

MEMPELAJARI PENGARUH TIROSIN, ASAM ASKORBAT, ENZIM POLIFENOL KSIDASE (PPO) TERHADAP PERUBAHAN WARNA KENTANG (*Solanum tuberosum*)

Marniati Salim

*Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia, FMIPA Universitas Andalas,
Padang 25163*

*(Diterima 26 Desember 1996, Ditevisi 7 Januari 1997, Accepted 14
Januari 1997)*

INTISARI

Telah dilakukan penelitian tentang pengaruh tirosin, asam askorbat, aktivitas enzim polifenol oksidase (PPO) pada kentang dengan menggunakan metoda spektrofotometri dan dilihat hubungannya terhadap perubahan warna kentang dengan metoda (Murshell Soil color chart). Digunakan dua varietas kentang yaitu varietas Cipanas dan varietas Tambatang. Perubahan warna yang terjadi adalah akibat reaksi enzimatik dan non enzimatik, tetapi pada varietas Cipanas reaksi non enzimatik lebih dominan.

ABSTRACT

The influence of tyrosin, ascorbic acid, enzyme activity (PPO) in potatoes have been determined by spectrophotometric method and theirs relation changes in colour of potatoes by using Murshell soil color chart methode. Two varieties were used in this experimed subsequently, Cipanas and Tambatang. Discoloration change that occured in two varieties is caused by enzymatic and non enzymatic reaction, but for Cipanas variety non enzymatic reaction the dominand role.

PENDAHULUAN

Kentang (*Solanum tuberosum*) mudah sekali mengalami pencoklatan (browning), bila penanganannya kurang baik, salah satu faktor yang mempengaruhi adalah asam askorbat, tirosin, enzim polifenol oksidase (E, C, 1, 1A, 1B, 1C, 1D, 1E, 1F, 1G, 1H, 1I, 1J, 1K, 1L, 1M, 1N, 1O, 1P, 1Q, 1R, 1S, 1T, 1U, 1V, 1W, 1X, 1Y, 1Z, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100). Reaksi pencoklatan dapat terjadi melalui dua proses yaitu proses pencoklatan enzimatis, disebabkan adanya enzim PPO dan tirosin yang berperan sebagai substrat sedang proses non enzimatis disebabkan reaksi Meillard, karamelisasi atau oksidasi asam askorbat (Richardson 1973). Proses pencoklatan yang terjadi akan mengurangi kuantitas produk dan menurunkan minat konsumen (Friedman 1990). Pada penelitian ini dicoba mempelajari proses yang terjadi apakah proses enzimatis atau non enzimatis, dengan menggunakan dua jenis kentang varietas Tambatang dan Cipanas. Proses pencoklatan sebenarnya dimulai dari kentang yang dikupas/dipotong-potong, oksidasi, senyawa fenol seperti: tirosin sebagai substrat, akan dikatalisis oleh enzim PPO menjadi quinon dan berpolimerisasi membentuk O-quinon, sehingga menghasilkan warna kecoklatan. Dari itu kami mencoba menentukan kadar tirosin yang merupakan gugus fenolat terbesar di dalam kentang dan dapat mengoksidasi dan dipolimerisasi menghasilkan melanin (Bill Dean 1992). Dan penentuan asam askorbat untuk mengetahui varietas mana yang mengandung asam askorbat tinggi, sehingga dapat mengetahui sejauh mana asam askorbat berperan sebagai penghambat pencoklatan (inhibitor), karena menurut Mondy 1983, asam askorbat dapat menghambat enzim PPO pembentuk melanin. Metode yang digunakan adalah metode spektrofotometri untuk menentukan tirosin. Asam askorbat, aktivitas enzim PPO dan perubahan warna kentang dengan metoda (Murshell soil color chart).

BAHAN DAN METODE

Bahan

Kentang varietas Cipanas dan Tambatang, asam askorbat, tirosin, folin ciocalteu, tembaga sulfat pentahidrat, natrium asetat, kalium natrium tartart, EDTA, natrium karbonat, asam trikloroasetat, buffer posfat, KCl 1%.

Penentuan kadar tirosin

50 gram kentang dipotong-potong, diblender dengan 100 ml metanol 180%, saring, tambahkan asam trikloroasetat dan sentrifus dengan kecepatan 8000 rpm selama 10 menit, sampel diencerkan dua kali. Kemudian tentukan kurva standar tirosin dengan memipet 1 ml larutan standar dengan konsentrasi yang

bervariasi, tambahkan reagen lowry diamkan selama 30 menit. Ukur serapan pada panjang gelombang maksimum 660 nm. Dengan menggunakan kurva kalibrasi standar ini ditentukan kadar tirosin dalam ekstrak. Kadar tirosin dalam 50 gram sampel adalah kadar tirosin dalam ekstrak kentang dikali jumlah pengekstrak.

Penentuan kadar asam askorbat

50 gram kentang dipotong-potong, diblender dengan 100 ml $H_2C_2O_4$ 1,25%. Saring, encerkan empat kali. Ambil 3 ml, tambahkan 15 ml larutan Cu(II)-EDTA. Ukur absorbansi terhadap blanko (A1). Ambil kembali 3 ml, tambahkan 12 ml larutan Cu(II)-EDTA. Campuran ini panaskan $50^{\circ}C$ selama 15 menit, lalu tambahkan 3 ml EDTA 0,0005 M dan ukur absorbansi terhadap blanko (A2). Konsentrasi asam askorbat dalam ekstrak kentang dapat dihitung dengan rumus :

$$A \text{ (ppm)} = \frac{6 \times (X \Delta)}{S}$$

X = faktor pengenceran sampel

A = A1 - A2

S = slope kurva kalibrasi

6 = faktor pengenceran oleh larutan Cu(II)-EDTA

Jadi kadar asam askorbat dalam 50 gram kentang = kadar asam askorbat dalam ekstrak x jumlah pengekstrak

Penentuan Aktivitas Enzim PPO

150 gram kentang diiris, tambahkan 300 ml buffer posfat 0,1 M pH 6,5 yang mengandung sistein 0,01 M dalam suasana dingin diblender, homogenat yang didapat disaring, supernatan ditambahkan KCl 1% 210 ml, aduk dengan magnetik stirer selama 30 menit. Kemudian diamkan beberapa jam, sentrifus dengan kecepatan 8000 rpm selama 5 menit. Supernatan yang diperoleh diendapkan protein enzimnya dengan penambahan aseton secara fraksinasi yaitu dengan penambahan aseton yang bervariasi, sehingga didapat fraksi-fraksi ekstrak kasar enzim. Kemudian masing-masing fraksi enzim ditentukan kadar protein dengan metoda Lowry dan aktivitas enzim ditentukan pada kondisi optimum yaitu varietas Tambatang pH 6,9, Cipanas pH 7,0, konsentrasi substrat masing-masing 0,01 suhu $28^{\circ}C$. Ukur serapan larutan pada panjang gelombang 485 nm.

Uji Perubahan Warna

Pengamatan dilakukan secara visual, kentang yang diiris-iris dibiarkan, lalu amati perubahan warna setiap saat dan bandingkan dengan standar warna tanah (Munsell Soil Color Chart) dan catat waktu terjadi perubahan warna.

Uji Reaksi Non Enzimatis

0,2 ml tirosin 0,01 M tambahkan 2,0 ml buffer posfat 0,1 M pH 7,0 (Cipanas) dan pH 6,9 (Tambatang) tambahkan 0,5 ml larutan enzim dan 0,5 ml air bebas mineral, hentikan aktivitas enzim dengan pemanasan, ukur serapan pada panjang gelombang 485 nm, kemudian bandingkan dengan yang diinkubasi 25 menit lebih dulu baru di inaktifkan enzimnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar tirosin ditentukan dengan cara ekstrapolasi hasil pengukuran pada kurva kalibrasi standar tirosin, pada panjang gelombang maksimum 660 nm, dan kadar asam askorbat diukur pada panjang gelombang maksimum 260 nm, diekstrapolasi hasil pengukuran pada rumus (lihat metoda).

Tabel 1. Kadar rata-rata tirosin dan asam askorbat

Varietas	K a d a r (gr)	
	Tirosin	Asam Askorbat
Cipanas		
1	23,94	16,54
2	16,88	20,31
3	26,14	26,52
4	29,30	36,02
Tambatang		
1	5,100	1,629
2	7,714	2,182
3	6,171	2,114
4	6,386	1,500

Kadar tirosin kedua varietas hampir sama, menurut Eskin (1971) tirosin dapat berperan sebagai substrat pada reaksi enzimatik dan non enzimatik, melakukan reaksi Meillard dengan karbohidrat. Sedangkan kadar asam

askorbat varietas Cipanas lebih tinggi dibandingkan varietas Tambatang. Penelitian Mondy dkk, (1983) asam askorbat dapat menghambat aktivitas enzim, sehingga pembentukan melanin dihambat.

Aktivitas enzim PPO dan aktivitas spesifiknya diukur pada kondisi pH dan substrat maksimum dan suhu 28°C (suhu kamar) karena pengukuran parameter sebelumnya pada kondisi suhu kamar, dapat dilihat perbedaan antara kedua varietas.

Tabel 2. Aktivitas enzim PPO dan aktivitas spesifiknya

Varietas	Aktivitas (unit)	Aktivitas spesifik (unit/mg)
Cipanas		
1	8,690	9,042
2	8,960	9,042
3	17,840	18,730
4	17,200	18,040
Tambatang		
1	25,360	26,980
2	20,240	21,530
3	27,080	23,470
4	22,640	24,080

Aktivitas enzim PPO pada varietas Tambatang jauh lebih besar dari varietas Cipanas, berarti proses yang terjadi cenderung enzimatis pada varietas Tambatang.

Perubahan Warna

Untuk mengetahui berapa lama waktu yang dibutuhkan untuk merubah warna menjadi coklat dapat dilihat pada Tabel 3. Perubahan yang terjadi pada varietas Cipanas berbeda dengan Tambatang, varietas Cipanas memerlukan waktu yang lebih lama untuk merubah warna coklat dibandingkan Tambatang.

Dari data tersebut bila dihubungkan kadar tirosin, asam askorbat, aktivitas enzim terhadap perubahan warna kentang adalah sebagai berikut (Tabel 4).

Tabel 3. Perubahan warna terhadap waktu

Waktu (menit)	W a r n a							
	Cipanas				Tambatang			
	1	2	3	4	1	2	3	4
0	0	0	0	0	2	2	2	2
15	2	2	2	1	3	3	3	3
30	2	2	2	1	3	3	3	3
45	2	2	2	1	3	3	3	3
75	3	2	2	2	3	3	3	3
90	3	2	2	2	4	4	4	3
120	5	2	3	2	4	4	4	3
135	5	3	5	5	4	4	4	3
180	5	5	5	5	4	4	4	3
210	5	5	5	5	4	4	4	3

Keterangan:

- 0 = kuning
- 1 = kuning kecoklatan sangat pucat
- 2 = coklat sangat pucat
- 3 = coklat pucat
- 4 = coklat
- 5 = coklat keabuan

Pada penelitian ini kadar tirosin tidak ikut berperan penting pada perubahan warna kentang, karena kadar tirosin hampir sama. Reaksi pencoklatan dapat juga terjadi dengan fenol lainnya yaitu asam klorogenat (Jiri Davidek, 1990). Bila dilihat kandungan asam askorbat yang sangat berbeda sekali, varietas Cipanas cenderung berperan sebagai reaksi non enzimatis dapat dihubungkan dengan perubahan warna yang lebih lama dibandingkan varietas Tambatang. Asam askorbat dapat berfungsi pada reaksi enzimatis dan non enzimatis (Eskin, 1971). Aktivitas kedua varietas sangat berbeda, jika aktivitas besar, maka perubahan warna akan cepat, tapi hasil penelitian berbeda, varietas Cipanas lebih lama dari varietas Tambatang perubahan warnanya. Jadi pada penelitian ini enzim tidak merupakan indikator pada perubahan warna kentang.

Tabel 4. Hubungan antara kadar tirosin, asam askorbat, aktivitas enzim dan perubahan warna kentang

Parameter	Sampel	Varietas	
		Cipanas	Tambangtang
Kadar Tirosin	1	23,94	16,54
	2	16,88	20,32
	3	26,14	26,52
	4	29,30	36,02
Kadar asam askorbat	1	5,100	1,629
	2	7,714	2,182
	3	6,171	2,114
	4	6,386	1,500
Aktivitas spesifik unit/mg	1	9,042	26,98
	2	9,042	21,53
	3	18,730	23,47
	4	18,040	24,08
Perubahan warna (menit)	1	0 - > 5	2 - > 4
	2	0 - > 5	2 - > 4
	3	0 - > 5	2 - > 4
	4	0 - > 5	2 - > 4

Untuk melihat reaksi non enzimatis pada varietas Cipanas dapat dilihat dari Tabel 5.

Tabel 5. Data absorbansi reaksi enzimatis dan non enzimatis

Varietas	Absorbansi	
	Enzimatis	Non enzimatis
Cipanas	0,297	0,235
Tambatang	0,329	0,321

Dari absorbansi dapat dilihat reaksi non enzimatis, harga absorbansi lebih kecil dari reaksi enzimatis, bila dihitung aktivitas enzim varietas Cipanas 18,72 unit, Tambatang 25,36 unit. Sesuai dengan perubahan warna membutuhkan waktu yang lebih lama untuk varietas Cipanas sehingga reaksi bersifat non enzimatis, dibandingkan dengan varietas Tambatang perubahan warna lebih cepat pada waktu 0 menit dan 15 menit (lihat Tabel 4).

KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa kadar tirosin kedua varietas dan aktivitas enzim mempengaruhi perubahan warna kentang, asam askorbat dapat mempengaruhi reaksi enzimatis atau non enzimatis. Perubahan warna yang terjadi pada kedua varietas adalah akibat reaksi enzimatis dan non enzimatis, pada varietas Cipanas reaksi non enzimatis sangat dominan.

DAFTAR PUSTAKA

- David, J., et al 1990. *Jan Valisek and Jan Pokorny Chemical Changes During Food Processing*, Elsevier, Amsterdam, pp., 302-310.
- Deam, B., et al. 1992. Differences in Free and Protein Bound Tyrosine Among Potato Genotypes and the Relation Ship to Internal Blackspot Resistances, *Am. Potato Journal*, 67.
- Eskin, N.A.M., et. al, *Biochemistry of Food*, Academic Press, New York, 116-121, 1971.
- Fredman M. and I.M Pert. 1990. Inhibition of Browning by Sulfur Amino Acid 3 Apple and Potatoes. *J. Agric. Food Chem.* 38, 1652-1656.
- Mondy, N.I., and C. B. Munshi. 1992. Effect Type of Potassium Fertilizer on Enzymatic Dis Coloration and Phenolic, Ascorbic Acid and Lipid Contents of Potatoes, *J. Agric. Food Chem*, 41, 6, 849-852.
- Richardson T. 1976. *Enzymes. O.R.Ed Food Chemistry Principles on Food Sci*, Part 1, Marcel Dekker, Inc. New York and Basel, pp. 285.