

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Warna

Uji warna merupakan salah satu indikator pengamatan kenampakan fisik kualitas buah karena terjadinya perubahan visual yang terjadi pada *fresh-cut*. Analisis warna yang dilakukan berdasarkan hasil perhitungan nilai L, a dan b yang menghasilkan nilai *hue*. Analisis warna sangat terikat dengan persepsi dan interpretasi subyektif. *Hue* adalah istilah yang dipakai dalam dunia warna untuk klasifikasi merah, kuning dan biru. Meskipun merah dan kuning adalah *hue* yang berbeda namun pencampuran keduanya menghasilkan jingga (terkadang disebut kemerahan), pencampuran kuning dan hijau menghasilkan kuning kehijauan, pencampuran biru dan hijau menghasilkan hijau kebiruan (Minolta, 2002). Pengujian dilakukan sebanyak 4 kali pengamatan pada hari ke-0, ke-3, ke-6 dan ke-9 dengan menggunakan *Chromameter* CR 400. Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa pada pengamatan hari ke-0 sampai hari ke-6 perlakuan perendaman natrium bisulfit (50 ppm dan 100 ppm), asam sitrat (50 ppm dan 100 ppm) dan L-arginin (50 mmol dan 100 mmol) menunjukkan hasil yang signifikan kecuali pada hari ke-9 non-signifikan terhadap warna daging buah *fresh-cut* apel Manalagi (Lampiran 4), hal ini menunjukkan bahwa perendaman natrium bisulfit (50 ppm dan 100 ppm), asam sitrat (50 ppm dan 100 ppm) dan L-arginin (50 mmol dan 100 mmol) dan kontrol hanya efektif pada hari ke-6. Adapun rerata hasil uji warna pada semua sampel apel Manalagi disajikan pada tabel 2.

Tabel 1. Rerata Warna (*Hue*) *fresh-cut* yang diberikan perlakuan berbagai bahan anti *browning* dan tanpa perlakuan selama 9 hari pengamatan.

Perlakuan	Uji Rerata Warna (<i>Hue</i>) <i>Fresh cut</i> Hari ke-			
	Hari ke-0	Hari ke-3	Hari ke-6	Hari ke-9
A1	79.48bc	79.28c	78.27bc	77.59a
A2	80.77abc	81.19b	79.77ab	78.16a
B1	78.61cd	77.99c	76.18cd	60.26a
B2	80.76 abc	77.59c	75.77cd	75.91a
C1	82.99ab	81.79ab	81.86a	79.29a
C2	84.17a	83.50a	82.09a	79.50a
D	75.92d	75.30d	74.84d	74.26a

Keterangan: angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata berdasarkan DMRT dengan taraf 5%.

A1 : Natrium Bisulfit 50 ppm perendaman selama 5 menit

A2: Natrium Bisulfit 150 ppm perendaman selama 5 menit

B1 : Asam Sitrat 50 ppm perendaman selama 10 menit

B2 : Asam Sitrat 100 ppm perendaman selama 10 menit

C1 : Arginin 50 mmol perendaman selama 10 menit

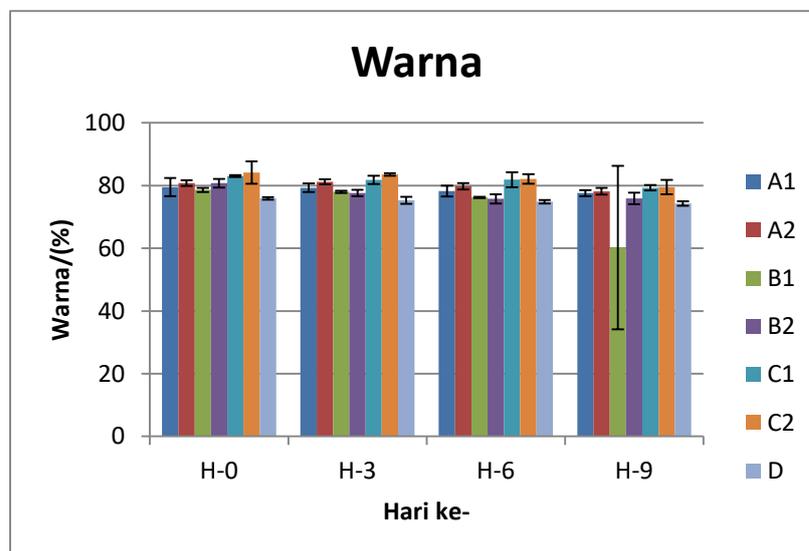
C2 : Arginin 100 mmol perendaman selama 10 menit

D : Kontrol (tanpa perlakuan)

Pada hari ke-9 menunjukkan non-signifikan terhadap warna daging buah *fresh-cut* apel Manalagi (Lampiran 4), hal ini sesuai dengan pengamatan visual saat pengamatan yang menunjukkan indeks warna rendah (cenderung gelap) pada setiap perendaman bahan anti *browning* dan tanpa perendaman (kontrol). Rerata hasil uji warna semua perlakuan perendaman bahan anti *browning* menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan tanpa perendaman (kontrol) terhadap *fresh-cut* apel Manalagi pada pengamatan hari ke-0 sampai hari ke-6. Hal ini menunjukkan adanya pengaruh terhadap perendaman natrium bisulfit, asam sitrat dan L-arginin dalam menghambat *browning* pada *fresh-cut* apel Manalagi.

Nilai indeks warna cenderung baik ditunjukkan pada perlakuan L-arginin 100 mmol perendaman selama 10 menit (16g/L), hal ini disebabkan pada pengamatan hari ke-6 indeks warna yang diperoleh reratanya lebih tinggi.

Semakin tinggi nilai rerata indeks warna maka warna *fresh-cut* apel Manalagi akan semakin cerah. Pada *fresh-cut* apel tanpa perlakuan memiliki nilai terendah pada hari ke-0 sampai hari ke-6, rendahnya indeks warna menyebabkan warna pada *fresh-cut* apel Manalagi cenderung gelap. Perubahan warna daging buah *fresh-cut* apel Manalagi juga dapat dilihat berdasarkan histogram pada pengamatan hari ke-0 hingga hari ke-9 setelah dilakukan pencelupan bahan anti *browning* dan tanpa pencelupan (kontrol) (Gambar 4).



Gambar 4. Hasil pengujian warna pada *fresh-cut* apel Manalagi dengan berbagai perlakuan A1 Natrium Bisulfit 50 ppm, A2 Natrium Bisulfit 150 ppm, B1 Asam sitrat 50 ppm, B2 Asam sitrat 100 ppm, C1 L-arginin 50 mmol, C2 L-arginin 100 mmol, D Tanpa perlakuan (Kontrol) selama 9 hari pengamatan.

Berdasarkan hasil histogram pada gambar 4. menunjukkan bahwa rerata indeks warna pada *fresh-cut* apel seluruh perlakuan dan tanpa perlakuan mengalami penurunan. Menurunnya nilai uji warna menunjukkan bahwa semakin lama waktu penyimpanan *fresh-cut* apel maka indeks warna yang ditunjukkan akan semakin gelap atau kecoklatan. Pencoklatan enzimatis merupakan reaksi pewarnaan yang banyak terjadi pada buah dan sayuran, sebagai akibat adanya

interaksi oksigen, senyawa fenol dan enzim polifenol oksidase (PPO). Pencoklatan biasanya diawali dengan oksidasi enzimatik monofenol menjadi o-difenol dan kemudian o-difenol menjadi kuinon yang selanjutnya akan mengalami polimerisasi non-enzimatik sehingga terbentuk pigmen berwarna coklat (Jiang Y, 2004).

Nilai L-arginin 100 mmol perendaman selama 10 menit memiliki nilai paling tinggi. Pada *fresh-cut* apel perlakuan perendaman L-arginin 100 mmol perendaman selama 10 menit cenderung lebih baik dalam menghambat *browning*. Hal ini dapat dilihat pada pengamatan hari ke 0 sampai ke 6 dapat menghambat *browning* dan memiliki nilai indeks warna yang cenderung tinggi dari perlakuan lainnya dan berkorelasi dengan hasil terbaik pada pengamatan. L-arginin sendiri mampu memicu NO pada *fresh-cut* apel Manalagi, saat apel potong segar (*fresh-cut*) direndam kedalam L-arginin dapat memecah proses enzimatik pada *fresh-cut* apel Manalagi sehingga sebelum fenol mencapai o-quinon kandungan fenol dihambat dengan adanya L-arginin yang akan memicu NO yang ada pada *fresh cut* buah apel Manalagi dan mengakibatkan tidak terjadinya *browning*. NO juga berpotensi dalam mengatur biosintesis etilen. Biosintesis etilen dapat dihambat oleh asam *amino oxy acetit* (AOA) dan *aminoethoxy vinyl glcine* (AVG) yang dapat memperpanjang waktu pengamatan buah (Hobsonet.al., 1984). Yanovitz klapp dan Richard F.C (1990) menyatakan bahwa dengan terbentuknya senyawa fenol kembali maka reaksi lanjutan pembentukan melanin dari quinon tidak berlangsung. Aktivitas *enzim polyphenol oksidase* yang bereaksi dengan oksigen menyebabkan pencoklatan enzimatik (Ernawati, 2012).

Pada perlakuan perendaman bahan anti *browning* asam sitrat 50 ppm menunjukkan nilai warna yang cukup rendah dibandingkan dengan perendaman L-arginin dan natrium bisulfit hal ini disebabkan karena indeks warna pada pengamatan hari ke-6 rendah, sehingga warna *fresh-cut* apel Manalagi cenderung gelap. Namun pada pengamatan hari ke-0 sampai ke-6 menunjukkan nilai yang lebih baik dibandingkan dengan tanpa perlakuan (kontrol). Asam sitrat mampu menurunkan pH pada buah apel. Pencegahan proses pencoklatan enzimatis dapat dilakukan dengan menurunkan pH. Enzim PPO yang berperan dalam reaksi pencoklatan pada apel memiliki pH optimum antara 5,0 -7,0, ketika apel diberi sedikit cairan asam. pH dari apel akan menurun, ketika pH mencapai 3,0 aktivitas enzim PPO akan berkurang. Berkurangnya aktivitas enzim PPO akan mencegah proses pencoklatan enzimatis (Winarno, 2002). Asam sitrat merupakan agen pengkelat yang mampu menghambat terjadinya reaksi pencoklatan yang dapat mengkomplekskan ion tembaga yang berperan sebagai katalis dalam reaksi pencoklatan. Selain itu, asam sitrat mampu menghambat pencoklatan dengan cara menurunkan pH sehingga enzim PPO menjadi inaktif (Winarno, 2002). Asam sitrat termasuk senyawa asidulan yang bersifat asam mampu mencegah terjadinya pertumbuhan mikroba.

Pada perlakuan perendaman natrium bisulfit pada ke-0 sampai hari-9 cenderung lebih baik dalam menghambat *browning*, hal ini dapat dilihat pada pengamatan hari ke 0 sampai ke 6 dapat menghambat *browning* dan memiliki nilai indeks warna yang cenderung stabil dari perlakuan perendaman asam sitrat dan tanpa perlakuan (kontrol) dan berkorelasi dengan hasil cukup baik pada

pengamatan total fenol. Menurut penelitian yang telah dilakukan Candra (2019) menunjukkan bahwa nilai rerata *hue* tertinggi yaitu pada perendaman natrium bisulfit 150 ppm. Secara umum, konsentrasi dan waktu perendaman *fresh-cut* apel Manalagi dengan natrium bisulfit berpengaruh positif dalam menurunkan laju pencoklatan pada daging buah, hal ini sesuai dengan penelitian William *et.al.*,(2008) menyatakan bahwa tingkat kecerahan *fresh-cut* daging buah apel menunjukkan nilai tertinggi pada perendaman natrium bisulfit dan mengindikasikan bahwa perlakuan tersebut merupakan perlakuan yang paling efisien untuk menghambat terjadinya *browning*.

Sulfit mampu menghambat enzim fenolase pada konsentrasi satu ppm secara langsung. *Browning* non-enzimatis natrium bisulfit berinteraksi dengan gugus karbonil yang terkandung pada bahan. Hasil reaksi yang terjadi akan mengikat melanoid yang mampu mencegah timbulnya perubahan warna coklat. Sementara *browning* enzimatis akan menyebabkan sulfit mereduksi ikatan disulfida pada enzim sehingga enzim tidak dapat mengkatalis oksidasi senyawa fenolik. Untuk enzim, sulfit merupakan racun karena mampu menghambat kerja enzim esensial. Sulfit akan mereduksi ikatan disulfida enzim mikroorganisme yang menyebabkan aktivitas enzim menjadi terhambat. Terhambatnya aktivitas enzim menyebabkan mikroorganisme tidak dapat melakukan metabolisme dan akhirnya akan menjadi mati.

B. Total Fenol

Senyawa fenol merupakan senyawa kimia yang berbeda dengan senyawa biologis. Robinson, (1991) menyebutkan bahwa senyawa fenol dapat

mempengaruhi penampilan berupa rasa, tekstur dan keamanan olahan makanan. Penentuan kandungan total fenolik bertujuan untuk melihat kandungan fenol yang terdapat pada sampel *fresh-cut* yang digunakan dalam penghambatan *browning* *fresh-cut* apel Manalagi. Pengujian dilakukan sebanyak 6 kali pengamatan pada hari ke-0, ke-3, ke-6, ke-9, ke-12 dan ke-15 dengan menggunakan *Spektrometer*. Adapun rerata hasil total fenol pada semua sampel apel Manalagi disajikan pada tabel 3.

Tabel 2. Rerata total phenol (ppm) *fresh-cut* yang diberikan perlakuan dan tanpa perlakuan selama 15 hari pengamatan

Perlakuan	Total <i>phenol</i> (ppm) Hari ke-					
	Hari ke-0	Hari ke-3	Hari ke-6	Hari ke-9	Hari ke-12	Hari ke-15
A1	1401.32c	1614.04ab	1899.12b	1462.50c	2186.84c	1491.23c
A2	1125.00 d	1717.11a	1197.37d	1082.46d	2659.21b	1782.89b
B1	956.14e	1208.33d	2267.54a	2249.78a	2110.31c	1002.19e
B2	1015.35de	1451.75c	1942.98b	1888.38b	1894.30d	1237.94d
C1	1870.61a	1535.09bc	527.41e	1436.40c	1620.29f	1402.41cd
C2	1060.09de	1297.15d	1592.11c	727.85e	1744.85e	2103.07a
D	1718.20b	1502.85bc	1211.62d	2193.64a	3118.64a	1333.33cd

Keterangan: angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata berdasarkan DMRT dengan taraf 5%.

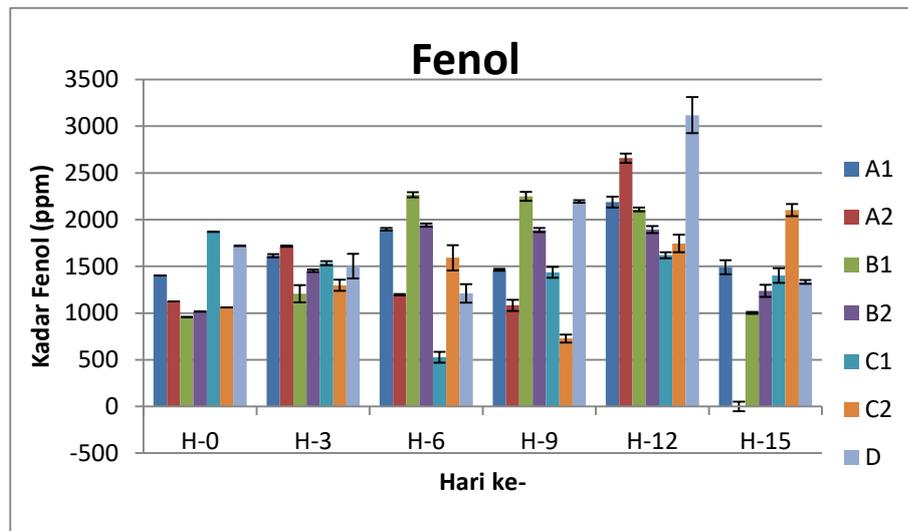
- A1 : Natrium Bisulfit 50 ppm perendaman selama 5 menit
- A2: Natrium Bisulfit 150 ppm perendaman selama 5 menit
- B1 : Asam Sitrat 50 ppm perendaman selama 10 menit
- B2 : Asam Sitrat 100 ppm perendaman selama 10 menit
- C1 : Arginin 50 mmol perendaman selama 10 menit
- C2 : Arginin 100 mmol perendaman selama 10 menit
- D : Kontrol (tanpa perlakuan)

Hasil analisis sidik ragam (Lampiran 4). menunjukkan bahwa pada pengamatan hari ke-0 sampai hari ke-15 perlakuan perendaman natrium bisulfit (50 ppm dan 100 ppm), asam sitrat (50 ppm dan 100 ppm) dan L-arginin (50 mmol dan 100 mmol) menunjukkan hasil yang signifikan pada *fresh-cut* apel Manalagi.

Nilai uji total fenol pada pengamatan hari ke-0 sampai hari ke-15 menunjukkan hasil beda nyata antar perlakuan perendaman natrium bisulfit, asam sitrat, L-arginin dan tanpa perlakuan (kontrol) terhadap hasil *fresh-cut* apel Manalagi. Hal ini menunjukkan perlakuan perendaman natrium bisulfit, asam sitrat dan L-arginin dapat menghambat laju fenol pada hasil *fresh-cut* apel Manalagi.

Beda nyata yang terjadi diduga karena tingkat kemasakan buah yang berbeda-beda. Tingkat kematangan buah mempengaruhi NO dalam buah. Semakin tinggi nilai NO dalam buah maka akan menekan peningkatan phenol dalam buah. Menurut Hyang *at.el.*, (2008) menyatakan bahwa kematangan bahwa konsentrasi NO pada buah berbeda-beda tergantung pada kematangan buah, buah yang masih mentah mengandung sekitar 10 sampai 40 kali lipat lebih tinggi dari NO buah yang belum masak.

Berdasarkan tabel sidik ragam pada tabel 3. menunjukkan bahwa nilai fenol tertinggi yaitu perlakuan tanpa perendaman (kontrol) pada hari ke-12, sementara nilai fenol terendah yaitu pada perlakuan perendaman L-arginin 50 mmol perendaman selama 10 menit pada hari ke-6. Dinamika perubahan total fenol pada *fresh-cut* apel Manalagi juga dapat dilihat berdasarkan histogram pada pengamatan hari ke-0 hingga hari ke-15 setelah dilakukan pencelupan bahan anti *browning* dan tanpa pencelupan (kontrol) (Gambar 5).



Gambar 5. Hasil pengujian Total Fenol pada *fresh-cut* apel Manalagi dengan berbagai perlakuan A1 Natrium Bisulfite 50 ppm, A2 Natrium Bisulfite 150 ppm, B1 Asam sitrat 50 ppm, B2 Asam sitrat 100 ppm, C1 L-arginin 50 mmol, C2 L-arginin 100 mmol, D Tanpa perlakuan (Kontrol) selama 15 hari pengamatan.

Berdasarkan hasil histogram pada gambar 5. menunjukkan uji total fenol yang diberikan perlakuan berbagai bahan anti *browning* dan tanpa perendaman selama 15 hari pengamatan mengalami fluktuasi. Peningkatan fenol pada perlakuan karena mengalami pelukaan yang mengakibatkan respirasi terus meningkat sehingga memicu produksi fenol yang digunakan sebagai antioksidan. Penurunan total fenol sesuai dengan pernyataan calegario dkk (2000) dan vallverdu-Queralt dkk (2011) menyatakan bahwa laju respirasi apel (pemicu pembentukan fenol) akan menurun pada hari ke-4 penyimpanan kemudian stabil. Terjadinya fluktuasi kandungan nilai fenol berkaitan dengan aktivitas enzim PPO serta berpengaruh langsung terhadap perubahan warna buah pada *fresh-cut* apel Manalagi. Aktivitas *polifenol oksidase* bergantung dengan konsentrasi oksigen, karena oksigen akan mengubah senyawa *phenol* menjadi melanin berwarna coklat (Oktariani, 2017). Aktivitas *polifenol oksidase* yang rendah maka derajat

browning yang dihasilkan rendah. Kandungan fenol yang meningkat pada hari ke-6 hingga hari ke-12 berhubungan dengan nilai PPO yang diamati pada waktu yang sama dan menunjukkan kecenderungan peningkatan aktivitas enzim (gambar 5). Hal ini berpengaruh pada kenampakan warna pada *fresh-cut* apel Manalagi yang mengalami penurunan derajat kecerahan warna daging buah pada hari ke-3 hingga ke-6 (gambar 4).

Secara struktural, senyawa fenol mengandung cincin aromatis yang mengikat satu atau lebih gugus hidroksil, Senyawa-senyawa fenol dan PPO pada umumnya bertanggungjawab langsung terhadap reaksi pencoklatan enzimatis pada produk potong segar yang rusak selama penanganan dan pemrosesan pasca panen. Substrat spesifik bagi PPO bervariasi tergantung pada sumber enzimnya. Perendaman natrium bisulfit menunjukkan nilai yang baik dalam pengamatan aktivitas fenol karena menunjukkan nilai yang stabil dibandingkan dengan perlakuan asam sitrat, L-arginin dan kontrol berdasarkan hasil sidik ragam (Gambar 5). Perlakuan perendaman natrium bisulfit melakukan proses pencegahan reaksi *browning* melalui penurunan aktivitas enzim yang mengkatalis reaksi tersebut sehingga senyawa sulfit yang masuk ke dalam jaringan buah tidak secara langsung berpengaruh pada kandungan nilai fenol. Fungsi natrium bisulfit yaitu berfungsi sebagai penghambat untuk enzim fenolase yang menyebabkan terhambatnya *browning*. Sulfit terdiri dari 3 mekanisme inhibisi pencoklatan yang terdiri dari: reaksi searah PPO, reduksi o-quinon yang membalikkan arah reaksi enzimatik, dan pembentukan produk tambahan sulfit dan *o-quinon* sehingga mencegah reaksi pencoklatan lebih lanjut (Kuijpers *et.al.*, 2012).

Perlakuan L-arginin 50 mmol mengalami penurunan pada hari ke-6 dan L-arginin 100 mmol pada hari ke-9 terjadi penurunan kadar fenol menunjukkan nilai yang stabil hal ini disebabkan karena sifat L-arginin itu mampu menghambat fenol sehingga dapat menekan *browning* pada *fresh-cut*. Nilai Total fenol pada hari ke-0 hingga hari ke-3 naik dan hari ke-6 hingga hari ke-9 turun kemudian naik ini disebabkan karena L-arginin menginduksi aktivitas dari kitinase, glukukanase, PAL dan PPO dalam buah. Proses pelukaan sangat cepat setelah pelukaan terhadap buah dengan demikian peningkatan total senyawa penolik dapat menjadi penanda respon penahanan (*Zheng et.al., 2011*). Aktivitas enzim *polifenol oksidase* yang rendah maka derajat *browning* yang akan dihasilkan rendah, hal ini sesuai pada pengamatan warna yang menunjukkan bahwa nilai indeks warna tertinggi yaitu pada perendaman L-arginin. Indeks warna tinggi menunjukkan bahwa L-arginin memiliki indeks warna yang paling bagus dan paling cerah pada pengamatan hari ke-9. Willis, (2016) menyatakan bahwa pemberian L-arginin akan memicu NO pada buah setelah beberapa hari pertama dari penyimpanan tetapi akan meningkatkan NOS (*Nitrit Oxide System*). Hal ini sesuai dengan penelitian Kiki, (2018) menunjukkan bahwa pemberian L-arginin 100 mM 10' menghasilkan total phenol lebih menurun, hal ini disebabkan karena penggunaan L-arginin akan memicu peningkatan NO yang menyebabkan menurunnya nilai phenol sehingga dapat menekan terjadinya *browning*.

Pemberian asam sitrat menunjukkan nilai yang cukup dibandingkan dengan kontrol, berdasarkan hasil sidik ragam menunjukkan bahwa pemberian asam sitrat cukup dalam penghambatan aktivitas fenol hal ini berkorelasi dengan

pengamatan warna yang menunjukkan indeks warna pada pengamatan memiliki nilai yang cukup rendah dengan demikian perendaman sitrat belum efektif untuk penghambatan fenol dan warna. Peningkatan dan penurunan perendaman asam sitrat terhadap nilai fenol disebabkan karena asam sitrat merupakan senyawa bersifat asidulan yang semakin banyak konsentrasi asam sitrat yang ditambahkan akan memberikan kondisi yang semakin asam, hal ini diduga karena membran sel yang mengalami degradasi yang menyebabkan fenol mudah keluar dari dalam sel. Hal ini juga didukung oleh pernyataan Tensiska (2006), menunjukkan bahwa keadaan yang semakin asam akan menyebabkan semakin banyak dinding vakuola yang pecah sehingga memudahkan senyawa fenol keluar dari sel dan akan menghasilkan total fenol yang semakin tinggi dan aktivitas enzim PPO yang ada kemudian akan berinteraksi dengan oksigen kemudian akan mengubah gugus monophenol menjadi *O-hidroksi phenol*, selanjutnya diubah lagi menjadi *O-quinon* yang selanjutnya akan mengalami polymerisasi non-enzimatis sehingga terbentuk pigmen berwarna coklat (Jiang. Y, 2004). Pada *fresh-cut* apel tanpa perendaman menghasilkan nilai fenol yang mengalami penurunan dan peningkatan namun pada hari ke-12 nilai total fenol cenderung lebih tinggi hal ini disebabkan karena tidak ada yang menghambat aktivitas enzim pembentuk fenol sehingga nilai total fenol cenderung tinggi.

C. Uji Aktivitas Enzim *Polyphenol Oxidase* (PPO)

Polifenol oksidase (PPO) EC 1.14.18.1 adalah suatu enzim yang termasuk pada golongan oksidoreduktase yang mengkatalisis proses hidrosilasi senyawa monofenol menjadi senyawa difenol, kemudian dilanjutkan dengan mengkatalisis

proses oksidasi difenol menjadi kuinon. Senyawa kuinon yang terbentuk sangat reaktif sehingga akan mengalami reaksi polimerisasi menghasilkan pigmen merah, coklat dan hitam yang disebut pigmen melanin. Pada sel tumbuhan, enzim ini terdapat di dalam vakuola sel dan letaknya terpisah dengan senyawa-senyawa fenol yang terdapat dalam tumbuhan tersebut. Inilah sebabnya reaksi pencoklatan akan terjadi hanya jika jaringan atau selnya rusak. Pengujian dilakukan sebanyak 6 kali pengamatan pada hari ke-0, ke-3, ke-6, ke-9, ke-12 dan ke-15 menggunakan *spectrophotometer* dengan substrat yang digunakan yaitu *pyrocatechol*. Pengukuran *Polyphenol Oxidase* (PPO) pada *fresh-cut* apel Manalagi yang telah diberi perlakuan bertujuan melihat kandungan *Polyphenol Oxidase* (PPO) dan efektivitas penggunaan bahan anti *browning* pada *fresh-cut* buah apel Manalagi. Adapun rerata hasil aktivitas enzim *Polyphenol Oxidase* (PPO) pada semua sampel apel Manalagi disajikan pada tabel 4.

Tabel 3. Rerata uji Polyphenol Oxidase (PPO) pada *fresh-cut* yang diberikan perlakuan dan tanpa perlakuan selama 15 hari pengamatan.

Perlakuan	Uji Aktivitas Enzim Polyphenol Oxidase (PPO) (unit) Hari ke-					
	Hari ke-0	Hari ke-3	Hari ke-6	Hari ke-9	Hari ke-12	Hari Ke-15
A1	1162.333f	1676.333b	1637.333c	707.50g	2337.300a	1736.667a
A2	1631.333c	952.333e	2283.667a	752.97f	783.667g	1117.000e
B1	1607.000d	1658.667c	1555.333d	996.97d	1045.667d	912.667f
B2	1817.000b	2185.000a	2127.667b	914.60e	830.033f	1174.333d
C1	864.333g	956.667ee	1367.333e	1812.13a	1134.233c	1111.000e
C2	1957.333a	793.667f	1126.333g	1756.67b	845.333e	1545.333c
D	1482.000e	1215.667d	1210.000f	1357.30c	1968.067b	1602.667b

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata berdasarkan DMRT dengan taraf 5%.

A1 : Natrium Bisulfit 50 ppm perendaman selama 5 menit

A2: Natrium Bisulfit 150 ppm perendaman selama 5 menit

B1 : Asam Sitrat 50 ppm perendaman selama 10 menit

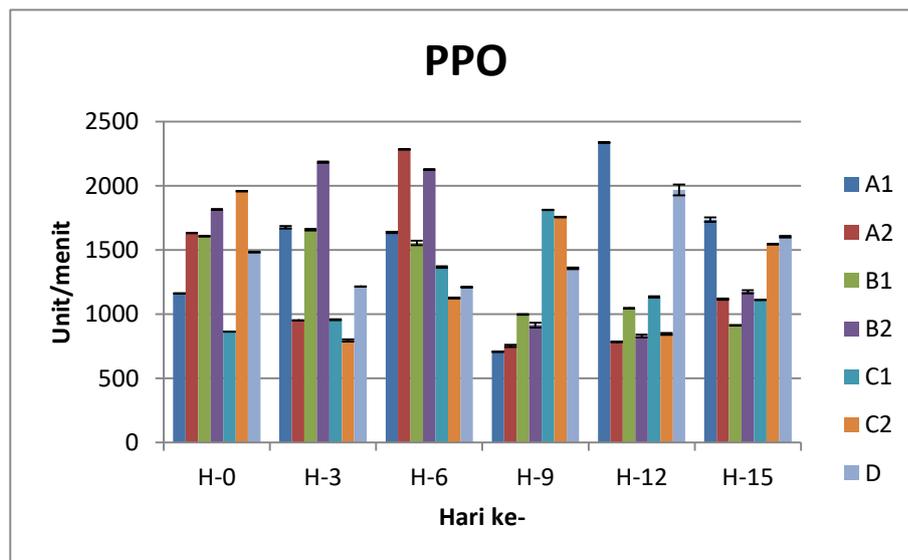
B2 : Asam Sitrat 100 ppm perendaman selama 10 menit

C1 : Arginin 50 mmol perendaman selama 10 menit
C2 : Arginin 100 mmol perendaman selama 10 menit
D : Kontrol (tanpa perlakuan)

Hasil analisis sidik ragam (Lampiran 4). menunjukkan bahwa pada pengamatan hari ke-0 sampai hari ke-15 perlakuan perendaman natrium bisulfit (50 ppm dan 100 ppm), asam sitrat (50 ppm dan 100 ppm) dan L-arginin (50 mmol dan 100 mmol) menunjukkan hasil yang signifikan pada *fresh-cut* apel Manalagi. Nilai uji aktivitas enzim *Polyphenol Oxidase* (PPO) pengamatan hari ke-0 hingga pengamatan hari ke-15 pada tabel 1. menunjukkan nilai beda nyata antar perlakuan perendaman natrium bisulfit, asam sitrat dan L-arginin terhadap hasil *fresh-cut* apel Manalagi. Hal ini menunjukkan perendaman natrium bisulfit, asam sitrat dan arginin dapat menghambat aktivitas enzim *Polyphenol Oxidase fresh-cut* apel Manalagi.

Selain itu hasil sidik ragam uji aktivitas enzim PPO pengamatan hari ke-0 hingga hari ke-15 diketahui terdapat tidak beda nyata pada perlakuan dari perendaman natrium bisulfit, asam sitrat dan L-arginin terhadap hasil *fresh-cut* apel Manalagi diduga karena adanya enzim yang menyebabkan reaksi pencoklatan menjadi lebih aktif ketika apel direndam bahan anti *browning* kemudian diangkat sehingga menyebabkan enzim yang ada dalam buah menjadi terhambat aktivitasnya karena dalam proses perendaman yang dilakukan tidak dapat bereaksi dengan oksigen. Pengaktifan enzim setelah diangkat mengalami fase lambat, sehingga enzim yang ada dalam buah menjadi lambat dalam berikatan dan beraksi dengan oksigen untuk mengubah gugus *monophenol* menjadi *O-hidroksi phenol* penyebab warna coklat pada buah sehingga menyebabkan tidak ada beda nyata.

Nilai aktivitas PPO tertinggi yaitu pada pengamatan hari ke-12 dengan perlakuan natrium bisulfit 50 ppm perendaman selama 5 menit, sementara nilai PPO terendah yaitu pada hari ke-9 perlakuan natrium bisulfit 50 ppm perendaman selama 5 menit. Perlakuan perendaman natrium bisulfit 50 ppm perendaman selama 5 menit menunjukkan rerata nilai yang efektif dibandingkan dengan perlakuan natrium bisulfit (100 dan 50 ppm), L-arginin (100 dan 50 mmol) dan tanpa perlakuan (kontrol). Perubahan aktivitas enzim PPO pada *fresh-cut* apel Manalagi setelah perendaman bahan anti *browning* dan tanpa perendaman (kontrol) disajikan dalam histogram pada gambar 6.



Gambar 6. Hasil pengujian Aktivitas Enzim Polyphenol Oksidase (PPO) pada *fresh-cut* apel Manalagi dengan berbagai perlakuan A1 Natrium Bisulfit 50 ppm, A2 Natrium Bisulfit 150 ppm, B1 Asam sitrat 50 ppm, B2 Asam sitrat 100 ppm, C1 L-arginin 50 mmol, C2 L-arginin 100 mmol, D Tanpa perlakuan (Kontrol) selama 15 hari pengamatan.

Berdasarkan hasil histogram pada gambar 6, menunjukkan nilai Uji Aktivitas Enzim *Polyphenol Oksidase* (PPO) mengalami fluktuasi pada pengamatan hari ke-0 hingga hari ke-15. Pada pengamatan hari ke-3 hingga ke-6

mengalami peningkatan, hari ke-9 mengalami penurunan hari ke-12 mengalami peningkatan dan hari ke-15 mengalami penurunan. Peningkatan aktivitas enzim *Polyphenol Oksidase* (PPO) menyebabkan terjadinya *browning* hal ini sesuai dengan total fenol pada pengamatan fenol dan indeks warna. Penurunan aktivitas Enzim *Polyphenol Oksidase* (PPO) yang disebabkan oleh perendaman natrium bisulfit berlangsung efektif untuk menghambat atau menurunkan aktivitas enzim PPO pada konsentrasi tersebut karena sulfit bersifat menghambat aktivitas enzim. Perlakuan pemotongan pada *fresh-cut* mengakibatkan meningkatnya produksi etilen luka diikuti dengan proses respirasi yang meningkat, dalam hal ini etilen luka dapat memicu berbagai proses metabolisme seperti meningkatnya aktivitas enzim peroksidase (POD), *polifenol oksidase* (PPO) dan *fenilalanin ammonia lyase* (PAL). Vallverdu-Queralt dkk (2011) menyatakan bahwa laju respirasi pada buah apel (sebagai pemicu pembentukan fenolik) akan menurun setelah masa penyimpanan kemudian akan menjadi stabil.

Pada saat terlarut natrium bisulfit akan membentuk campuran disosiasi NaHSO_3 . Sulfit terdiri dari 3 mekanisme inhibisi pencoklatan yang terdiri dari: reaksi searah PPO, reduksi *o*-quinon yang membalikkan arah reaksi enzimatik, dan pembentukan produk tambahan sulfit dan *o*-quinon sehingga mencegah reaksi pencoklatan lebih lanjut (Kuijpers *et.al.*, 2012). Produk disosiasi yang dihasilkan kemudian akan bereraksi dengan aldehid, keton, dekstrin dan senyawa lainnya (Coskun *et.al.*, 2013). Perendaman apel dengan larutan natrium bisulfit tidak menghilangkan aktivitas enzim PPO namun hanya menurunkan aktivitas enzim PPO jika dibandingkan dengan aktivitas enzim pada apel tanpa perlakuan di

waktu yang sama. Senyawa sulfit yang terkandung pada natrium bisulfit tidak secara mutlak menghentikan reaksi pencoklatan tetapi hanya memperlambat reaksi pencoklatan (Rahman, 2007). Hal ini disebabkan karena larutan bisulfit sebagai bekerja dengan cara membentuk ikatan disulfida dengan enzim PPO sehingga dapat menghambat pengikatan dengan oksigen (Candra *et.al.*, 2013). terbentuknya ikatan dengan disulfide menyebabkan aktivitas enzim menjadi menurun.

Secara umum aktifitas enzim PPO semua sample tanpa perlakuan maupun dengan perendaman bahan anti *browning* (natrium bisulfit, asam sitrat dan L-arginin) setelah penyimpanan selama satu hari mengalami penurunan aktivitas enzim yang signifikan dan non-signifikan. Setelah melewati satu hari aktivitas enzim akan mengalami penurunan secara perlahan. Perlakuan perendaman natrium bisulfit ternyata cukup efektif untuk menurunkan etilen dan juga aktivitas enzim. Hal ini dapat di mengerti karena enzim ACC oksidase memiliki sifat mudah larut dalam air, sehingga dengan terlarutnya enzim ACC-oksidase ini mampu menghambat produksi etilen luka.

Dari prosentase penurunan polifenol oksidase menunjukkan bahwa *fresh-cut* apel lebih sensitif terhadap perlakuan perendaman dalam larutan natrium bisulfit, asam sitrat dan L-arginin. Masih tingginya kadar polifenol oksidase pada irisan *fresh-cut* apel akan menyebabkan warna kecoklatan lebih besar, sehingga *fresh-cut* apel akan memiliki kecerahan (L) yang lebih rendah. Polifenol oksidase akan mengkatalis reaksi oksidasi fenol menjadi *oquinone* yang akan melakukan polimerasi spontan menghasilkan melanin yang berwarna coklat (Marshall *et.al.*,

2000). Menurut Winarno (1992), terdapat senyawa fenolik yang dapat bertindak sebagai substrat dalam reaksi pencoklatan enzimatis. Kadar polifenol oksidase pada *fresh-cut* apel dipengaruhi oleh interaksi antara varietas, ketebalan *fresh-cut* apel.

Asam sitrat memberikan efek penghambat yang rendah, karena asam sitrat menghambat dengan adanya daya pengkelat fenolase Cu. Agen Khelat seperti seperti asam askorbat, asam polikarboksilat (sitrat, malat, tartarat, oksalat dan suksinat), dan polifosfat yang memiliki kemampuan menon-aktifkan enzim melalui pengikatan terhadap ion logam pada kompleks ion-logam telah banyak diaplikasikan pada berbagai industri makanan. Enzim PPO mengandung ion tembaga pada sisi aktifnya dan penghilangan ion tembaga melalui pengikatan dengan agen khelat akan menon-aktifkan 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 aktivitas enzim PPO dan memperpanjang umur simpan '*water chestnut*' potong segar. Yurong Ma *et.al* (2010) melaporkan bahwa pemberian campuran asam sitrat+kalsium klorida+ekstrak bawang putih mampu memperpanjang umur simpan selada potong segar dengan menghambat aktivitas enzim PPO dan klorofilase.

Perombakan enzim pada perendaman asam sitrat menunjukkan lebih cepat diawal hal ini disebabkan karena asam sitrat termasuk ke dalam asidulan yang dapat bertindak sebagai penegas rasa dan warna. Asam sitrat memiliki sifat mudah rusak dan mudah teroksidasi. Oksidasinya sangat cepat bila kondisinya alkalis, pada suhu tinggi, dan terkena sinar. Pada percobaan didapatkan bahwa sampel yang telah mengalami kerusakan atau pencoklatan tidak akan balik lagi

mengalami kondisi yang lebih baik dari awal percobaan. Hal ini disebabkan karena senyawa antioksidan ini hanya bersifat mencegah atau menunda proses oksidasi, tidak memperbaiki senyawa yang telah rusak. Selain itu, asam sitrat dapat menghambat reaksi pencoklatan dengan cara menurunkan pH sehingga enzim PPO menjadi inaktif (Winarno, 2002).

Nilai enzim *polyphenol oxidase* (PPO) menunjukkan nilai cukup baik untuk menghambat aktivitas enzim *polyphenol oxidase* (PPO) dilihat juga dari nilai Fenol yang memiliki nilai cukup stabil dalam menghambat fenol. Salah satu fungsi utama dari L-arginin yaitu berperan dalam sintesis protein. L-arginin memiliki fungsi prekursor molekul NO (Nitrogen Oksidase) yang menghasilkan sinyal antar sel untuk metabolisme. Prekursor adalah senyawa yang terbentuk sebelumnya, dalam hal ini bisa dikatalis sebagai pemicu. Konversi L-arginin dibantu oleh enzim NOS sintetis dengan bantuan oksigen dan NADPH (*Nicotinamide Adenine Dinucleo Phosphate* (Morris,2007). Efek NO pada metabolisme pascapanen yang pertama ditunjukkan oleh Leshem dan Haramaty (1996) dengan menambahkan NO untuk daun kacang dan menemukan hubungan antara NO dan etilen. Sejak itu penelitian yang cukup besar pada berbagai komoditas telah menunjukkan bahwa fumigasi pascapanen dengan gas NO atau mencelupkan dalam senyawa NO-donor dapat memperpanjang penyimpanan pascapanen dengan menghambat pematangan buah klimakterik dan menghasilkan penuaan non-klimakterik dengan menunda pengembangan kerusakan dingin dan berbagai fisiologis gangguan (Wills,2015). Perendaman L-arginin menunjukkan nilai enzim PPO yang lambat pada saat awal pengamatan kemudian meningkat

perlahan sampai hari ke-15 hal ini disebabkan karena L-arginin merupakan senyawa poliamin yang dapat menstimulir aktivitas enzim PME atau Pektin Metil Esterase yang mengakibatkan terjadinya demetilasi atau pemecahan gugus metil pada senyawa pektin sehingga terdapat banyak gugus karboksil yang berikatan dengan gugus amin dari senyawa poliamin.

L-arginin sebagai prekursor dalam laju metabolisme. Prekursor adalah senyawa yang terbentuk sebelumnya, dalam hal ini bisa dikatalis sebagai pemicu. Menipisnya kadar NO sehingga tidak dapat menghambat aktivitas PPO, diduga pada perlakuan *fresh-cut* mengalami pelukaan yang mengakibatkan respirasi meningkat sehingga memicu produksi fenol. Pemberian L-arginin diduga mampu menghasilkan peningkatan NO di dalam jaringan buah dan dapat meningkatkan aktivitas NOS (*nitric oxide system*) selama penyimpanan (Wills, 2015). Meskipun belum diketahui mekanisme NO dalam menghambat pencoklatan pada permukaan buah (Wills *et.al.*,) namun menurut Leshem (2000) bahwa sifat oksidatif dalam NO merupakan faktor penting yang bertindak sebagai faktor mediasi dan NO atau produk reaksinya dapat secara oksidatif menonaktifkan faktor-faktor yang tidak aktif seperti asam askorbat dan ion *ferrous*. NO mampu untuk meningkatkan radikal bebas yang terlibat dalam proses pencoklatan sehingga mampu menghambat reaksi pencoklatan pada permukaan potongan selada. 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*). L-arginin mampu menunda pengembangan pencoklatan dan memperpanjang umur simpan

pascapanen. L-arginin memiliki mekanisme kerja yang mampu memberikan elektron pada radikal bebas sehingga senyawa menjadi stabil dan dapat dilakukan pencegahan.

Fresh-cut apel Manalagi tanpa perendaman (Kontrol) mengalami peningkatan PPO yang semakin meningkat pada hari ke-0 sampai ke-15, hal ini disebabkan karena tidak ada senyawa yang menghambat enzim PPO pada buah apel Manalagi. Pengupasan dan pemotongan buah dapat menyebabkan rusaknya jaringan sel sehingga akan memicu enzim *poliphenol oksidase* (PPO) untuk bereaksi dengan senyawa fenolik yang keluar dari vakuola yang rusak akibat adanya perlakuan pemotongan. Aktivitas enzim *polyphenol oksidase* (PPO) akan bereaksi dengan oksigen sehingga akan mengubah gugus *monophenol* menjadi o-hidroksi fenol kemudian berubah menjadi o-kuinon yang menyebabkan terjadinya pencoklatan.

D. Aktivitas Enzim Peroxidase (POD)

Luka yang dimiliki pada jaringan buah-buahan mampu meningkatkan produksi etilen yang diikuti oleh proses respirasi yang meningkat dan biasa disebut *wound respiration*. Etilen luka dapat memicu berbagai proses metabolisme ikutan, seperti peningkatan aktivitas enzim *Peroxidase* (POD) (Groschbach, 1981). Reaksi oksidasi terjadi dibawah kondisi aerobik dengan menggunakan oksigen bebas dan tanpa peroksidase eksogen (Mäder and Amberg-Fisher, 1982.). Pengujian dilakukan sebanyak 6 kali pengamatan pada hari ke-0, ke-3, ke-6, ke-9, ke-12 dan ke-15 menggunakan *spectrophotometer* dengan substrat yang digunakan yaitu *pyrocatechol*. Pengukuran *Peroxidase* (POD) pada

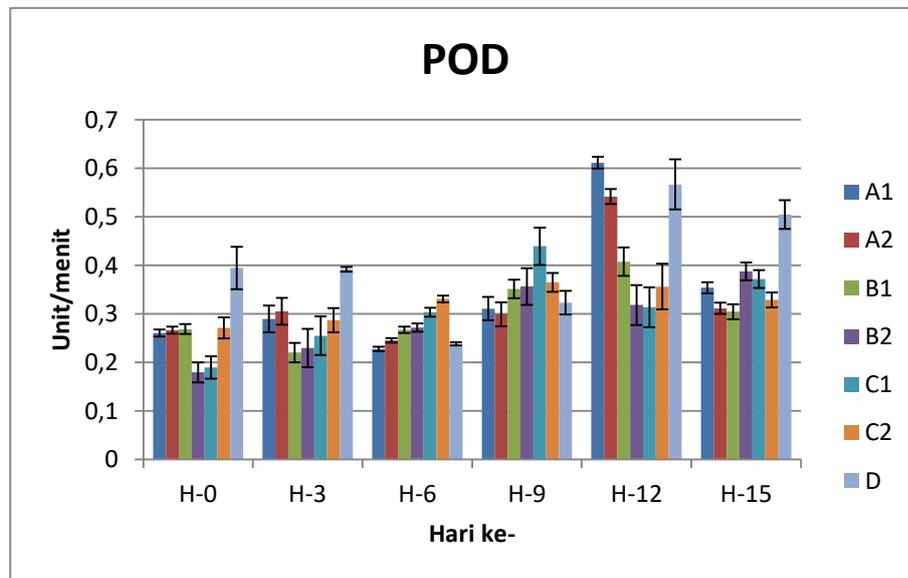
fresh-cut apel Manalagi yang telah diberi perlakuan bertujuan melihat kandungan *Peroxidase* (POD) dan efektivitas penggunaan bahan anti *browning* pada *fresh-cut* buah apel Manalagi. Adapun rerata hasil aktivitas enzim *Peroxidase* (POD) pada semua sampel apel Manalagi disajikan pada tabel 5.

Tabel 4. Rerata Uji POD *fresh-cut* yang diberikan perlakuan dan tanpa perlakuan

Perlakuan	Aktivitas Enzim <i>Peroxisidase</i> (POD) (unit) Hari ke-					
	Hari ke-0	Hari ke-3	Hari ke-6	Hari ke-9	Hari ke-12	Hari Ke-15
A1	26.80c	26.23c	22.33e	33.51d	62.22a	36.56c
A2	24.61d	34.46b	23.70d	26.15g	58.29b	33.03d
B1	31.23b	22.56e	26.40c	37.56c	45.94d	27.48e
B2	17.60f	21.26f	27.36b	30.31f	30.47f	36.36c
C1	18.26f	26.40c	26.90c	46.44a	34.49e	43.60b
C2	21.03e	23.53ad	37.53a	38.67b	25.14g	24.30f
D	39.30a	39.16a	23.80d	32.33e	56.63c	50.33a

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata berdasarkan DMRT dengan taraf 5%.

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa pencelupan *fresh-cut* apel Manalagi pada semua perlakuan dan tanpa perlakuan (kontrol) menunjukkan hasil yang signifikan (Lampiran 4). Berdasarkan hasil sidik ragam uji aktivitas enzim peroksidase (POD) pengamatan hari ke-0 hingga pengamatan hari ke-15 pada tabel 5. diketahui terdapat beda nyata antar perlakuan dari perendaman natrium bisulfit, asam sitrat dan L-arginin terhadap hasil *fresh-cut* apel Manalagi. Hal ini menunjukkan perendaman natrium bisulfit, asam sitrat dan L-arginin dapat menghambat aktivitas enzim peroksidase *fresh-cut* apel Manalagi. Aktivitas enzim POD disajikan dengan histogram pada gambar 7.



Gambar7. Hasil pengujian Aktivitas Enzim *peroxidase* (POD) pada *fresh-cut* apel Manalagi dengan berbagai perlakuan A1 Natrium Bisulfit 50 ppm, A2 Natrium Bisulfit 150 ppm, B1 Asam sitrat 50 ppm, B2 Asam sitrat 100 ppm, C1 L-arginin 50 mmol, C2 L-arginin 100 mmol, D Tanpa perlakuan (Kontrol) selama 15 hari pengamatan.

Berdasarkan histogram gambar 7, nilai aktivitas enzim *peroxidase* (POD) mengalami fluktuasi pada pengamatan hari ke-0 hingga hari ke-15. Nilai aktivitas enzim *peroxidase* (POD) tertinggi yaitu pada pengamatan hari ke-12 dengan perlakuan natrium bisulfit 50 ppm perendaman selama 5 menit, sementara nilai aktivitas enzim *peroxidase* (POD) terendah yaitu pada pengamatan asam sitrat 100 ppm perendaman selama 10 menit. Perendaman asam sitrat merupakan perlakuan yang mampu diserap oleh jaringan untuk menghambat aktivitas enzim yang dibuktikan dengan kadar aktivitas enzim yang paling rendah pada sampel dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Rendahnya perlakuan perendaman asam sitrat disebabkan karena Asam sitrat mempunyai fungsi mendenaturasi sel hal ini diduga karena banyaknya membran sel yang terdegradasi maka komponen pigmen mudah keluar dari membran sehingga akan menghasilkan rendemen yang

lebih banyak. Menurut Robinson (1991) ekstraksi senyawa golongan flavonoid disarankan dilakukan pada suasana asam, karena dapat mendenaturasi membran sel pada tanaman, serta dapat mencegah oksidasi flavonoid. Hal ini juga didukung oleh pernyataan Tensiska (2006), menunjukkan bahwa keadaan yang semakin asam mampu menyebabkan semakin banyak dinding vakuola yang akan pecah maka senyawa fenol mudah keluar dari sel sehingga menghasilkan total POD yang semakin tinggi, namun dalam pengamatan menunjukkan nilai fenol yang diperoleh cukup terhambat dengan perendaman asam sitrat sehingga tingkat *browning* yang dihasilkan kurang baik. Fenol juga mempunyai sifat asam jadi dengan penambahan asam sitrat dapat memberikan kondisi yang sesuai untuk ekstraksi fenol (Sundari, 2008). Disamping mampu menurunkan pH, asam sitrat mampu pula berperan sebagai agen khelat bagi senyawa tembaga pada sisi aktif enzim POD sehingga meningkatkan penghambatan terhadap aktivitas enzim POD.

Perendaman natrium bisulfit menyebabkan nilai POD mengalami peningkatan dan penurunan hal ini disebabkan karena natrium bisulfit berfungsi sebagai senyawa anti pencoklatan bekerja membentuk ikatan disulfide. Enzim peroksidase pada buah dan sayur merupakan enzim golongan feriprotoporfirin (protohemin) sebagai gugus prostetik, enzim yang mengandung unsur Fe dan memiliki warna coklat jika dimurnikan. Ikatan protein dapat distabilkan dengan bisulfit (Embs dan Markakis 1968 dalam deMan 1997). Senyawa sulfit membentuk kompleks dengan besi peroksidase yang dapat menstabilkan atau bahkan menurunkan aktivitas enzim sehingga reaksi pencoklatan dapat dihambat. Namun perendaman dengan natrium bisulfit pada total fenol

menunjukkan nilai yang cukup baik untuk menghambat fenol namun menunjukkan nilai yang baik dalam aktivitas *peroxidase* karena menunjukkan nilai tertinggi pada saat pengamatan, dengan demikian menunjukkan bahwa natrium bisulfit kurang efektif untuk mencegah terjadinya *browning* karena aktivitas enzim POD yang ditunjukkan memiliki nilai yang tinggi.

Pemberian konsentrasi L-arginin yang lebih tinggi mampu menurunkan total POD lebih cepat dibandingkan dengan konsentrasi yang lebih kecil. Aktivitas Peroksidase dengan perendaman L-arginin menunjukkan nilai baik diikuti dengan terjadinya fluktuasi hal ini juga dilihat dari nilai Fenol yang memiliki nilai cukup stabil dalam menghambat fenol. L-arginin memiliki fungsi prekursor molekul NO (Nitrogen Oksidase) yang menghasilkan sinyal antar sel untuk metabolisme. Prekursor adalah senyawa yang terbentuk sebelumnya, dalam hal ini bisa dikatalis sebagai pemicu Konversi L-arginin dibantu oleh enzim NOS sintetis dengan bantuan oksigen dan NADPH (*Nicotinamide Adenine Dinucleo Phosphate* (Morris,2007). Pemberian L-arginin menghasilkan peningkatan *nitrit oxide* di dalam jaringan buah Tomat setelah beberapa hari pertama penyimpanan dan dapat meningkatkan aktivitas NOS (*Nitrit oxide system*). L-arginin mampu menunda pengembangan pencoklatan dan memperpanjang umur simpan pascapanen. L-arginin memiliki mekanisme kerja yang mampu memberikan elektron pada radikal bebas sehingga senyawa menjadi stabil dan dapat dilakukan pencegahan. Semakin tinggi konsentrasi L-arginin dan lama perendaman maka konsentrasi yang tinggal dipermukaan semakin banyak (Estein,2005). Semakin besar konsentrasi adsorbat dalam larutan maka semakin

banyak jumlah substansi yang terkumpul pada permukaan adsorben. Jika hari ke 0-3 mengalami peningkatan kemudian hari ke-6-9 mengalami penurunan kemudian peningkatan lagi, hal ini disebabkan karena L-arginin menginduksi aktivitas dari kitinase, glukonase, pal dan ppo dalam buah.

Pada *fresh-cut* apel tanpa perendaman menghasilkan nilai POD yang mengalami penurunan dan peningkatan namun pada hari ke-12 nilai total fenol cenderung lebih tinggi hal ini disebabkan karena tidak ada yang menghambat aktivitas enzim pembentuk fenol sehingga nilai total fenol cenderung tinggi. Nilai fenol pada aktivitas *peroxidase* menunjukkan nilai yang cukup tinggi hal ini sesuai dengan total fenol pada pengamatan yang telah dilakukan.

Terefe *et.al.*, (2014) menyatakan bahwa terdapat korelasi antara perubahan warna coklat pada buah selama penyimpanan dengan adanya peningkatan aktivitas enzim POD. Enzim *peroxidase* merupakan kelompok enzim oksidoreduktase yang mampu mengkatalis reaksi oksidasi oleh hidrogen peroksida (H_2O_2) dari sejumlah substrat yang merupakan donor hidrogen seperti fenol. Oksidasi fenolat oleh enzim *peroxidase* dengan substrat H_2O_2 menghasilkan reaksi kopling oksidatif, sehingga terbentuk polimer fenolik. Oksidasi yang dilakukan oleh enzim *peroxidase* terhadap senyawa fenolik menyebabkan terbentuknya suatu radikal fenoksi, dimana radikal ini mampu melakukan resonansi dengan posisi orto dan para pada cincin aromatiknya dan selanjutnya akan bergabung dengan radikal fenoksi yang lain membentuk senyawa folifenol.

Selain pengaruh ikatan antar senyawa bahan anti *browning* dengan enzim, penurunan aktivitas enzim ini berhubungan langsung dengan ketersediaan substrat, yaitu senyawa fenol karena ketersediaan substrat berbanding lurus dengan aktivitas enzim. Menurut hasil penelitian Zufahair dan Santi (2008), ketika konsentrasi substrat kecil maka kecepatan reaksi enzim kecil dan saat konsentrasi substrat besar maka akan semakin banyak konsentrasi substrat yang berhubungan dengan sisi aktif enzim. Pada beberapa gambar fenol (gambar 5) yang menunjukkan nilai yang berbanding lurus dengan aktivitas enzim POD hal ini mengindikasikan bahwa ada korelasi antara aktivitas enzim POD dengan total fenol, karena jenis substrat merupakan komponen inti yang mempengaruhi aktivitas enzim tersebut. Diduga jenis substrat spesifik untuk enzim POD ketersediaannya dalam jumlah yang lebih sedikit dibandingkan dengan substrat lainnya. Menurut Gardjito (2014), enzim memiliki spesialis enzim, yaitu kemampuannya suatu enzim untuk membedakan substratnya berdasarkan perbedaan substrat-substratnya untuk dapat mengaktifkan enzim.

E. Total Antioksidan

Adanya aktivitas antioksidan menyebabkan perubahan warna sampel pada larutan DPPH yang awalnya berwarna ungu pekat menjadi kuning (Andayani dkk., 2008). Senyawa antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron yang memiliki berat molekul kecil, namun mampu menginaktivasi berkembangnya radikal bebas melalui reaksi oksidasi (Riyan, 2012). Antioksidan adalah suatu senyawa yang pada konsentrasi rendah secara signifikan dapat menghambat atau mencegah oksidasi substrat dalam reaksi rantai (Halliwell dan Whitemann, 2004;

Leong dan Shui, 2002 dalam Maria dan Herry, 2014). Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa pencelupan *fresh-cut* apel Manalagi perlakuan perendaman bahan anti *browning* dan tanpa perendaman (kontrol) menunjukkan hasil yang signifikan terhadap *Total Antioxidant Activity* (TAA) *fresh-cut* apel Manalagi pada pengamatan hari ke-0 hingga hari ke-15 (Lampiran 4). Adapun rerata hasil uji TAA pada *fresh-cut* apel Manalagi yang telah diberi perlakuan perendaman bahan anti *browning* dan tanpa perendaman (kontrol) disajikan pada tabel 6.

Tabel 5. Rerata Uji TAA *fresh-cut* yang diberikan perlakuan dan tanpa perlakuan selama 15 hari pengamatan

Perlakuan	Uji Aktivitas Total Antioksidan (TAA) (%) Hari ke-					
	Hari ke-0	Hari ke-3	Hari ke-6	Hari ke-9	Hari ke-12	Hari Ke-15
A1	0.793000e	0.770418e	0.843182b	0.804291c	0.743445f	0.795509c
A2	0.843182b	0.839418b	0.801781d	0.786852d	0.816711b	0.825618b
B1	0.831891c	0.862000a	0.767909f	0.648727f	0.799900c	0.782963d
B2	0.836909bc	0.811818c	0.780454e	0.860494a	0.776063d	0.820600b
C1	0.815581d	0.766027e	0.815581c	0.665161e	0.779451d	0.867645a
C2	0.839418bc	0.787981d	0.732781g	0.780078d	0.907665a	0.867018a
D	0.860745a	0.800527cd	0.872036a	0.819721b	0.757370e	0.755363e

Keterangan: angka yang diikuti angka yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata berdasarkan DMRT dengan taraf 5%.

A1 : Natrium Bisulfit 50 ppm perendaman selama 5 menit

A2: Natrium Bisulfit 150 ppm perendaman selama 5 menit

B1 : Asam Sitrat 50 ppm perendaman selama 10 menit

B2 : Asam Sitrat 100 ppm perendaman selama 10 menit

C1 : Arginin 50 mmol perendaman selama 10 menits

C2 : Arginin 100 mmol perendaman selama 10 menit

D : Kontrol (tanpa perlakuan)

Berdasarkan hasil sidik ragam pada tabel 6. menunjukkan aktivitas antioksidan *fresh-cut* apel Manalagi menunjukkan hasil yang berbeda nyata dan tidak beda nyata antar perlakuan. Perendaman yang menunjukkan beda nyata menunjukkan bahwa adanya pengaruh perendaman bahan anti *browning* dapat

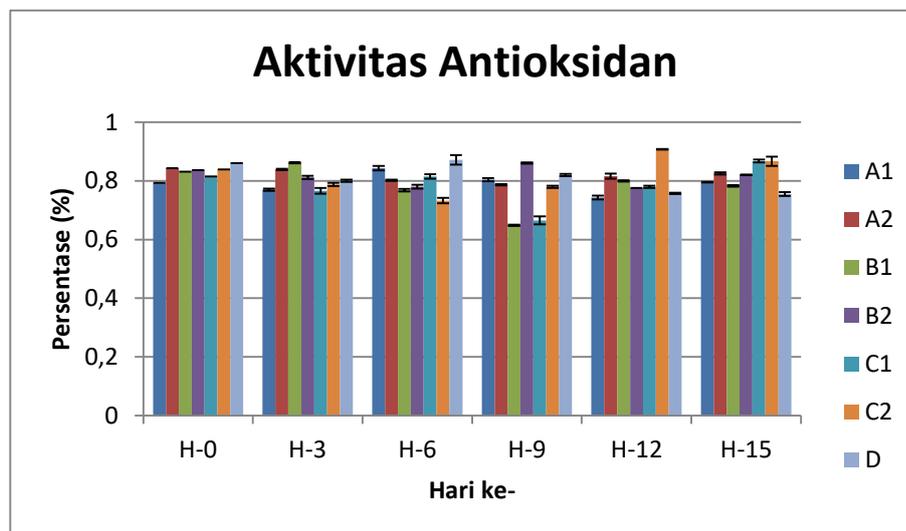
menghambat laju fenol sehingga menyebabkan total antioksidan menjadi ikut terhambat pada *fresh-cut* buah apel. Hasil sidik ragam tabel 6. menunjukkan nilai tidak beda nyata menunjukkan bahwa penambahan larutan asam sitrat 100 ppm , L-arginin 100 mmol, Kontrol (tanpa perlakuan), natrium bisulfit 50 ppm, natrium bisulfit 150 ppm tidak terlalu mempengaruhi nilai fenol sehingga tidak berpengaruh juga total antioksidan pada *fresh-cut* apel. Selain itu hasil sidik ragam yang menunjukkan tidak beda nyata diduga karena adanya aktivitas enzim lebih aktif yang menyebabkan terjadinya reaksi pencoklatan saat apel direndam menggunakan bahan anti *browning*. Tidak beda nyata yang terjadi diduga karena jumlah senyawa struktural yang telah teurai secara optimal saat perendaman, sehingga akan menjadi bertambahnya jumlah senyawa yang tidak terurai. Besar konsentrasi yang sama menyebabkan hasil aktivitas oksidan yang sama, hal ini sesuai dengan pendapat Trisanto *et.al.*, (2014); dan Moltneux (2004) menyebutkan bahwa salah satu faktor yang mempengaruhi besarnya aktivitas antioksidan yaitu senyawa penyusun bahan itu sendiri.

Dari tabel 6 dapat dilihat bahwa nilai total antioksidan tertinggi hari ke-12 tertinggi yaitu pada L-arginin 100 mmol perendaman selama 10 menit, sementara nilai total antioksidan terendah Pada hari ke-6 yaitu pada perendaman L-arginin 100 mmol perendaman selama 10 menit. Perendaman dengan L-arginin menunjukkan nilai tertinggi dan terendah hal ini disebabkan oleh nilai total fenol yang menunjukkan nilai fenol tertinggi dan terendah yaitu pada perendaman arginin. Tingginya aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa nilai aktivitas antioksidan yang dihasilkan tinggi hal ini sejalan dengan pengamatan warna dan

fenol yang menunjukkan bahwa perendaman dengan L-arginin menunjukkan nilai fenol yang baik sehingga proses pencoklatan yang terjadi menjadi terhambat (cenderung cerah) dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Menurut Firdaus (2011), fenol merupakan senyawa yang memiliki gugus hidroksi dan berkemampuan mendonorkan hidrogennya sehingga terstabilkan oleh resonansi yang terdapat pada struktur fenolik, sehingga senyawa ini dapat berfungsi sebagai antioksidan.

Meningkatnya aktivitas antioksidan disebabkan karena perombakan senyawa kompleks menjadi asam laktat dengan bantuan bakteri asam laktat yang bersifat sinergi memberikan elektron pada radikal bebas (Primurdia *et. al.*, 2014; Nahariah *et.al.*, 2015). Perendaman asam sitrat 50 ppm perendaman 10 menit menunjukkan nilai total antioksidan yang cukup tinggi sementara asam sitrat 100 ppm cenderung rendah jika dibandingkan dengan larutan yang lainnya (natrium bisulfit 100ppm) dan tanpa perlakuan (kontrol). Asam sitrat dapat menginaktifkan beberapa enzim dan mengikat elemen dalam larutan mikroelemen. Asam sitrat juga dapat membentuk kompleks dengan logam. Menurut Anwar (1988) dalam Indasah (2007), asam sitrat merupakan *food* aditif yang bersifat mengikat logam (*chelating agent*) sehingga dapat membebaskan bahan makanan dari cemaran logam. Selain sebagai *chelating agent*, asam sitrat juga dapat meningkatkan efisiensi dan antioksidan yang dapat berperan dalam menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat logam (Gordon, 1990). Semakin besar nilai konsentrasi antioksidan menyebabkan aktivitas antioksidan yang semakin kecil. Antioksidan merupakan senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron

pada radikal bebas sehingga dapat diredam (Tristante, dkk. (2014) dan Molyneux, 2004). Asam sitrat mampu mencegah kerusakan antioksidan selama penyimpanan. Asam sitrat memiliki kemampuan sebagai *chelating agent* atau agen pengkelat dan menurunkan pH sehingga menghasilkan H⁺ yang lebih banyak dan meregenerasi senyawa antioksidan dengan berikatan radikal fenoksi untuk membentuk senyawa antioksidan kembali (Shinde *et.al.*, 2011). Sampel *fresh-cut* apel dengan perlakuan kontrol memiliki rata-rata aktivitas antioksidan terendah. Adapun total antiooksidan ditunjukkan pada historam (gambar 8).



Gambar 8. Hasil pengujian Aktivitas TAA pada *fresh-cut* apel Manalagi dengan berbagai perlakuan A1 Natrium Bisulfit 50 ppm, A2 Natrium Bisulfit 150 ppm, B1 Asam sitrat 50 ppm, B2 Asam sitrat 100 ppm, C1 L-arginin 50 mmol, C2 L-arginin 100 mmol, D Tanpa perlakuan (Kontrol) selama 15 hari pengamatan.

Berdasarkan hasil histogram pada gambar 8. menunjukkan bahwa rerata total antioksidan pada *fresh-cut* apel seluruh perlakuan dan tanpa perlakuan mengalami naik turun setiap harinya namun cenderung stabil. Hal ini menunjukkan bahwa semakin lama waktu penyimpanan *fresh-cut* apel maka indeks warna yang ditunjukkan akan semakin gelap atau kecoklatan. Peningkatan

kandungan total fenolik menyebabkan aktivitas antioksidan menjadi lebih tinggi. Aktivitas antioksidan tidak hanya dipengaruhi oleh kandungan total fenolik tetapi terdapat senyawa lainnya yaitu adanya karetonoid, klorofil, dan flavonoid yang dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan (Diachanty *et.al.*,2017). Peningkatan diduga karena adanya perombakan senyawa-senyawa struktural (karbohidrat, protein dan lemak) menjadi lebih sederhana. Perombakan protein menjadi senyawa-senyawa peptida menunjukkan adanya peningkatan aktivitas antioksidan (Bertrand *et.al.*, 2011; Nahariah *et.al.*,2014). Selain itu meningkatnya aktivitas antioksidan dapat terjadi ketika terjadinya perombakan senyawa kompleks menjadi asam laktat oleh bakteri asam laktat yang bersifat sinergesis dengan memberikan elektron pada radikal bebas (Primurdia *et.al.*, 2014; Nahariah *et.al.*, 2015).

Penurunan nilai TAA pada *fresh-cut* dengan perendaman bahan anti *browning* diduga karena adanya peningkatan aktivitas antioksidan, hal ini sesuai dengan pendapat Winarno (2002) menunjukkan bahwa kecepatan oksidasi sesuai dengan jenis asam lemak, antioksidan, prooksidan (katalis) dan faktor lainnya. Meningkatnya aktivitas antioksidan menyebabkan konsentrasi antioksidan menjadi menurun hal ini sesuai dengan bertambahnya lama fermentasi. Tristante, dkk. (2014); dan Molyneux (2004) menyatakan bahwa semakin besar konsentrasi antioksidan mengakibatkan aktivitas antioksidan semakin kecil. Besarnya konsentrasi antioksidan berpengaruh terhadap laju oksidasi. Pada konsentrasi tinggi, aktivitas antioksidan fenolik sering hilang bahkan antioksidan tersebut menjadi prooksidan (Anggraini, 2007).

Menurunnya aktivitas antioksidan diduga terjadi karena adanya interaksi antara dan protein sehingga mendeaktifkan gugus fungsi tanin yang berpotensi antioksidan. Antioksidan dapat menghambat radikal bebas seperti spesies oksigen reaktif yang dapat merusak DNA, RNA, modifikasi protein, dan peroksidasi lipid seluler (Andarwulan dkk., 2010). Hasil penelitian menunjukkan pola peningkatan aktivitas antioksidan dan total fenol hampir mirip pada setiap perlakuan, meskipun berbeda titik tertingginya. Secara keseluruhan, baik pada jenis ungu muda maupun jenis ungu pekat, penurunan aktivitas antioksidan sebanding dengan penurunan kandungan antosianin dari tiap jenis *fresh-cut*.

Perendaman dengan natrium bisulfit menunjukkan fluktuasi yang cenderung stabil hal ini dilihat dari aktivitas fenol pada pengamatan yang menunjukkan bahwa perendaman natrium bisulfit cukup baik dalam menghambat fenol yang menyebabkan indeks pencoklatan yang cenderung baik pada pengamatan warna, dengan demikian indeks warna yang ditunjukkan cukup cerah.