

III. TATA CARA PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Pasca Panen, Fakultas Pertanian UMY pada bulan Maret-April 2017.

B. Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan yaitu wadah pencucian, nampan, *sprayer*, timbangan digital, *pnrometer fruit*, blender, *erlenmeyer*, labu takar, tabung reaksi, *spectrophotometer*, petridish, autoklaf, pipet ukur, pH *stick*, *drigalsky*, *colony counter*, botol timbang, statif dan buret, botol suntik, *refractometer*, *micropipet*. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu buah Jambu air var. Dalhari, alginat, minyak atsiri daun sirih, gliserol, aquadest, *malt* ekstrak, *peptone*, agar-agar, NaOH 0,1 N, indikator PP.

C. Metode Penelitian

Penelitian dilakukan dengan metode percobaan laboratorium yang disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan rancangan perlakuan faktorial (3 x 3). Faktor pertama adalah konsentrasi alginat yang terdiri dari tiga aras yaitu 2%, 2,5% dan 3%. Faktor kedua adalah konsentrasi penambahan minyak atsiri daun sirih yang terdiri dari tiga aras yaitu 0%, 0,1% dan 0,2%, sehingga diperoleh 9 kombinasi perlakuan. Masing-masing perlakuan diulang tiga kali. Setiap unit percobaan terdiri dari 9 buah Jambu air. Kombinasi perlakuannya yaitu :

1. A1 S0 : Alginat 2% dan Minyak Atsiri Daun Sirih 0%
2. A1 S1 : Alginat 2% dan Minyak Atsiri Daun Sirih 0,1%

3. A1 S2 : Alginat 2% dan Minyak Atsiri Daun Sirih 0,2%
4. A2 S0 : Alginat 2,5% dan Minyak Atsiri Daun Sirih 0%
5. A2 S1 : Alginat 2,5% dan Minyak Atsiri Daun Sirih 0,1%
6. A2 S2 : Alginat 2,5% dan Minyak Atsiri Daun Sirih 0,2%
7. A3 S0 : Alginat 3% dan Minyak Atsiri Daun Sirih 0%
8. A3 S1 : Alginat 3% dan Minyak Atsiri Daun Sirih 0,1%
9. A3 S2 : Alginat 3% dan Minyak Atsiri Daun Sirih 0,2%

D. Cara Penelitian

1. Kriteria buah

Buah Jambu air dipilih yang memiliki ukuran sama dan umur 60 hari setelah berbunga (*grade A*). Buah dengan kriteria tersebut memiliki ukuran yang besar dengan berat mencapai ± 125 gram/buah atau dalam 1 kg berisi 6-8 buah. Buah disimpan pada suhu 14°C hingga diproses. Buah dicuci menggunakan larutan klorin dengan konsentrasi 200 $\mu\text{l L}^{-1}$, kemudian dikering anginkan dan dibersihkan dari bagian-bagian yang tidak dibutuhkan.

2. Pembuatan *edible coating*

Larutan *edible coating* disiapkan dengan melarutkan bubuk alginat ke dalam aquadest dan dipanaskan pada suhu 85°C menggunakan *waterbath* selama 30 menit hingga larutan menjadi jernih. Larutan kemudian ditambahkan 1,5% gliserol sebagai *plasticizer* (perekat). Setelah larutan *edible coating* alginat terbentuk, minyak atsiri daun sirih ditambahkan sesuai dengan kombinasi perlakuan.

3. Pelapisan buah

Buah yang sudah disiapkan kemudian dicelupkan ke masing-masing perlakuan. Buah kemudian sesegera mungkin dicelupkan ke dalam larutan CaCl_2 2% hingga terbentuk lapisan.

4. Penyimpanan buah

Buah kemudian dikering udarkan pada suhu ruang, disimpan pada *polystyrene box* dan *wrapping*. Buah disimpan pada suhu 14°C selama 15 hari.

5. Pengamatan

Pengamatan buah Jambu air meliputi persentase susut berat, indeks kehilangan air, tekstur buah (kekerasan), kandungan asam tertitrasi, kandungan padatan terlarut (gula total), gula reduksi, dan uji mikrobiologi yang dilakukan setiap 3 hari sekali selama 15 hari masa penyimpanan.

E. Parameter yang Diamati

1. Persentase susut berat (%)

Susut berat buah dilakukan setiap 3 hari sekali, yaitu pada hari ke-3, hari ke-6, hari ke-9, hari ke-12, dan hari ke-15 yang diambil dari 3 buah sampel. Berat awal buah ditimbang sebelum perlakuan dan berat buah dilakukan pengamatan setelah perlakuan, kemudian dihitung pengurangan berat buah sebagai susut berat dengan menggunakan rumus :

$$\text{Susut berat} = \frac{W_a - W_b}{W_a} \times 100\%$$

W_a : berat awal sebelum perlakuan

W_b : berat akhir setelah perlakuan

2. Organoleptik (*scoring*)

Pengujian kehilangan air menggunakan metode *scoring* dengan skala 0-4, dimana :

0 = tidak terjadi keriput

1 = sedikit ($\pm 5\%$ dari luas permukaan)

2 = sedang (5-20% dari luas permukaan)

3 = cukup banyak (20-50% dari luas permukaan), dan

4 = sangat banyak (>50% dari luas permukaan) untuk masing-masing buah. Besarnya kehilangan air ditentukan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\begin{aligned} & (\% \text{ buah dengan sedikit kehilangan air} \times 1) + (\% \text{ buah dengan sedang} \times 2) \\ & + (\% \text{ buah dengan cukup banyak} \times 3) + (\% \text{ buah dengan sangat banyak} \times \\ & \qquad \qquad \qquad 4)/5 \end{aligned}$$

3. Pengujian tekstur buah (N/mm^2)

Kekerasan buah diamati 3 hari sekali, yaitu pada hari ke-0, hari ke-3, hari ke-6, hari ke-9, hari ke-12, dan hari ke-15 yang diambil dari buah korban. Kekerasan buah diukur menggunakan *fruit pnetrometer* dengan diameter *probe cone* 6 mm.

$$\text{Uji kekerasan} = \frac{\text{gaya yang diberikan}}{\text{luas permukaan}}$$

4. Pengukuran kandungan asam tertitiasi (%)

Uji total asam tertitiasi dilakukan setiap 3 hari sekali, yaitu pada hari ke-0, hari ke-3, hari ke-6, hari ke-9, hari ke-12, dan hari ke-15 yang diambil dari buah korban. Uji total asam tertitiasi dilakukan untuk mengukur keadaan tingkat keasaman pada larutan sampel menggunakan

metode titrasi dengan cara memasukkan sampel sebanyak 5 gram dan diencerkan menggunakan aquadest sebanyak 100 ml, diambil 10 ml dengan menambahkan indikator PP sebanyak 1-3 tetes kemudian dititrasi dengan NaOH 0,1 N sampai terjadi perubahan warna. Perhitungan dilakukan menggunakan rumus :

$$\text{Total asam tertitrasi} = \frac{\text{ml NaOH} \times \text{N NaOH} \times \text{FP} \times \text{BE asam malat} \times 100\%}{\text{berat sampel (mg)}}$$

Keterangan

ml NaOH 0,1 N : volume NaOH yang digunakan untuk penitrasi

N NaOH 0,1 N : normalitas NaOH yang digunakan untuk menitrasi

FP : faktor pengenceran

5. Pengukuran kandungan padatan terlarut (brix %)

Uji ini dilakukan dengan menggunakan *refractometer* atago terhadap tingkat kemanisan atau kadar gula buah yang dilakukan 3 hari sekali pada hari ke-0, hari ke-3, hari ke-6, hari ke-9, hari ke-12, dan hari ke-15 dimana diambil dari buah korban.

6. Pengujian gula reduksi (%)

Uji kadar gula reduksi dilakukan setiap 3 hari sekali, yaitu pada hari ke-0, hari ke-3, hari ke-6, hari ke-9, hari ke-12, dan hari ke-15 yang diambil dari buah korban. Gula reduksi dapat mereduksi ion kupri menjadi kupro-oksida, dalam hal ini mereduksi reagen Nelson (Arsenomolibdat) yang menghasilkan warna biru. Nelson A 25 ml dicampurkan dengan Nelson B 1 ml. Sampel dimasukkan sebanyak 1 ml, ditambah 1 ml reagen C kemudian dimasukkan ke tabung reaksi, ditutup dan dipanaskan dalam *waterbath* selama 20 menit. Sampel didinginkan dan ditambahkan 2 ml

reagen Arsenomolibdat kemudian digojog, ditambahkan 7 ml aquadest. Selanjutnya, dibaca absorbansinya pada $\lambda = 540$ nm dengan *spectrophotometer* UVmini-1240 shimadzu (Nelson-Somogyl).

$$\% \text{ gula reduksi} = \frac{\text{konsentrasi} \times \text{faktor pengenceran}}{\text{berat sampel (mg)}} \times 100\%$$

7. Pengujian mikrobiologi (CFU/ml)

Uji mikrobiologi dilakukan pada hari ke-0, ke-3, ke-6, ke-9, ke-12, dan hari ke-15 penyimpanan dengan menghitung total mikrobia menggunakan metode *plate count*. Langkah-langkah dalam uji mikrobiologi sebagai berikut (Jutono dkk., 1980) :

- a. Membuat medium *Malt* Ekstrak Agar (MEA) sebanyak 1.000 ml, dengan bahan *malt* ekstrak 30 g, *peptone* 5 g, aquadest 1.000 ml, dan agar-agar 15 g. Bahan-bahan tersebut dicampur dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer steril kemudian dipanaskan sampai larutan mendidih. Dinginkan dan cek pH dibuat menjadi 5,5, menambahkan aquadest yang hilang selama pemanasan hingga mencapai volume tepat 1.000 ml kembali, kemudian disterilkan dengan autoklaf tekanan 1 atm selama 20 menit.
- b. Menyiapkan sampel
 - 1) Menimbang bahan (buah) yang telah dihaluskan sebanyak 1 g, kemudian memasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 9 ml aquadest steril, gojog homogen dengan *vortex*.
 - 2) Mengencerkan 10^{-2} , mengambil 1 ml hasil penyaringan pada langkah pertama, kemudian memasukkan dalam botol suntik berisi 99 ml aquadest steril dan menggojog sampai homogen.

- 3) Mengencerkan 10^{-4} , mengambil 1 ml hasil pengenceran 10^{-2} , kemudian memasukkan ke dalam botol suntik berisi 99 ml aquadest steril dan menggojog sampai homogen.
 - 4) Mengencerkan 10^{-5} , mengambil 1 ml hasil pengenceran 10^{-4} , kemudian memasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 9 ml aquadest steril dan menggojog sampai homogen.
 - 5) Mengencerkan 10^{-6} , mengambil 1 ml hasil pengenceran 10^{-5} , kemudian memasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 9 ml aquadest steril dan menggojog sampai homogen.
- c. Menyiapkan petridish yang telah diisi medium MEA \pm 10 ml dan memberi label masing-masing petridish untuk pengenceran 10^{-5} , 10^{-6} , dan 10^{-7} .
 - d. Menginokulasikan masing-masing suspensi hasil pengenceran 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} sebanyak 0,1 ml pada petridish yang berisi medium MEA.
 - e. Meratakan suspensi mikrobia dengan *drigalsky* steril.
 - f. Menginkubasikan petridish yang berisi suspensi mikrobia selama 2 hari pada suhu kamar.
 - g. Jumlah mikrobia yang tumbuh pada petridish dihitung dengan *colony counter*.

Perhitungan mikrobia dengan metode *plate count* harus memenuhi beberapa syarat berikut :

- a. Jumlah koloni tiap cawan petri antara 30-300 koloni.
- b. Tidak ada koloni yang menutup lebih besar dari setengah luas cawan petri (*spreader*).

- c. Perbandingan jumlah koloni dari pengenceran yang berturut-turut antara pengenceran yang lebih besar dengan pengenceran sebelumnya. Jika sama atau lebih kecil 2 maka hasilnya dirata-rata, dan jika lebih besar dari 2 maka yang dipakai adalah jumlah koloni dari hasil pengenceran sebelumnya.
- d. Jika dengan ulangan memenuhi syarat hasilnya dirata-rata.

F. Analisis Data

Data hasil pengamatan dianalisis dengan sidik ragam pada taraf kesalahan 5%. Jika terdapat beda nyata antar perlakuan maka dilakukan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* pada taraf 5%.

G. Jadwal Penelitian

Kegiatan	Minggu ke								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Persiapan alat dan bahan	■								
Pembuatan <i>edible coating</i> kombinasi alginat dan minyak atsiri daun sirih	■	■							
Distribusi buah Jambu air var. Dalhari			■						
Perlakuan buah Jambu air var. Dalhari			■						
Pengamatan				■	■				
Analisis data						■	■	■	
Penulisan laporan							■	■	■