



Penghambatan *Browning* pada Ekstrak Apel Malang dengan Asam Organik

Maria Ingrid, Wirawan Putera Soebandy*

Program Studi Teknik Kimia, FTI, Universitas Katolik Parahyangan Bandung
Jln. Ciumbuleuit no.94, Hegarmanah, Cidap, Kota Bandung, 40141

*E-mail: wirawanps.abcd@gmail.com

Abstract

Browning of raw fruits is a major problem in the food processing industry, causing quality loss, decreased market value, deleterious changes in the appearance and organoleptic properties of the food product. Browning reactions could happen due to enzymatic and non-enzymatic reactions (maillard reactions). Enzymatic browning reactions occur on the substrate containing phenol groups, react with polyphenoloxidase enzyme (PPO) producing melanin compounds which contain brown pigments. Various methods could be used to prevent browning such as blanching, pH adjustment, and addition of anti-browning agents. The effectiveness of citric acid, ascorbic acid, and lemon as a browning inhibitor were studied. The anti-browning agents were carried out on varied concentration (0.1%; 0.3%; 0.5%; 1.0%; and 2.0 %). Apple PPO activities were determined by measuring the absorbance at 422 nm with a spectrophotometer. Addition of lemon 2.0% becomes the best inhibitor to prevent browning, obtaining % inhibition about 83.30%. The results of analysis of variance (ANOVA) were further processed using least square difference's method, showed significant results for the effect of all type variations of anti-browning agents.

Keywords : *apples, browning, enzymatic browning, antibrowning, spectrophotometer*

Pendahuluan

Apel malang merupakan salah satu jenis apel yang banyak digemari oleh masyarakat dikarenakan kaya akan kandungan gizi berupa vitamin dan mineral yang berguna untuk kesehatan. Sesuai data Badan Pusat Statistik (2016) menunjukkan jumlah produksi apel (137.000 ton) di kota Batu jauh lebih tinggi dibandingkan buah lainnya. Oleh karena itu dibandingkan buah lainnya, apel memiliki nilai jual yang lebih menguntungkan. Selain itu apel malang memiliki rasa yang segar antara tingkat keasaman dan kemanisan (Soelerso, 1997).

Pada proses pengolahan buah apel sering terjadi reaksi pencoklatan atau *browning*. Pencoklatan dapat menurunkan kualitas buah sehingga mengurangi cita rasa buah dan menurunkan harga jual produk olahan apel sehingga merugikan produsen. Selain terjadi pada buah-buahan, *browning* dapat terjadi pada beberapa jenis sayuran serta hewan laut (Winarno, 1992). Reaksi *browning* enzimatik disebabkan oleh aktivitas enzim polifenol oksidase pada ekstrak apel yang menghasilkan pigmen warna coklat atau disebut sebagai melanin. Reaksi *browning* dapat dicegah dengan berbagai metode, salah satunya dapat dilakukan dengan penambahan senyawa *anti-browning* seperti senyawa sulfit, asam askorbat, asam sitrat, EDTA, dan zat *anti-browning* lainnya (McEvily, 1992).

Penggunaan bahan kimia sintetis seperti natrium metabisulfit yang berfungsi sebagai bahan pengawet makanan sering digunakan sebagai zat *anti-browning* (Sappers, 1992). Namun, penggunaan natrium metabisulfit telah dilarang oleh *Food and Drug Administration* (FDA) karena bersifat karsinogenik (Madison, 1987). Oleh karena itu diperlukan alternatif zat *anti-browning* lain yang tidak memiliki dampak berbahaya bagi tubuh manusia.

Pada penelitian ini digunakan tiga macam *anti-browning* yang tergolong *foodgrade* sehingga dapat diaplikasikan dalam industri pangan. *Anti-browning* yang digunakan adalah asam sitrat, asam askorbat dan lemon. Asam sitrat merupakan *anti-browning* yang dapat menurunkan pH larutan hingga suasana asam, sebab enzim PPO bekerja secara optimum pada rentang pH 6,0 - 7,0. Asam askorbat merupakan salah satu bahan antioksidan yang mampu mengikat oksigen dari udara bebas sehingga mencegah terbentuknya gugus kuinon pada apel. Lemon mengandung asam askorbat yang cukup tinggi dan memiliki kandungan asam sitrat yang dapat mencegah *browning* (Ioannou, 2013).

Metode Penelitian

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah Apel Malang dengan penambahan *anti-browning* asam sitrat, asam askorbat dan lemon. Variasi kadar yang digunakan yaitu 0,1%; 0,3%; 0,5%; 1,0%; dan 2,0% (w/v).



Analisa dilakukan dengan mengukur intensitas warna larutan (absorbansi) menggunakan spektrofotometer sinar tampak pada panjang gelombang maksimum 422 nm. Hasil penelitian diolah dengan tabel ANOVA dan uji LSD.

Bahan dan Alat

Dalam penelitian ini digunakan 100 gram Apel Malang, substrat katekol 0,2 M dan *anti-browning* asam sitrat, asam askorbat, dan lemon dengan variasi kadar yaitu 0,1%; 0,3%; 0,5%; 1,0%; dan 2,0% (w/v). Lemon yang digunakan merupakan varietas lemon lokal.

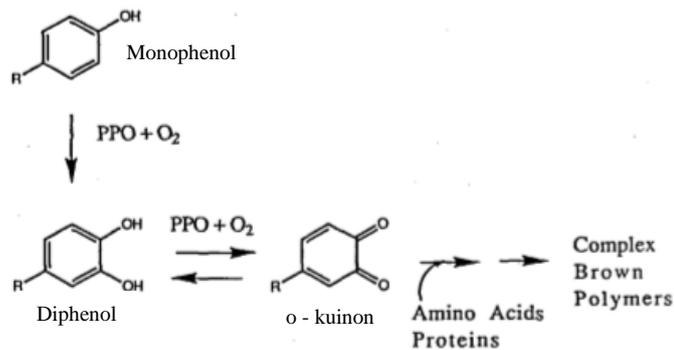
Prosedur Percobaan

Prosedur percobaan pada penelitian ini terdiri atas tiga tahapan. Tahap pertama terdiri dari persiapan bahan baku, pengukuran panjang gelombang maksimum, dan penentuan waktu kesetimbangan reaksi. Persiapan bahan baku dilakukan dengan mengecilkan ukuran apel untuk memperoleh ekstrak enzim PPO. 100 gram apel yang sudah dipotong kecil selanjutnya diblender dengan aquades (1:1). Ekstrak apel disentrifugasi pada kecepatan 15.000 rpm pada temperatur 4⁰C untuk memperoleh supernatan.

Tahap kedua merupakan tahap pencampuran ekstrak apel dengan zat *anti-browning*. *Anti-browning* yang digunakan adalah asam sitrat, asam askorbat, dan lemon dengan variasi kadar yaitu 0,1%; 0,3%; 0,5% ; 1,0%; dan 2,0% (w/v). Dalam penelitian ini dicampurkan 2,0 ml ekstrak PPO dari apel, 1,0 ml buffer fosfat pH 7,0, 2,0 ml katekol, dan 1,0 ml zat *anti-browning*. Selanjutnya untuk mempelajari pengaruh aktivitas zat *anti-browning* terhadap enzim PPO, dilakukan tahap ketiga yaitu analisa dengan mengukur absorbansi campuran menggunakan spektrofotometer sinar tampak pada panjang gelombang maksimum 422 nm.

Hasil dan Pembahasan

Browning enzimatik terjadi karena adanya reaksi antara substrat katekol dengan enzim PPO pada ekstrak apel, membentuk senyawa kuinon yang selanjutnya membentuk senyawa kompleks berwarna coklat yang disebut melanin. Berikut adalah reaksi pembentukan senyawa melanin dengan substrat katekol yang mengandung gugus difenol pada apel seperti terlihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Tahapan reaksi pada proses *browning* (Mcevely,1992)

Pengaruh Penambahan *Anti-browning*

Penambahan *anti-browning* asam sitrat pada berbagai kadar (0,1%; 0,3%; 0,5%; 1,0%; dan 2,0% w/v) menyebabkan penurunan nilai absorbansi pada larutan apel. Pemilihan rentang kadar ini didasari oleh penelitian yang dilakukan oleh Mcevely (1992) bahwa kadar asam sitrat yang digunakan untuk menghambat proses *browning* adalah 0,5% – 2,0%.

Asam sitrat merupakan *anti-browning* yang memiliki dua peran dalam mencegah terjadinya *browning* yaitu sebagai *chelating agent* dan bahan pengasam (*acidulant*). Dengan fungsinya sebagai *chelating agent*, gugusan karboksilat yang terdapat pada asam sitrat akan membentuk ikatan kompleks dengan ion Cu²⁺ dalam enzim PPO pada ekstrak apel. Ion Cu²⁺ dalam enzim PPO berfungsi menjalankan reaksi reduksi-oksidasi yang melibatkan adanya transfer elektron. Pembentukan ion kompleks antara ion Cu²⁺ dengan asam sitrat akan menurunkan aktivitas enzim PPO tersebut (Mishra, 2006). Peran asam sitrat sebagai *acidulant* menyebabkan penurunan pH hingga larutan menjadi asam. pH optimum untuk aktivitas enzim PPO terdapat pada rentang pH 6,0 - 7,0. Pada pH sekitar 3,0

terjadi peristiwa inaktivasi enzim yang menyebabkan berkurangnya reaksi *browning* (Mcevely, 1992). Penambahan asam sitrat, lemon, dan asam askorbat pada penelitian menurunkan nilai pH hingga menjadi asam pada rentang pH 2,60 – 3,09 seperti terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai pH larutan dengan penambahan *anti-browning* pada berbagai kadar

Kadar <i>Anti-Browning</i> (% w/v)	pH larutan		
	Asam Sitrat	Lemon	Asam Askorbat
0,1	2,94	2,82	3,09
0,3	2,84	2,69	2,96
0,5	2,75	2,61	2,91
1,0	2,63	2,55	2,72
2,0	2,57	2,50	2,60

Penambahan asam sitrat dapat menghambat *browning* dengan hasil yang relatif lebih baik dibandingkan dengan penambahan asam askorbat. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 2 dimana hasil penambahan asam sitrat menghasilkan % inhibisi yang relatif lebih tinggi dibandingkan penambahan asam askorbat.

Tabel 2. Inhibisi pada variasi jenis dan kadar zat *anti-browning*

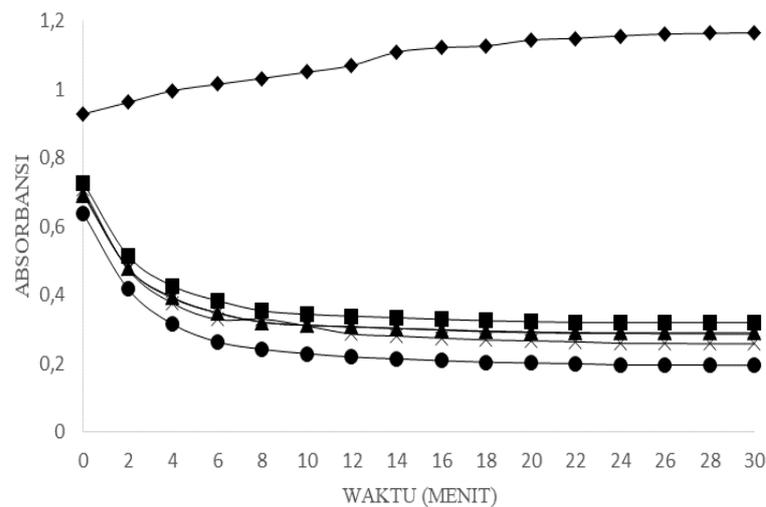
Jenis <i>Anti-browning</i>	Kadar <i>Anti-browning</i> (% w/v)	% inhibisi
Asam Sitrat	0,1	74,34
Asam Sitrat	0,3	74,37
Asam Sitrat	0,5	75,09
Asam Sitrat	1,0	75,61
Asam Sitrat	2,0	75,81
Asam Askorbat	0,1	67,84
Asam Askorbat	0,3	68,88
Asam Askorbat	0,5	73,70
Asam Askorbat	1,0	75,38
Asam Askorbat	2,0	77,60
Lemon	0,1	72,55
Lemon	0,3	75,12
Lemon	0,5	76,78
Lemon	1,0	80,35
Lemon	2,0	83,30

Sebagai *anti-browning*, asam askorbat memiliki dua peran yaitu sebagai bahan pengasam (*acidulant*) dan sebagai antioksidan. Sebagai *acidulant*, asam askorbat menyebabkan terjadinya penurunan nilai pH di sekitar 3,0. Hal ini menyebabkan enzim PPO menjadi inaktif (McEvely, 1992). Sebagai antioksidan, asam askorbat akan berikatan dengan oksigen dari udara bebas sehingga mencegah oksidasi enzim polifenol oksidase. Hal ini dapat menghambat pembentukan senyawa melanin berwarna cokelat (Lindley, 1998).

Berdasarkan penelitian ini penambahan asam askorbat 2,0 % menghasilkan inhibisi terbesar yaitu 77,60% dibandingkan penambahan asam askorbat pada kadar lain. Semakin tinggi kadar asam askorbat yang digunakan akan semakin meningkatkan % inhibisi. Pada pH yang rendah ion H^+ dalam larutan akan menjadi semakin banyak sehingga inhibitor non-kompetitif yang tersedia juga semakin banyak (Janovitz-Klapp, 1990).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Ozoglu (2001), penambahan asam askorbat sebagai zat *anti-browning* akan menghasilkan % inhibisi yang semakin baik ketika kadar asam askorbat meningkat. Dari hasil penelitian Ozoglu penambahan asam askorbat 1,8 % menghasilkan inhibisi sekitar 92 %. Hasil penelitian ini memiliki kecenderungan yang sama dengan penelitian Ozoglu, yaitu seiring meningkatnya kadar asam askorbat, % inhibisi juga meningkat. Dalam penelitian ini penambahan kadar asam askorbat 2,0 % memberikan % inhibisi yang paling besar seperti terlihat pada Tabel 2.

Penambahan *anti-browning* lemon dapat menurunkan absorbansi menjadi lebih rendah dibandingkan dengan asam sitrat dan asam askorbat pada berbagai variasi kadar. Grafik pengaruh penambahan lemon terhadap perolehan nilai absorbansi dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Absorbansi terhadap waktu dengan penambahan *anti-browning* lemon. Note: ◆ = blanko, ■ = 0,1, ▲ = 0,3, * = 0,5, × = 1, ● = 2 % w/v

Lemon mengandung asam askorbat dan asam sitrat yang dapat berperan untuk menghambat terjadinya *browning*. Kadar asam askorbat pada lemon sebesar 32,16% (w/v) dan asam sitrat sebesar 6,764% (w/v) (Kaushal, 2001). Kandungan asam sitrat pada lemon berperan sebagai bahan pengasam (*acidulant*) yang dapat menurunkan pH larutan. Selain itu lemon memiliki peran sebagai *chelating agent* yang akan membentuk ikatan kompleks dengan ion Cu^{2+} dalam enzim PPO, sehingga mampu mengurangi aktivitas enzim PPO (Mishra, 2006). Kandungan asam askorbat pada lemon juga berfungsi sebagai zat antioksidan pada proses penghambatan *browning*, sehingga mencegah oksidasi enzim polifenol oksidase (Lindley, 1998).

Berdasarkan Gambar 2 terlihat bahwa penurunan nilai absorbansi paling besar terjadi pada penambahan lemon dengan kadar 2,0%. pH optimum untuk aktivitas enzim PPO adalah 6,0 – 7,0. Kondisi asam setelah penambahan lemon menyebabkan enzim PPO menjadi inaktiv sehingga aktivitas enzim tersebut berkurang secara signifikan sesuai dari uji LSD pada Tabel 4.

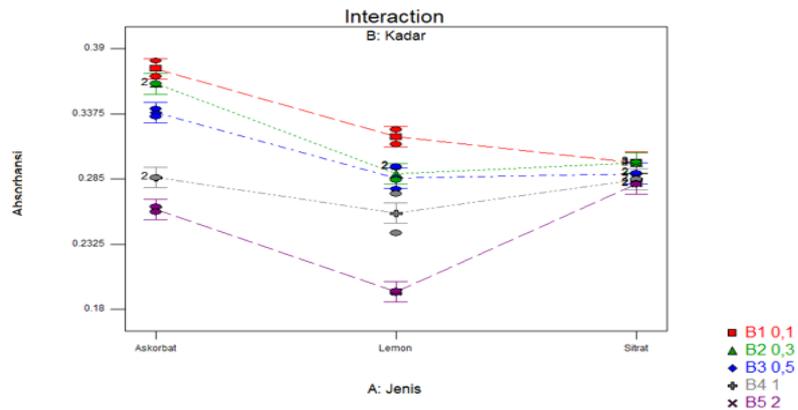
Dari Tabel 2 terlihat bahwa lemon 2,0% menghasilkan inhibisi paling besar yaitu 83,30% dibandingkan penambahan *anti-browning* lain. Dari data % inhibisi yang didapat, dapat diamati bahwa seiring dengan kenaikan kadar *anti-browning* cenderung meningkatkan % inhibisi. Namun harus diperhatikan penambahan *anti-browning* dalam skala industri dapat menyebabkan perubahan rasa dan komposisi gizi.

Analisa ANOVA untuk Pengaruh Jenis dan Kadar Anti-browning

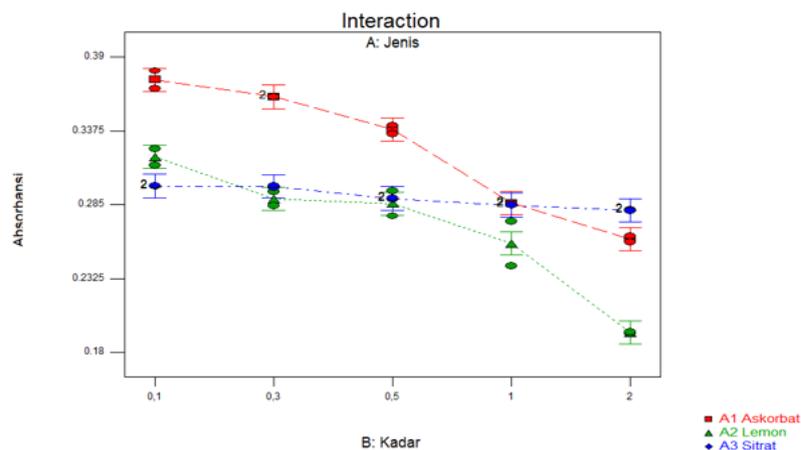
Data hasil penelitian dianalisa dengan ANOVA menggunakan *software design expert 7.0* untuk mengetahui pengaruh jenis dan kadar *anti-browning* yang signifikan. Pada Tabel 3 menunjukkan ANOVA yang diperoleh.

Tabel 3. ANOVA pengaruh jenis dan kadar anti-browning pada apel

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	0,053	14	0,00378	62,99	< 0.0001	Significant
A-Jenis	0,015	2	0,00769	128,26	< 0.0001	
B-Kadar	0,028	4	0,00694	115,72	< 0.0001	
AB	0,009745	8	0,00122	20,31	< 0.0001	
Pure Error	0,0009	15	6E-05			
Cor Total	0,053798	29				



Gambar 3. Grafik pengaruh jenis *anti-browning* terhadap absorbansi



Gambar 4. Grafik pengaruh kadar *anti-browning* terhadap absorbansi

Analysis of variance (ANOVA) pada susbrat katekol (Tabel 3) menunjukkan bahwa jenis dan kadar *anti-browning* memberikan pengaruh yang signifikan terhadap penurunan absorbansi (warna *browning*). Hasil signifikan ditunjukkan pada perolehan *p-value* yang lebih rendah dari 0,05. Pengolahan data dengan menggunakan metode *Least Square Difference* (LSD) dilakukan untuk mengetahui pengaruh jenis dan kadar *anti-browning* terhadap absorbansi (warna *browning*). Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa lemon dapat menurunkan absorbansi lebih rendah dibandingkan asam sitrat dan asam askorbat (Gambar 3).

Berdasarkan perhitungan, didapatkan nilai LSD untuk faktor jenis *anti-browning* adalah 0,0074 dan untuk faktor kadar *anti-browning* adalah 0,0117. Penentuan hasil pengaruh yang signifikan pada Tabel 4 dan Tabel 5 diperoleh apabila nilai $|x_i - x_j| > LSD$. Perbandingan uji LSD pada pengaruh jenis *anti-browning* ditunjukkan pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil uji LSD pada jenis *anti-browning* terhadap absorbansi

Jenis <i>Anti-Browning</i>	Absorbansi (x)	$ x_i - x_j $	LSD	
Lemon	0,2690		0,0074	
Asam Sitrat	0,2902	0,0212	0,0074	Significant
Asam Askorbat	0,3240	0,0338	0,0074	Significant

Dari hasil uji LSD pengaruh jenis *anti-browning* (Tabel 4) didapatkan pengaruh yang signifikan terhadap nilai absorbansi untuk setiap variasi. Perhitungan nilai LSD pada setiap kadar *anti-browning* pada asam sitrat, asam askorbat, dan lemon ditunjukkan pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil uji LSD pada berbagai kadar *anti-browning* terhadap absorbansi

Jenis <i>Anti-browning</i>	Kadar <i>Anti-browning</i>	$ x_i - x_j $	LSD	
Asam Sitrat	0,1%	0,0005	0,0117	Tidak <i>Significant</i>
	0,3%	0,0083	0,0117	Tidak <i>Significant</i>
	0,5%	0,0060	0,0117	Tidak <i>Significant</i>
	1,0%	0,0023	0,0117	Tidak <i>Significant</i>
	2,0%			
Asam Askorbat	0,1%	0,0248	0,0117	<i>Significant</i>
	0,3%	0,0133	0,0117	<i>Significant</i>
	0,5%	0,0236	0,0117	<i>Significant</i>
	1,0%	0,0633	0,0117	<i>Significant</i>
	2,0%			
Lemon	0,1%	0,0248	0,0117	<i>Significant</i>
	0,3%	0,0133	0,0117	<i>Significant</i>
	0,5%	0,0236	0,0117	<i>Significant</i>
	1,0%	0,0633	0,0117	<i>Significant</i>
	2,0%			

Berdasarkan hasil uji LSD pada Tabel 5, didapatkan bahwa semua variasi kadar (0,1% - 2,0%) pada asam askorbat dan lemon memberikan pengaruh yang signifikan terhadap nilai absorbansi. Namun, penambahan asam sitrat pada berbagai kadar tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap nilai absorbansi. Hal ini ditunjukkan oleh nilai absorbansi yang diperoleh dengan penambahan asam sitrat untuk kadar 0,1% – 2,0% relatif tetap.

Kesimpulan

1. Asam sitrat, asam askorbat, dan lemon dapat digunakan sebagai zat *anti-browning* pada buah apel.
2. Semakin tinggi kadar *anti-browning* (0,1% - 2,0%) akan semakin meningkatkan nilai % inhibisi.
3. Penambahan lemon 2,0% merupakan penambahan *anti-browning* terbaik dengan nilai inhibisi sebesar 83,30%.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada Universitas Katolik Parahyangan, Fakultas Teknologi Industri, jurusan Teknik Kimia yang telah memberikan dana sehingga seminar dapat berjalan secara lancar.

Daftar Pustaka

- Ioannou M. Prevention of enzymatic browning in fruit and vegetables. *European Scientific Journal*. 2013; 9 (30): 310-341.
- Janovitz-Klapp A. Inhibition studies on apple polyphenol oxidase. *J. Agric. Food Chem*. 1990; 38 (4): 926-931.
- Kaushal B. B. L. Preparation and evaluation of some value-added products from hill lemon (*Citrus pseudolimon*) fruits. *Indian Journal of Agricultural Sciences*. 2001; 71 (11): 691-694 .
- Lindley M. The Impact of food processing on antioxidants in vegetable oils, fruits and vegetable. *Trends in Food Science & Technology*. 1998; 9: 336-340.
- McEvily A. Inhibition of enzymatic browning in foods and beverages. *Critical Review in Food Science and Nutrition*. 1992; 32 (3): 253-273.
- Mishra B. B. Polyphenol oxidases: biochemical and molecular characterization. *Enzyme Engineering*. 2006; 5 (1): 1-9.
- Ozoglu H. Inhibition of enzymic browning in cloudy apple juice with selected antibrowning agent. *Food Control*. 2002; 13 : 213-221.
- Sappers G., Miller R. Enzymatic browning control in potato with ascorbic acid-2-phosphates. *Journal of Food Science*. 1992; 57 (5): 1132-1135.



Lembar Tanya Jawab

Moderator : Dewi Wahyuningtyas (Teknik Kimia, IST AKPRIND)
Notulen : Perwitasari (UPN "Veteran" Yogyakarta)

1. Penanya : Ani Purwanti (TK, IST AKPRIND)
Pertanyaan : Apakah penggunaan *anti-browning* dari lemon pada penelitian ini mempunyai waktu kadaluwarsa?
Jawaban : Semua bahan alami mempunyai kadaluwarsa begitu juga lemon sebagai *anti-browning* mempunyai kadaluwarsa. Akan tetapi seberapa lama waktu kadaluwarsa belum ditentukan dalam penelitian ini. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui waktu kadaluwarsa *anti-browning* tersebut.
2. Penanya : Nur Aulia Pramesthi (TK, ITS)
Pertanyaan : Bagaimanakah pengaplikasian *anti-browning* yang dihasilkan dalam penelitian ini pada buah apel?
Jawaban : Hasil penelitian ini ditujukan untuk terutama untuk pengolahan apel dalam industri seperti sari apel, sirup apel dan lainnya. Diharapkan dengan penggunaan *anti-browning* hasil penelitian ini, maka dapat merubah penampilan akhir dari produk olahan apel di industri seperti warna coklat menjadi lebih bening sehingga lebih menarik. Pengaplikasian *anti-browning* lemon pada buah apel untuk konsumsi langsung, dapat dilakukan dengan cara merendam buah apel di dalam larutan *anti-browning* sebelum dimakan.
3. Penanya : Dewi Wahyuningtyas (TK, IST AKPRIND)
Pertanyaan : Apakah penambahan *anti-browning* lemon ke dalam sari apel tidak mempengaruhi tingkat keasaman dari sari apel tersebut?
Jawaban : Berdasarkan literature bahwa penambahan *anti-browning* sebesar 1%-2% ke dalam sari apel tidak akan menambah nilai keasamannya. Akan tetapi hal tersebut perlu diteliti lebih lanjut. Oleh karena itu untuk penelitian selanjutnya dapat difokuskan pada penentuan kadar *anti-browning* lemon yang dapat ditambahkan pada hasil akhir produk olahan apel tanpa meningkatkan nilai keasamannya.

