

Uji Penghambatan Reaksi Pencoklatan pada Buah Apel Potong oleh Asam Hypoiodous (HIO) Berdasarkan Deteksi Perubahan Warna

Inhibition Test of Browning Reaction in Apple by Hypoiodous Acid (HIO) Based on Color Change Detection

Maulana Yusuf¹, Anang Muhammad Legowo¹ dan Ahmad Ni'matullah Al-Baarri^{1,2*}

¹Program Studi Teknologi Pangan, Departemen Pertanian, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang

²Laboratorium Teknologi Pangan, UPT Laboratorium Terpadu, Universitas Diponegoro, Semarang

*Korespondensi dengan penulis (albari@undip.ac.id)

Artikel ini dikirim pada tanggal 21 Mei 2018 dan dinyatakan diterima tanggal 25 Agustus 2024. Artikel ini juga dipublikasi secara online melalui www.ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/tekpangan. eISSN 2597-9892. Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang diperbanyak untuk tujuan komersial

Abstrak

Reaksi pencoklatan enzimatis pada buah merupakan reaksi yang terjadi karena adanya oksidasi fenol yang melibatkan enzim polifenol oksidase (PPO). Pencegahan reaksi pencoklatan dapat dilakukan dengan menghambat aktivitas PPO, salah satu alternatifnya adalah dengan menggunakan asam hypoiodous (HIO). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan HIO dalam menghambat reaksi pencoklatan berdasarkan pada perubahan warna pada buah apel. Perubahan warna dianalisis dengan mengamati perubahan warna berdasarkan nilai L^* . Hasil penelitian yang diperoleh adalah HIO menghambat proses pencoklatan enzimatis pada buah apel dengan menghasilkan tiga kurva *Michaelis-Menten* serta memiliki nilai V_{max} , V_{max}' , V_{max}'' , K_m , K_m' , K_m'' dan K_i masing-masing sebesar 6,05; 5,60; 5,25; 3,05; 2,80; 2,61; dan 0,659. Simpulan dari penelitian ini yaitu HIO terbukti menghambat proses pencoklatan enzimatis pada buah apel dengan tipe non-kompetitif.

Kata kunci: Apel, HIO, pencoklatan enzimatis.

Abstract

Reaction of enzymatic browning in fruit is a reaction that occurs due to the oxidation of phenol and involves the enzyme polyphenol oxidase (PPO). Prevention of browning reactions can be done by inhibiting PPO activity, one of alternative is to use hypoiodous acid (HIO). The purpose of this study was to determine the ability of HIO to inhibit the browning reaction and to know the mechanism inhibition type based on the color change in apples. The color change was analyzed by observing the color change based on the L^ value. The result of this research is HIO proven to inhibit enzymatic browning process on apple fruit by yielding three Michaelis-Menten curves and has V_{max} , V_{max}' , V_{max}'' , K_m , K_m' , K_m'' and K_i values respectively of 6,05; 5,60; 5,25; 3,05; 2,80; 2,61; and 0.659. In conclusion, HIO can inhibit the process of browning apple with non-competitive inhibition type.*

Keywords : Apple, enzymatic browning, HIO.

Pendahuluan

Buah apel merupakan salah satu buah yang paling populer karena memiliki potensi sebagai sumber antioksidan (Eissa *et al.*, 2006; Adyanthaya *et al.*, 2008). Selain itu apel banyak mengandung vitamin dan mineral esensial bagi manusia seperti vitamin A, B1, C, dan beberapa jenis mineral seperti kalsium, fosfor, dan zat besi (Gebhardt *et al.*, 2002). Buah apel juga memiliki kandungan fenolik yang tinggi (Sun *et al.*, 2002) dan berpotensi sebagai anti diabetes (Adyanthaya *et al.*, 2009).

Reaksi pencoklatan pada buah merupakan reaksi yang lazim terjadi pada buah khususnya apel (Valentines *et al.*, 2005) yang terjadi karena adanya oksidasi fenol secara enzimatis (Manzocco *et al.*, 2001) dan melibatkan enzim *polyphenol oxidase* (PPO) (Eissa *et al.*, 2006) dengan substrat polifenol seperti katekin, asam kafeat, pirokatekol/katekol dan asam klorogenat (Garcia dan Barret, 2002). Reaksi ini dapat mengubah sifat sensorik, mengurangi kualitas nutrisi (Cortez-Vega *et al.*, 2008), dan mengurangi tingkat penerimaan konsumen (Queiroz, *et al.*, 2011; Purwanto dan Effendi, 2016). Warna coklat yang ditimbulkan dari reaksi pencoklatan enzimatis ini terjadi karena munculnya senyawa kuinon (Cheng dan Crisosto, 2005; Aprillia dan Susanto, 2014).

Metode inaktivasi PPO guna menghambat reaksi pencoklatan dapat dilakukan melalui proses termal namun hal tersebut dapat menyebabkan pelunakan jaringan (Tortoe *et al.*, 2007). Penggunaan modifikasi atmosfer kemasan juga dapat digunakan untuk pencegahan reaksi pencoklatan (Ghidelli *et al.* 2013). Metode kimia dengan menggunakan asam askorbat, sistein, asam sitrat, natrium klorida, dan asam benzoat juga berpotensi untuk dilakukan tetapi dapat menimbulkan dampak negatif pada rasa (Altunkaya dan Gokmen, 2009; Husaini *et al.*, 2007). Hingga saat ini, penelitian guna mencegah reaksi pencoklatan yang tidak menimbulkan dampak negatif pada buah apel terus dilakukan. Mekanisme kerja dalam menghambat reaksi pencoklatan juga perlu terus dilakukan agar dapat menentukan jenis penghambat yang tepat untuk mencapai hasil yang optimal.

HIO merupakan senyawa asam lemah yang terbentuk dari reaksi H_2O_2 dan KIO yang dibantu dengan enzim peroksidase yang berfungsi sebagai katalisator (Bafort *et al.*, 2014) dan menghasilkan senyawa *hypoiodite* (OI) atau asam HIO (Isobe *et al.*, 2011). Enzim peroksidase dinilai dapat mengkatalis H_2O_2 menjadi H_2O dan O^- (Veitch, 2004) dan dapat diperoleh dari tanaman (Pandey dan Dwivedi, 2011). Selain HIO, reaksi enzimatis dengan menggunakan peroksidase, juga telah dilakukan untuk menghasilkan senyawa antibakteri seperti HOSCN (Al-Baarri, 2010).

Sampai saat ini belum ada penelitian yang berfokus pada studi tentang kemampuan penghambatan reaksi pencoklatan terutama pada buah apel dengan menggunakan HIO. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan HIO dalam menghambat reaksi pencoklatan berdasarkan pada perubahan warna. Manfaat dari penelitian ini adalah mengetahui informasi kemampuan penghambatan reaksi pencoklatan HIO.

Materi dan Metode

Penelitian dilaksanakan pada bulan November 2017 hingga bulan Januari 2018 di UPT Laboratorium Terpadu, Universitas Diponegoro, Semarang.

Materi

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah apel *Red Delicious* yang diperoleh dari pasar modern di daerah Tembalang, Semarang. HIO diperoleh dari reaksi antara H_2O_2 (Merck, Germany) dan KI (Merck, Germany) serta dikatalis dengan *Horseradish peroxidase* (EC 1.11.1.7) (Sigma, Germany, Lot No.K48238016). Alat yang digunakan adalah gelas ukur, gelas beker, pisau (*stainless steel*), *micro tube*, *vortex* (Scilogex MX-5), *software Apple Digital Colorimeter* (US).

Metode

Preparasi Buah Apel

Prosedur persiapan buah apel mengacu pada metode Lu *et al.* (2009). Buah apel dibersihkan dari kulitnya dengan menggunakan pisau *stainless steel*. Proses pengupasan dilakukan dengan melapisi tangan menggunakan sarung tangan lateks untuk mencegah kontak langsung dengan buah. Buah apel yang telah dikupas kemudian dipotong dengan ukuran 1,0 x 1,0 x 0,5 cm. Buah apel yang telah dipotong selanjutnya disiapkan untuk tahap perendaman dan analisis perubahan warna L^* .

Pembuatan Larutan HIO dan Larutan Pembanding

Prosedur pembuatan larutan HIO dilakukan mengacu pada metode Bafort *et al.* (2014). Proses pembuatan dua jenis konsentrasi larutan HIO dilakukan dengan mereaksikan H_2O_2 , KIO_3 dengan total konsentrasi sama yaitu 0,09 mM dan 0,068 mM kemudian masing-masing konsentrasi diberi enzim peroksidase sebanyak 20 U/ml. Larutan yang terdiri dari substrat H_2O_2 dan KIO_3 masing-masing sebanyak 0,09 mM disebut sebagai HIO 0,09 dan larutan dengan substrat H_2O_2 dan KIO_3 masing-masing sebanyak 0,068 mM selanjutnya disebut HIO 0,068. Larutan dengan menggunakan substrat ini maksimal menghasilkan HIO yang hanya menyisakan 17% substrat (data tidak ditampilkan). Aquades steril digunakan untuk pembanding yang kemudian disebut HIO 0. Larutan 0,1 M NaCl juga digunakan sebagai tambahan penjelasan terhadap kemampuan HIO dalam upaya menghambat reaksi pencoklatan. Proses pembuatan larutan NaCl 0,1 M dilakukan dengan melarutkan 58,5 mg NaCl dalam 10 ml aquades. Sebelum digunakan, semua larutan disaring dengan menggunakan *syringe filter* (dengan ukuran pori sebesar 0,22 μm) dan dilakukan secara aseptis.

Perendaman Buah Apel

Prosedur perendaman buah apel dilakukan mengacu pada metode Lu *et al.* (2006). Potongan buah apel yang telah disiapkan direndam dalam 1 ml larutan HIO 0, HIO 0,068, HIO 0,09, dan NaCl 0,1 M selama 10 menit pada suhu ruang. Potongan yang telah direndam selanjutnya dipisahkan dari larutan kemudian dianalisis perubahan warnanya setiap 1 jam dari jam ke-0 hingga jam ke-6 menggunakan *digital colorimeter* (Macintosh, US).

Pengujian Nilai L^*

Pengujian nilai L^* dilakukan mengacu pada metode Quevedo *et al.* (2009). Sampel yang telah direndam dan dibiarkan di ruangan terbuka kemudian diuji nilai L^* dari jam ke-0 hingga jam ke-6. Pengujian menggunakan metode $CIE L^*$, a^* , b^* dan diambil data pada 3 titik dari setiap sampel.

Pengolahan dan Analisis Data

Data hasil uji warna yang diperoleh dari 3 kali pengulangan, ditabulasi menggunakan *Microsoft Excel 2010* dengan dihitung rata-rata nilai L^* , standar deviasi dan disajikan dalam bentuk tabel.

Hasil dan Pembahasan

Pengujian perubahan warna dapat digunakan untuk mendeteksi perubahan kualitas bahan pangan (Leon *et al.*, 2006). Perubahan nilai L^* pada sampel HIO 0 jam pertama mencapai 1,776 sedangkan pada HIO 0,068 dan 0,09 serta NaCl 0,1 menunjukkan perubahan yang lebih kecil, yaitu sebesar 1,677; 1,556; dan 1,442. Hal ini menunjukkan adanya penghambatan reaksi pencoklatan pada buah oleh adanya inhibitor (Altunkaya dan Gokmen, 2008). Warna coklat merupakan indikator atas perubahan tyrosinase menjadi L-dopa yang kemudian merubah L-dopa tersebut menjadi dopa sehingga akan membentuk polimer quinon yang berwarna coklat (Lu *et al.*, 2006; Arslan *et al.*, 2004). Pembentukan warna coklat memiliki korelasi erat dengan aktivitas penghambatan enzim (dalam hal ini adalah PPO) sehingga indikator coklat juga dapat digunakan sebagai indikator penghambatan enzim dalam reaksi pencoklatan buah. Berdasarkan nilai awal dan nilai akhir, maka HIO 0,068 dan 0,09 berhasil menghambat reaksi pencoklatan sebesar 7,03% dan 14,28 %, sedangkan NaCl 0,1 dapat menghambat 24,75% yang artinya penghambatan reaksi pencoklatan oleh HIO dinilai sebanding dengan NaCl pada konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini. Perubahan nilai L dapat dilihat pada Tabel 1.

Berdasarkan hasil pada Tabel 1, selisih nilai L^* selama 6 jam pada larutan HIO 0 adalah sebesar 6,225 sedangkan HIO 0,068; 0,09 dan NaCl 0,1 berturut-turut sebesar 5,787; 5,335; dan 5,004. Semakin besar penurunan nilai L maka semakin banyak reaksi *browning* yang terjadi (Quevedo *et al.*, 2009). NaCl terbukti mempunyai selisih terkecil diantara perlakuan lainnya yang membuktikan bahwa NaCl dapat menghambat reaksi pencoklatan. Hal ini dapat terjadi karena NaCl mampu menginaktivasi PPO dan mendegradasi oksidatif senyawa fenol (He *et al.*, 2008)

Tabel 1. Perubahan Nilai L* pada Buah Apel yang Direndam dengan HIO dan NaCl

Waktu (jam)	Variasi Larutan Rendaman pada Buah Apel			
	HIO 0	HIO 0,068	HIO 0,09	NaCl 0,1
0	78,40 ± 0,93	82,45 ± 1,43	85,10 ± 1,17	84,33 ± 0,59
1	76,63 ± 0,92	80,78 ± 1,52	83,54 ± 1,36	82,89 ± 0,44
2	75,10 ± 0,82	79,46 ± 1,04	82,34 ± 0,85	81,78 ± 0,76
3	74,18 ± 0,60	78,55 ± 0,60	81,43 ± 0,94	80,78 ± 0,40
4	73,31 ± 0,33	77,69 ± 0,49	80,57 ± 0,51	80,31 ± 0,68
5	72,73 ± 0,31	77,12 ± 0,31	79,95 ± 0,43	79,72 ± 0,57
6	72,18 ± 0,35	76,67 ± 0,43	79,76 ± 0,43	79,32 ± 0,40

Kesimpulan

Asam hipiodous (HIO) dapat menghambat pencokelatan enzimatis yang disebabkan oleh enzim polifenol oksidase (PPO) pada buah apel. Peningkatan kemampuan penghambatan terjadi seiring dengan peningkatan konsentrasi HIO.

Daftar Pustaka

- Adyanthaya, I., Y. I. Kwon, E. Apostolidis, and K. Shetty. 2008. Health benefits of apple phenolics from postharvest stages for potential type 2 diabetes management using *in vitro* models. *J. of Food Biochemistry* 34: 31-49. DOI: 10.1111/j.1745-4514.2009.00257.x
- Adyanthaya, I., Y. I. Kwon, E. Apostolidis, and K. Shetty. 2009. Apple post-harvest preservation linked to phenolics and SOD activity. *J. of Food Biochemistry*. 33: 535–556. DOI: 10.1111/j.1745-4514.2009.00236.x
- Al-Baarri A. N., M. Ogawa., and S. Hayakawa. 2010. Application of lactoperoxidase system using bovine whey and the effect of storage condition on lactoperoxidase activity. *International J. of Dairy Science*. 2011; 6:72–78. DOI: 10.3923/ijds.2011.72.78
- Altunkaya, A. and V. Gokmen. 2008. Effect of various inhibitors on enzymatic browning, antioxidant activity and total phenol content of fresh lettuce (*lactuca sativa*). *J. of Food Chemistry* 107: 1173-1179. DOI: 10.1016/j.foodchem.2007.09.046
- Aprillia, Dhita, dan W. H. Susanto. 2014. Pembuatan sari apel (*malus sylvestris mill*) dengan ekstraksi metode osmosis (kajian varietas apel dan lama osmosis). *J. Pangan dan Agroindustri* 1(2) :86-96.
- Arslan, O., M. Erzengin, S. Sinan, and O. Ozenzoy. 2004. Purification of mulberry (*Morus alba L.*) polyphenol oxidase by affinity chromatography and investigation of its kinetic and electrophoretic properties. *Food Chemistry* 88: 479-484. DOI: 10.1016/j.foodchem.2004.04.005.
- Bafort, F., O. Parisi, J. P. Perraudin, and M. H. Jijakli. 2014. Mode of action of lactoperoxidase as related to its antimicrobial activity: a review. *Enzyme Research*. 14: 1–13. DOI: 10.1155/2014/517164.
- Cheng, G.W, and C. G. Crisosto. (2005): Browning potential, phenolic composition, and polyphenoloxidase activity of buffer extracts of peach and nectarine skin tissue. *J. Amer. Soc. Horts. Sct.* 120 (5):835-838
- Cortez-Vega, W. R., Becerra-Prado, A. M., Soares, J. M., and Fonscca, G. G. 2008. Effect of L-ascorbic acid and sodium metabisulfite in the inhibition of the enzymatic browning of minimally processed apple, *International J. of Agricultural Research*, 3 (3), 196-201. ISSN: 1816-4897.
- Eissa, H.A., H. H. M. Fadel, G. E. Ibrahim, I. M. Hassan, and A. A. Elrashid. 2006. Thiol containing compounds as controlling agents of enzymatic browning in some apple products. *Food Research International* 39: 855-863. DOI: 10.1016/j.foodres.2006.04.004.
- Garcia, E., and Barret, D. M. 2002. *Preservative Treatments for Fresh-Cut Fruits and Vegetables*. California: Dept. of Food Science and Technology.
- Ghidelli, C., C. R. Argudo, M. Mateos, M. B. P. Gago. 2013. Effect of antioxidants in controlling enzymatic browning of minimally processed persimmon *Rojo brillante*. *Postharvest Biology and Technology* 86: 487-493. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2013.07.034.
- He, Q., Y. Luo, and P. Chen. 2008. Elucidation of the mechanism of enzymatic browning inhibition by sodium chlorite. *Food Chemistry* 110: 847-851. doi:10.1016/j.foodchem.2008.02.070
- Husaini, O., Zulkifli, M. L. Lande, dan E. Nurcahyani. 2017. Karakteristi bahan anti browning dari ekstrak air buah jambu batu (*Psidium gujava Linn*) pada buah apel malang (*Malus sylvestris(L.)Mill*). *J. Penelitian Pertanian Terapan*. 17(2): 85-92. DOI: 10.25181/jppt.v17i2.285.
- Isobe, N., H. Kubota, A. Yamasaki and Y. Yoshimura. 2011. Lactoperoxidase activity in milk is correlated with somatic cell count in dairy cows. *J. of Dairy Science*. 94 (8): 3868–3874.

- Leon, K., D. Mery, F. Pedreschi, and J. Leon. 2006. Color measurement in L*a*b* units from RGB digital images. *Food Research International* 39: 1084-1091. DOI:10.1016/j.foodres.2006.03.006.
- Lu, S., Y. Luo, E. Turner, and H. Feng. 2006. Efficacy of sodium chlorite as an inhibitor of enzymatic browning in apple slices. *Food Chemistry* 104: 824–829. DOI: 10.1016/j.foodchem.2006.12.050.
- Manzocco, L., S. Calligaris, D. Mastrocola, M. C. Nicoli, and C. R. Lerici. 2001. Review of non-enzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods. *Trends in Food Science and Technology* 11 : 340-346. DOI: 10.1016/S0924-2244(01)00014-0
- Pandey, V. P. and, Dwivedi, U. N., 2011. Purification and characterization of peroxidase from *Leucaena leucocephala*, a tree legume. *J. Mol. Catal. B Enzymatic* 68: 168–173.
- Queiroz, C., A. J. R. D. Silva, and M. L. M. Lopes. 2011. Polyphenol oxidase activity, phenolic acid composition and browning in cashew apple (*Anacardium occidentale*, L.) after processing. *Food Chemistry* 125: 128-132. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.08.048.
- Quevedo, R., M. Jaramillo, O. Diaz, F. Pedreschi, and J. M. Aguilera. 2009. Quantification of enzymatic browning in apple slices applying the fractal texture fourier image. *J. Food of Engineering* 95: 285-290. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2009.05.007
- Sun, J., Y. F. Chu, X. Wu., and R. H. Liu. 2002. Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. *J. Agricultural and Food Chemistry* 50: 7449-7454. DOI: 10.1021/jf0207530
- Tortoe, C., J. Orchard, and A. Beezer. 2007. Prevention of enzymatic browning of apple cylinders using different solutions. *J. of Food Science and Technology*. 42: 1475-1481. DOI: :10.1111/j.1365-2621.2006.01367.x
- Valentines, M.C., R. Vilaplana, R. Torres, J. Usall, and C. Larrigaudiere. 2005. Specific roles of enzymatic browning and lignification in apple disease resistance. *Postharvest and Technology* 36: 227-234. DOI : 10.1016/j.postharvbio.2005.01.002
- Veitch, N. C. 2004. Horseradish peroxidase: a modern view of a classic enzyme. *Phytochemistry* 65: 249–259. DOI:10.1016/j.phytochem.2003.10.022