

PENGARUH IRADIASI TERHADAP ENZIM BUAH PISANG (*MUSA PARADISIACA*)

Aryanti*), Ermin Winarno*), Nurhidayati*), R. Sinaga*)

*) Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi, Batan

ABSTRACT

EFFECT OF IRRADIATION ON ENZYMES IN IRRADIATED BANANA (*Musa paradisiaca*). The purpose of this study was to investigate the effect of irradiation on the activity of pectinesterase, peroxidase, polyphenoloxidase enzymes and their isoenzymes respectively. Bananas were irradiated at the doses of 0; 0,15; 0,3 and 0,45 kGy and stored at 22°C and RH 70 – 80%. The results showed that irradiation at the doses of 0,15; 0,3 and 0,45 kGy could reduce pectinesterase activity by 4,52; 16,96 and 18,57% respectively. The activity of peroxidase were reduce by irradiation at the doses of 0,3 and 0,45 kGy by 16,37 and 21,81% and polyphenoloxidase were 19,67 and 24,52% lower than the control. The intensity of irradiated samples were lower than those of control. Irradiation doses of 0,3 kGy could be used to prolong the shelf-life of bananas up to three weeks; the firmness, L, a and b values of this irradiation level were higher than those of the control, and those of the irradiated at the doses of 0,15 and 0,45 kGy up to two weeks.

PENDAHULUAN

Pisang (*Musa paradisiaca*) merupakan buah populer di Indonesia. Indonesia sebagai produsen pisang nomor empat setelah Filipina, Thailand dan Malaysia dengan berbagai jenis pisang yang diekspor. Ada beberapa jenis pisang dikirim dan memenuhi mutu standar yaitu pisang ambon, kepok kuning, raja sere dan mas. Pisang mas dengan ciri kulit kuning, buah kecil padat dan berasa sangat manis sangat banyak peminatnya dari Hongkong dan Jepang, namun target yang diminta belum terpenuhi, karena salah satu kendala yang selalu dihadapi para eksportir ialah masa simpan yang terlalu singkat akibat meningkatnya karbon dioksida setelah pisang dipanen sehingga mempercepat kematangan dan pembusukan. Adanya peningkatan karbon dioksida antara lain merupakan induksi aktivitas enzim peroksidase terhadap etilen pada dinding sel buahan. Selain peroksidase enzim yang berperan dalam kemunduran mutu buah yaitu hilangnya warna, rasa, dan kekerasan adalah akibat enzim klorofilase, pektinesterase dan polifenoloksidase. Sejumlah perlakuan telah dilakukan orang untuk mengurangi aktivitas enzim-enzim yang merugikan yaitu dengan pencelupan dalam air panas, pemberian antioksidan dan iradiasi.

Energi yang diserap pada buah yang diiradiasi akan membentuk radikal air dan akan menyerang disebarkan ikatan dan salah satunya menyerang pusat aktif enzim sehingga keaktifan enzim terganggu dan aktivitasnya berkurang. Beberapa penelitian penggunaan iradiasi untuk menurunkan aktivitas enzim telah dilakukan antara lain pektinesterase pada buah apel (1), peroksidase pada buah apel, asparagus dan biji kacang kapri (2,3) dan polifenoloksidase dari jamur merang (4). Dari hasil penelitian mereka menunjukkan aktivitas enzim-enzim tersebut berkurang dengan iradiasi dan makin tinggi dosis makin besar penurunan yang terjadi.

Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh iradiasi terhadap aktivitas enzim pektinesterase (pe), peroksidase (pod), polifenoloksidase (pfo), dan masing-masing isoenzimnya serta uji kekerasan dan warna pada buah pisang mas yang diiradiasi dengan dosis 0; 0,15; 0,3 dan 0,45 kGy lalu disimpan pada suhu 22°C.

BAHAN DAN METODE

Bahan. Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu pisang mas (*Musa paradisiaca*) yang dipanen pada tingkat "mature green". Bahan kimia yang digunakan berkualitas proanalitik dari Sigma Chemical Company USA.

Iradiasi. Iradiasi dilakukan di Iradiator Panorama Serba Guna (IRPASENA) dengan laju dosis 3 kGy/jam dengan dosis iradiasi 0,15; 0,3 dan 0,45 kGy serta kontrol sebagai pembanding. Semua sampel disimpan pada suhu 22°C.

Penentuan Aktivitas Pektinesterase. Pisang mas diekstrak dengan bufer fosfat 0,02 M pH 7 lalu disentrifus dengan sentrifus dingin pada kecepatan putar 10.000 rpm selama 1 jam. Filtrat yang diperoleh digunakan untuk uji aktivitas pektinesterase dengan menggunakan pektin sebagai substrat dan penambahan brom timol blue dan diinkubasi selama 20 menit lalu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 417,2 nm dengan Spektrofotometer Hitachi U-200. Penentuan kadar pro-

tein menurut cara Lowry dengan bovin serum albumin sebagai standar.

Penentuan Aktivitas Peroksidase. Penentuan aktivitas spesifik menurut metode WANG (3) yaitu pisang diekstrak dengan bufer fosfat 0,02 M pH 6,6 lalu disentrifus selama 1 jam pada kecepatan putar 10.000 rpm. Supernatan yang didapat digunakan untuk uji aktivitas enzim peroksidase dengan o-fenilendiamin sebagai substrat dan penambahan hidrogen peroksida 0,03%. Larutan selanjutnya diinkubasi pada suhu 30°C selama 10 menit dan reaksi dihentikan dengan trikloroasetat 10%. Absorban waktu 10 menit dan 0 menit bersama-sama diukur pada Spektrofotometer Hitachi U-200 pada panjang gelombang nm. Selisih antara A10 dan A0 per mg protein enzim menunjukkan aktivitas enzim.

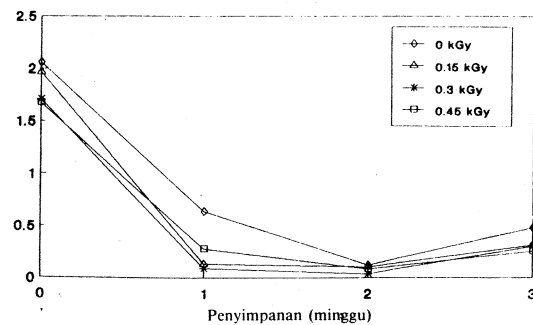
Penentuan Aktivitas Polifenoloksidase. Pisang mas yang telah dipotong kecil diekstrak dengan bufer fosfat 0,02 M pH 7 lalu disentrifus berpendingin selama 1 jam pada kecepatan putar 10.000 rpm. Hasil ekstrak kemudian ditambahi dengan larutan substrat pirogalol dan diinkubasi selama 10 menit dan reaksi dihentikan dengan trikloroasetat 10% lalu absorbannya diukur dengan Spektrofotometer Hitachi U-200 pada panjang gelombang nm.

Elektroforesis Disk Gel Poliakrilamid (EDGP). EDGP dikerjakan menurut metode DAVIS (5) yang telah dimodifikasi dengan menggunakan bufer Tris-glisin pH 8,3 sebagai larutan elektrolit dengan kuat arus 2 mA/gel dan tegangan 220-250 Volt selama 90 menit. Gel hasil elektroforesis dibagi tiga yaitu untuk esterase, peroksidase dan polifenoloksidase. Untuk isoenzim esterase, gel yang ada direndam dalam campuran fast blue rr-salt, A dan B naftil asetat dalam bufer fosfat pH 7. Gel dibiarkan selama 25 menit sehingga terbentuk pita-pita isoenzim berwarna coklat kehitaman. Gel untuk peroksidase direndam dalam 3 amino 9-etil karbazol dengan adanya hidrogen peroksida 0,07% dan dibiarkan selama 20 menit akan terbentuk pita yang berwarna orange muda. Campuran larutan katekol dan fenilendiamin 0,05% dalam bufer fosfat pH 7 digunakan untuk mewarnai gel untuk isoenzim polifenoloksidase sehingga dapat dilihat warna pita yang terbentuk coklat muda. Semua gel yang telah direndam dalam larutan pewarna kemudian dicuci dan direndam dalam larutan asam asetat 7% untuk diukur jarak migrasi masing-masing pita isoenzim.

Untuk uji kekerasan dan warna masing-masing menggunakan alat Instron tensil tester dan minolta.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis aktivitas pektinesterase, peroksidase, polifenoloksidase dan masing-masing isoenzimnya pada pisang mas yang diiradiasi dengan dosis 0; 0,15; 0,3 dan 0,45 kGy dapat dilihat pada gambar 1 - 10.

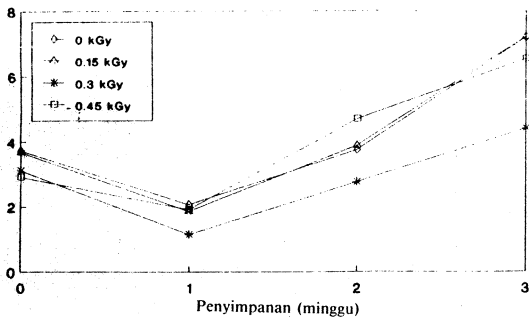


Gambar 1. Aktivitas spesifik pe pisang yang diiradiasi dengan dosis 0; 0,15; 0,3 dan 0,45 kGy dan disimpan pada suhu 22°C

Gambar 1 menunjukkan aktivitas spesifik pektinesterase buah pisang mas yang diiradiasi dengan dosis 0; 0,15; 0,3 dan 0,45 kGy lalu disimpan pada suhu 22°C. Data menunjukkan bahwa aktivitas enzim menurun nyata dengan dosis 0,15 kGy, 0,3 dan 0,45 kGy masing-masing sebanyak 4,52; 16,96 dan 18,57% pada awal penyimpanan. Terlihat ada penurunan aktivitas yang tajam pada minggu pertama dan kedua dan aktivitas pektinesterase kontrol cenderung lebih tinggi daripada iradiasi pada akhir penyimpanan. Aktivitas pe pisang iradiasi 0,3 kGy sedikit lebih rendah dibanding kontrol dan iradiasi 0,15 kGy selama penyimpanan. Menurut MITCHELL (6) aktivitas pektinesterase apel yang diiradiasi 0,75 kGy menurun aktivitasnya sebanyak 31% meskipun disimpan pada suhu 5°C, sehingga pektinesterase yang bekerja pada dinding sel, memecah pektin dan mengurangi kekerasan dapat dibatasi yang akhirnya kekerasan tekstur buah dapat dipertahankan.

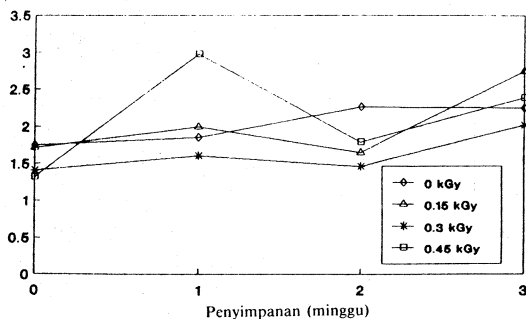
Aktivitas enzim peroksidase pada pisang mas yang diiradiasi dengan dosis 0,15; 0,3 dan 0,45 kGy dan kontrol sebagai pembandingan lalu disimpan pada suhu 22°C dapat dilihat pada Gambar 2. Dari hasil analisis menunjukkan bahwa iradiasi dapat menurunkan aktivitas enzim peroksidase pisang sesaat setelah perlakuan iradiasi dosis 0,3 dan 0,45 kGy. Iradiasi dosis 0,3 dan 0,45 kGy berturut-turut menurunkan aktivitas sebesar 16,37 dan 21,81% pada awal penyimpanan. Pola aktivitas pod pisang kontrol maupun iradiasi hampir sama yaitu adanya penurunan aktivitas pada minggu pertama

dan cenderung naik pada minggu kedua dan ketiga. Dapat dilihat adanya perbedaan yang nyata aktivitas pod pisang iradiasi 0,3 kGy dibanding kontrol, iradiasi 0,15 dan 0,45 kGy pada minggu pertama sampai minggu ketiga penyimpanan.



Gambar 2. Aktivitas spesifik pod pisang yang diiradiasi dengan dosis 0; 0,15; 0,3 dan 0,45 kGy dan disimpan pada suhu 22°C

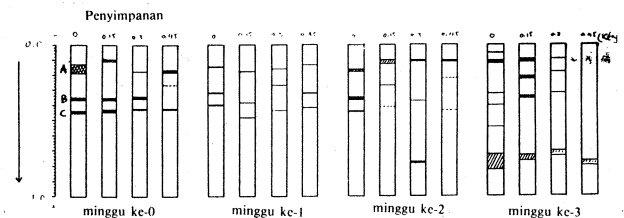
Gambar 3 adalah hasil analisis aktivitas polifenoloksidase buah pisang yang diiradiasi dengan dosis 0,15; 0,3 dan 0,45 kGy serta kontrol sebagai pembandingan lalu disimpan pada suhu 22°C, terlihat bahwa dengan dosis 0,3 dan 0,45 kGy telah menurunkan aktivitas pfo pisang sebanyak 19,67 dan 24,52% pada awal penyimpanan. Pada minggu pertama semua sampel menunjukkan aktivitas yang meningkat dan sangat tajam peningkatan pada dosis 0,45 kGy, sedang dosis 0,3 kGy pada minggu pertama sampai minggu ketiga cenderung lebih rendah aktivitasnya dari dosis 0,15; 0,45 kGy dan kontrol. Menurut Thomas (7) adanya kecenderungan peningkatan aktivitas polifenoloksidase buah pisang yang diiradiasi 0,75 kGy selama penyimpanan, hal ini kemungkinan iradiasi yang menyerang pusat aktif enzim saat iradiasi selanjutnya kembali menginduksi keaktifan enzim sehingga warna buah lebih coklat dan menurunkan mutu.



Gambar 3. Aktivitas spesifik pfo pisang yang diiradiasi dengan dosis 0; 0,15; 0,3 dan 0,45 kGy dan disimpan pada suhu 22°C

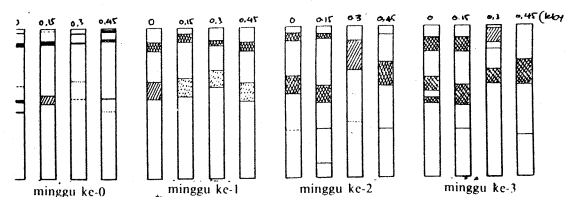
Seiring dengan perubahan aktivitas enzim juga terlihat penipisan pita-pita isoenzim. Pola pita isoenzim

esterase buah pisang yang diiradiasi dengan dosis 0,15; 0,3 dan 0,45 kGy dan disimpan pada suhu 22°C dapat dilihat pada Gambar 4. Intensitas isoenzim A sedikit lebih tipis pada sampel iradiasi 0,15 kGy, sedang dengan dosis 0,3 kGy intensitas isoenzim A dan C jauh lebih tipis dibanding kontrol, demikian juga dengan dosis 0,45 kGy intensitas isoenzim B hampir hilang dan C menipis sesaat perlakuan iradiasi diberikan. Dengan adanya penurunan aktivitas juga terlihat penipisan isoenzim, yaitu pada minggu pertama dan kedua lebih tipis dari minggu awal penyimpanan dan masih mempunyai pola yang sama. Iradiasi 0,3 kGy intensitas isoenzimnya lebih tipis dibanding kontrol, iradiasi 0,15 dan 0,45 kGy pada minggu pertama sampai minggu ketiga penyimpanan.



Gambar 4. Pola pita isoenzim pe pisang yang diiradiasi dengan dosis 0; 0,15; 0,3 dan 0,45 kGy dan disimpan pada suhu 22°C

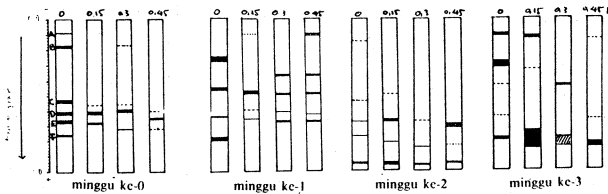
Gambar 5 menunjukkan isoenzim pod pisang kontrol memiliki 5 pita sedang iradiasi mempunyai 4 pita pada awal penyimpanan. Intensitas isoenzim A hampir tidak kelihatan dengan dosis 0,15 kGy tapi intensitas C melebar, sedang dosis 0,3 kGy intensitas C dan D hampir tidak kelihatan demikian juga iradiasi 0,45 kGy. Pola pita isoenzim pada minggu pertama baik kontrol maupun iradiasi tidak berbeda hanya terjadi penipisan intensitas dengan dosis 0,3 kGy baik pada minggu pertama maupun minggu ketiga penyimpanan.



Gambar 5. Pola pita isoenzim pod pisang yang diiradiasi dengan dosis 0; 0,15; 0,3 dan 0,45 kGy dan disimpan pada suhu 22°C

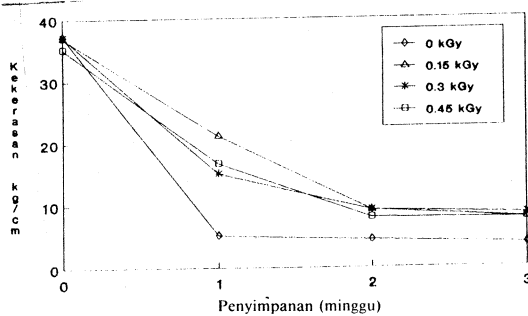
Pola pita isoenzim polifenoloksidase buah pisang mas yang diiradiasi dengan dosis 0,15; 0,3 dan 0,45 kGy serta kontrol sebagai pembandingan dan disimpan pada suhu 22°C dapat dilihat pada Gambar 6. Pola pita isoenzim pisang iradiasi berbeda dengan kontrol yaitu kontrol mempunyai 6 pita sedang iradiasi 0,15 dan 0,3

kGy memiliki 4 pita sedang dosis 0,45 kGy hanya 3 pita juga terjadi penipisan pita isoenzim. Intensitas isoenzim B dan C menipis pada dosis 0,15 kGy dan dosis 0,3 kGy isoenzim A dan B tidak muncul dan F menipis. Iradiasi 0,45 kGy isoenzim A, B dan C tidak muncul sedang D dan F menipis sesaat perlakuan iradiasi diberikan. Pada minggu pertama terlihat sedikit penebalan intensitas baik iradiasi maupun kontrol namun iradiasi 0,3 kGy intensitas isoenzimnya lebih tipis dibanding iradiasi 0,15 dan 0,45 kGy dan kontrol pada minggu kedua dan ketiga penyimpanan.



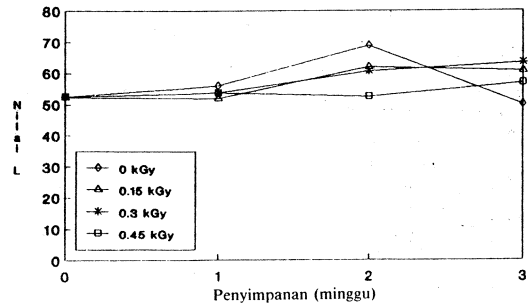
Gambar 6. Pola pita isoenzim pfo pisang yang diiradiasi dengan dosis 0; 0,15; 0,3 dan 0,45 kGy dan disimpan pada suhu 22°C

Dengan meningkatnya penyimpanan kekerasan buah pisang mas iradiasi dan kontrol terlihat menurun (Gambar 7). Penurunan kekerasan yang sangat besar terjadi pada pisang kontrol. Iradiasi dengan dosis 0,3 kGy sampai minggu ketiga penyimpanan nilai kekerasannya lebih tinggi dari kontrol maupun iradiasi 0,15 dan 0,45 kGy.



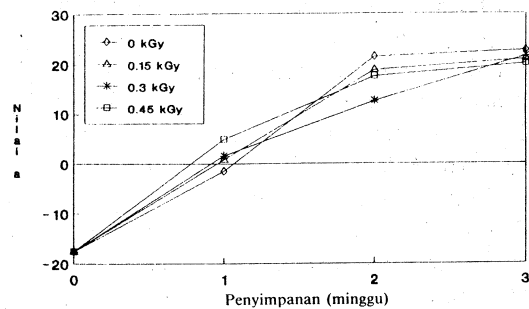
Gambar 7. Kekerasan buah pisang mas yang diiradiasi dengan dosis 0; 0,15; 0,3 dan 0,45 kGy dan disimpan pada suhu 22°C

Peroksidase dan polifenoloksidase merupakan enzim yang bekerja terhadap perubahan warna pada buah pisang. Seiring dengan itu adanya penurunan aktivitas oleh iradiasi juga terlihat adanya penurunan warna yang cukup lambat pada pisang iradiasi dibanding kontrol, hal ini dapat dilihat dari nilai L pada Gambar 8.



Gambar 8. Nilai L buah pisang mas yang diiradiasi dengan dosis 0; 0,15; 0,3 dan 0,45 kGy dan disimpan pada suhu 22°C

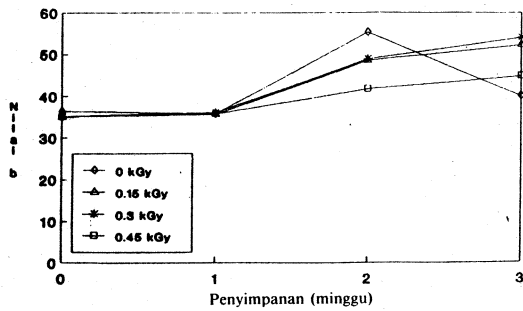
Dari gambar dapat dilihat bahwa nilai L yang menunjukkan kecerahan cenderung meningkat yang ditandai dengan perubahan warna hijau gelap menjadi kuning terang. Setelah pemasakan optimal pisang mas mengalami tahap pembusukan yang ditandai dengan warna kecoklatan sehingga nilai L kembali menurun.



Gambar 9. Nilai a buah pisang mas yang diiradiasi dengan dosis 0; 0,15; 0,3 dan 0,45 kGy dan disimpan pada suhu 22°C

Proses terjadinya perubahan warna hijau menjadi kuning merupakan akibat perpindahan rantai fitil dari daerah klorofil ke klorofilades. Hal ini dapat dilihat pada nilai a (Gambar 9) yang menunjukkan perubahan warna hijau tua menjadi hijau muda dan akhirnya mencapai maksimum menjadi warna kuning kemerahan. Iradiasi 0,3 kGy menunjukkan penurunan warna lebih rendah dari dosis 0,15 dan 0,45 kGy maupun kontrol.

Nilai b menunjukkan sumbu warna dari biru sampai kuning (Gambar 10). Hasil menunjukkan bahwa iradiasi mempengaruhi nilai b. Dosis 0,3 kGy sampai minggu ketiga penyimpanan mempunyai nilai yang lebih tinggi dari kontrol dan iradiasi 0,15 dan 0,45 kGy.



Gambar 10. Nilai b buah pisang mas yang diiradiasi dengan dosis 0; 0,15; 0,3 dan 0,45 kGy dan disimpan pada suhu 22°C

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian pengaruh iradiasi dosis 0,15; 0,3 dan 0,45 kGy serta kontrol sebagai pembandingan terhadap aktivitas enzim pektinesterase, peroksidase, polifenoloksidase dan masing-masing isoenzimnya serta kekerasan, nilai L, a dan b pada pisang mas yang disimpan pada suhu 22°C dapat disimpulkan bahwa iradiasi dosis 0,3 kGy dapat disimpan sampai tiga minggu, karena nilai L, a, b, kekerasan dan penurunan aktivitas enzim dan isoenzim lebih tinggi daripada kontrol, iradiasi 0,15 dan 0,45 kGy. Iradiasi 0,15; 0,3 dan 0,45 kGy telah menurunkan aktivitas pektinesterase sebesar 4,52; 16,96 dan 18,57% dan terjadi penipisan pita isoenzim esterase. Aktivitas peroksidase dengan dosis 0,3 dan 0,45 kGy sebanyak 16,37 dan 21,81% sedang polifenoloksidase masing-masing 19,67 dan 24,52% dan terlihat penipisan maupun hilangnya beberapa pita isoenzim.

DAFTAR PUSTAKA

1. MITCHELL, G.E., ISSAC, A.R., WILLIAMS, D.J., and HAMERTON, K., low dose irradiation influence on yield and quality of fruit juice, *J. of food sci.* 56(1991) 1626.
2. ARYANTI, WINARNO, E., NURHIDAYATI dan SOFYAN, R., The textural and biochemical changes in irradiated apples. Publikasi sedang diproses.
3. ARYANTI, WINARNO, E., NURHIDAYATI dan SINAGA, R., Pengaruh iradiasi terhadap lipoksigenase dan peroksidase asparagus dan kacang kapri. Publikasi sedang diproses.
4. SOFYAN, R., Studi tentang pfo jamur merang dan perubahan aktivitasnya akibat iradiasi gamma. *Risalah Seminar Nasional, Batan (1986) 433.*
5. DAVIS, B., Disc electrophoresis II. method and application to human serum protein, *ann. N.Y. Acad. Sci.* 121(1984) 404.
6. THOMAS, P., and JANAVE, Y., Polyphenoloxidase activity and browning of mango fruits induced by gamma irradiation. *J. of Food Sci.* (1973) 1149.