

III. TATA CARA PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu

Penelitian telah dilakukan di Laboratorium Pascapanen Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Yogyakarta pada bulan Maret 2017 sampai April 2017.

B. Alat dan Bahan

Bahan yang akan digunakan di dalam penelitian ini yaitu buah Naga merah, alginat 2 %, gliserol 1,5 % , aquades, dextrose, kentang, *essensial oil* vanili, agar-agar, alkohol, spirtus, CaCl₂ 2%, Indikator PP 1%, NaOH 0,05%, Iod 0,01N, NaOH 0,1N, amilum 1% dan klorin 1 % .

Alat yang digunakan plastik *Wrapping*, *sterofoam*, *refreigerator*, pisau pemotong buah, mortar, *cooler*, petridisk, tabung reaksi, *dryglaski*, batang pengaduk, Autoklaf, pH stik, label, kertas payung, koran, kertas saring, *magnetic stirrer*, *Hand Penetrometer*, *Hand Refractometer*, tabung labu, *vortex*, erlenmeyer, *Plate count*, *glove*, masker, *tissue*, timbangan analitik, kapas, pelastik pp dan sarung tangan steril.

C. Metode Penelitian

Penelitian eksperimental ini berupa aplikasi *essential oil* vanilin dalam *edible coating* berbahan dasar alginat pada buah naga potong segar disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan rancangan percobaan faktor tunggal yakni faktor konsentrasi *essential oil* vanilin yang terdiri dari 4 aras yang disusun dalam 4 perlakuan yaitu:

P1 : Alginat 2% (w/v)

P2 : Alginat 2% (w/v)+ *Essential oil* vanilin 0,1 % (w/w)

P3 : Alginat 2% (w/v)+ *Essential oil* vanilin 0,3% (w/w)

P4 : Alginat 2% (w/v)+ *Essential oil* vanilin 0,6% (w/w)

Jumlah perlakuan sebanyak 4 dan diulang sebanyak 3 kali sehingga menghasilkan 12 unit percobaan. Setiap unit terdiri dari 8 kemasan buah naga potong segar. Dengan setiap kemasan berisi 8 buah naga potong segar. Sehingga total buah naga kemasan sebanyak 96 buah kemasan. *Lay Out* penelitian ditunjukkan pada (Lampiran 1).

D. Tata Laksana Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan penelitian pendahuluan dan penelitian inti.

Penelitian Pendahuluan

a. Pembusukan Buah Naga Potong Segar

Pembusukan dilakukan dengan menyimpannya dalam bentuk produk terolah minimal sebanyak 1 kemasan. Sebelum diolah terlebih dahulu dilakukan *pre-cooling* dengan cara merendamnya dalam air dingin sekaligus dilakukan pencucian dengan dicampurkan larutan klorin 200 µl/l air sebagai desinfektan lalu dikeringkan dengan tissue. Satu buah Naga dipotong dan diiris sebanyak 12 potong bentuk balok dengan ketebalan 3 cm. Potongan naga dikemas menggunakan *sterofoam* dan *wrapping* plastik lalu disimpan dalam *cooler* dengan suhu 6°C selama sekitar 7 hari. Setiap kemasan sterofoam berisi 8 potong buah naga merah.

b. Isolasi Isolat Mikroba Pembusukan Buah Naga

- i. **Sterilasi alat**, sterilisasi alat menggunakan autoklaf pada tekanan 1 atm dengan suhu 121°C selama 15-30 menit. Alat-alat yang akan disterilkan dibungkus dengan kertas payung sebelum dimasukkan ke dalam autoklaf. Alat yang disterilkan antara lain pestidish, erlemeyer, tabung reaksi, dryglaski, batang pengaduk.
- ii. **Pembuatan media**, pembuatan media PDA yaitu dengan menimbang potongan kentang 250g kemudian ditambahkan air 1000 ml dan direbus sampai matang dan keluar cairannya. Ekstrak kentang dimasukkan dalam gelas beaker 1000 ml dan ditambahkan 15 g *dextrose* serta 20 g agar dan diaduk sampai homogen diatas api kecil. Kemudian diukur pH hingga mencapai 6-7. Lalu disterilkan dalam autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit.
- iii. **Isolasi mikroba buah naga potong segar yang telah busuk**, Buah Naga potong segar yang telah terlihat busuk diisolasi, dengan cara menimbang sampel buah Naga yang telah busuk sebanyak 1 g. Sampel yang telah ditimbang dan dihaluskan sebanyak 1 g, dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml aquades steril lalu di homogenkan dengan vortex. Kemudian dari tabung reaksi tersebut diambil 1 ml dan dimasukkan pada tabung reaksi yang lain berisi 9 ml aquades steril sebagai seri pengenceran 10^{-2} . Seri pengenceran dibuat sampai 10^{-10} . Selanjutnya masing masing tabung reaksi dengan seri pengenceran dari 10^{-1} sampai dengan 10^{-10} diambil 0,1 ml diinokulasi pada PDA dengan metode surface lalu dibungkus dengan kertas

payung dan diinkubasi selama 72 jam. Sehingga didapatkan 30 petridisk media PDA. Kemudian diamati pada seri pengenceran ke berapa koloni jamur tumbuh paling banyak.

1. Penelitian Inti (Aplikasi *Edible coating* Alginat kombinasi *Essential Oil* Vanili)

- i. Panen Buah Naga Merah**, Buah berasal dari kebun buah naga PT Bona Mitra Multifarm Lemponsari, Sleman yang telah dipanen pada pagi hari dari kebun buah naga merah dengan keseragaman kematangan telah berumur 32 hari terhitung sejak bunga mekar, dibersihkan dari semut dan kotoran yang menempel dengan tangan kemudian dilakukan sortasi dengan memilih ukuran buah naga merah dengan berat antara 400-500 g yang terbebas dari penyakit tanaman dan memiliki. Kemudian buah naga merah diletakkan ke dalam keranjang untuk kemudian dibawa ke laboratorium pasca panen.
- ii. Pembuatan *edible coating* Alginat dengan *essential oil* vanili**, *Edible coating* dari Alginat dibuat dengan cara mencampurkan yaitu alginat pada 2% (w/v) yang dicampurkan ke dalam air suling steril dalam gelas beaker dan dipanaskan pada 85° C di dalam *waterbath* serta diaduk sampai pelarutan atau selama 30 menit, setelah homogen ditambahkan gliserol pada 1,5% (v/v) sebagai perekat dan yang terakhir tambahkan *essential oil* vanili sesuai dengan perlakuan (0,1; 0,3; 0,6; % (w/w) (Rosa. *et al.*, 2007).
- iii. Aplikasi *edible coating***, Sebelum diolah, buah naga terlebih dahulu dilakukan *pre-cooling* dengan cara merendamnya dalam air dingin dan dikeringkan dengan tissue. Satu buah naga dipotong dan diiris sebanyak 12 potong bentuk

balok dengan ketebalan 3 cm .Potongan Naga dicelupkan ke dalam *edible coating* Alginat kombinasi essential oil, lalu dicelupkan ke dalam larutan CaCl_2 2 % (w/v) secara terpisah (Rosa. *et al.*, 2007). Potongan naga dikemas menggunakan *sterofom* dan *wrapping* plastik lalu disimpan dalam *cooler* dengan suhu 4°-6°C. Setiap kemasan sterofom berisi 8 potong buah naga merah.

iv. Penyimpanan, Penyimpanan dilakukan dalam refrigerator dengan suhu 4°-6°C.

v. Pengamatan, Pengamatan dilakukan 3 hari sekali masing-masing pada hari ke 0, 3, 6, 9, 12 dan hari ke 15 penelitian. Parameter yang diamati menguji sifat fisik (susut bobot, dan Kekerasan), kimia (Vitamin C, Total padatan terlarut, dan asam tertitrasi) dan organoleptik (rasa, warna dan aroma). Sedangkan untuk sifat biologis (mikrobiologi) pada buah naga potong segar diamati pada umur hari ke 0, 3, 6, 9, 12 dan hari ke 15.

E. Parameter Pengamatan

a. Presentase Susut Berat (%)

Susut berat ditentukan dengan menimbang buah menggunakan timbangan analitik, hasil timbangan buah dapat dinyatakan dalam gram dan presentasi susut berat dinyatakan dalam satuan persen (Rahmawati,2015). Pengamatan dilakukan pada hari ke- 0, ke- 3, ke- 6, ke- 9, ke- 12 dan ke-15. Susut berat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Susut bobot} = \frac{\text{Bobot awal} - \text{Bobot Akhir}}{\text{Bobot awal}} \times 100\%$$

b. Kekerasan (N/mm²)

Pengujian kekerasan dilakukan dengan menggunakan alat *Hand penetrometer fruit* (Rahmawati,2015). Uji kekerasan dilakukan pada hari ke- 0, ke- 3, ke- 6, ke- 9, ke- 12 dan ke-15 . Permukaan daging buah naga akan ditusuk jarum *probe* dengan dengan diamter 3 mm pada tiga potong buah naga, sehingga kedalaman lubang yang diakibatkan oleh penusukan tersebut akan menyatakan kelunakan buah naga tersebut dan *penetrometer* akan menunjukkan gaya yang dinyatakan dalam satuan N. Kemudian data yang diperoleh dirata-ratakan. Hasil uji kekerasan pada daging buah dinyatakan dalam satuan (N/mm²).

$$\text{Kekerasan} = \frac{\text{Gaya yang diberikan}}{\text{luas permukaan}}$$

c. Uji Organoleptik

Menurut Tietel *et al* (2011) uji organoleptik/ sensoris dilakukan untuk mengetahui sejauh mana konsumen masih menerima perubahan mutu buah yang menyangkut perubahan sifat fisis dan kimia selama penyimpanan dingin. Semua kasus dalam uji organoleptik yang digunakan adalah sama yakni uji hedonik dengan menggunakan 10 orang panelis yang merupakan mahasiswa. Bahan yang disajikan secara acak dengan memberikan kode tertentu dan panelis diminta untuk memberikan penilaian berdasarkan skala hedonik terhadap warna daging buah, rasa dan aroma.

Skor hedonik yang digunakan dinilai berdasarkan tingkat kesukaan yang kemudian dinyatakan dengan skala numerik, yaitu (1) sangat tidak suka, (2) tidak

suka, (3) suka, (4) sangat suka. Nilai yang diperoleh dari tiap tiap sampel yang disajikan dijumlahkan kemudian dibagi jumlah panelis untuk menentukan skor akhir rata-rata. Pengujian dilakukan pada hari ke- 0, ke- 3, ke- 6, ke- 9, ke- 12 dan ke-15.

$$\% \text{ warna, rasa dan aroma} = \frac{(\Sigma \text{ skor} \times \text{nilai mutu panelis})}{\text{jumlah panelis}}$$

d. Uji Total Padatan Terlarut (%)

Uji ini dilakukan dengan menggunakan alat *refractometer* yang ada di laboratorium pascapanen 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, hari ke-15. Uji kadar gula buah dilakukan dengan cara menumbuk sampel daging buah naga sampai halus kemudian diambil 1 tetes sampel menggunakan sendok kecil. Kemudian pada *refractometer* ditekan tombol *start* kemudian tekan *zero*, selanjutnya ditetesi dengan ekstrak buah naga hingga muncul nilai kadar gula dengan satuan brix %.

e. Kadar Vitamin C(%)

Pengukuran kadar vitamin C dilakukan dengan menggunakan metode titrasi Iod, yaitu dengan cara mengambil sampel buah naga yang sudah dihaluskan sebanyak 10 gram lalu mengencerkan sampai 250 ml kemudian disaring. Lalu diambil filtrat sebanyak 25 ml, menambahkan 2 ml larutan amilum 1% sebagai indikator. Menitrasi dengan 0,01 N larutan iodium sampai terbentuk warna biru dan di catat banyak iod yang digunakan dalam satuan mililiter. Uji vitamin C ini

dilakukan pada hari ke- 0, ke- 3, ke- 6, ke- 9, ke- 12 dan ke-15. Hasil uji kadar vitamin C dinyatakan dalam persen (%).

Pengukuran dilakukan dengan menggunakan metode titrasi Iod. Perhitungan kandungan vitamin C dilakukan dengan menggunakan rumus:

$$\%Vit C = \frac{a \times ml Iod \times 0,88 \times FP \times 100\%}{(mg)}$$

f. Total Asam Titrasi (%)

Mengukur keadaan tingkat keasaman pada larutan sampel buah naga dengan menggunakan metode titrasi dengan cara menumbuk buah naga sampai halus, kemudian diambil sampel 5 g dan memasukkan kedalam gelas piala, menambahkan aquades 100 ml. Digojok kemudian disaring. Setelah itu mengambil sebanyak 10 ml dengan pipet, masukkan ke dalam erlenmeyer, kemudian menambahkan indikator PP 1% sebanyak 2-3 tetes. Titrasi dengan NaOH 0,1 N sampai warna berubah menjadi merah muda dan tidak hilang dalam 30 detik dan mencatat volume NaOH 0,1 N yang diperlukan. Uji Asam titrasi ini dilakukan pada hari ke- 0, ke- 3, ke- 6, ke- 9, ke- 12 dan ke-15. Berikut rumus total asam:

$$Total Asam (\%) = \frac{ml NaOH \times N NaOH \times BM as. Malat \times 100 \times 100\%}{mg sampel}$$

g. Uji Mikrobiologi (CFU/ml)

Uji mikrobiologi dilakukan dengan menghitung total mikroba/jamur menggunakan metode *plate count*. Media yang digunakan yaitu PDA untuk pengamatan dilakukan pada hari ke 0, 3, 6, 9, 12 dan 15. Uji mikrobiologi dilakukan dengan menghaluskan bahan dan ditimbang sebanyak 1 g, kemudian

dimasukkan ke dalam botol suntik berisi 99 ml aquades steril digojog sampai homogen dan didapatkan pengenceran 10^{-2} . Diencerkan 10^{-4} , diambil 1 ml hasil penyaringan pada langkan pertama kemudian dimasukkan ke dalam aquades 9 ml dalam tabung reaksi hingga mendapatkan pengenceran 10^{-5} . Lalu diambil 1 ml hasil penyaringan pada langkan kedua kemudian dimasukkan ke dalam aquades 9 ml hingga mendapatkan pengenceran 10^{-6} .

Petridis yang berisi PDA, kemudian dari hasil pengenceran 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} diambil 0,1 ml dengan pipet dan diinokulasi dengan metode *sureface* menggunakan *dryglasky* pada media PDA. Setelah diinokulasi, suspensi diinkubasi selama 72 jam sehingga hasilnya mampu dihitung pertumbuhan mikroba dengan *coloni Counter*. Hasil dinyatakan dalam satuan (CFU/ml).

F. Analisis Data

Setelah data hasil penelitian diperoleh, analisis data dilakukan dengan pengujian menggunakan sidik ragam analysis of variance (ANOVA) dengan software SAS, bila ada beda nyata antar perlakuan maka dilakukan uji lanjut dengan menggunakan Duncan's Multiple Range Test (DMRT). Hasil pengamatan periodik dianalisis menggunakan histogram. Data ditampilkan dalam bentuk tabel dan gambar.