

III. TATA CARA PENELITIAN

A. Tempat Dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Pasca Panen Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. Penelitian dilakukan selama 15 hari pada bulan Agustus hingga bulan September 2016.

B. Bahan dan Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : timbangan analitik, *hand pnetrometer*, lemari pendingin, blender, pengaduk, statif, gelas piala, gelas ukur, erlenmeyer, pisau, pipet tetes, botol suntik, tabung reaksi, mikropipet, cawan petri, vortex, mortar dan alu, styroform, kertas payung, pemanas (kompor), penjepit tabung reaksi, saringan, pisau, kertas saring, saringan, indeks warna, *spectrophotometer*, *coloni counter*, dan *magnetic stirer*.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah buah salak yang seragam dengan indeks tingkat kemasakan 90% yang dipanen dari perkebunan salak di daerah Turi, Sleman, Yogyakarta, gliserol, media tumbuh mikroba jamur Potato Dextrose Agar, larutan NaOH 1 N (uji asam titrasi), alkohol, aquadest, minyak atsiri daun sirih, alginat, gliserol, indikator PP.

C. Metode Penelitian

Metode penelitian ini dilaksanakan menggunakan metode eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan faktorial atau faktor ganda yaitu bahan pelapisan buah dan konsentrasi minyak atsiri daun sirih. Adapun rancangan percobaan yang akan dilakukan adalah sebagai berikut :

Faktor Pertama bahan pelapis dengan 3 aras yaitu:

- a. Alginat 3% (A1)
- b. Alginat 3.5% (A2)
- c. Alginat 4% (A3)

Faktor kedua konsentrasi minyak atsiri daun sirih dengan 2 aras

- a. Konsentrasi minyak atsiri daun sirih 0,7 ml/l (S1)
- b. Konsentrasi minyak atsiri daun sirih 1 ml/l (S2)

Rancangan kombinasi adalah sebagai berikut:

	A1	A2	A3
S1	A1S1	A2S1	A3S1
S2	A1S2	A2S2	A3S2

Ditambahkan dengan perlakuan kontrol yang tidak diberikan minyak atsiri daun sirih dan juga bahan pelapis maka didapatkan total 7 perlakuan. Setiap perlakuan terdapat 3 kali ulangan dengan jumlah 21 unit dan setiap unit terdapat 9 buah, sehingga jumlah buah yang dibutuhkan adalah 189 buah salak.

D. Cara Penelitian

Penelitian dilakukan melalui 3 tahap yaitu: pembuatan alginat, tahap aplikasi *coating* pada buah salak dan tahap pengamatan.

1. Pembuatan Alginat

- a. Pembuatan larutan alginat dilakukan dengan cara 3 g alginat per 100 ml untuk konsentrasi 3%, 3.5 gram per 100 ml untuk 3,5% dan 4 gram per 100 ml untuk 4% dimasukkan ke dalam *beaker glass*, kemudian *beaker glass* diletakkan diatas kompor/*magnetic stirer* dan diaduk dengan kecepatan sedang sambil ditambahkan aquades dan alginat sedikit demi sedikit sampai terbentuk larutan tersuspensi.
- b. Setelah larutan alginat sudah larut, tambahkan gliserol 0,2 ml kemudian aduk kembali sambil ditambahkan larutan kanji hingga homogen.
- c. Setelah terbentuk larutan alginat, tambahkan minyak atsiri daun sirih sebanyak 1 ml/l % dan 0,7 ml/l sehingga terbentuk larutan yang homogen dan alginat siap diaplikasikan.

2. Tahap Aplikasi

- a. Sebelum pelapis diaplikasikan, terlebih dahulu dilakukan pemetikan buah salak, pemetikan dilakukan di daerah Sleman dengan kriteria berukuran dan berwarna sama.
- b. Buah yang dipetik dibawa ke lab untuk disortir, dikupas, dan dicuci dengan pencuci buah atau direndam dengan air untuk mencegah buah *browning*..
- c. Kemudian buah direndam kedalam larutan alginat selama 30 detik dan setelah itu buah dicelupkan ke dalam larutan CaCl selama 30 detik lalu ditiriskan.

- d. Saat salak sudah kering ditempatkan sesuai pengacakan dan ditempatkan dalam lemari barulah dilakukan pengamatan sesuai parameter pengamatan.

3. Tahap Pengamatan

Pengamatan meliputi parameter :

- a. Susut bobot: dilakukan setiap 3 hari sekali dimulai pada hari ke – 0 atau sejak perlakuan dengan cara menimbang sampel buah menggunakan timbangan analitik digital.
- b. Kekerasan : dilakukan setiap 3 hari sekali dimulai pada hari ke – 0 atau sejak perlakuan dengan alat *Pnetrometer Hand* dalam satuan N/m^2 . Pengukuran dilakukan dengan memasukkan pucuk alat berdiameter 6 pada 3 bagian buah secara acak dan hasilnya dirata-rata. Buah yang sudah dilakukan uji kekerasan kemudian digunakan untuk pengamatan lain (Asam Titrasi, total padatan terlarut, Uji Mikrobiologi)
- c. Total asam tertitrasi: dilakukan setiap 3 hari sekali dimulai pada hari ke – 0 atau sejak perlakuan dan dilakukan dengan cara:
 - i. Buah ditumbuk dan ditimbang 5 gram, kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml dan ditambahkan aquadest sampai sampai 100 ml, kemudian digojog dan disaring.
 - ii. Mengambil filtrat buah sebanyak 10 ml dengan pipet dimasukkan pada erlenmeyer dan ditambahkan indikator *phenolphthalein* (PP) 1% sebanyak 2 – 3 tetes. Setelah itu, melakukan titrasi dengan

NaOH 0,1 N sampai berwarna merah muda yang tidak hilang selama 30 detik.

- iii. Melakukan perhitungan total asam dengan berat molekul asam malat 116.

d. Gula Reduksi

Uji gula reduksi dilakukan dengan membuat larutan glukosa standar untuk mengetahui persamaan gula reduksi yang digunakan dalam perhitungan gula reduksi.

- i. Mengambil sampel yang telah ditumbuk halus sebanyak 1 gram
- ii. Setelah itu, dimasukkan dalam labu ukur 100 ml dan ditambahkan aquades sebanyak 100 ml
- iii. Mengambil filtrat sebanyak 1 ml.
- iv. Menambahkan *Nelson regensia* sebanyak 1 ml kemudian dipanaskan selama 20 menit
- v. Setelah dingin, menambahkan 1 ml *arseno molibdat* dan 7 ml aquadest pada filtrat kemudian dilakukan pengecekan dengan alat *spectrophotometer* dengan panjang gelombang 314.

e. Uji Mikrobiologi

Uji mikrobiologi dilakukan setiap 3 hari sekali dan dimulai pada hari ke-0. Buah salak ditumbuk dan ditimbang sebanyak 1 g, kemudian dimasukkan ke dalam botol suntik dengan seri pengenceran hingga 10^{-5} . Media tumbuh yang digunakan pada uji mikrobial ini adalah media

Potato Dextrose Agar. Mikroba yang diisolasi dengan *metode surface* kemudian dibungkus dengan kertas payung dan diinkubasi selama 48 jam dalam ruang steril setelah itu hitung jumlah mikroba dengan *plate count*. Tahap – tahap pengamatannya adalah:

- i. Pembuatan media: dilakukan dengan menimbang bahan yang dibutuhkan lalu dilarutkan dan dicampurkan hingga homogen;
- ii. Isolasi dengan metode *surface*: mengambil 1 ml isolat salak, hingga seri pengenceran menjadi 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} . Petri dibungkus dengan menggunakan kertas payung dan diberi label. Diamkan selama 48 jam, kemudian diamati jenis mikrobia apa saja yang tumbuh.
- iii. Jumlah koloni jamur yang tumbuh.

E. Parameter yang Diamati

Parameter yang diamati yaitu meliputi Uji Fisik, Uji Kimia dan Uji Mikrobiologi:

1. Uji Fisik

- a. Susut bobot (%) (AOAC, 2000)

Dilakukan dengan alat timbangan analitik. Rumus yang digunakan adalah :

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

- b. Kekerasan (N/m^2)

$$\text{Kekerasan kulit buah} = \frac{\text{Gaya yang diberikan}}{\text{luas permukaan mata tekan}}$$

2. Uji Kimia

- a. Total Asam Tertitrasi (TAT) (%)(AOAC, 2000)

$$\text{TAT}(\%) = \frac{\text{ml NaOH} \times N \text{ NaOH} \times \text{BM Asam Malat} \times \text{FP}}{\text{mg sampel}} \times 100\%$$

Keterangan:

FP = Faktor Pengenceran; BM = Berat Molekul; N = Normalitas

- b. Kadar Gula Reduksi (ml/mg)

Uji gula reduksi dilakukan setiap empat hari sekali pada masing-masing perlakuan. Pengujian dilakukan di laboratorium biokimia Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan dan Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

$$\% \text{ Gula Reduksi} = \frac{\text{Konsentrasi} \times \text{Faktor Pengenceran}}{\text{Mg Bahan}} \times 100\%$$

- c. Total Padatan Terlarut (Brix^o)

Uji total padatan terlarut dilakukan dengan cara mengambil cairan yang ada di buah kemudian diukur dengan alat *Refractometer Digital*

3. Uji Mikrobiologis (cfu)

Dilakukan setiap 3 hari sekali dengan menggunakan *metode surface* seri pengenceran hingga 10^{-5} . Penghitungan mikroba dengan *plate count*.

F. Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini dianalisis menggunakan sidik ragam *Analysis of Variance* (ANOVA) dengan taraf nyata $\alpha = 5 \%$. Apabila

terdapat pengaruh yang signifikan dari perlakuan yang dicobakan, maka akan dilakukan uji lanjutan dengan *Duncan Multiple Range Test* pada taraf $\alpha = 5\%$. Nilai rerata perlakuan dan kontrol akan dibandingkan dengan uji kontras pada taraf 5%.