

I. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian dilaksanakan selama 12 hari yang dilakukan antara tanggal 5 – 15 Juli 2018. Buah apel yang dijadikan obyek penelitian ini merupakan buah apel dengan varietas Manalagi yang didatangkan langsung dari daerah Kota Batu, Malang sebagai sentra apel. Kriteria buah apel Manalagi yang digunakan dalam penelitian yaitu buah yang ukurannya seragam, bebas penyakit, bersih, tidak terdapat cacat dan luka di penampakannya. Pengangkutan dari kota Batu ke Yogyakarta menggunakan mobil dengan estimasi waktu 8 – 9 jam. Pengemasan dilakukan dengan membungkus pada kotak kardus yang telah dilapisi dengan sobekan kertas koran untuk meminimalisir kerusakan fisik akibat gesekan dan guncangan antar buah apel. Adapun penelitian ini ditujukan untuk mengetahui kondisi secara fisiologis kemudian ditinjau secara kimiawi pada aktivitas *browning fresh-cut* Apel Manalagi yang telah diberi perlakuan. Pengamatan dari penelitian ini meliputi parameter uji warna, total fenol, enzim Polifenol Oksidase (PPO), dan enzim Peroksidase (POD). Penyimpanan apel dilakukan selama 12 hari dengan 5 kali pengamatan yaitu pada hari ke-0, ke-3, ke-6, ke-9 dan ke-12.

A. Uji Warna

Pengujian warna merupakan salah satu indikator fisik yang berkaitan tingkat kesukaan dan persepsi subyektif mengenai kualitas suatu produk. Uji warna juga dapat digunakan sebagai interpretasi hasil pencoklatan enzimatik yang sebelumnya telah dikuantifikasi melalui indeks biokimia (Hosoda *et al.*, 2005). Indikator warna pada makanan biasanya diukur dalam L (*Ligness*)*a*b* sebagai

referensi warna yang paling banyak digunakan, karena memiliki distribusi warna yang seragam dan mendekati dengan persepsi warna manusia (Yam *et al.* 2004). Perhitungan berdasarkan L^*a^*b menghasilkan nilai *Hue* atau kombinasi dari warna merah (*Red*), hijau (*Green*), biru (*Blue*) (RGB).

Perhitungan uji warna bergantung pada keadaan obyek buah atau sayuran yang diperiksa. Obyek dengan presentase warna (*hue*) yang rendah menunjukkan warna yang semakin gelap, demikian pula sebaliknya obyek dengan presentase warna yang tinggi menunjukkan warna yang semakin terang. Semakin gelap/terang permukaan buah atau sayur bergantung pada reaksi pencoklatan enzimatis yang terjadi. Pencoklatan diawali dengan oksidasi enzimatis monofenol menjadi o-difenol dan kemudian o-difenol menjadi kuionon, yang selanjutnya akan mengalami polimerisasi non-enzimatis sehingga terbentuk pigmen berwarna coklat/melanin (Jiang, 2004). Berdasarkan hasil rerata sidik ragam (tabel 2), pengujian warna pada *fresh-cut* apel Manalagi menunjukkan adanya interaksi antar perlakuan *edible coating* CMC dengan berbagai variasi minyak atsiri pada hari ke-0, ke-3 dan ke-9 pengamatan (lampiran 3.A).

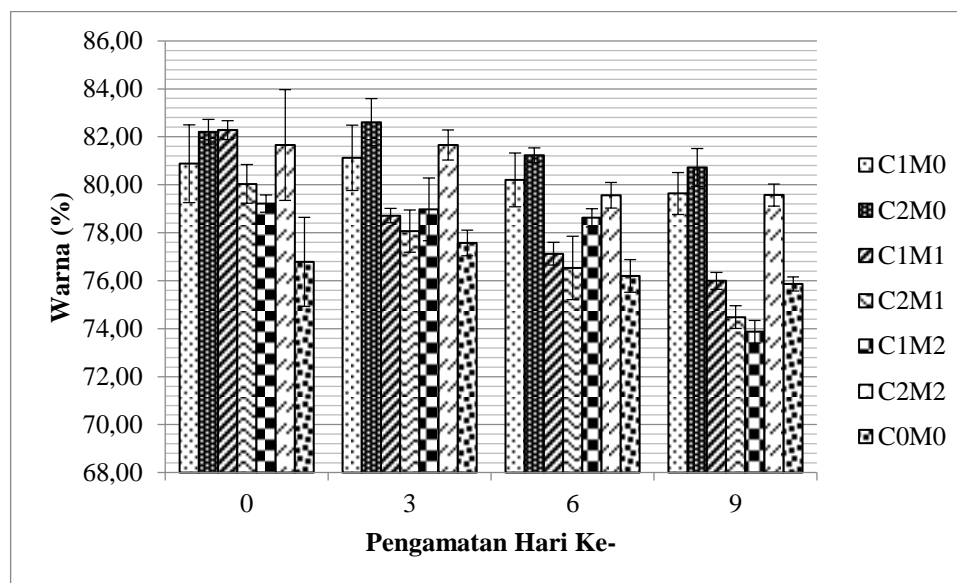
Tabel 1. Rerata harian hasil pengujian warna (%)

Hari	Perlakuan	M0	M1	M2	Rerata
H0	CMC 1%	80,8782ab	82,2809a	79,2106bc	80,7899
	CMC 1,5%	82,2098a	80,0355ab	81,6590a	81,3014
Rerata		80,1315	81,1582	80,4348	(+)
Perlakuan		M0			
C0		77,3063b			
H3	CMC 1%	81,1283a	78,7124b	78,9749b	79,6052
	CMC 1,5%	82,6109a	78,0702b	81,6530a	80,7781
Rerata		80,4370	78,3913	80,3140	(+)
Perlakuan		M0			
C0		77,5717c			
H6	CMC 1%	80,2039	77,1263	79,6257	78,6520a
	CMC 1,5%	81,2304	76,5348	79,5628	79,1094a

Rerata		79,2109a	76,8306b	79,0943a	(-)
Perlakuan		M0			
C0		76,1983			
H9	CMC 1%	81,0067a	75,9936c	73,8714d	76,9572
	CMC 1,5%	81,6651a	74,4798d	79,5700b	78,5716
Rerata		79,5128	75,2367	76,7207	(+)
Perlakuan		M0			
C0		75,8667			

Keterangan : angka rerata yang diikuti oleh huruf yang sama dalam satu kolom menunjukkan tidak ada beda nyata berdasarkan hasil DMRT pada taraf 5%. C0 : Tanpa pelapis; M0 : Tanpa minyak atsiri; M1 : Minyak atsiri daun sirih 0,1%; M2 : Minyak atsiri lemon 2%.

Pada hari ke-0 pengamatan, pemberian pelapis CMC 1,5%; CMC 1 % + minyak atsiri daun sirih 0,1%; dan CMC 1,5% + minyak atsiri lemon 2% menunjukkan hasil warna *fresh-cut* apel manalagi yang berbeda nyata dengan perlakuan tanpa pelapisan (kontrol). Pengamatan hari ke-3 terdapat beda nyata antara perlakuan berbagai konsentrasi CMC + variasi minyak atsiri dengan perlakuan kontrol. Selain itu terdapat beda nyata hasil uji warna antara pelapis CMC + minyak atsiri daun sirih 0,1% dengan CMC 1,5% + minyak atsiri lemon 2% dan pelapis CMC saja. Pada pengamatan warna terakhir (hari ke-9) perlakuan pelapis CMC saja (tanpa minyak atsiri) menghasilkan warna buah potong apel Manalagi yang berbeda nyata dibandingkan perlakuan dengan tambahan minyak atsiri (Tabel 2). Berdasarkan hasil rerata pengujian warna pada *fresh-cut* apel Manalagi selama 9 hari pengamatan, pelapisan dengan CMC 1,5% (tanpa minyak atsiri) merupakan perlakuan terbaik dalam memberikan presentase kecerahan (warna) yang tinggi. Pemberian CMC 1,5% diduga mampu memberikan sifat fisik yang baik untuk membatasi oksigen sebagai katalisator reaksi pencoklatan enzimatis, sehingga menghasilkan tingkat *browning* yang rendah. Adapun dinamika tersebut tersaji pada gambar 1 berikut.



Gambar 1. Histogram uji warna pada *fresh-cut* apel Manalagi selama 12 hari pengamatan.

C1M0 : CMC 1% + minyak atsiri 0%

C2M0 : CMC 1,5% + minyak atsiri 0%

C1M1 : CMC 1% + minyak atsiri daun sirih 0,1%

C2M1 : CMC 1,5% + minyak atsiri daun sirih 0,1%

C1M2 : CMC 1% + minyak atsiri lemon 2%

C2M2 : CMC 1,5% + minyak atsiri lemon 2%

C0M0 : Tanpa CMC & minyak atsiri (kontrol)

Berdasarkan histogram yang disajikan pada gambar 1, menunjukkan dinamika perubahan warna selama 9 hari pengamatan. Perubahan warna pada buah potong segar apel manalagi mengalami perubahan dari kuning keputihan sampai menjadi merah dan kecoklatan. Hal tersebut ditandai dengan menurunnya persentase warna (*hue*) selama penyimpanan pada keseluruhan perlakuan. Perlakuan kontrol menghasilkan warna tergelap pada hari ke-0, 3, dan 6, sedangkan perlakuan CMC 1,5% (tanpa minyak atsiri) menghasilkan warna buah yang paling terang, disusul perlakuan CMC 1% dan CMC 1,5% + minyak atsiri lemon 2%. Warna buah yang paling gelap pada perlakuan tanpa pelapis disebabkan oleh adanya reaksi pencoklatan enzimatis yang terjadi pada buah potong apel Manalagi.

Pemberian CMC 1,5% (tanpa minyak atsiri) memberikan presentase warna yang paling tinggi pada seluruh rentang hari pengamatan. Pelapis CMC 1,5% diduga mampu memberikan sifat fisik yang baik terkait dengan penghambatan *browning*. Adapun sifat fisik tersebut berupa penghambatan laju uap air untuk keluar ataupun udara dari luar untuk masuk sehingga katalisasi oleh oksigen terhadap enzim fenolase pada reaksi pencoklatan enzimatis dapat diminimalkan selama 9 hari pengamatan. Selain itu, menurut Aristyan (2017), CMC 1,5% mampu memberikan perlindungan dari gangguan mekanis baik berupa nilai kekuatan tarik (*tensile strenght*) dan pemanjangan (*elongation*) yang baik sehingga dampak pelapis tidak mudah sobek akibat goncangan maupun benturan. Jika dilihat berdasarkan pengamatan parameter total fenol pada pelapis CMC 1,5%, juga memberikan kadar fenol yang relatif rendah dibanding dengan perlakuan kontrol. Oleh karenanya selain secara visual lebih baik, fisiologi *fresh-cut* apel Manalagi terhadap pencoklatan enzimatis akibat oksidasi fenol oleh enzim PPO & POD dapat diminimalkan.

Perlakuan CMC 1,5% tanpa minyak atsiri menjadi perlakuan terbaik dalam memberikan presentase warna yang paling tinggi dibanding perlakuan pelapis lainnya. Selain memberikan sifat fisik yang baik, tidak adanya penambahan minyak atsiri baik daun sirih maupun lemon juga menjadikan perlakuan tersebut tidak memungkinkan terjadinya reaksi hidrolisa antara air dan kandungan ester dari fenol minyak atsiri (daun sirih dan lemon). Ester selanjutnya akan terhidrolisa secara sempurna dengan adanya air dan kondisi asam sebagai katalisator. Penambahan minyak atsiri menjadikan kondisi semakin asam

sehingga mendukung terjadinya perubahan warna menjadi lebih gelap dibanding perlakuan CMC tanpa minyak atsiri.

Pada hari ke-9 perlakuan (CMC 1% dan CMC 1,5%) + minyak atsiri daun sirih 0,1% menghasilkan persentase warna lebih rendah dibanding perlakuan pelapis lainnya dan tanpa pelapis. Hal tersebut diduga karena pengaruh kandungan fenol pada minyak atsiri yang menyebabkan daging buah berubah warna menjadi merah kecoklatan. Selain itu, kandungan total fenol yang tinggi di rentang hari pengamatan (gambar 2) juga berdampak pada menurunnya kecerahan daging *fresh-cut* apel Manalagi. Senyawa fenol tersebut memungkinkan proses hidrolisa akibat adanya kontak langsung ester dengan air. Kataren *dalam* Nugraheni (2017) menyatakan sirih diketahui mengandung senyawa ester dari asam *benzoate*. Warna merah kecoklatan pada permukaan *fresh-cut* apel Manalagi bermula dari reaksi hidrolisa akibat terjadi kontak langsung dengan air yang ada pada dinding sel *fresh-cut* serta didukung dengan kondisi minyak atsiri daun sirih yang cenderung asam.

Penambahan minyak atsiri daun sirih dapat menyebabkan turunnya kualitas tampilan visual dari warna buah potong apel Manalagi. Hal tersebut tercermin dari penelitian Shodiq (2017), berdasarkan uji organoleptik (sub-parameter warna) oleh panelis, *edible coating* CMC dikombinasikan minyak atsiri daun sirih pada *fresh-cut* apel Manalagi menghasilkan rata-rata skor terendah dibanding perlakuan lainnya. Rendahnya tingkat kesukaan berdasarkan skor tersebut disebabkan perubahan warna menjadi merah gelap kecoklatan pada daging buah apel Manalagi.

Berdasarkan persentase warna yang rendah pada perlakuan kontrol *fresh-cut* apel Manalagi menunjukkan tingginya aktivitas *browning* yang terjadi pada hari ke-0 sampai hari ke-6 pengamatan. Hal tersebut disebabkan oleh tidak adanya pelapis CMC dan minyak atsiri yang melindungi permukaan buah dari paparan langsung dengan udara. Selain itu juga didukung oleh cukup tingginya kandungan fenol berdasarkan parameter total fenol (Gambar 1). Nilai total fenol yang tinggi berpotensi meningkatkan aktivitas *browning* yang ditandai dengan rendahnya tingkat kecerahan daging buah potong apel Manalagi. Komponen fenolik berperan sebagai substrat dari aktivitas enzim PPO dan POD penyebab reaksi pencoklatan yang kemudian dikatalisis oleh kehadiran oksigen akibat tidak adanya *barrier* yang melindungi daging buah.

Faktor terpenting secara fisiologis dalam penurunan presentase warna apel Manalagi disebabkan oleh reaksi pencoklatan enzimatik yang dipengaruhi konsentrasi total fenol yang berperan sebagai substrat reaksi dan aktivitas enzim oksidoreduktase (polifenol oksidase/PPO dan peroksidase/POD) dalam mengoksidasi komponen fenolik. Adanya proses pengolahan minimal berupa pemotongan pada apel Manalagi menyebabkan pecahnya dinding sel buah sehingga terjadi kontak langsung antara enzim PPO yang berada dalam sitosol dan substrat fenol pada vakuola. Selanjutnya dengan adanya paparan oksigen pada permukaan buah berperan sebagai co-substrat untuk membantu katalisis aktivitas enzim PPO & POD dalam mengoksidasi fenol. Adanya pelukaan berupa pengupasan dan pemotongan memacu PPO untuk melangsungkan reaksi hidroksilasi monofenol dan oksidasi *o-diphenol* menjadi *o-quinon* yang diikuti

dengan polimerisasi non-enzimatik quionon yang menghasilkan melanin pigmen dengan warna gelap (Queiroz, 2008). Konsentrasi fenol yang tinggi dalam buah berpotensi meningkatkan aktivitas *browning* yang selanjutnya dapat menurunkan nilai kecerahannya apabila terjadi kerusakan sel. Namun, hal tersebut juga bergantung terhadap aktivitas enzim pengoksidasi substrat fenol yang dapat dipengaruhi oleh ketersediaan oksigen, spesifisitas substrat fenolik, pH, dan temperatur (Martinez dan Whitaker, 1995).

Selain disebabkan oleh aktivitas PPO dalam mengoksidasi fenol, penurunan presentase warna juga dipicu oleh enzim POD yang juga mampu memproduksi komponen melanin berwarna coklat. Aktivitas kedua enzim oksidoreduktase tersebut saling bersinergi untuk mereduksi kualitas buah setelah pemanenan. Ketika terjadi pelukaan enzim PPO mengoksidasi fenol menjadi kuinon maka pada saat yang sama juga menghasilkan H_2O_2 sebagai co-substrat enzim POD untuk bereaksi dengan substrat fenol yang lain sehingga keduanya berkesinambungan dalam mendukung terjadinya *enzymatic browning*.

B. Total Fenol

Senyawa fenolik secara kimiawi merupakan kelompok besar metabolit sekunder tanaman dengan rantai kimia setidaknya satu cincin aromatik (C₆) yang mengandung satu atau lebih gugus hidroksil (-OH). Komponen fenol pada tanaman diklasifikasikan berdasarkan jumlah dan kerangka atom penyusun struktur, mulai dari fenol sederhana, asam fenolik (hidroksibenzoat dan hidroksisinamat), flavonoid sampai dengan tanin terkondensasi. Keseluruhan

fenolik pada tanaman merupakan turunan dari fenilalanin maupun pembagian karbon C6-C3 dari fenilpropanoid (Gopinadhan, 2008).

Kandungan fenol dalam buah apel bervariasi dan tidak konstan, bergantung terhadap jenis varietas, tingkat kematangan buah, teknik budidaya, pemanenan, penyimpanan, ada tidaknya infeksi dalam buah serta bagian organ buah yang diambil sebagai sampel (Lata *et al.*, 2009). Senyawa fenol biasanya terdapat dalam bentuk glikosida atau ter-esterifikasi dengan asam karboksilat serta terikat pada asam lemak, sterol dan dinding sel (Kalinowska *et al.*, 2014). Adapun kaitannya dengan pencoklatan enzimatik, di antara senyawa fenolik pada buah apel, kandungan katekin dan asam klorogenat merupakan substrat dengan afinitas yang besar terhadap aktivitas enzim PPO. Penelitian pada 11 varietas apel, menyatakan katekin dan asam klorogenat merupakan senyawa fenolik dengan tingkat degradasi paling tinggi sebagai hasil pencoklatan enzimatik (Amiot *et al.*, 1992). Total fenol diamati setiap 3 hari sekali selama 12 hari penyimpanan. Adapun hasil rerata tiap pengamatan dapat dilihat pada tabel 3, di mana terdapat interaksi antar perlakuan berbagai konsentrasi CMC dengan minyak atsiri daun sirih dan minyak atsiri lemon pada seluruh hari ke-0, ke-3, ke-9 dan ke-12.

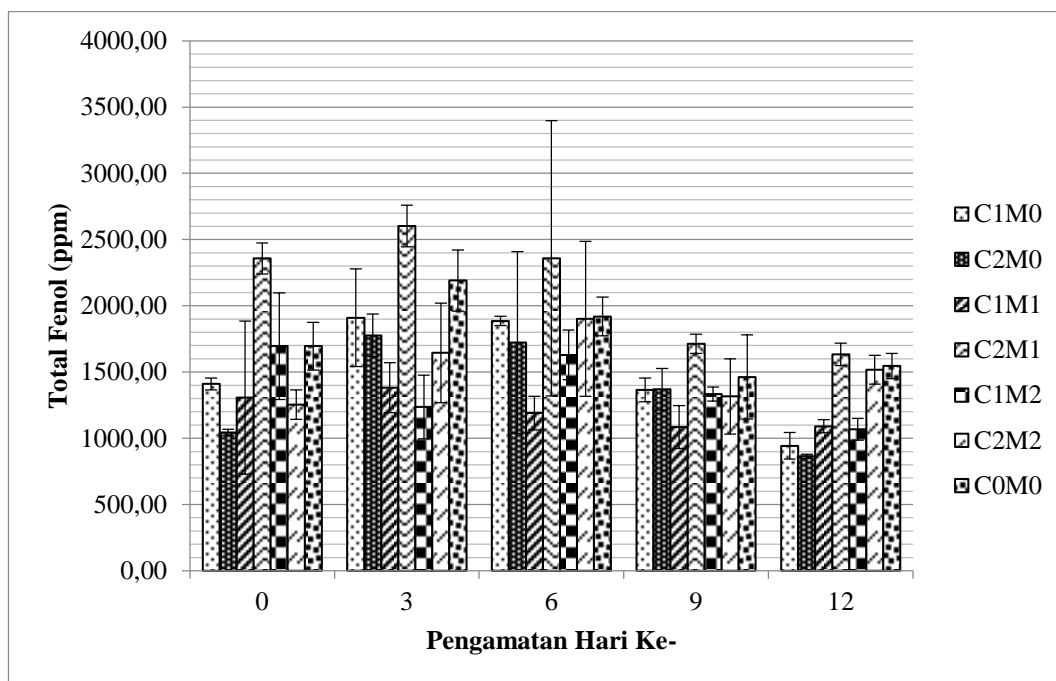
Tabel 2. Rerata harian hasil pengujian total fenol (ppm)

Hari	Perlakuan	M0	M1	M2	Rerata
H0	CMC 1%	1410.1bc	2357.5a	1695.2b	1470.8
	CMC 1,5%	1043.9c	2357.5a	1254.4bc	1551.9
	Rerata	1383.8	1832.2	1474.8	(+)
	Perlakuan	M0			
	C0	1697.4b			1697.4
H3	CMC 1%	1910.1bc	1381.6de	1236.8e	1509,1
	CMC 1,5%	1776.3bcd	2603.1a	1644.7cde	2008,0
	Rerata	1959.1	1992.3	1440.8	(+)
	Perlakuan	M0			

	C0	2190.8ab			2190.8
H6	CMC 1%	1886.0	1190.8	1629.4	1568,7a
	CMC 1,5%	1723.7	2358.7	1901.3	1994,6a
	Rerata	1842.8a	1774.7a	1765.3a	(-)
	Perlakuan	M0			
	C0	1886,0			1918.9a
H9	CMC 1%	1366.2abc	1085.5c	1333.3bc	1261.7
	CMC 1,5%	1370.6abc	1712.7a	1315.8bc	1466.4
	Rerata	1399.9	1399.1	1324.6	(+)
	Perlakuan	M0			
	C0	1366,2a			1462.7
H12	CMC 1%	942.98bc	1089.91b	1067.98b	1033,63
	CMC 1,5%	864.03c	1633.77a	1517.54a	1338,45
	Rerata	1117.69	1361.84	1292.76	(+)
	Perlakuan	M0			
	C0	1546.05a			1546.05

Keterangan : angka rerata yang diikuti oleh huruf yang sama dalam satu kolom menunjukkan tidak ada beda nyata berdasarkan hasil DMRT pada taraf 5%. C0 : Tanpa pelapis, M0 : Tanpa minyak atsiri; M1 : Minyak atsiri daun sirih 0,1%; M2 : Minyak atsiri lemon 2%.

Hasil rerata sidik ragam pada tabel 3 menunjukkan kandungan fenol tertinggi terdapat pada perlakuan CMC 1,5% + minyak atsiri daun sirih 0,1%. Sedangkan kandungan fenol yang relatif lebih rendah terdapat pada perlakuan kedua konsentrasi CMC dengan kombinasi minyak atsiri lemon 2% dibanding perlakuan lainnya. Pada hari ke-6 *anova* menunjukkan tidak adanya interaksi antar pemberian perlakuan CMC dan minyak atsiri. Interaksi menunjukkan sinergi kedua masing-masing perlakuan baik CMC dan minyak atsiri dalam mereduksi tingkat *browning*. Sementara itu, dinamika kandungan total fenol tiap pengamatan dapat dilihat pada histogram Gambar 2.



Gambar 2. Histogram kandungan total fenol pada *fresh-cut* apel Manalagi selama 12 hari pengamatan.

- C1M0 : CMC 1% + minyak atsiri 0%
- C2M0 : CMC 1,5% + minyak atsiri 0%
- C1M1 : CMC 1% + minyak atsiri daun sirih 0,1%
- C2M1 : CMC 1,5% + minyak atsiri daun sirih 0,1%
- C1M2 : CMC 1% + minyak atsiri lemon 2 %
- C2M2 : CMC 1,5% + minyak atsiri lemon 2%
- C0M0 : Tanpa CMC & minyak atsiri (kontrol)

Histogram pada gambar 2 menunjukkan bahwa kandungan total fenol pada *fresh-cut* apel Manalagi di berbagai variasi perlakuan menunjukkan fluktuasi selama penyimpanan. Tingkat kematangan buah yang berbeda diduga menjadi penyebab perbedaan fenol yang terkandung. Pada buah yang belum masak memiliki kandungan NO (*nitrit oxide*) 10 – 40 kali lipat lebih tinggi dibanding buah yang telah masak di mana NO tersebut dapat bersifat *anti-senescent* untuk menghambat metabolisme sel dalam memproduksi etilen dan fenol (Leshem, 2000; Ana, 2017).

Hampir keseluruhan perlakuan menunjukkan konsentrasi total fenol mencapai puncaknya pada hari ke-3 pengamatan yang kemudian diikuti

penurunan pada hari pengamatan selanjutnya, kecuali pada perlakuan pelapis CMC 1% dan 1,5% dengan penambahan minyak atsiri lemon 2% (C1M2 & C2M2). Puncak peningkatan total fenol pada hari ke-3 berkaitan dengan adanya enzim *phenylalanine-ammonia lyase* (PAL) yang juga meningkat akibat adanya pelukaan. Hal tersebut didukung oleh penelitian apel varietas Jonagored teolah minimal yang menunjukkan peningkatan signifikan kandungan total fenol pada hari ke-3 yang diikuti dengan penurunan pada pengamatan selanjutnya (Rocha and Morais, 1995). Fenomena total fenol mencapai puncaknya dan kemudian menurun di hari berikutnya terjadi setelah sebelumnya enzim PAL mencapai puncaknya, akibat adanya pelukaan. Total fenol tidak secara paralel meningkat bersamaan dengan enzim PAL, melainkan terdapat jeda waktu total fenol mencapai puncaknya (Kubo *et al.*, 1988).

Penambahan minyak atsiri lemon 2% pada perlakuan pelapis CMC 1% dan 1,5% (C1M2 & C2M2) menunjukkan puncak konsentrasi total fenol dicapai pada hari ke-6 atau lebih lambat dibanding perlakuan yang lain pada hari ke-3 pengamatan. Hal tersebut diduga disebabkan oleh enzim PAL akibat pelukaan pada proses pemotongan *fresh-cut* apel Manalagi mampu dihambat aktivitasnya, sehingga dengan demikian jalur fenilpropanoid untuk memproduksi fenol mampu ditekan lebih lambat untuk mencapai puncaknya. Selain itu, kandungan asam sitrat dalam minyak atsiri lemon mampu berperan sebagai antioksidan untuk meringankan stress oksidatif (pelukaan) selama penyimpanan buah potong apel Manalagi, yang demikian dapat memperpanjang umur simpan buah. Minyak atsiri lemon diketahui mengandung komponen fenol, flavonoid, karotenoid, asam

askorbat dan gula pereduksi yang cukup tinggi. Studi pada sayur dan buah-buahan, kandungan fenol dan flavonoid tersebut berkorelasi dengan aktivitas antioksidan. Komponen fenol tersebut sering dihubungkan dengan aktivitas antioksidan berdasarkan kemampuannya sebagai sebagai pereduksi, penangkap radikal bebas, pengkhelat logam peredam terbentuknya oksigen serta pendonor elektron (Karadeniz *et al.*, 2005 dalam Zaky, 2018).

Perlakuan CMC 1,5 + minyak atsiri lemon 2%, menunjukkan peningkatan senyawa fenol di pengamatan hari ke-12. Hal tersebut diduga disebabkan oleh adanya pengaruh penambahan minyak atsiri lemon yang mengandung antioksidan berupa senyawa fenolik (flavonoid dan asam fenolik). Oleh karenanya, secara tidak langsung dengan adanya penambahan minyak atsiri lemon berpotensi meningkatkan total fenol pada *fresh-cut* apel Manalagi (Guimaraes *et al.*, 2009). Minyak atsiri lemon yang dikombinasikan dengan CMC dinilai dapat memberikan beberapa manfaat terhadap buah potong apel Manalagi di antaranya mempertahankan nilai gizi komoditas, sebagai *carrier* senyawa antimikroba dan antioksidan serta berdasarkan pengujian warna mampu menahan penurunan kualitas visual (warna) pada buah apel Manalagi.

Pelapisan CMC 1,5% + minyak atsiri daun sirih 0,1% menunjukkan kandungan fenol tertinggi selama penyimpanan (Gambar 2). Hal tersebut diduga karena terdapat kandungan fenolik dan turunannya yang cukup tinggi pada minyak atsiri daun sirih sehingga berdampak pada kandungan fenol yang tinggi pada *fresh-cut* apel Manalagi. Minyak atsiri daun sirih diketahui mengandung senyawa fenolik 30% (*betlephenol*) dan beberapa derivatnya di antaranya,

euganol, kavikol, karvakrol sineol, salinen, terpen, triterpenoid, steroid, fenilpropan, flavonoid, dan tannin (Darwis, 1992; Sostroamidjojo, 2001). Hal tersebut didukung dengan tingginya konsentrasi CMC 1,5% yang mana dapat mengemulsi dan melarutkan minyak atsiri dengan baik. Oleh karenanya jika dibandingkan dengan perlakuan konsentrasi CMC 1% + minyak atsiri 0,1%, pelapisan dengan konsentrasi CMC 1,5 % + minyak atsiri 0,1% memiliki kandungan fenol yang lebih tinggi.

Kandungan fenol pada buah apel potong segar tanpa pelapis (kontrol) menunjukkan nilai yang lebih tinggi dibanding dengan perlakuan pelapis CMC + minyak atsiri lemon 2% dan pelapis CMC saja, namun lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan CMC + minyak atsiri sirih 0,1%. Hal tersebut terkait dengan adanya pembentukan senyawa fenolik yang cepat sebagai bentuk respon pertahanan dari *fresh cut* apel Manalagi tanpa pelapis (kontrol). Fenol tersebut selanjutnya akan menghasilkan derajat *browning* yang tinggi dengan kehadiran oksigen sebagai katalisator perubahan fenol menjadi kuinon. Hal tersebut berkorelasi dengan ketiadaan *barrier* pada perlakuan kontrol yang membatasi paparan oksigen di udara dengan daging buah apel. Oktariani (2017) juga menyatakan aktivitas enzim PPO sangat bergantung dengan konsentrasi oksigen yang mana akan mengubah senyawa phenol menjadi melanin berwarna coklat.

C. Enzim Polifenol Oksidase (PPO)

Pencoklatan enzimatik muncul ketika enzim Polifenol Oksidase (PPO) yang terletak di kloroplas tanaman mengalami kerusakan dinding pembatas (kompartemen) akibat adanya penuaan (*senescence*), pelukaan maupun adanya serangan hama dan patogen ketika proses penanganan pascapanen dan penyimpanan (Mayer, 2006). Enzim Polifenol Oksidase merupakan kelompok enzim dengan kandungan tembaga (Cu) yang mana dapat mengkatalisis oksidasi fenol menjadi o-quinon. Molekul reaktif o-quinon mengalami reaksi non-enzimatis yang selanjutnya membentuk kompleks polimer warna coklat (melanin). Selain berdampak pada perubahan warna, juga terjadi penurunan antioksidan, organoleptik, dan nutrisi yang terkandung akibat kondensasi quinon dengan komponen yang lain di antaranya asam amino, protein, fenol dan gula (Queiroz *et al.*, 2008). Pengujian enzim PPO pada *fresh-cut* apel malalagi dilakukan setiap 3 hari sekali selama 12 hari pengamatan. Adapun hasil rerata tiap pengamatan menunjukkan adanya interaksi antar perlakuan *edible coating* CMC dengan berbagai variasi minyak atsiri pada hari ke-0, ke-3, ke-9 dan ke-12 pengamatan tersaji pada tabel 4 berikut.

Tabel 3. Rerata harian hasil pengujian enzim PPO (unit/menit)

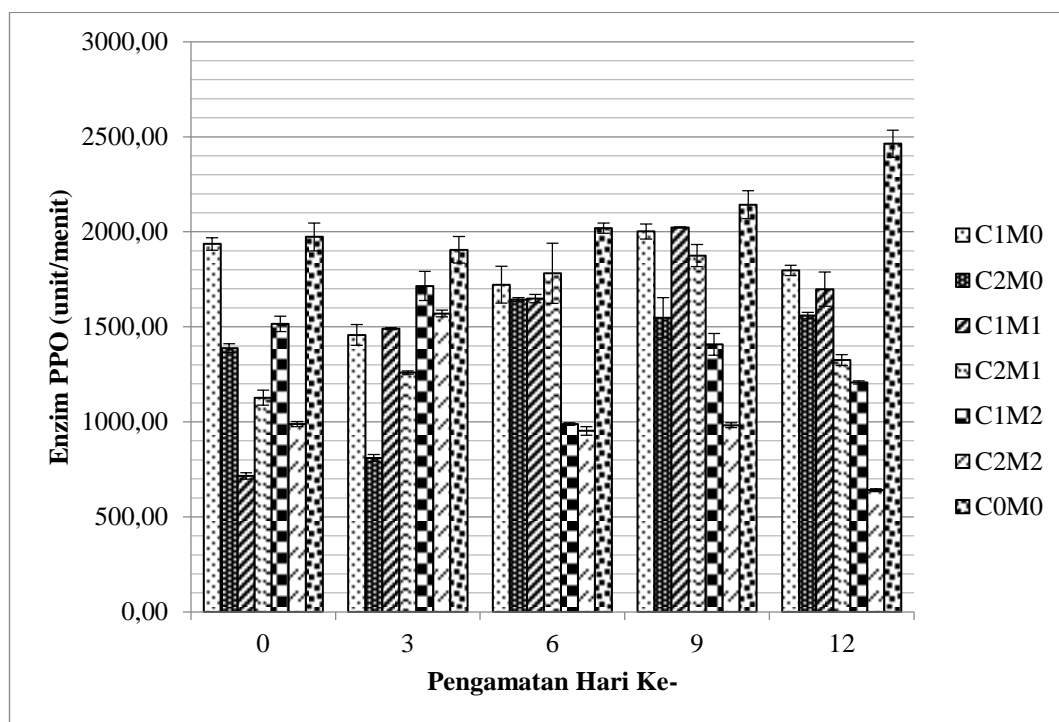
Hari	Perlakuan	M0	M1	M2	Rerata
H0	CMC 1%	1936a	715f	1515,3b	1388,78
	CMC 1,5%	1388c	1127d	988,3e	1167,78
Rerata		1765,67	921	1251,83	(+)
Perlakuan		M0			
C0		1973a			
H3	CMC 1%	1457,33d	1490d	1715b	1554,11
	CMC 1,5%	809,33f	1259,67e	1570c	1213,00
Rerata		1390,67	1374,83	1642,50	(+)
Perlakuan		M0			
C0		1905,33a			
H6	CMC 1%	1721,67	1648,67	988,33	1452,89b
	CMC 1,5%	1643,33	1781,67	952,67	1459,22b

	Rerata	1794,89a	1715,17a	970,50b	(-)
	Perlakuan	M0			
	C0	2019,67			
H9	CMC 1%	2001,67b	2023,33b	1407,67e	1810,89
	CMC 1,5%	1547,33d	1875c	982,33f	1468,22
	Rerata	1897,11	1949,17	1195	(+)
	Perlakuan	M0			
	C0	2142,33a			
H12	CMC 1%	1796,67b	1697,67c	1206,67f	1567,00
	CMC 1,5%	1559,33d	1325e	641g	1175,11
	Rerata	1939,78	1511,33	923,83	(+)
	Perlakuan	M0			
	C0	2463,33a			

Keterangan : angka rerata yang diikuti oleh huruf yang sama dalam satu kolom menunjukkan tidak ada beda nyata berdasarkan hasil DMRT pada taraf 5%. C0 : Tanpa pelapis, M0 : Tanpa minyak atsiri; M1 : Minyak atsiri daun sirih 0,1%; M2 : Minyak atsiri lemon 2%.

Berdasarkan tabel 4, hasil rerata sidik ragam (lampiran 3.C) menunjukkan pengaruh antar perlakuan *edible coating* CMC dengan penambahan minyak atsiri sirih 0,1 % dan lemon 2% terhadap kandungan enzim PPO berfluktuasi pada masing-masing hari pengamatan. Namun, di keseluruhan hari pengamatan kandungan enzim PPO tertinggi terdapat pada perlakuan kontrol. Pada hari ke-0 pengamatan perlakuan CMC 1% + minyak atsiri 0,1% memiliki enzim PPO terendah disusul dengan perlakuan CMC 1,5% + minyak atsiri lemon 2%. Pada hari ke-3 pengamatan, enzim PPO terendah berturut-turut terdapat pada perlakuan CMC 1,5% tanpa minyak atsiri dan CMC 1% + minyak atsiri daun sirih 0,1%. Sementara itu, perlakuan CMC 1,5% + minyak atsiri lemon 2% mengalami kenaikan dibanding hari pengamatan sebelumnya. Barulah di hari ke-9 dan ke-12 kandungan enzim PPO terendah terdapat pada perlakuan CMC 1% + minyak atsiri lemon 2%, disusul perlakuan CMC 1,5% + minyak atsiri lemon 2% yang mengalami kenaikan. Berdasarkan tabel rerata, penambahan minyak atsiri lemon

pada CMC 1% dan 1,5% merupakan perlakuan terbaik dalam menekan aktivitas enzim PPO dibanding dengan perlakuan yang lain. Histogram kandungan enzim PPO pada *fresh-cut* apel manalagi selama 12 hari tersaji pada gambar 3.



Gambar 3. Histogram kandungan enzim PPO pada *fresh-cut* apel Manalagi selama 12 hari

- C1M0 : CMC 1% + minyak atsiri 0%
- C2M0 : CMC 1,5% + minyak atsiri 0%
- C1M1 : CMC 1% + minyak atsiri daun sirih 0,1%
- C2M1 : CMC 1,5% + minyak atsiri daun sirih 0,1%
- C1M2 : CMC 1% + minyak atsiri lemon 2 %
- C2M2 : CMC 1,5% + minyak atsiri lemon 2%
- C0M0 : Tanpa CMC & minyak atsiri (kontrol)

Berdasarkan histogram pada gambar 3, menunjukkan kandungan enzim PPO pada *fresh-cut* apel manalagi berfluktuasi di tiap perlakuan yang diujikan selama 12 hari penyimpanan. Dinamika juga menunjukkan Enzim PPO cenderung mengalami kenaikan seiring dengan umur simpan buah potong apel Manalagi. Hampir keseluruhan perlakuan *edible coating* CMC dengan penambahan berbagai jenis minyak atsiri mengalami kenaikan enzim PPO tertinggi di hari ke-9

pengamatan diikuti penurunan di hari ke-12. Dinamika tersebut diduga berkaitan dengan tingkat kematangan apel Manalagi yang digunakan. Penelitian umur simpan menunjukkan apel Manalagi mencapai puncak klimakteriknya pada hari ke-9 yang ditandai perombakan polisakarida menjadi gula sederhana sehingga zat padat terlarut menjadi meningkat (Arrum, 2017). Sama halnya dengan apel Manalagi, aktivitas enzim PPO pada pisang meningkat bersamaan dengan peningkatan laju respirasi kemudian menurun setelah fase puncak klimakteriknya (Chang & Hwang, 1990).

Khusus pada perlakuan pelapis CMC yang dikombinasikan minyak atsiri lemon (C1M2 & C2M2) secara umum menunjukkan tren penurunan selama 12 hari pengamatan. Sementara itu, pada perlakuan kontrol (tanpa pelapis) memiliki kandungan enzim PPO yang konstan mengalami kenaikan sampai pada akhir pengamatan. Hal tersebut menunjukkan bahwa perlakuan *edible coating* CMC + minyak atsiri memberikan kemampuan lebih baik dalam menghambat produksi enzim PPO dibanding dengan buah tanpa perlakuan pelapis (kontrol).

Perlakuan pelapis CMC dikombinasikan dengan minyak atsiri mampu menekan proses respirasi pada *fresh-cut* apel Manalagi di mana selanjutnya akan mempengaruhi produksi enzim PPO. Secara umum, buah dengan pelapis (*edible coating*) mampu menunda proses pematangan pada buah klimakterik dengan menciptakan atmosfer yang termodifikasi serta permeabilitas yang baik terhadap O₂, CO₂ dan produksi etilen (Romanazzi *et al.*, 2015). Aktivitas enzim PPO mengalami kenaikan seiring dengan produksi etilen yang semakin tinggi (Pesis *et al.*, 2002). Produksi etilen dipengaruhi oleh ketersediaan oksigen dan

karbondioksida sebagai penghambat. Oleh karenanya pelapis berbahan dasar polisakarida mampu berperan sebagai membran yang selektif terhadap pertukaran gas (O_2 dan CO_2), sehingga dengan sifat tersebut mampu memperpanjang umur simpan karena respirasi pada sayur dan buah yang berkurang (Krochta *et al.*, 2002). Penambahan minyak atsiri juga berdampak pada reduksi laju respirasi pada buah anggur (Sanchez-Gonzales *et al.*, 2011), apel (Rojas-Grau *et al.*, 2007) dan melon terolah minimal (Raybaudi-Massilia *et al.*, 2008). Pelapis dengan kandungan minyak atsiri memiliki sifat lipofilik sehingga mampu mereduksi difusi O_2 melalui lapisan film serta produksi CO_2 yang meningkat di dalam pelapis yang mengelilingi buah, sehingga laju respirasi dapat direduksi.

Edible coating CMC 1,5% + minyak atsiri lemon 2% merupakan perlakuan terbaik karena memiliki kadar enzim PPO terendah dibanding dengan perlakuan yang lain. Hal tersebut disebabkan pada perlakuan tersebut memiliki padatan terlarut CMC yang tinggi, sehingga menghasilkan struktur *edible coating* yang kuar karena memiliki ikatan hidrogen yang kompak (Polnaya *et al.*, 2006; Xu *et al.*, 2005). Tingginya konsentrasi CMC sebagai pelapis golongan polisakarida akan meningkatkan jumlah polimer yang mana akan memperkecil rongga gel yang terbentuk. Hal tersebut menjadikan kemampuannya semakin baik dalam menahan pertukaran O_2 dan CO_2 sehingga laju respirasi yang dapat memicu etilen dan enzim PPO dapat dihambat aktivitas dan pengaruhnya terhadap pencoklatan enzimatis pada *fresh-cut* apel Manalagi.

Penambahan minyak atsiri lemon 2% yang dilarutkan pada CMC 1,5% juga berperan sebagai inhibitor enzim PPO pada *fresh-cut* apel Manalagi. Adanya

kandungan asam sitrat yang tinggi pada minyak atsiri lemon diduga mampu berperan sebagai *acidulant* untuk menurunkan pH. Secara umum tingkat keasaman/pH lingkungan yang rendah (di bawah pH optimum) dapat menurunkan aktivitas enzim PPO. Gugus penyusun struktur enzim PPO harus berada dalam bentuk ionik yang sesuai sehingga enzim dapat aktif mengikat substrat atau mengkatalisa reaksi pencoklatan (Utama, 2017). Penghambatan aktivitas PPO oleh asam sitrat untuk menurunkan pH dapat dikaitkan dengan kemampuannya membuka konformasi struktur ionik enzim yang berakibat pada berkurangnya aktivitas katalitik enzim (Liu *et al.*, 2013). Pada tingkat keasaman di bawah 4, enzim PPO memiliki aktivitas yang minim akibat kehilangan kompleks tembaga yang dikandungnya (Suttirak *et al.*, 2010). Dampak tersebut berbeda-beda, tergantung pada sumber enzim PPO yang digunakan. Tingkat keasaman optimal enzim PPO pada buah apel bergantung terhadap jenis/varietasnya, sebagai contoh apel varietas Anna menunjukkan aktivitas optimum enzim PPO pada pH 5,4 (Trejo-Gonzales *et al.*, 1992). Sementara itu, pada Apel Hemsin aktivitas optimum enzim PPO pada pH 5,5 (Aydin *et al.*, 2015).

Aktivitas enzim PPO pada perlakuan CMC konsentrasi 1 % dan 1,5% dengan penambahan minyak atsiri daun sirih 0,1% menunjukkan dinamika aktivitas enzim PPO yang lebih rendah daripada perlakuan tanpa pelapis (kontrol) pada keseluruhan pengamatan (Gambar 3), namun lebih tinggi dibanding perlakuan CMC 1% dan 1,5% + minyak atsiri lemon 2%. Pelukaan pada *fresh-cut* apel manalagi diduga merangsang peningkatan aktivitas PPO untuk melindungi tanaman dari potensi serangan patogen. Penelitian Edreva (1989), menunjukkan

adanya peningkatan respirasi dan aktivitas enzim POD, PPO dan *lipoxygenase* pada tanaman yang terinfeksi mikroba. Kuinon yang dihasilkan PPO dan spesies oksigen reaktif/*reactive oxygen species* (ROS) dianggap memainkan peran defensif melawan bakteri. Adanya pengaruh penambahan minyak atsiri daun sirih 0,1% diduga mampu menghambat aktivitas enzim PPO dengan meminimalisir potensi bahaya akibat adanya serangan mikroba. Kandungan saponin, fenol serta derivatnya yang tinggi pada daun sirih diketahui memiliki sifat antibakteri, sehingga reaktivitas PPO dalam rangka melindungi buah dari serangan mikroba menjadi menurun aktivitasnya.

Aktivitas enzim PPO berhubungan langsung dengan tingkat kecerahan warna daging buah apel Manalagi. Semakin tinggi aktivitas PPO, maka proses oksidasi senyawa fenol juga akan meningkatkan derajat reaksi pencoklatan enzimatis. Hal tersebut juga berlaku paralel hubungannya dengan kandungan fenol yang mana semakin tinggi fenol, maka *enzymatic browning* juga berpotensi semakin tinggi terjadi pada suatu produk buah maupun sayur. Berdasarkan histogram (gambar 3), aktivitas enzim PPO perlakuan CMC 1% dan 1,5% + minyak atsiri sirih 0,1% menunjukkan fase peningkatan sampai pada hari ke-9 kemudian terjadi penurunan di akhir pengamatan. Hal tersebut diduga disebabkan oleh tingginya konsentrasi fenol pada keseluruhan rentang hari pengamatan berdasarkan gambar 2 (parameter total fenol). Seiring dengan meningkatnya aktivitas enzim PPO sampai puncaknya di hari ke-9, maka kandungan total fenol juga tereduksi sampai hari ke-9. Chisari, *et al* (2010) menyatakan secara umum, penurunan kadar komponen fenolik berkorespondensi dengan meningkatnya

aktivitas enzim PPO. Selain reduksi fenolik, keberadaan enzim PPO aktif pada jaringan tanaman dapat menyebabkan hilangnya antosianin, rasa, warna dan nutrisi serta mengakibatkan produksi kuinon (Kader *et al.*, 1998).

D. Enzim Peroksidase (POD)

Enzim peroksidase (POD) merupakan enzim yang umumnya terkandung dalam produk buah dan sayuran, di mana bertanggung jawab terhadap perubahan rasa dan warna serta kemunduran kualitas. Peroksidase mampu mengikat hidrogen peroksidase (H_2O_2) dan memproduksi suatu kompleks aktif yang dapat bereaksi dengan donor molekul secara luas. POD juga merupakan enzim yang terlibat dalam reaksi pencoklatan enzimatis yang mereduksi diphenol dan juga produksi lignin (Cai *et al.*, 2006). Aktivitas POD dibatasi dengan ketiadaan komponen elektron seperti *superoxide radicals*, hidrogen peroksida, dan lipid. Peroksidase juga memiliki hubungan dalam reaksi pencoklatan pada buah dan sayur (Gonzales-Barrio *et al.*, 2005; Spagna *et al.*, 2005). Enzim peroksidase juga telah banyak diketahui dan dipelajari kaitannya patogenesis, resistensi penyakit, dan adanya stress pada tanaman, sehingga sering disebut sebagai “*stress enzyme*” (Gaspar *et al.*, 1982).

Serupa dengan PPO, POD termasuk ke dalam kelompok enzim oksidoreduktase yang mengkatalisis perombakan hidrogen peroksida dengan kehadiran donor hidrogen. Meskipun pada tumbuhan keberadaan H_2O_2 terbatas, bersamaan dengan PPO, katalase, dan lipoksigenase mampu mereduksi kualitas fisik dan nutrisi pada komoditas hortikultura. Pengamatan enzim POD dilakukan setiap 3 hari sekali selama 12 hari pengamatan menunjukkan interaksi antar

perlakuan *edible coating* CMC dengan penambahan berbagai jenis minyak atsiri pada pengamatan hari ke-0, ke-3, ke-6, dan ke-9. Adapun hasil rerata tersaji pada tabel 5 berikut.

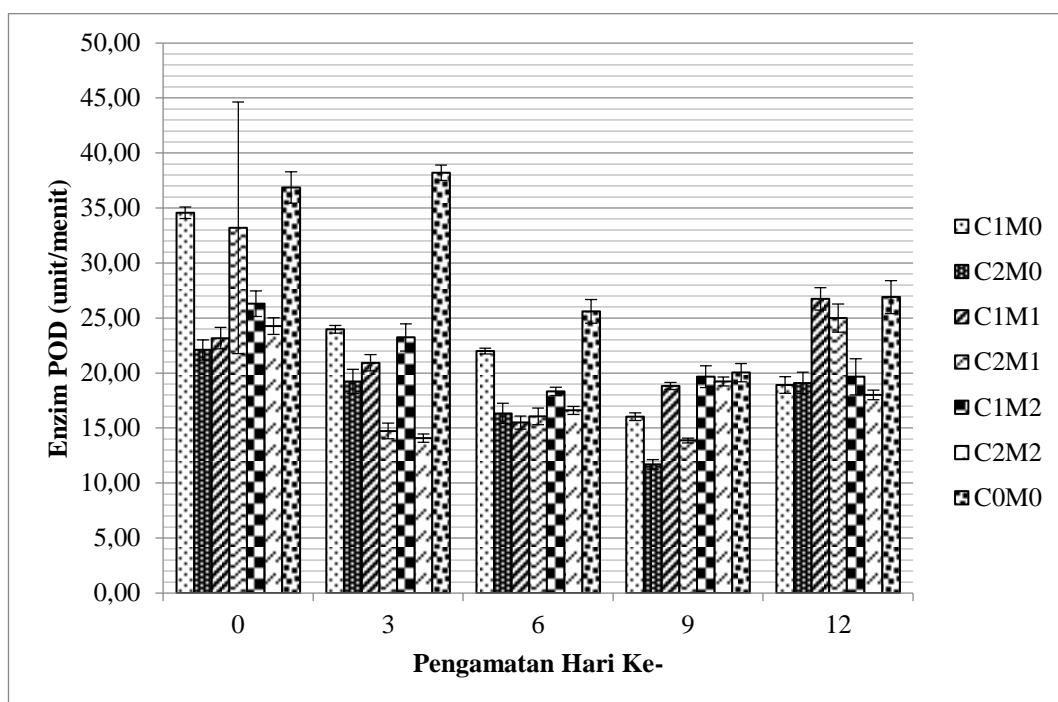
Tabel 4. Rerata harian hasil pengujian enzim POD (unit/menit)

Hari	Perlakuan	M0	M1	M2	Rerata
H0	CMC 1%	34,567a	23,167c	26,3bc	28,011
	CMC 1,5%	22,100c	33,2ab	24,267c	26,522
Rerata		31,178	28,183	25,283	(+)
Perlakuan		M0			
C0		36,867a			
H3	CMC 1%	23,967b	20,933c	23,233b	22,71
	CMC 1,5%	19,233d	14,733e	14,067e	16,01
Rerata		27,133	17,833	18,65	(+)
Perlakuan		M0			
C0		38,200a			
H6	CMC 1%	22,000b	15,500d	18,333c	18,61
	CMC 1,5%	16,333d	16,067d	16,600d	16,33
Rerata		21,311	15,783	17,466	(+)
Perlakuan		M0			
C0		25,600a			
H9	CMC 1%	16,033c	18,833b	19,667ab	18,17
	CMC 1,5%	11,700e	13,867d	19,233ab	14,93
Rerata		15,922	16,350	19,450	(+)
Perlakuan		M0			
C0		20,033a			
H12	CMC 1%	18,900	26,733	19,667	21,767b
	CMC 1,5%	19,100	25,000	18,000	21,700b
Rerata		21,633b	25,867a	18,833c	(-)
Perlakuan		M0			
C0		26,900			

Keterangan : angka rerata yang diikuti oleh huruf yang sama dalam satu kolom menunjukkan tidak ada beda nyata berdasarkan hasil DMRT pada taraf 5%. C0 : Tanpa pelapis, M0 : Tanpa minyak atsiri; M1 : Minyak atsiri daun sirih 0,1%; M2 : Minyak atsiri lemon 2%.

Berdasarkan hasil sidik ragam (lampiran 3.D) menunjukkan bahwa kandungan enzim POD tertinggi terjadi pada *fresh-cut* apel manalagi tanpa perlakuan pelapis CMC dan minyak atsiri (kontrol). Pada hari ke-0 menunjukkan

perlakuan CMC 1% (tanpa minyak atsiri) tidak signifikan berbeda dengan perlakuan kontrol. Sementara itu, rerata enzim POD terendah terjadi pada *fresh-cut* apel Manalagi perlakuan *edible coating* CMC dengan penambahan minyak atsiri sirih 0,1 % dan lemon 2%. Dinamika perubahan enzim POD selama 12 hari pengamatan dapat dilihat pada histogram di gambar 4.



Gambar 4. Histogram kandungan enzim POD pada *fresh-cut* apel Manalagi selama 12 hari pengamatan

- C1M0 : CMC 1% + minyak atsiri 0%
- C2M0 : CMC 1,5% + minyak atsiri 0%
- C1M1 : CMC 1% + minyak atsiri daun sirih 0,1%
- C2M1 : CMC 1,5% + minyak atsiri daun sirih 0,1%
- C1M2 : CMC 1% + minyak atsiri lemon 2 %
- C2M2 : CMC 1,5% + minyak atsiri lemon 2%
- C0M0 : Tanpa CMC & minyak atsiri (kontrol)

Berdasarkan histogram pada gambar 3, menunjukkan bahwa enzim POD antar perlakuan yang diujikan mengalami dinamika secara fluktuatif selama 12 hari pengamatan. Secara umum, kandungan enzim POD tertinggi seluruh perlakuan dialami pada hari ke-0 pengamatan, dilanjutkan terjadi penurunan pada

hari ke-3, kemudian peningkatan secara stabil sampai pada akhir pengamatan. Aktivitas enzim POD meningkat seiring dengan terjadinya pelukaan pada buah potong apel manalagi. Hiraga *et al.* (2001) menyatakan bahwa organ tanaman menanggapi adanya pelukaan dengan menstimulus sistem pertahanan (*self-defense*) untuk memulihkan jaringan yang rusak dan mempertahankan diri dari serangan patogen. Salah satu bentuk dari sistem pertahanan diri yaitu dengan menstimulus sintesis enzim peroksidase (POD). Enzim POD dilaporkan menunjukkan peningkatan aktivitas pada luka mekanis di berbagai tanaman seperti kentang, tomat (Roberts *et al.*, 1988), mentimun (Svalheim and Robertsen, 1990) dan lobak (Kawaoka *et al.*, 1994a).

Pada keseluruhan hari pengamatan menunjukkan aktivitas enzim POD pada buah tanpa pelapisan lebih tinggi dibandingkan dengan buah yang diberi perlakuan CMC dengan kombinasi minyak atsiri. Menurut Ball (1997), adanya paparan gas O₂ melalui cedera jaringan akibat pelukaan (*minimal processing*) pada buah tanpa pelapisan mampu meningkatkan aktivitas katalitik enzim peroksidase sehingga memacu pencoklatan enzimatis. Selain itu, adanya pelukaan dapat mempercepat proses penuaan dan pematangan pada produk sayur dan buah-buahan. Peningkatan aktivitas enzim POD pada buah terjadinya seiring proses penuaan dan pematangan terjadi (Farkas *et al.*, 1964). Hal tersebut didukung oleh penelitian Ingham *et al.* (1998) yang menyatakan bahwa pada berbagai kondisi penyimpanan, pelarutan enzim POD mencapai puncak aktivitas pada proses menuju kematangan & pelunakan apel. Parish (1968) juga menyatakan peningkatan aktivitas enzim POD merupakan salah satu indikator yang paling

dapat diandalkan untuk mengetahui tingkat kematangan dan kemunduran produk pertanian. Proses penuaan pada *fresh-cut* apel Manalagi dengan perlakuan kombinasi CMC + minyak atsiri diduga dapat dihambat sehingga pencoklatan akibat reaksi oksidatif substrat oleh enzim POD mampu diminimalkan.

Pada kombinasi *edible coating* CMC + minyak atsiri selain mampu menghambat permeabilitas gas (O_2 dan CO_2) untuk menekan terjadinya *browning* akibat turunnya aktivitas enzim POD, juga dapat bersifat hidrofobik sehingga memiliki ketahanan terhadap uap air yang baik. Hal tersebut memungkinkan proses respirasi pada buah potong apel menjadi terhambat untuk meminimalkan kemunduran dari produk tersebut. Selain itu struktur *edible coating* yang kompak mampu mengurangi laju transpirasi difusi uap air dari produk ke lingkungan luar sehingga hilangnya cadangan makanan yang berakibat pada proses pelayuan produk dapat diminimalkan (Rohmana, 2000). Penambahan minyak atsiri juga dapat mengeliminasi co-substrat oksigen sehingga mampu mencegah pencoklatan enzimatik (Mousavizadeh, 2011). Ponce *et al.* (2004) juga mengevaluasi efektivitas minyak esensial alami untuk mengurangi aktivitas peroksidase dari sayuran berdaun.

Perlakuan pelapis CMC 1,5% + minyak atsiri lemon 2% pada buah potong apel Manalagi merupakan perlakuan terbaik karena memiliki kandungan enzim POD terendah dibandingkan dengan kombinasi CMC dan minyak atsiri lainnya. Penggunaan CMC 1,5% + minyak atsiri lemon 2% selain mampu menahan pertukaran gas dan laju respirasi pada buah juga diduga mampu meminimalkan stres oksidatif akibat pelukaan. Gangguan jaringan tersebut selanjutnya

menyebabkan pencampuran enzim dan substrat yang mendasari peningkatan kegiatan pencoklatan enzimatis. Hal tersebut sejalan pada peningkatan aktivitas enzim POD akibat adanya stres oksidatif buah melon terolah minimal (Laminkra dan Watson, 2001). Peroksidase juga meningkat aktivitasnya akibat adanya infeksi dengan jamur, bakteri, dan virus. Hal tersebut didukung dengan isoenzim peroksidase yang terinduksi dengan cepat pada kadar yang tinggi pada padi yang terinfeksi *Xanthomonas oryzae* (Reimers *et al.*, 1992). Oleh karenanya, enzim peroksidase diduga mampu dihambat aktivitasnya akibat adanya penambahan minyak atsiri lemon 2% dengan menekan serangan mikroorganisme. Adanya kandungan limonen pada minyak atsiri lemon yang dikapsulasi dengan CMC 1,5% diduga memiliki sifat antijamur yang baik pada *fresh-cut* apel manalagi. Studi lain juga menyatakan minyak atsiri jeruk lemon (*Citrus limon* (L) Burm. f) mempunyai aktivitas antibakteri yang tinggi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (Chao *et al.*, 2008).

Perlakuan pelapis CMC 1% dan 1,5% yang dikombinasikan dengan minyak atsiri daun sirih 0,1% menunjukkan kadar POD yang lebih rendah dibandingkan dengan pelapis CMC (tanpa minyak atsiri) pada hari ke-0, ke-3 dan ke-9 pengamatan. Hal tersebut diduga pada *fresh-cut* apel manalagi memiliki laju respirasi dan stres akibat pelukaan & gangguan mikroba yang dapat diminimalkan. Selain itu, kandungan enzim POD pada *fresh-cut* apel manalagi dengan pelapis CMC 1% dan 1,5% + minyak atsiri daun sirih 0,1% lebih tinggi dibanding dengan perlakuan CMC 1,5% + minyak atsiri lemon 2%. Hal tersebut

terkait dengan parameter enzim PPO yang mana aktivitas PPO dihambat lebih baik pada pelapis CMC 1,5% + minyak atsiri lemon 2%.

Proses pencoklatan enzimatik yang disebabkan oleh aktivitas katabolisme enzim peroksidase (POD) tidak dapat dipisahkan dengan aktivitas enzim polifenol oksidase (PPO). Beberapa penelitian menunjukkan enzim POD mampu meningkatkan reaksi pencoklatan di samping dengan berlangsungnya reaksi *browning* yang dimediasi oleh enzim PPO (Richard-Forget dan Gauillard, 1997). Produksi kuinon oleh adanya aktivitas PPO dapat menyebabkan akumulasi H₂O₂, yang selanjutnya digunakan sebagai co-substrat enzim POD dalam mengoksidasi fenol lebih lanjut untuk mendukung pencoklatan enzimatik (Jiang dan Miles, 1993).

Berdasarkan dinamika selama 12 hari pengamatan aktivitas POD menunjukkan peningkatan enzim POD pada hari ke-0 kemudian mengalami penurunan di hari ke-3 yang diikuti dengan stabilitas dengan kecenderungan meningkat di hari berikutnya. Peningkatan pada hari ke-0 disebabkan karena buah mengalami stress oksidatif akibat pelukaan sehingga mensintesis nilai kandungan POD yang tertinggi. Buah yang awalnya utuh ketika menghadapi pengolahan minimal berupa pelukaan maka akan menstimulus sinyal molekul untuk memulihkan jaringan yang rusak dan mempertahankan diri dari serangan patogen. Sintesis enzim peroksidase juga diketahui dan dipelajari kaitannya dengan sistem pertahanan oleh buah akibat adanya stress pada tanaman, sehingga sering disebut sebagai *stress enzyme*.

Meskipun demikian, dinamika aktivitas enzim POD selama, berbeda dibanding dengan aktivitas enzim PPO. Enzim PPO meningkat seiring dengan fase puncak klimakterik, sedangkan peningkatan pada enzim POD terjadi stabilitas dengan kecenderungan meningkat sampai akhir pengamatan. Stabilitas tersebut erat kaitannya dengan pengaruh enzim PPO dalam mengakumulasi H_2O_2 sebagai hasil reaksi oksidasi fenolik yang menghasilkan kuinon. Hidrogen peroksida selanjutnya juga dimanfaatkan oleh POD dalam proses pencoklatan enzimatik (Subramanian *et al.*, 1999).

Aktivitas enzim POD menunjukkan adanya reduksi konsentrasi fenol pada apel Manalagi. Meskipun begitu, aktivitas oksidasinya lebih rendah dibanding dengan enzim PPO. Kandungan fenolik apel yang mayoritas berupa asam klorogenat bukan merupakan substrat yang spesifik terhadap POD. Enzim POD sangat spesifik terhadap substrat peroksida yang utama yaitu H_2O_2 dengan kehadiran donor hidrogen. Meskipun begitu, POD memiliki spesifisitas rendah untuk substrat donor hidrogen. Adapun beberapa senyawa pendonor hidrogen yaitu fenol (guaiacol, resorsinol), amino aromatik (*aniline* and *benzidine*), *nicotinamide-adenine dinucleotide* (Vamos-Vigyano, 1981). Selain itu juga, POD juga dapat mengoksidasi golongan fenolik turunan hidroksisinamat serta flavonoid yang mana bukan merupakan substrat enzim PPO, namun juga dikenal tereduksi menjadi kecoklatan karena reaksi oksidasinya.