:

Divisi : *Spermatophyte*

Subdivisi : *Angiosperma*

Klas : *Dicotyledonae*

Ordo : *Rosales*

Famili : *Rosaceae*

Genus : *Malus*

Species : *Malus sylvestris* Mill

Apel mengandung beberapa vitamin dan mineral yang bermanfaat bagi manusia. Sebutir apel berdiameter 5-7 cm mengandung vitamin A 900 IU/100 g, tiamin 7 mg, riboflavin 3 mg, niasin 2 mg, vitamin C 5 mg, 5 protein 3 g, energi 58 kalori, lemak 4 g, karbohidrat 14,9 g, kalsium 6 mg, besi 3 mg, fosfor 10 mg, dan kalium 130 mg (Untung, 1996).

Buah apel berbentuk bulat hingga bulat telur, 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, jarang,

aromanya sedap. Daging buahnya agak liat, kurang berair, warnanya putih (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 fenol yang apabila berinteraksi dengan enzim polifenol oksidase dengan bantuan oksigen akan mengalami pencoklatan (*browning*). Senyawa fenol yang terkandung pada apel meliputi asam klorogenat, katekol, katekin, asam kafeat, 3,4-*dihidroksifenilalanin* (DOPA), p-kresol, 4-metil katekol, *leukosianidin*, dan flavonol glikosida (Marshall *et al.*, 2000).

B. Pengolahan Minimal

Konsumsi buah apel di Indonesia pada tahun 2010 mencapai 1,94 sampai 2,10 kg/kapita dan diperkirakan pada tahun 2015 sampai 2018 konsumsi buah apel akan meningkat hingga mencapai 2,80 sampai 3,14 kg/kapita/tahun. (Kementrian Negara dan Riset, 2012). Berkembangnya pengolahan minimal produk Hortikultura disebabkan kebutuhan masyarakat akan produk buah dan sayur segar yang lebih mudah untuk digunakan maupun dikonsumsi. Perubahan gaya hidup yang serba cepat tersebut menuntut tersedianya pangan praktis untuk dikonsumsi.

Tahapan produk buah potong segar melalui berbagai perlakuan yaitu pengupasan, pemotongan, pencucian dan pengemasan. Pengupasan dan pemotongan dapat mengganggu integritas jaringan dan sel buah, akibatnya terjadi

peningkatan produksi etilen, peningkatan laju respirasi, degradasi membran, kehilangan air, dan kerusakan akibat mikroorganisme. Dampak lebih lanjut adalah terjadinya perubahan enzimatik dan penurunan umur simpan serta mutu buah (Latifa, 2009).

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.

Pada umumnya, umur simpan buah apel segar hanya 10-12 hari. Bila disimpan lebih dari 10 hari sudah mulai ditumbuhi jamur dan teksturnya menjadi lunak. Kerusakan oleh jamur merupakan bentuk kerusakan yang merugikan hasil-hasil pertanian, bahkan kadang-kadang berbahaya bagi kesehatan manusia. Adanya kerusakan oleh jamur dapat diketahui secara visual karena tumbuhnya spora dan miselium. Hasil pertanian yang banyak mengandung pati, pektin dan selulosa mudah dirusak oleh jamur. Timbulnya masalah dari kerusakan apel ini, sehingga dilakukan penanganan pengolahan minimal.

Pengolahan minimal (*minimal processing*) atau dikenal dengan istilah produk potong segar (*fresh-cut product*) merupakan pengolahan buah atau sayuran yang melibatkan pencucian, pengupasan, dan pengirisan sebelum dikemas menggunakan suhu rendah untuk penyimpanan sehingga mudah dikonsumsi tanpa menghilangkan kesegaran dan nilai gizi yang dikandungnya (Perera, 2007). Perlakuan proses pengolahan menyebabkan produk terolah minimal mudah

mengalami penurunan mutu. Salah satu contoh penurunan mutu akibat pengolahan minimal adalah akibat terjadinya pencoklatan enzimatis (*enzymatic browning*) (Baldwin, 1994).

C. Enzimatis dan Pencegahnya

Enzim yang menyebabkan reaksi pencoklatan enzimatis adalah *fenolase*, *fenoloksidase*, *tirosinase*, *polifenolase*, atau *katekolase*. Dalam tanaman, enzim ini lebih sering dikenal dengan polifenol oksidase (PPO). Substrat untuk PPO dalam tanaman biasanya asam amino *tirosin* dan komponen *polifenolik* seperti *katekin*, asam *kafeat*, *pirokatekol/katekol* dan asam *klorogenat* (Garcia dan Barret 2002). Cara untuk mengurangi pencoklatan dapat dilakukan dengan perendaman larutan sulfit, asam askorbat, asam sitrat, dan garam. Perendaman tersebut bertujuan untuk mengurangi reaksi antara enzim polifenolase, oksigen, dan senyawa polifenol yang bertanggung jawab dalam reaksi pencoklatan enzimatis (Syamsir *et al.* 2011).

Menurut Kaviya (2012) enzim polifenol oksidase memiliki gugus Cu sebagai kofaktor sehingga dapat mengkatalisis pengikatan molekul oksigen dalam posisi orto, membentuk gugus hidroksil pada cincin aromatik yang diikuti oleh proses oksidasi difenol menjadi quinone.

Enzim polifenol oksidase menyebabkan browning pada buah-buahan dan sayur-sayuran karena mengkatalisis konversi senyawa fenol menjadi melanin yang menyebabkan permukaan daging buah berwarna coklat. Enzim polifenol

oksidase aktif pada pH 3 sampai 8,5, dan aktifitas maksimum enzim polifenol oksidase adalah pada pH 7 (Weller *et al.*, 2007; Variyar *et al.*.,2008).

Proses browning enzimatis disebabkan karena adanya aktivitas enzim pada bahan pangan segar, seperti pada susu segar, buah-buahan dan sayuran. Pencoklatan enzimatis terjadi pada buah-buahan yang banyak mengandung substrat *fenolik*, *katekin* dan turunnya seperti *tirosin*, asam *kafeat*, asam klorogenat, serta leukoantosianin dapat menjadi substrat proses pencoklatan. Senyawa *fenolik* 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 dapat menyebabkan kerusakan integritas jaringan tanaman. Hal ini menyebabkan enzim dapat kontak dengan substrat yang biasanya merupakan asam amino *tirosin* dan komponen *fenolik* seperti *katekin*, asam *kafeat*, dan asam *klorogena* sehingga substrat *fenolik* pada tanaman akan *dihidroksilasi* menjadi *3,4-dihidroksifenilalanin* (dopa) dan dioksidasi menjadi *kuinon* oleh enzim *fenolase* (Wiley-Blackwell, 2012).

Faktor-faktor terpenting yang menentukan laju pencoklatan enzimatis pada buah dan sayuran adalah kandungan PPO dan senyawa-senyawa fenol, pH, suhu dan ketersediaan O₂ dalam jaringan. Pemahaman pengaruh faktor-faktor tersebut terhadap pencoklatan enzimatis sangat diperlukan untuk pengendaliannya. Sampai saat ini, berbagai teknik dan mekanisme untuk pengendalian pencoklatan enzimatis pada buah dan sayuran potong segar telah banyak diteliti, dan secara teoritis teknik-teknik tersebut ditujukan untuk mengurangi satu atau lebih

komponen utama yang terlibat dalam reaksi pencoklatan enzimatis seperti O₂, enzim, tembaga atau substrat. Metode yang biasa digunakan untuk mempertahankan warna asli dari buah dan sayuran potong segar antara lain pencelupan dalam larutan “*anti-browning*”.

Pemberian senyawa pereduksi seperti asam askorbat dan turunannya, sistein dan glutathion pada buah dan sayuran segar potong merupakan metode yang paling efektif untuk mengendalikan pencoklatan enzimatis, bahkan kalsium askorbat telah digunakan secara komersial dalam industri produk potong segar. Senyawa-senyawa pereduksi ini berperan penting dalam mengendalikan pencoklatan melalui kemampuannya untuk mereduksi o-kuinon menjadi difenol yang tidak berwarna atau bereaksi dengan o-kuinon untuk membentuk produk yang tidak berwarna. Sulfite merupakan senyawa yang diketahui sangat efektif dalam mengendalikan pencoklatan, meskipun demikian pemberian senyawa ini pada produk potong segar tidak dibenarkan oleh USFDA (Badan POM Amerika Serikat) karena menyebabkan alergi pada sebagian orang. Asam askorbat dan turunannya merupakan senyawa antioksidan yang diketahui aman digunakan untuk mengendalikan pencoklatan dan beberapa reaksi oksidatif pada produk potong segar. Pada umumnya, peran senyawa ini adalah mereduksi o-kuinon sebagai hasil kerja enzim PPO, kembali menjadi substrat/senyawa fenol.

Menurut Qiang He and Yaguang Luo (2007), gugus ion dalam struktur protein enzim PPO, POD dan PAL sangat dipengaruhi oleh pH lingkungan. Gugus ini harus berada dalam bentuk *ionik* yang sesuai sehingga enzim dapat aktif mengikat substrat atau mengkatalisa reaksi pencoklatan. Perubahan status ionisasi enzim

pada umumnya bersifat dapat balik (“*reversible*”), meskipun demikian pada kondisi pH yang ekstrim dapat terjadi inaktivasi enzim yang bersifat tetap (“*irreversible*”). Di sisi lain, stabilitas senyawa fenol dipengaruhi pula oleh pH, dan pada kondisi pH lingkungan yang ekstrem senyawa fenol ini dapat mengalami kerusakan. PPO dapat dibuat tidak aktif dengan cara mengatur pH sedikit dibawah pH optimum dengan memberikan asidulan seperti asam sitrat, asam malat dan asam fosfat.

Asam sitrat merupakan salah satu *asidulan* yang paling banyak digunakan dalam industri produk segar potong. Asam sitrat biasanya digunakan bersama-sama dengan agen *anti browning* yang lain seperti asam askorbat . Untuk pencegahan pencoklatan pada produk potong segar, asam sitrat digunakan dengan dosis 0,5% sampai 2% . Disamping mampu menurunkan pH, asam sitrat mampu pula berperan sebagai agen khelat bagi senyawa tembaga pada sisi aktif enzim PPO sehingga meningkatkan penghambatan terhadap aktivitas enzim PPO. Jing *et.al* (2004) menemukan bahwa pemberian asam sitrat dengan konsentrasi sangat rendah dapat memacu enzim PPO, tetapi pada konsentrasi 0,1 M atau lebih tinggi dapat menghambat aktivits enzim PPO dan memperpanjang umur simpan 'water chestnut' potong segar. Yurong Ma *et.al* (2010) menyatakan bahwa pemberian campuran asam sitrat+kalsium khlorida+ekstrak bawang putih mampu memperpanjang umur simpan selada potong segar dengan menghambat aktivitas enzim PPO dan khlorofilase.

D. L-arginin

L-arginin merupakan asam amino dasar dan diklasifikasikan sebagai asam amino yang cukup penting. Salah satu fungsi utama dari L-arginin adalah berperan dalam sintesis protein. L-arginin terlibat dalam sejumlah kegiatan metabolik lainnya di dalam tubuh, seperti potensinya yang dapat dikonversi menjadi glukosa (sehingga klasifikasinya sebagai A-Glucogenic Acid) dan kemampuannya dalam katabolisme untuk menghasilkan energi (Kirk *et al.*, 1993). Penelitian pascapanen yang dilakukan Zhang *et. al* (2010) menggunakan L-arginin, dengan cara mencelupkan tomat dalam larutan L-arginin 0,2 mm pada tekanan sub atmosfer (35 kpa) dalam penyimpanan 2-4 minggu pada suhu 2⁰C menghasilkan 20% pengurangan kerusakan yang terjadi akibat *chilling injury*. Pemberian L-arginin menghasilkan peningkatan *nitric oxide* di dalam jaringan buah tomat setelah beberapa hari pertama penyimpanan dan dapat meningkatkan aktivitas NOS (*nitric oxide system*) di seluruh buah tomat yang disimpan. Diduga bahwa tekanan lingkungan dan suhu ruang secara bersamaan, dapat mendorong peningkatan penyerapan L-arginin ke dalam buah.

Nitrit oxide adalah molekul gas yang mempengaruhi berbagai sistem metabolisme pada hewan dan tumbuhan. Efek *nitrit oxide* pada metabolisme hasil pascapanen pertama kali dilakukan oleh Leshem and Haramaty (1996), yang menambahkan *nitrit oxide* ke daun kacang dan menemukan kaitan antara *nitrit oxide* dan etilen. Sejak saat itu penelitian yang cukup besar mengenai berbagai komoditas hasil pascapanen dilakukan dengan menggunakan gas *nitrit oxide* atau mencelupkan di senyawa NO (*Nitrit oxide*) untuk memperpanjang umur hasil

pascapanen melalui penghambatan pematangan buah klimakterik dan penuaan produk non-klimakterik, penuaan pengembangan *chilling injury* serta berbagai gangguan fisiologi hasil pascapanen.

E. Asam askorbat

Vitamin C atau asam askorbat ($C_6H_8O_6$) merupakan padatan kristal yang berwarna putih, tidak berbau, tidak larut dalam etil alkohol tapi larut dalam air. Asam askorbat sangat mudah teroksidasi secara reversible menjadi asam *L-dehidroaskorbat* yang masih mempunyai aktivitas vitamin C. Reaksi degradasi asam askorbat dalam larutan air tergantung pada beberapa faktor seperti pH (kisaran pH 4 sampai pH 6 mempunyai kestabilan yang paling tinggi), suhu dan kehadiran oksigen atau ion logam seperti tembaga. Asam askorbat sering digunakan sebagai antioksidan diberbagai macam pangan olahan, antara lain buah-kaleng, sayuran kaleng, ikan kaleng, daging kaleng, minuman ringan dan beverages (Belitz dan Grosch, 1999).

Efek asam askorbat, terhadap polifenol oksidase dan kandungan fenolik pada buah apel (*Malus sylvestris Mill*) yang diproses minimal dan disimpan pada suhu dingin telah diteliti oleh Rocha *et al.*, (2005). Perendaman potongan buah apel dalam larutan asam askorbat 42.6 mmol selama 5 menit cukup efektif menghambat aktivitas enzim PPO. Perubahan warna, berdasarkan absorbansi pada panjang gelombang 420 nm, berkorelasi dengan kandungan fenolik total, namun tidak ada korelasi antara aktifitas PPO dengan indeks browning atau kandungan fenolik total pada potongan buah apel yang diberi perlakuan asam askorbat.

Menurut Jiang *et al.*, (2009), efek Glutation, L-cystein, asam askorbat, dan n-propil gallat terhadap aktivitas enzim polifenol oksidase. Efek asam askorbat dan n-propil gallat terhadap enzim PPO (dalam penghambatan aktivitas enzim) meningkat dengan penambahan asam sitrat 10 mmol glutathion dan 100 mmol asam sitrat memberikan hasil terbaik untuk pengendalian browning pada buah leci dengan penghambatan aktivitas PPO 80 sampai 85%.

Aktivitas anti *browning*, berbagai senyawa kimia telah diteliti oleh Son *et al.*, (2001). Asam karboksilat, asam askorbat dan turunannya, asam amino yang mengandung sulfur, asam fenolik dan beragam senyawa lainnya telah diuji sifat anti *browning* pada potongan buah apel dengan kondisi yang seragam. Diantara senyawa-senyawa yang diuji asam *oksalat*, asam *oksalasetat*, asam askorbat 2 *fosfat*, *sistein*, *glutathion*, *N-acetylcysteine*, *kojic acid*, dan *4-hexylresorcinol*, merupakan kelompok yang memiliki aktivitas penghambatan tertinggi terhadap *browning* pada buah apel. Konsentrasi minimal asam *oksalasetat*, asam *oksalat*, *sistein*, dan *kojic acid* untuk aktivitas anti *browning* berturut-turut adalah 0.25, 0.05, 0.05 dan 0.05%. Asam *oksalat* menunjukkan efek sinergi jika 0.02% asam *oksalat* digunakan dengan 1% asam askorbat atau turunannya.

Efek konsentrasi anti *browning* terhadap fenolik total, aktivitas PPO dan *browning* telah diteliti oleh Jeong *et al.*, (2008), pada potongan buah segar apel Fuji. Anti *browning* yang digunakan adalah air berklorin (0.01% v/v), larutan sistein (0.5%v/v), dan larutan asam askorbat (0.5% v/v). Potongan buah apel yang telah diberi perlakuan anti *browning* disimpan pada tempat gelap pada temperatur 4°C, RH 90% selama 7 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa

indeks browning meningkat selama penyimpanan. Perlakuan sistein dan asam askorbat meningkatkan fenolik total sedangkan air berklorin tidak. Indeks *browning* perlakuan air berklorin berkorelasi dengan aktivitas PPO dan degradasi warna, sedangkan perlakuan sistein pada asam askorbat tidak berkorelasi dengan aktivitas PPO dan degradasi warna.

Manopoulou dan Theodoros Varzakas (2011) meneliti, efek asam askorbat, asam sitrat, dan kalsium klorida terhadap kol yang diproses minimal. Hasil penelitian menunjukkan bahwa asam askorbat dapat mempertahankan kualitas secara keseluruhan selama 14 hari pada 0°C dan 7 hari pada 5°C. Tidak ada perbedaan *browning* antara perlakuan dan sampel pada ke dua temperatur. Kalsium klorida mempertahankan kualitas selama 14 hari pada ke dua temperatur. Asam sitrat (1% v/v) dapat mempertahankan warna dan kualitas kol segar, menurunkan browning dan melindungi kol dari pembentukan bintik-bintik hitam. Selanjutnya, kombinasi asam sitrat dengan temperatur rendah memperpanjang umur kol menjadi 22 hari.

Menurut Javdani, *et.,al* (2013), membandingkan efektivitas perlakuan air panas (50°C) dan asam askorbat (1% v/v) terhadap kontrol browning enzimatis dalam buah apel segar. Hasil penelitian menunjukkan kedua perlakuan dapat mengurangi browning, walaupun perlakuan asam askorbat lebih efektif. Kedua perlakuan menunjukkan efek penghambatan terhadap enzim PPO dan enzim POD yang berkaitan dengan enzimatis browning pada buah, perlakuan air panas lebih efektif dari asam askorbat dalam menekan enzim monofenolase.

Studi untuk mengevaluasi potensi asam sitrat dan asam askorbat sebagai bahan anti *browning* juga telah dilakukan oleh (Abbasi, *et.,al* 2013), pada buah loquat. Pada konsentrasi yang lebih tinggi (700 mg/l) pada asam askorbat lebih efektif dalam mempertahankan kualitas buah dari pada asam sitrat dan mengurangi *browning*. Selanjutnya, efek asam askorbat, asam sitrat, dan kalsium klorida terhadap warna dan kualitas organolitik kol potong segar pada konsentrasi oksigen yang rendah (1,5%) dan konsentrasi CO₂ yang tinggi (17%). Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan asam sitrat mendapatkan hasil terbaik dalam hal warna dan kualitas visual. Kombinasi temperatur rendah dengan *modified atmosphere packaging* (MAP) dan perlakuan asam sitrat dapat memperpanjang umur kol menjadi 22 hari.

F. Asam sitrat

Penggunaan utama asam sitrat saat ini adalah sebagai zat pemberi cita rasadan pengawet makanan dan minuman, terutama minuman ringan. Kode asam sitrat sebagai zat aditif makanan (E number) adalah E330. Asam sitrat digunakan untuk memulihkan bahan penukar ion yang digunakan pada alat penghilang kesadahan dengan menghilangkan ion-ion logam yang terakumulasi pada bahan penukar ion tersebut sebagai kompleks sitrat. Asam sitrat dapat pula ditambahkan pada es krim untuk menjaga terpisahnya gelembung-gelembung lemak, dan dalam resep makanan asam sitrat dapat digunakan sebagai pengganti sari jeruk. Asam sitrat dikategorikan aman digunakan pada makanan oleh semua badan pengawasan makanan nasional dan internasional utama (Wikipedia, 2008).

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 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. dengan turunnya pH maka kemungkinan mikroba berbahaya yang tumbuh semakin kecil. pH yang rendah juga akan mendisosiasi sulfit dan benzoat menjadi molekul.

G. Hipotesis

Perlakuan pemberian L-arginin 8 g/L pada suhu 5°C lebih efektif dalam menghambat *browning* pada *fresh-cut* apel Manalagi (*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 smith*.