

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. *Fresh Cut* Apel Manalagi

Apel Manalagi merupakan salah satu varietas apel lokal di Indonesia yang merajai pasaran apel lokal. Salah satu ciri utama dari apel ini yaitu, mungil dan bulat. Diameter buah sekitar 4-7 cm dengan berat 75-160 gram per buahnya. Apel ini berkulit hijau kekuningan dengan semburat merah sebesar 1,5-2% (Mianti, 2010). Daging buahnya berwarna kuning keputihan, kadar airnya hanya 84,05% dan lebih renyah daripada apel Rome Beauty dan apel Anna. Bentuk bijinya bulat dengan ujung tumpul dan berwarna coklat tua (Sufrida, dkk., 2004).

Tabel 1. Komposisi Kimia Apel Manalagi per 100 gram Apel

<b>Komposisi</b>	<b>Kandungan</b>
Total gula (g)	8.29
Kadar asam (g)	0.32
Vitamin C (mg)	6.60
Gula pereduksi (g)	6.96
pH cairan buah	4.62
Fruktosa (g)	4.5
Glukosa (g)	3.72
Sukrosa (g)	4.54
Gula/asam (g)	42.56
Aktivitas antioksidan (g)	6.53
Total padatan terlarut (brix)	17.10°

Sumber: Sa'adah, dkk. (2015)

Prihatman (2000) dan Mianti (2010) menyatakan, apel Manalagi dapat dipanen pada umur 114 hari setelah bunga mekar atau saat nisbah gula/asamnya telah mencapai 58 dan teksturnya 207 kg/cm<sup>2</sup>. Apel ini memiliki rasa yang manis walaupun masih muda dan aromanya harum segar. Seiring dengan tingkat kematangan buah apel, maka kandungan gulanya juga akan bertambah (Soelarso, 1997). Selama ini standar mutu yang berlaku untuk apel berdasarkan berat, ukuran dan jumlah per kilogramnya, terdiri 4 *grade* yaitu *Grade A* = 15.90 % (3-4

buah/kg), *Grade B* = 45.20 % (5-7 buah/kg), *Grade C* = 29.60 % (8-10 buah/kg) dan *Grade D* = 7% (11-15 buah/kg) (Marina dkk., 2015).

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*, *catekol*, *catekin*, asam kafeat, *3,4-dihidroksifenilalanin* (DOPA), *p-kresol*, *4-metil catekol*, *leukosianidin*, dan *flavonol glikosida* (Marshall *et al.*, 2000).

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 ini yang menyebabkan pencoklatan sebagai kuinon yang lama kelamaan berwarna kecoklatan (pigmen coklat tua) sebagai senyawa melamin (Cheng dkk., 2005; Ekinci dkk., 2007; Ho dkk., 1992) .

Buah yang terolah minimal lebih rentan mengalami perubahan dari segi fisiologi, kimia dan biokimia jika dibandingkan dengan buah yang masih utuh. Buah yang dipotong akan menghilangkan kulit buah atau lapisan epidermis dan hilangnya keutuhan sel akibat perlakuan pengupasan dan pemotongan. Perubahan-

perubahan tersebut meliputi peningkatan respirasi, peningkatan transpirasi, peningkatan aktivitas enzim, peningkatan produksi etilen, perubahan warna, flavor, degradasi membrane lipid, pembentukan metabolit sekunder, pencoklatan oksidatif dan pertumbuhan mikroba. Jika perubahan pada buah *fresh cut* tetap dibiarkan, hal ini akan berakibat pada kerusakan mutu dan memperpendek umur simpan produk (Indriyani, 2006).

Jaringan buah yang terluka selama proses pembuatan *fresh cut* menyebabkan banyak sel di dalam buah menjadi rusak dan komponen intraselulernya seperti enzim pengoksidasi keluar. Kondisi ini menyebabkan perubahan reaksi fisiologis dan biokimia di dalam produk. Polifenol oksidase merupakan enzim terpenting pada buah dan sayur yang diolah minimal, penyebab pencoklatan produk. Enzim penting lainnya adalah lipooksidase yang mengkatalisis peroksidasi menyebabkan pembentukan komponen aldehid dan keton yang baunya tidak enak. Selain itu, pada buah juga terjadi peningkatan produksi senyawa etilen yang berkontribusi pada sintesis enzim yang berperan pada proses pematangan buah dan akan menyebabkan gangguan fisiologis seperti pelunakan daging buah. Aktivitas respirasi produk juga menjadi lebih cepat dari bahan segarnya, peningkatan mencapai 20 -70% tergantung dari jenis produk, tingkat pemotongan dan suhu proses dan penyimpanan (Sutrisno, 2009).

Jaringan buah yang terluka akibat pengupasan, pemotongan dan pengirisan juga menyebabkan resiko kontaminasi oleh mikrobia menjadi lebih besar. Kandungan air dan aktivitas air yang tinggi dan kandungan nutrisi yang baik menyebabkan produk *fresh cut* ini tidak saja mendukung pertumbuhan mikrobia

pembusuk tetapi juga oleh mikroba patogen. Patogen yang sering adalah *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum*, *Aeromonas hydrophila*, *Salmonella* spp., dan *Campylobacter jejuni* (Anna, 2013).

### **B. Browning**

*Browning* adalah perubahan kecoklatan pada buah yang terjadi akibat proses enzimatik oleh polifenol oksidasi. Pada umumnya perubahan *browning* sering terjadi pada buah-buahan seperti pisang, pear, salak, pala, dan apel. Perubahan *browning* terbagi menjadi dua yaitu enzimatik dan non enzimatik. Bahan pangan sayur dan buah dapat mudah mengalami pencoklatan jika bahan pangan tersebut terkelupas atau dipotong. Pencoklatan (*browning*) merupakan proses pembentukan pigmen berwarna kuning yang akan segera berubah menjadi coklat gelap (Rachmawan, 2001).

Menurut Winarno, (2002), *browning* terjadi pada buah-buahan yang banyak mengandung substrat senyawa fenolik. Ada banyak sekali senyawa fenolik yang dapat bertindak sebagai substrat dalam proses *browning* pada buah dan sayuran. Senyawa fenolik dengan jenis *orthodihidroksi* atau *trihidroksi* yang saling berdekatan merupakan substrat yang baik untuk proses *browning*. Reaksi pencoklatan yang terjadi pada buah dan sayuran adalah reaksi pencoklatan enzimatik, sedangkan pencoklatan nonenzimatik terjadi pada bahan pangan selain buah, seperti gula dan roti tawar yang terjadi akibat adanya jaringan yang terluka sehingga mengakibatkan kerusakan integritas jaringan.

Reaksi pencoklatan enzimatik terjadi pada buah-buahan yang banyak mengandung senyawa fenol. Pencoklatan secara enzimatik tidak hanya

berpengaruh secara penampakan, namun juga pada rasa dan nutrisi makanan (Cortez-Vega et al., 2008). Reaksi pencoklatan terjadi ketika substrat dan enzim bercampur dan melibatkan oksigen dalam reaksinya, dalam hal ini senyawa fenolik bertindak sebagai substrat yang terdapat di vakuola dan enzim polifenol oksidase terdapat di sitoplasma. Menurut Iannou dan Ghoul (2013), pengupasan dan pemotongan dapat menyebabkan rusaknya jaringan sel yang dimana enzim polifenol oksidase berada yang menyebabkan enzim bereaksi dengan senyawa fenolik yang juga dilepaskan oleh vakuola yang terkoyak. Selain itu, pengupasan juga menyebabkan enzim polifenol oksidase mengkatalis dua reaksi dengan adanya oksigen, yaitu hidroksilasi monofenol dan oksidasi o-diphenol menjadi o-quinon yang diikuti dengan polimerisasi non-enzimatik quinon yang menghasilkan melanin dengan pigmen warna gelap (Queiroz, 2008).

Laju respirasi buah dapat dipacu oleh peningkatan suhu sehingga mengakibatkan degradasi bahan berlangsung lebih cepat (Lazano, 2006). Gonzales-Aquilar *et al.*, (2004) menyatakan proses respirasi juga meningkat jika buah mengalami pelukaan atau pemotongan. Pelukaan atau pemotongan akan meningkatkan aktivitas metabolisme, dekompartementalisasi enzim dan substrat sehingga menyebabkan terjadinya pencoklatan (*browning*), pelunakan, dan *off flavor*.

Faktor-faktor terpenting yang menentukan laju pencoklatan enzimatik pada buah dan sayuran adalah kandungan PPO dan senyawa-senyawa fenol, pH, temperatur dan ketersediaan O<sub>2</sub> dalam jaringan. Pemahaman pengaruh faktor-faktor tersebut terhadap pencoklatan enzimatik 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 O<sub>2</sub>, 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*”.

### C. Natrium bisulfit (NaHSO<sub>3</sub>)

Sulfit digunakan dalam bentuk gas SO<sup>2+</sup>, garam Na atau K-sulfit, bisulfit dan metabisulfit. Bentuk efektifnya sebagai pengawet adalah asam sulfit yang tidak terdisosiasi dan terutama terbentuk pada pH dibawah 3. Selain sebagai pengawet, sulfit dapat berinteraksi dengan gugus karbonil. Hasil reaksi itu akan mengikat melanoidin sehingga mencegah timbulnya warna coklat. Sulfur dioksida juga dapat berfungsi sebagai antioksidan (Syarief dan Irawati, 1988).

Senyawa sulfit yang biasa digunakan berbentuk bubuk kering, misalnya natrium atau kalium sulfit, natrium atau kalium bisulfit dan natrium atau kalium metabisulfit. Ada dua tujuan yang diinginkan dari penggunaan sulfit, yaitu: (1) untuk mengawetkan (sebagai senyawa anti mikroba), dan (2) untuk mencegah perubahan warna bahan makanan menjadi kecoklatan. Umumnya senyawa sulfit efektif terhadap mikroba jenis *A. niger*, *Aspergillus*, *Penicillium*, dan efektif untuk mengawetkan bahan makanan yang bersifat asam, serta tidak efektif untuk bahan makanan yang bersifat netral atau alkalis. Sulfit dapat menghambat pertumbuhan mikroba yang dapat merusak atau membusukkan bahan makanan

serta sebagai antioksidan yang mampu mencegah ketengikan pada bahan makanan dengan tiga macam mekanisme yang berbeda, tetapi pada dasarnya adalah menginaktifkan enzim-enzim yang terkandung dalam mikroba (Muchtadi, 1989).

Berdasarkan ketentuan *Food and Drug Administration* (FDA), batas maksimum residu sulfit yang diperbolehkan dalam bahan pangan kering adalah 500 ppm (Muchtadi, 1989). Kadar sulfit yang rendah tidak berbahaya bagi tubuh, karena tubuh manusia mampu memetabolisme sulfit menjadi sulfat yang dikeluarkan bersama urine. Hal ini berarti penggunaan sulfit dengan konsentrasi 2500 ppm pada bahan pangan kering masih cukup aman (Winarno, 1992). Perendaman dalam larutan sulfit selain dapat mencegah pencoklatan enzimatis, juga mengurangi kerusakan karoten dan asam askorbat (Enie, 1993). Penambahan  $\text{SO}_2$  dan garam-garamnya bertujuan untuk mempertahankan warna, citarasa, karoten, serta mencegah kerusakan mikroorganisme. Garam sulfit yang larut mempunyai kemampuan untuk melindungi diskolorisasi dari bahan pangan. Hal ini dapat dijumpai pada berbagai aplikasi seperti perlakuan terhadap irisan apel, kentang yang dikupas, dan buah-buahan serta sayuran lainnya untuk mencegah pencoklatan (Desrosier, 1988).

Natrium bisulfit ( $\text{NaHSO}_3$ ) merupakan bahan pengawet yang memiliki senyawa sulfit (*sulfiting agents*). *Sulfiting agents* secara luas digunakan sebagai bahan tambahan untuk mencegah pencoklatan dari buah dan sayuran selama pengolahan. Bahan tambahan ini merupakan agensia multifungsi yang efektif mencegah pencoklatan baik enzimatis maupun nonenzimatis, mengendalikan pertumbuhan mikrobia dan sangat efektif pada konsentrasi yang rendah (Laurila *et*

al., 1998). Natrium bisulfit memiliki senyawa sulfit yang mampu menghambat terjadinya reaksi karamelisasi yaitu reaksi pencoklatan pada gula tebu sehingga senyawa tersebut dapat memecah polimer pada reaksi tersebut (Rahman, 2007). Berdasarkan penelitian Resa (2014), menyatakan bahwa semakin besar konsentrasi Natrium bisulfit maka derajat putih tepung pati ganyong cenderung meningkat. Hal ini disebabkan karena Natrium bisulfit bekerja untuk mencegah reaksi pencoklatan pada proses pengolahan tepung pati ganyong. Menurut Prayudi (1988), pencegahan reaksi pencoklatan ini ialah dengan mencegah aktivitas fenolase itu sendiri.

Senyawa sulfit yang masuk ke dalam jaringan buah dapat menjadi racun bagi enzim fenolase sehingga terjadi penghambatan reaksi pencoklatan. Menurut Kujipers *et al.*, (2012), mekanisme inhibisi pencoklatan oleh senyawa sulfit terbagi menjadi tiga cara, yaitu inhibisi reaksi searah PPO, reduksi o-quinon sehingga membalikkan arah reaksi enzimatik dan pembentukan produk tambahan antara sulfit dan antara sulfit dan o-quinon sehingga mencegah terjadinya reaksi pencoklatan lebih lanjut. Penambahan larutan natrium bisulfit sebagai senyawa anti browning bekerja dengan cara membentuk ikatan disulfida dengan enzim PPO sehingga menghambat pengikatan dengan oksigen. Ikatan disulfida yang terbentuk menyebabkan penurunan aktivitas enzim tersebut atau dengan penurunan aktivitas enzim PPO yang disebabkan karena adanya senyawa sulfit yang merupakan racun bagi enzim dengan cara menghambat kinerja enzim esensial. Sulfit akan mereduksi ikatan disulfida pada enzim sehingga enzim tidak

dapat mengkatalis oksidasi senyawa fenolik penyebab pencoklatan (Rianto; Ingka, 2015).

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Bates (1968), penggunaan Natrium bisulfit dengan konsentrasi 30% merupakan perlakuan terbaik yang mampu menghambat reaksi pencoklatan enzimatik secara keseluruhan pada buah alpukat tanpa mengubah rasa dari potongan buah tersebut. Penelitian William *et al.*, (2008), perendaman potongan buah apel pada larutan Natrium bisulfit selama 3 menit dan disimpan pada suhu 5°C lebih efektif untuk mencegah *browning* selama tujuh hari dibandingkan dengan perlakuan asam askorbat. Selain itu, berdasarkan penelitian Nyoman, dkk (2013) larutan Natrium bisulfit pada krim santan yang terdiri dari 3 taraf yaitu 0 ppm (S0), 150 ppm (S1) dan 300 ppm (S2) b/v dari satuan percobaan. Hasil penelitian menunjukkan krim santan kelapa dengan penambahan pengawet natrium bisulfit 300 ppm selama penyimpanan 3 hari pada suhu ruang masih layak dikonsumsi dan dapat diterima secara kimia, mikrobiologis dan organoleptik oleh panelis dengan karakteristik total kapang krim santan kelapa (0,18x10<sup>5</sup>CFU/ml), kadar asam lemak bebas (6,28 b/b), warna (putih), aroma (tidak tengik), tekstur (tidak berlendir), penerimaan keseluruhan (suka), stabilitas visual (99,55%), serta residu sulfit (122,49 ppm).

#### **D. L-arginin**

Arginin, atau juga disebut dengan L-arginin, adalah salah satu dari 20 jenis asam amino yang terdapat dalam protein. Berbeda dengan jenis asam amino lainnya, jenis asam amino ini dianggap sebagai asam amino semi-esensial karena, dapat dihasilkan dari dalam tubuh sendiri, ada kalanya suplemen dan makanan

mungkin diperlukan. Kandungan arginin dapat merangsang endogen produksi Nitrat Oksida (NO) melalui penerapan senyawa yang baik alami dalam makanan atau memiliki GRAS atau status aman yang sejenis untuk makanan. Sebuah jalur metabolisme utama untuk sintesis NO pada mamalia dan tumbuhan adalah melalui NO synthase (NOS, EC 1.14.13.39) yang mengkatalis oksidasi l-arginin untuk l-citruline dengan merilis NO (Morris, 2007). Potensi penambahan l-arginin untuk merangsang produksi NO tampaknya akan bernilai menyelidiki l-arginin adalah asam amino semi-esensial yang saat ini dipasarkan ke masyarakat umum untuk berbagai kesehatan bagi manfaat sebagian besar terkait dengan nya potensial untuk merangsang produksi NO (Examine.com, 2015).

Berdasarkan penelitian Wills, R. B. H.<sub>2</sub>(2016), potongan segar apel dan selada Granny Smith dicelupkan ke dalam larutan encer l-arginin pada tekanan ambien dan dinilai untuk dicat pada permukaan yang dipotong selama penyimpanan pada suhu 5°C. Arginine menunda pengembangan kecoklatan dan karenanya memperpanjang umur pascapanen. Untuk irisan apel, mencelupkan arginin 50 mM selama 10 menit menghasilkan peningkatan 15 kali lipat dalam kehidupan pascapanen di atas irisan kontrol. Untuk potongan selada, umur pascapanen dua kali lipat dengan mencelupkan arginin 100 mM selama 5 menit. Arginine ditemukan tidak mempengaruhi rasa irisan apel setelah dicelup pada larutan 250 mM dan lebih efektif daripada asam askorbat dalam menghambat pencoklatan.

Menurut penelitian Ayu (2018), Perlakuan l-arginin 50 mM dan lama perendaman 10 menit merupakan perlakuan terbaik dalam menghambatan

browning dan dapat mempertahankan kualitas fisik (warna dan susut bobot), kimia (gula reduksi, total asam, phenol) dan uji organoleptik (warna, tekstur, aroma, dan rasa) pada buah potong segar apel Manalagi. Sedangkan menurut penelitian Kiky (2018), Pemberian l-arginin 100 mM menunjukkan hasil lebih baik dalam menghambat *browning fresh-cut* buah apel Manalagi ditunjukkan pada parameter pengujian warna dan total fenol serta dapat mempertahankan kualitas fisik dan sifat kimia dibanding perendaman dengan asam askorbat dan asam sitrat.

Penelitian pascapanen yang dilakukan Zhang *et al.*, (2010) menggunakan l-arginin, dengan cara mencelupkan tomat dalam larutan arginin 0,2 mM pada tekanan sub atmosfer (35 kpa) dalam penyimpanan 2-4 minggu pada suhu 2<sup>0</sup>C menghasilkan 20% pengurangan kerusakan yang terjadi akibat chilling injury. Pemberian arginine 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.

*Fresh cut* apel Manalagi merupakan salah satu buah yang sangat mudah mengalami *browning* dikarenakan kandungan polifenol atau komponen fenolik sebagai sumber antioksidan yang baik untuk dikonsumsi manusia sebagai pemenuhan gizi namun juga menjadi penyebab utama terjadinya *browning* sehingga warna berubah menjadi kecoklatan dan terjadi pertumbuhan mikrobia. Apabila hal ini tetap dibiarkan akan berakibat pada kerusakan mutu dan memperpendek umur simpan produk. Upaya yang dapat dilakukan diantaranya dengan menonaktifkan enzim atau dengan menambahkan anti pencoklatan yang dapat menghindari terjadinya kontak antara enzim dengan substrat. Bahan anti pencoklatan atau *browning* yang dapat digunakan untuk mempertahankan kualitas dan memperpanjang umur simpan *fresh-cut* apel Manalagi diantaranya Natrium bisulfit dan L-arginin.

#### **E. Hipotesis**

Diduga perlakuan pencelupan *fresh cut* apel Manalagi pada larutan l-arginin 150 mM efektif untuk mempertahankan kualitas dan memperpanjang umur simpan

