

III. TATA CARA PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Pasca Panen Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Yogyakarta dan Laboratorium Rekayasa Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Penelitian ini dilakukan pada bulan Juni hingga Agustus 2017.

B. Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : lemari pendingin, acrylic glass plate berukuran 20cm x 30 cm (*film casting*), frame aluminium berukuran 10cm x 20 cm, *water bath*, *oven*, *blender*, pengaduk, alat-alat gelas, styrofoam, *Water Vapor Transmission Rate Test*, *Instron Universal Testing Instrument* (Zwick Z.05 texture analyzer), indeks warna.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah buah apel Malang varietas Manalagi umur panen 114 hari, CMC, gliserol, minyak atsiri daun sirih dan lemon, aquadest, tanah, media tumbuh mikroba NA (pepton, beef extract, agar).

C. Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan faktor ganda. Faktor pertama adalah konsentrasi minyak atsiri yang terdiri dari 5 aras yaitu minyak atsiri 0%, minyak atsiri lemon 2%; minyak atsiri lemon 3%; minyak atsiri daun sirih 0,1%; minyak atsiri daun sirih 0,2%. Faktor kedua adalah konsentrasi CMC dengan 2 aras yaitu CMC 1% dan CMC 1,5%.

Penelitian ini menghasilkan 10 kombinasi perlakuan. Kombinasi perlakuan yang akan diaplikasikan adalah:

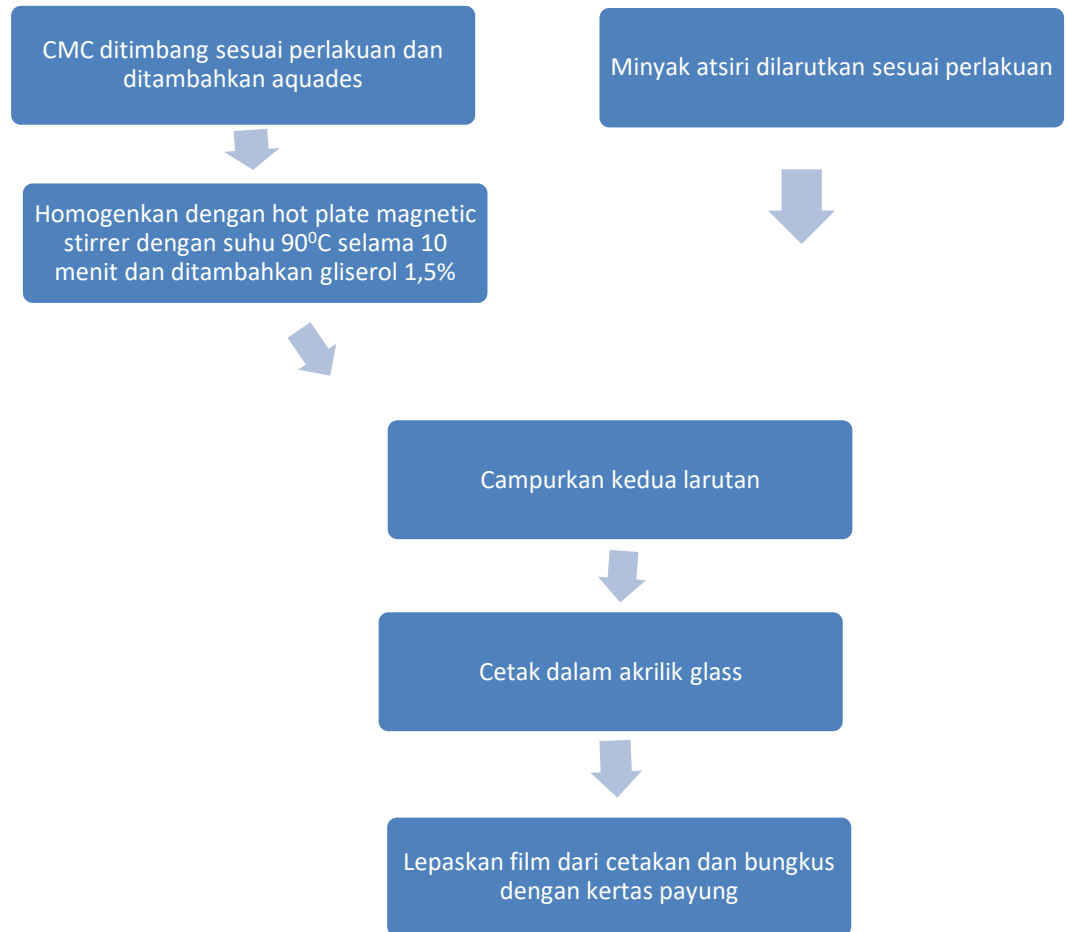
C1M0	: CMC 1% + minyak atsiri 0%
C2M0	: CMC 1,5% + minyak atsiri 0%
C1M1	: CMC 1% + minyak atsiri lemon 2%
C1M2	: CMC 1% + minyak atsiri lemon 3%
C1M3	: CMC 1% + minyak atsiri daun sirih 0,1%
C1M4	: CMC 1% + minyak atsiri daun sirih 0,2 %
C2M1	: CMC 1,5% + minyak atsiri lemon 2%
C2M2	: CMC 1,5% + minyak atsiri lemon 3%
C2M3	: CMC 1,5% + minyak atsiri daun sirih 0,1%
C2M4	: CMC 1,5% + minyak atsiri daun sirih 0,2%

Setiap perlakuan terdapat 3 kali ulangan dengan jumlah 1 unit *edible film* sehingga diperoleh 30 unit *edible film*

D. Cara Penelitian

Penelitian dilakukan melalui 2 tahap yaitu: pembuatan CMC untuk *edible film* dan aplikasi *edible coating* CMC pada buah apel. Adapun tahap pembuatan tersebut sebagai berikut :

1. Pembuatan *Edible film* CMC



Gambar 2. Alur pembuatan *edible film*

- a) Pembuatan CMC dilakukan dengan cara memanaskan aquades sebanyak 600 ml di dalam *glass beaker* menggunakan *water bath* bersuhu 90°C. Apabila aquades sudah panas maka bubuk *Carboxymethylcellulose* dimasukan sedikit demi sedikit sesuai perlakuan dan diaduk dengan kecepatan sedang sampai terbentuk larutan CMC.
- b) Setelah terbentuk larutan CMC, tambahkan gliserol 1,5 % kemudian aduk kembali hingga homogen.

- c) Minyak atsiri sesuai perlakuan dimasukan ke dalam larutan CMC dan diaduk kembali secara merata, sehingga terbentuk larutan yang homogen.
- d) Larutan yang sudah jadi kemudian diangkat dari *water bath* dan didinginkan.
- e) Larutan CMC yang sudah dingin dituangkan pada akrilik *glass plate* dengan ukuran 10 x 20 cm.
- f) CMC yang sudah dituangkan pada akrilik *glass plate* disimpan pada suhu ruangan selama 1 minggu/hingga kering, sehingga didapat *edible film* CMC.
- g) *Edible film* yang sudah kering dapat dilepas dari akrilik untuk dipotong-potong sesuai kebutuhan parameter.

2. Aplikasi *edible coating*

- a. Sebelum *edible coating* CMC diaplikasikan, terlebih dahulu dilakukan pemetikan buah apel di Malang, Jawa Timur dengan kriteria buah berumur, berukuran, dan berwarna sama.
- b. Buah yang dipetik dibawa ke lab untuk disortir dan dicuci dengan klorin, setelah dicuci buah dipotong dengan ukuran 2 x 1.5 x 1cm
- c. Kemudian buah di celupkan sesuai perlakuan lalu ditiriskan dan dikeringkan dengan kipas angin hingga kering
- d. Kemudian buah diletakkan didalam *styrofoam* dan ditutup dengan *wrapping film*
- e. Buah yang telah diberi perlakuan dan dikemas disimpan dalam lemari pendingin bersuhu 4°C.
- f. Kemudian dilakukan pengamatan di hari (ke-0, ke-3, ke-6, ke-9, ke-12, ke-15) sesuai parameter pengamatan.

3. Pengamatan

Pengamatan *edible film* CMC meliputi *Water Vapor Transsmission Rate* (WVTR), *Elongation* (Pemanjangan) dan *Tensile Strength* (Kekuatan Tarik), kemampuan degradasi, dan kelarutan Air. Sedangkan pengamatan aplikasi *edible coating* CMC meliputi warna dan mikrobiologi.

E. Parameter yang Diamati

1. WVTR (*Water Vapor Transsmission Rate*)

Pengujian permeabilitas uap air dari film atau plastik ini bertujuan untuk menentukan kecepatan transmisi uap air. Laju transmisi uap air pada kemasan dinyatakan dengan istilah *Water Vapor Transmission Rate* (WVTR). Permeabilitas suatu film kemasan adalah kemampuan melewati partikel gas dan uap air pada suatu unit luasan bahan pada suatu kondisi tertentu. Pengujian dilakukan dengan cara memotong *edible film* menjadi lingkaran dengan diameter 8 cm. *Edible film* yang sudah dipotong dapat diujikan pada alat WVTR. Pengujian ini dilakukan di Laboratorium Rekayasa, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gajah Mada.

- a. Stoples diisi dengan larutan garam jenuh konsentrasi 40% dengan menggunakan NaCl yaitu dengan melarutkan 40 gram NaCl kemudian dijenuhkan dengan air
- b. Cawan kemudian diisi dengan silica gel yang masih berwarna biru
- c. Film yang akan diuji diséal dan diberi lilin pada tepi film yang bersentuhan dengan cawan

- d. Cawan ditempatkan pada stoples yang diatur dengan RH 77% dengan larutan NaCl seperti yang dijelaskan pada butir a dengan suhu 25°C
- e. Ukuran cawan adalah diameter dalam 7,45 cm, diameter luar 8,45 cm, dan kedalaman 2,65 cm
- f. Penimbangan dilakukan setiap jam dalam waktu 7 jam kemudian dihitung slope antara perubahan berat dengan waktu penyimpanan
- g. Laju transmisi uap air ditentukan dengan persamaan

$$WVTR = \frac{Slope}{A} \text{ (g)/(m}^2\text{)(jam)}$$

Keterangan: A = luas area film

2. Kekuatan Tarik (*Tensile Strength*)

Kekuatan regang putus (*tensile strength*) berguna untuk mengetahui besarnya gaya yang dicapai untuk mencapai tarikan maksimum pada setiap satuan luas area film untuk merenggang atau memanjang (Krochta, 1997). Kuat tarik dan persentase elongation of break diukur dengan menggunakan *Instron Universal Testing Machine*. Cara pengujian yaitu dengan memotong *edible film* dengan ukuran 12 cm x 5 mm, lalu ditempatkan secara horisontal pada alat UTI dan dilakukan analisa yang hasilnya langsung terlihat di komputer. Hasil yang keluar berupa nilai ketebalan, kuat tarik dan elongasi. Pengujian ini akan dilakukan di Laboratorium Rekayasa, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gajah Mada.

- a. Bahan yang akan diuji dipotong dengan bentuk tertentu (sesuai dengan spesifikasi alat) dan ukuran tertentu, kemudian dipasang pada alat
- b. Tombol Start ditekan 2 kali. Tekanan 1 akan mengaktifkan alat dan tekanan 2 akan mengoperasikan alat (berlangsung pengujian). Pada alat akan terbaca: gaya yang diberikan sampai film terputus (sobek) serta pertambahan panjangnya
- c. Kekuatan tarik ditentukan dengan persamaan:

$$\text{Kekuatan tarik} = \frac{F \text{ max}}{A}$$

Ket: F max = gaya yang diperlukan sampai film sobek
A = luas penampang film (m²)

3. Pemanjangan (Elongasi)

Pemanjangan (*elongation*) didefinisikan sebagai persentase perubahan panjang film pada saat film ditarik sampai putus (Krochta, 1997).

- a. Pertambahan panjang diukur dengan menggunakan alat *zwick instrument*
- b. Output yang terbaca adalah panjang awal dan panjang maksimum film
- c. Perpanjangan ditentukan dengan persamaan:

$$\text{Perpanjangan} = \frac{L_o - L_c}{L_c} \times 100\%$$

Ket: L_o = panjang awal
L_c = panjang film sampai putus

4. Kemampuan degradasi

Uji kemampuan degradasi dilakukan dengan metode *Soil Burial Test*. Pengujian dilakukan dengan memotong film dengan ukuran (5x5) cm

sebanyak 3 buah. Film yang sudah dipotong kemudian dikubur di dalam tanah selama satu minggu, kemudian dilakukan pengamatan berapa luas film yang tersisa. Pengamatan luas film menggunakan *Leaf Area Meter*.

5. Kelarutan Air

Persentase kelarutan *edible film* adalah persentase bagian film yang terlarut dalam air setelah perendaman selama 24 jam. Menurut Sri dkk. (2013) Tata cara mengetahui kelarutan air pada *edible film* adalah sebagai berikut, sampel dipotong dengan ukuran 3x3 cm, diletakkan dalam cawan alumunium yang terlebih dahulu sudah dikeringkan dan ditimbang beratnya. Sampel *edible coating* dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 100°C, selama 30 menit. Timbang berat sampel kering sebagai berat kering awal (w_0), kemudian sampel direndam selama 24 jam dalam aquades 50 ml. Setelah 24 jam, sampel yang tidak terlarut diangkat dan dikeringkan dalam oven selama 2 jam dengan suhu 100°C, kemudian ditimbang lagi berat sampel kering sebagai berat sampel setelah perendaman (w_1). Persentase kelarutan sampel dalam air (S) dihitung dengan persamaan:

$$S = \frac{w_0 - w_1}{w_0} \times 100\%$$

Keterangan:

W_0 = Berat awal

W_1 = Berat akhir

6. Perubahan warna dan *browning*

Pengujian warna dan *browning* dilakukan secara kualitatif yaitu berdasarkan tingkat kesukaan terhadap kualitas biopolimer dan buah apel manalagi. Pengujian dilakukan dengan cara memilih 10 panelis yang

kemudian diberikan beberapa sampel untuk diukur tingkat kesukaannya menggunakan *scoring* sebagai berikut :

1. Sangat Tidak Suka
2. Tidak Suka
3. Agak Suka
4. Suka
5. Suka sekali

$$Score = \frac{(Score \times Jumlah \ panelis \ yang \ memilih \ score)}{Jumlah \ total \ panelis}$$

7. Pengujian mikrobiologi

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 *Nutrient Agar* (NA) 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 NA (Nutrient Agar) \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 akan 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%.