

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Plastik menjadi salah satu kebutuhan masyarakat dalam kehidupan sehari-hari dengan tingkat penggunaan yang cukup tinggi. Plastik berfungsi sebagai kemasan dalam berbagai barang kebutuhan sehari-hari. Tidak hanya barang, kemasan plastik juga diperlukan sebagai kemasan makanan, minuman, ataupun bahan pangan lainnya. Plastik digunakan sebagai kemasan karena bersifat ringan, kuat, mudah dibentuk, dan memiliki harga terjangkau (Fitriany et al., 2023). Kemasan plastik berfungsi dalam melindungi dan mengurangi kerusakan yang terjadi pada produk yang dikemas. Penggunaan kemasan plastik yang semakin banyak juga dapat memberikan masalah lingkungan berupa limbah plastik yang sulit diurai. Berdasarkan data Sistem Informasi Pengelolaan Sampah Nasional dalam Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan menyebutkan sebesar 17 Juta ton sampah per tahun 2023. Sebanyak 18 ribu diantaranya berasal dari sampah jenis plastik. Data tersebut menunjukkan 18% dari timbulan sampah di Indonesia diperoleh dari plastik. Limbah plastik yang sulit diurai akan terus menerus menumpuk, sehingga dapat merusak lingkungan. Oleh karena itu, salah satu solusi yang dapat dilakukan untuk mengurangi dampak dari limbah plastik ialah penggunaan plastik yang berbahan dasar ramah lingkungan atau biasa disebut dengan plastik *biodegradable*.

Plastik *biodegradable* merupakan plastik yang berbasis polimer ramah lingkungan seperti tanaman pati, selulosa, jagung, ataupun bahan aditif bersifat bio-aktif karena mudah terdekomposisi. Jenis plastik ini dapat meminimalisir kerusakan lingkungan seperti pencemaran air dan tanah, kerusakan ekosistem laut dan darat, paparan bahan kimia berbahaya dan risiko mikroplastik. Penguraian plastik oleh mikroorganisme secara alami menjadi perbedaan antara jenis plastik konvensional atau non *biodegradable* dengan plastik *biodegradable* (Purnavita, 2018). Plastik *biodegradable* terbuat dari bahan alami seperti pati atau selulosa (Danni et al., 2023). Alternatif biopolimer yang dapat digunakan pada kemasan plastik yang berbasis ramah lingkungan, yaitu asam polilaktat (PLA) dan polikaprolakton (PCL). Asam polilaktat merupakan polimer *biodegradable* yang terbuat dari proses enzimatik pati sebagai bahan baku menjadi asam laktat. PLA sebagai bahan tambahan dalam pembuatan plastik *biodegradable* mampu meningkatkan kekuatan mekanik dan menjaga ketahanan termal plastik. Namun, sebagai alternatif pengganti plastik konvensional, jenis plastik *biodegradable* ini masih memiliki kekurangan berupa sifat penghalang gas dan stabilitas termal yang rendah (Suryani et al., 2022). Penambahan selulosa mikrokristalin digunakan agar dapat meningkatkan karakteristik fisik plastik. Selulosa mikrokristalin memiliki karakteristik daya tarik yang tinggi dan daya ikat yang kuat (Intandiana et al., 2019). Sehingga diharapkan plastik *biodegradable* ini dapat menjaga kualitas suatu produk pangan yang dikemas.

Plastik *biodegradable* dapat digunakan sebagai kemasan bahan pangan seperti buah-buahan untuk menjaga kualitas fisik dan kimianya. Plastik *biodegradable* dapat berperan sebagai kemasan aktif yang menjadi alternatif kemasan untuk mengawetkan dan mencegah degradasi kualitas mutu suatu bahan pangan. Penggunaan senyawa bioaktif pada plastik *biodegradable* sebagai kemasan aktif dapat meningkatkan sifat sensorik dan umur simpan produk yang dikemas (Safirin et al., 2023). Salah satu jenis senyawa bioaktif yang berperan sebagai *oxygen scavenger* dalam kemasan aktif adalah *butylated hydroxytoluene* (BHT). Struktur kimia BHT yang berbentuk cincin aromatik fenol memiliki gugus hidroksi yang berperan sebagai donor hidrogen dalam menstabilkan radikal (Ortiz-Vazquez et al., 2011). Radikal bebas tersebut selanjutnya bereaksi dengan oksigen dan membentuk hidroperoksida yang stabil, sehingga efektif dalam menyerap oksigen dalam kemasan (Yuniarto et al., 2016). BHT sebagai agen penyerap oksigen digunakan untuk mengurangi proses oksidasi produk yang dikemas sehingga dapat mengurangi penurunan kualitas suatu produk pangan.

Penurunan kualitas produk pangan khususnya pada buah dapat dipengaruhi oleh proses respirasi. Reaksi metabolisme berupa proses respirasi yang terjadi dapat menurunkan kualitas mutu buah dengan memanfaatkan oksigen dilingkungan sekitarnya sehingga menghasilkan air, karbondioksida, dan energi. Buah pir *fresh-cut* termasuk buah klimaterik yang mengalami proses pematangan oleh aktivitas respirasi pascapanen yang signifikan sehingga rentan terjadi pencoklatan enzimatis. Perubahan warna dan struktur jaringan yang sensitif terhadap oksidasi pada buah pir *fresh-cut* mempengaruhi warna permukaan buah menjadi kecoklatan dari pencoklatan enzimatis (Li et al., 2013). Berdasarkan penelitian Aini (2023) dengan penggunaan *microcrystalin cellulose* sebagai bahan penguat dan variasi konsentrasi BHT sebagai agen penyerap oksigen mampu menghasilkan karakteristik plastik *biodegradable* yang baik dalam menjaga kualitas mutu buah apel *fresh-cut*. Berdasarkan hal tersebut yang mendasari perbaikan permeabilitas oksigen pada plastik *biodegradable* yang dibuat melalui penggunaan *oxygen scavenger* untuk mengurangi proses oksidasi yang terjadi dan penggunaan *microcrystalin cellulose* dengan variasi konsentrasi yang dapat mempengaruhi karakteristik plastik dalam menjaga kualitas buah. Aplikasi teknologi agen penyerap oksigen pada plastik *biodegradable* sebagai kemasan aktif buah pir *fresh-cut* berguna dalam menjaga kualitas buah tersebut.

Sebelumnya telah dilakukan penelitian mengenai plastik *biodegradable* dengan penggunaan pati kulit singkong sebagai bahan utama dan selulosa tongkol jagung serta zink oksida sebagai *filler*. Penelitian tersebut menghasilkan plastik *biodegradable* dengan waktu degradasi selama 16-18 hari dan daya tarik yang tinggi (Danni et al., 2023). Penelitian lain yang menggunakan PLA-PEG400-BHT sebagai bahan ramah lingkungan mampu menghasilkan kemasan aktif yang efektif dalam mencegah difusi oksigen (Yuniarto et al., 2020). Penelitian penggunaan *Microcrystalin Cellulose* sebagai bahan pengisi atau penguat dan BHT sebagai agen penyerap oksigen diharapkan mampu menghasilkan plastik *biodegradable* yang baik dalam menjaga kualitas mutu produk pangan (Aini, 2023). Oleh karena

itu, dilakukan penelitian ini dengan judul “Pengaplikasian Plastik *Biodegradable* Berpenyerap Oksigen *Butylated Hydroxytoluene* (BHT) dengan Penambahan Selulosa Mikrokrystalin pada Buah Pir *Fresh-cut*” untuk memperoleh plastik *biodegradable* sebagai kemasan aktif yang mampu mencegah terjadinya penurunan mutu pada buah pir dengan penggunaan teknologi bahan *oxygen scavenger* dalam mengurangi proses oksidasi yang terjadi selama penyimpanan.

1.2 Rumusan Masalah

Kemasan plastik konvensional yang sulit terurai menyebabkan lingkungan tercemar. Salah satu solusi yang dapat digunakan adalah plastik *biodegradable* yang ramah lingkungan, namun memiliki kekurangan dalam segi permeabilitasnya terhadap oksigen. Hal tersebut dapat diminimalisir dengan penambahan senyawa bioaktif sebagai agen penyerap oksigen yang berperan dalam mencegah kerusakan oksidatif pada suatu produk pangan. Selain itu, plastik *biodegradable* dengan penambahan bahan penguat dapat meningkatkan sifat fisik plastik sehingga perlu dilakukan untuk menghasilkan *biodegradable* yang lebih kuat. Pengaplikasian plastik *biodegradable* ini diharapkan mampu menghambat reaksi oksidatif yang terjadi pada suatu produk pangan yang mengalami pencoklatan akibat reaksi oksidasi, seperti pada buah pir (*fresh-cut*).

1.3 Tujuan dan Manfaat

Tujuan dari penelitian Pengaplikasian Plastik *Biodegradable* Berpenyerap Oksigen *Butylated Hydroxytoluene* dengan Penambahan Selulosa Mikrokrystalin pada Buah Pir *Fresh-cut*, yaitu:

1. Untuk menganalisis kemampuan penyerap oksigen dan degradabilitas dari plastik *biodegradable* yang ditambahkan agen penyerap oksigen BHT dan penguat selulosa mikrokrystalin sebagai kemasan aktif.
2. Untuk menganalisis efektivitas penggunaan plastik *biodegradable* pada pengemasan buah pir *fresh-cut* selama penyimpanan di suhu ruang utamanya dalam menghambat terjadinya reaksi pencoklatan enzimatik pada buah pir *fresh-cut*.

Manfaat dari penelitian ini adalah dapat menghasilkan plastik *biodegradable* yang dapat menjadi alternatif kemasan ramah lingkungan sekaligus mampu mempertahankan kualitas mutu buah yang dikemas.

BAB II METODE PENELITIAN

2.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2024 hingga Februari 2025, bertempat di Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat (LPPM), Universitas Hasanuddin, Makassar.

2.2 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada penelitian ini, yaitu akuades, *aluminium foil*, barium klorida (BaCl_2), buah pir, bubuk *microcrystalin cellulose* (MC), *butylated hydroxytoluene* (BHT), indikator amilum, indikator fenolftalein, karbon aktif, kloroform, kompos, larutan catechol, larutan fosfat pH 7, larutan NaOH 0,1 N, natrium klorida (NaCl), plastisin, plastik HDPE, *Polylactic Acid* (PLA), *Polyethylene Glycol* 400 (PEG-400), serbuk besi, sodium buffer fosfat (pH 6).

Alat yang digunakan pada penelitian ini, yaitu batang pengaduk, botol kaca, buret, desikator, *digital color meter* (T-135), *digital refractometer*, gelas beker, kain saring, labu Erlenmeyer, labu ukur, *magnetic stirrer*, mortar, cetakan kaca, penetrometer, pipet volume, pH meter, pisau, *sealer*, sentrifugasi, spektrofotometer UV-Vis, timbangan analitik dan wadah penyimpanan.

2.3 Prosedur Penelitian

2.3.1 Pembuatan plastik *biodegradable* berpenyerap oksigen (Aini, 2023)

Pembuatan plastik *biodegradable* berpenyerap oksigen dilakukan dengan mencampurkan PLA sebanyak 7% dari jumlah kloroform yang digunakan, sebesar 10,5 g PLA dalam 150 ml kloroform menggunakan *strirrer* pada kecepatan 750 rpm dengan suhu 25°C. Kemudian, ditambahkan bubuk selulosa mikrokristalin sebanyak 20%, 10%, dan 0% dari jumlah PLA yang digunakan yaitu 2,1 g, 1,05 g, dan tanpa MC, dengan tetap diaduk menggunakan *stirrer*. Setelah itu, ditambahkan PEG 400 sebanyak 5% dan PLA, yaitu 0,525 ml, lalu dilarutkan dan ditambahkan senyawa BHT (*butylated hydroxytoluene*) sebanyak 10% PLA, yaitu 1,05 g. Selanjutnya, larutan tersebut dituangkan ke pelat kaca berbentuk persegi sebanyak 10 g pada setiap *layer* atau lapisannya kemudian diratakan. Setiap lapisan tersebut dikeringkan selama 24 jam di suhu ruang dan diulang hingga terbentuk tiga *layer* atau lapisan.

2.3.2 Pengaplikasian plastik

Buah pir disortir dengan memilih buah dengan kualitas yang baik seperti segar, matang, dan tidak ada memar ataupun luka. Kemudian, buah dipotong (*fresh-cut*) dengan berat dan ketebalan yang sama untuk setiap kemasan. Setelah itu, sampel buah tersebut disimpan dalam keadaan yang berbeda, yaitu kondisi tanpa kemasan, sampel dengan kemasan HDPE, dan sampel dengan kemasan plastik *biodegradable* berpenyerap oksigen. Selanjutnya, masing-masing perlakuan disimpan pada suhu ruang selama 6 jam. Kemudian, dilakukan analisis terhadap mutu buah pada pengamatan setiap 3 jam sekali, yaitu pada jam ke-0, jam ke-3, dan jam ke-6. Adapun pengujian yang dilakukan, yaitu analisis total padatan terlarut,

pH, vitamin C, total asam, tingkat kekerasan buah, kuantifikasi pencoklatan enzimatis, dan kuantifikasi aktivitas enzim polifenol.

2.4 Desain Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui tiga tahapan, yaitu tahap pertama dilakukan pembuatan formulasi plastik *biodegradable*, tahap kedua pengujian sifat ketahanan udara plastik *biodegradable*, dan tahap ketiga pengaplikasian plastik pada buah pir *fresh-cut*. Hasil perlakuan terbaik pada tahap pertama diaplikasikan pada tahap ketiga.

Tahapan pertama, pembuatan formulasi plastik *biodegradable*. Bertujuan dalam memperoleh formulasi plastik dengan konsentrasi MC sehingga dapat diperoleh plastik dengan daya degradabilitas dan permeabilitas oksigen yang baik.

Faktor A = Konsentrasi bubuk mikrokristalin selulosa

A0 = konsentrasi bubuk MC 0% (kontrol)

A1 = konsentrasi bubuk MC 10%

A2 = konsentrasi bubuk MC 20%

Tahapan kedua, pengujian sifat ketahanan udara plastik *biodegradable*. Terdapat dua faktor perlakuan, yaitu jenis plastik dengan konsentrasi MC berbeda dan waktu penyimpanan.

Faktor A = Konsentrasi bubuk mikrokristalin selulosa

A0 = konsentrasi bubuk MC 0% (kontrol)

A1 = konsentrasi bubuk MC 10%

A2 = konsentrasi bubuk MC 20%

Faktor W = Waktu penyimpanan

W0 = 7 hari

W1 = 14 hari

W2 = 21 hari

W3 = 28 hari

Tahapan ketiga, hasil perlakuan terbaik dari tahap pertama diaplikasikan pada buah pir *fresh-cut* dengan tujuan untuk mengetahui efektivitas penggunaan kemasan plastik *biodegradable* sebagai kemasan aktif berpenyerap oksigen pada buah pir *fresh-cut*. Terdapat dua faktor perlakuan, yaitu jenis kemasan dan waktu penyimpanan.

Faktor X = Jenis kemasan

X0 = Tanpa kemasan

X1 = Kemasan HDPE

X2 = Kemasan *biodegradable* berpenyerap oksigen

Sampel dengan masing-masing perlakuan kemudian disimpan pada suhu ruang dan diamati lama waktu penyimpanan hingga terjadi pencoklatan pada buah.

Faktor Y = Waktu penyimpanan

Y0 = 0 jam

Y1 = 3 jam

Y2 = 6 jam

2.5 Parameter Penelitian

2.5.1 Uji permeabilitas oksigen (Liu et al., 2020)

Permeabilitas oksigen plastik diuji dengan metode zat deoksidasi besi, yaitu proses oksidasi besi. Disiapkan botol kaca dan dimasukkan 3 g agen deoksidasi berupa natrium klorida, karbon aktif, dan serbuk besi tereduksi dengan komposisi 1,5: 1: 0,5. Kemudian, bibir botol kaca ditutup dengan sampel plastik *biodegradable* yang telah dibuat dan dipotong ukuran 6x6 cm, lalu ditutup kembali dengan lapisan karet atau plastisin dan ditimbang berat awal botol tersebut. Setelah itu, botol dimasukkan dalam desikator pada suhu 25°C selama 48 jam dan ditambahkan larutan jenuh barium klorida pada bagian bawah agar dapat menjaga RH tetap berada pada nilai 90%. Selanjutnya, permeabilitas oksigen dihitung dengan rumus sebagai berikut.

$$\text{Permeabilitas oksigen} = \frac{M_f - M_i}{t \times A}$$

Keterangan:

M_i = berat awal botol

M_f = berat akhir botol setelah diseimbangkan selama 48 jam

t = waktu kesetimbangan (s)

A = luas efektif plastik (mm^2)

2.5.2 Uji biodegradabilitas (Elisusanti et al., 2019)

Uji biodegradabilitas plastik dilakukan dengan metode *soil burial test*, yaitu mikroorganisme berperan pada proses degradasi sampel dalam tanah. Plastik tersebut dipotong ukuran 2x2 cm, lalu ditimbang. Kemudian, dikubur dalam tanah kompos di kedalaman 7,5 cm. Setelah itu, plastik disimpan selama 30 hari pada suhu ruang dan dilakukan pengamatan setiap seminggu sekali. Selanjutnya, plastik dibersihkan dari tanah yang tertinggal, lalu ditimbang kembali. Tingkat biodegradabilitas plastik diketahui dari berat sampel yang hilang. Persentase penurunan berat sampel dihitung dengan rumus sebagai berikut.

$$\text{Kehilangan berat (\%)} = \frac{W_i - W_f}{W_i} \times 100\%$$

Keterangan:

W_i = berat sampel sebelum biodegradasi

W_f = berat sampel setelah biodegradasi

2.5.3 Uji ketahanan udara (Eristina, 2018)

Uji ketahanan udara dilakukan dengan sampel plastik disimpan pada suhu ruang. Sampel ditimbang terlebih dahulu untuk mengetahui massa awal (m_0), lalu disimpan dalam wadah akrilik. Setelah itu, sampel diamati dan dilakukan pengambilan data pada setiap variasi waktu 7, 14, 21, 28 hari. Selanjutnya, saat pengujian selesai sampel ditimbang untuk diketahui massa akhir (m_1).

Perubahan massa dihitung dengan persamaan:

$$\Delta m = m_1 - m_0$$

Persentase perubahan massa dihitung dengan persamaan:

$$\% \Delta m = \frac{m_1 - m_0}{m_0} \times 100\%$$

Keterangan:

Δm = perubahan massa (g)

% Δm = persentase perubahan massa (%)

m_0 = massa awal (g)

m_1 = massa yang akan diuji setelah hari ke- (g)

2.5.4 Pengujian nilai pH (Ismanto & Basuki, 2017)

Pengujian nilai pH pada buah dilakukan dengan pH meter yang dikalibrasi dengan larutan buffer pH 4 dan pH 7. Kemudian, daging buah ditimbang sebanyak 10 g dan dicacah, lalu dihaluskan dengan mortar. Kemudian, diperoleh sari buah sampel dan pH meter dicelupkan pada sampel. Setelah itu, hasil pH dilihat pada layar digital dan pengujian dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali dan hasilnya dirata-ratakan. Selanjutnya, alat pH meter dibilas dengan akuades dan dikeringkan dengan tisu.

2.5.5 Pengujian total padatan terlarut (Bahtiar et al., 2020)

Pengujian total padatan terlarut sampel dilakukan dengan menggunakan alat *refraktometer*. Prisma refraktometer dikalibrasi terlebih dahulu dengan akuades dan dikeringkan dengan tisu. Setelah itu, sampel yang telah dihaluskan dipipet dan diteteskan pada prisma refraktometer. Selanjutnya, dilakukan pembacaan nilai derajat *brix* yang muncul pada alat yang menandakan besaran total padatan terlarut dalam sampel tersebut.

2.5.6 Pengujian vitamin C (AOAC, 1995)

Pengujian kadar vitamin C dilakukan dengan buah pir dihancurkan dan ditimbang sebanyak 5 g. Kemudian, sampel buah dimasukkan dalam labu ukur 100 mL dan dilarutkan dengan akuades hingga tanda batas. Larutan dihomogenkan, lalu disaring. Hasil filtrat dipipet sebanyak 25 mL, lalu ditambahkan indikator amilum sebanyak 5 tetes dan dititrasi dengan larutan iod 0,01N hingga larutan berubah warna biru. Selanjutnya, kandungan vitamin C dihitung dengan rumus.

$$\text{Vit. C} = \frac{V_{I_2} \times 0,88 \times F_p \times 100}{W_s}$$

Keterangan:

V_{I_2} = volume iodin (mL)

F_p = faktor pengenceran

W_s = berat sampel (gram)

2.5.7 Pengujian total asam (Dirpan et al., 2018)

Pengujian total asam dilakukan metode titrasi. Sampel buah pir dihancurkan, lalu disaring untuk diperoleh filtrat. Kemudian, filtrat sampel dipipet sebanyak 10 mL dan dimasukkan dalam labu ukur 100 mL, lalu ditambahkan akuades hingga tanda batas. Setelah itu, larutan hasil pengenceran dipipet sebanyak 10 mL, lalu ditambahkan indikator fenolftalein sebanyak 3 tetes dan dihomogenkan. Selanjutnya, larutan dititrasi dengan larutan NaOH 0,1 N hingga berubah warna menjadi merah muda. Hasil titrasi dihitung dengan rumus.

$$\text{Total Asam} = \frac{V_1 \times N_{NaOH} \times F_p \times BM_{As.Sitrat}}{1000 \times V_2} \times 100\%$$

Keterangan:

- V_1 = volume titrasi NaOH (mL)
 V_2 = volume awal sampel (mL)
 N NaOH = normalitas NaOH
 FP = faktor pengenceran
 BM . As. Sitrat = berat molekul asam sitrat (192,13)

2.5.8 Pengukuran tingkat kekerasan buah (Muhibuddin, 2007)

Pengukuran tingkat kekerasan buah pir dilakukan dengan menggunakan alat penetrometer. Terlebih dahulu buah diletakkan di atas meja, lalu diatur probe hingga bagian ujungnya tepat menyentuh permukaan sampel dan jarum skala menunjukkan angka nol. Kemudian, ditambahkan beban sebanyak 10 g pada pangkal jarum. Setelah itu, diatur waktu penetrasi ± 10 detik. Selanjutnya, jarum penetrometer dikunci, pengatur jarum skala ditekan perlahan hingga menyentuh jarum. Kemudian, dilepaskan jarum penetrometer yang dikunci agar jarum dapat menembus buah. Setelah itu, diperoleh angka dari kedalaman penetrasi jarum penetrometer ± 10 detik.

2.5.9 Kuantifikasi pencoklatan enzimatik (Subhashree et al., 2017)

Proses pengujian warna buah pir dilakukan menggunakan *digital color meter*. Proses tersebut didasarkan pada sistem CIELab yang terdiri dari nilai L^* , a^* , dan b^* . Tahapan pengujian dilakukan dengan kalibrasi kolorimeter menggunakan pelat reflektor putih standar untuk nilai Y (92,4), x (0,316), dan y (0,3322). Seluruh sampel diletakkan di atas bidang datar berlatar hitam dilakukan pengukuran warna dengan adanya detektor chromameter di atas permukaan sampel. Selanjutnya, hasil pengukuran tersebut dapat dilihat pada display yang dinyatakan dalam notasi *Hunter's Lab Colorimetric System* yang disajikan dalam 3 nilai, yaitu L^* (*lightness*), a^* (*redness*), dan b^* (*yellowness*). Pengukuran yang dilakukan dikhususkan pada analisis nilai L^* (*lightness*) dan b^* (*yellowness*) dan dilakukan tiga kali ulangan pada tiga titik berbeda. Adapun kuantifikasi pencoklatan enzimatik buah dinyatakan dalam *browning index* (BI) dan nilai koordinat L^* (*lightness*). BI dapat menunjukkan warna coklat pada sampel buah apel, dengan persamaan.

$$BI = \frac{(x-0,31)}{0,172} \times 100$$

Dimana x ,

$$x = \frac{a^* + 1,75 L^*}{5,645 L^* + a^* - 3,012 b^*} \times 100$$

Keterangan:

- BI = indikasi warna coklat pada buah pir yang terpapar oksigen
 x = koordinat kromatisitas yang dihitung dari nilai tristimulus
 L^* = tingkat kecerahan dengan interval skala warna kromatis 0-100 yang menunjukkan gelap ke terang
 a^* = cahaya pantul yang menghasilkan warna kromatik campuran merah sampai hijau dengan interval skala negatif (-80) sampai positif (+100) yang menunjukkan dari hijau ke merah

- b* = warna kromatik campuran biru sampai kuning dengan interval skala negatif (-70) sampai positif (+70) yang menunjukkan dari biru ke kuning
1,75 = angka konversi warna gelap pada CieLab
5,645 = angka konversi warna terang pada CieLCH

2.5.10 Kuantifikasi aktivitas enzim polifenol oksidase (Falquera et al., 2012; Jibril, 2018)

Aktivitas polifenol oksidase (PPO) ditentukan dengan pengukuran laju awal pembentukan kuinon yang ditunjukkan dengan peningkatan unit absorbansi (AUs) pada gelombang 420 nm. Adapun analisa aktivitas enzim PPO dilakukan dengan tahapan sebagai berikut.

Ekstraksi enzim polifenol oksidase dari buah pir. Enzim diekstraksi dengan menghancurkan buah apel sebanyak 5 g dengan 40 mL dari 0,2 M sodium buffer fosfat pada pH 6 menggunakan blender. Kemudian, disaring menggunakan kain saring. Setelah itu, filtrat tersebut disentrifus selama 30 menit pada kecepatan 5000 rpm hingga diperoleh larutan enzim.

Uji aktivitas enzim polifenol oksidase. Aktivitas enzim polifenol oksidase diukur dengan metode pengukuran warna. Larutan enzim sebanyak 0,5 mL dicampur dengan 0,5 mL dari 10 M larutan catechol dan 4 mL dari 0,1 M larutan fosfat pada pH 7. Kemudian, larutan tersebut diinkubasi pada suhu 30°C selama 5 menit. Setelah itu, larutan tersebut diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 420 nm selama 4 menit dan pada selang waktu 1 menit dibaca. Selanjutnya, dibandingkan dengan sampel blanko yang berisi substrat 1 mL, tanpa mengandung ekstrak enzim. Satu unit aktivitas enzim PPO dinyatakan dalam jumlah enzim yang dapat menyebabkan peningkatan absorbansi sebesar 0,001/menit (U/menit). Aktivitas PPO dilakukan pengujian secara duplo.

2.6 Analisis Data

Rancangan analisis data yang digunakan pada penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL). Tahapan pertama dengan RAL biasa atau non faktorial, tahapan kedua dengan RAL faktorial, dan tahapan ketiga dengan RAL faktorial. Berdasarkan data hasil penelitian dengan tiga ulangan diolah menggunakan aplikasi *SPSS* dan *Microsoft Excel*. Setiap parameter dianalisa dengan analisis sidik ragam (ANOVA). Ketika hasil yang diperoleh berpengaruh nyata, maka dilanjutkan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT).