

III. TATA CARA PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Pasca Panen Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. Penelitian akan dilakukan pada bulan Mei hingga bulan Juni 2017.

A. Bahan dan Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : timbangan analitik, *hand penetrometer*, *hand feractometer*, lemari pendingin, blender, pengaduk, statif, gelas ukur, erlenmeyer, pisau, pipet tetes, botol suntik, tabung reaksi, mikropipet, cawan petri, mortar dan alu, styroform, pemanas (kompor), penjepit tabung reaksi, pisau, saringan, indeks warna, *beaker glass*, *spectrophotometer*, *coloni counter*, *wrapping film*.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah buah apel Malang varietas Manalagi yang umur panen 114 hari dengan grade A, CMC 1% dan 1,5%, media tumbuh mikroba NA (pepton, beef extract, agar), larutan NaOH 1 N (uji asam titrasi), alkohol, aquadest, minyak atsiri daun sirih 0,1% dan 0,2% dan minyak atsiri lemon 2% dan 3% , indikator PP.

B. 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 yaitu CMC 1% dan CMC 1,5%. Penelitian ini menghasilkan 10 kombinasi perlakuan. Kombinasi perlakuan yang akan diaplikasikan adalah:

C1M0	: CMC 1%
C2M0	: CMC 1,5%
C1L2	: CMC 1% + minyak atsiri lemon 2%
C1L3	: CMC 1% + minyak atsiri lemon 3%
C1S1	: CMC 1% + minyak atsiri daun sirih 0,1%
C1S2	: CMC 1% + minyak atsiri daun sirih 0,2 %
C2L2	: CMC 1,5% + minyak atsiri lemon 2%
C2L3	: CMC 1,5% + minyak atsiri lemon 3%
C2S1	: CMC 1,5% + minyak atsiri daun sirih 0,1%
C2S2	: CMC 1,5% + minyak atsiri daun sirih 0,2%

Setiap perlakuan terdapat 3 kali ulangan dengan jumlah 3 fresh-cut untuk setiap ulangan sehingga diperoleh total 180 buah apel.

B. Cara Penelitian

1. Penelitian dilakukan melalui 4 tahap yaitu : Isolasi Bakteri Penyebab *Fresh Cut* Apel Busuk, Pembuatan *Edible coating* , Tahap Aplikasi *Coating* pada *Fresh Cut* Apel dan Tahap Pengamatan.
2. Isolasi Bakteri Penyebab Apel Busuk
 - a. Pembuatan media : dilakukan dengan menimbang bahan yang diperlukan (NA 100ml: dibutuhkan aquades 100ml, pepton, 0,5 gram, ekstrak daging 0,5 gram, agar 1,5 gram dan pH 6,8)

- b. Isolasi dengan metodes surface: mengambil 1ml isolat *fresh cut* apel busuk, hingga seri pengenceran menjadi 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} . Petri dibungkus dengan menggunakan kertas payung dan diberi label. Diamkan selama 48 jam, kemudian diamati bakteri apa saja yang tumbuh.

3. Pembuatan *Edible coating*

Pembuatan larutan *edible coating* disesuaikan dengan perlakuan konsentrasi yang dibutuhkan, Setelah diperoleh konsentrasi yang diinginkan, CMC dihomogenkan dengan hot plate magnetic stirrer dengan suhu 90°C selama 10 menit, kemudian ditambahkan gliserol sebanyak 1,5%. Lalu ditambah minyak atsiri disesuaikan dengan perlakuan konsentrasi.

4. Tahap Aplikasi

- 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 $2 \times 1.5 \times 1\text{cm}$
- c. Kemudian buah dicelupkan sesuai perlakuan lalu ditiriskan dan dikeringkan dengan kipas angin hingga kering
- d. Kemudian buah diletakkan didalam *styrofoam* dan ditutup dengan *wrapping film*
- e. Kemudian dilakukan pengamatan di hari (ke-0, ke-3, ke-6, ke-9, ke-12, ke-15) sesuai parameter pengamatan.

5. Tahap Pengamatan

- a. Pengamatan meliputi Susut Berat dengan cara menimbang sampel buah menggunakan timbangan analitik dan pengamatan warna dengan menggunakan indeks warna
- b. Kekerasan : dengan alat *Penetrometer Hand* dalam satuan N/m^2 . Pengukuran dilakukan dengan memasukkan pucuk alat berdiameter 8 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, dan Gula Reduksi)
- c. Total Padatan Terlarut
 - i. Buah ditumbuk sampai halus dengan menggunakan mortal dan palu
 - ii. 1 tetes sampel diteteskan ke alat *Hand Refractometer*
- d. Total Asam Titrasi dilakukan dengan cara:
 - i. Buah ditumbuk dan ditimbang 5gram, kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml dan ditambahkan aquadest sampai tanda, kemudian digojog dan disaring.
 - ii. Filtrat sebanyak 10 ml dengan pipet dimasukkan pada Erlenmeyer dan ditambahkan indikator *phenol phthalein* (PP) 1% sebanyak 2-3 tetes. Setelah itu, dilakukan titrasi dengan NaOH 0,1 N sampai berwarna merah muda yang tidak hilang selama 30 detik.
 - iii. Dihitung total asam dengan berat molekul asam malat 116.
- e. Gula Reduksi

Uji gula reduksi dilakukan dengan membuat larutan Glukosa Standar untuk mengetahui persamaan gula reduksi yang digunakan dalam perhitungan gula reduksi.

 - i. Glukosa Standar ditimbang sebanyak 0,01 gram

- ii. Sampel yang telah ditumbuk halus sebanyak 1 gram dimasukkan ke dalam botol suntik
- iii. Ditambahkan 100 ml aquades
- iv. Filtrate sebanyak 0,1 ml diambil kemudian ditambahkan 0,9 aquades
- v. Ditambahkan *Nelson regensia C* sebanyak 1 ml kemudian dipanaskan selama 20 menit
- vi. Setelah dingin, ditambahkan 1 ml *arseno molib* dan 7 ml aquadest pada filtrate kemudian digojog dan didiamkan selama 30 menit lalu dilakukan pengecekan dengan alat *spectrophotometer*.

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

f. Uji Mikrobiologi

Fresh Cut Apel ditumbuk dan ditimbang sebanyak 1 g, kemudian dimasukkan kedalam botol suntik dengan seri pengenceran hingga 10^{-5} . Media tumbuh bakteri yang digunakan dalam uji ini yaitu media NA (Nutrien Agar). Mikroba yang diisolasi dengan metode *surface* kemudian dibungkus dengan kertas payung dan didiamkan selama 48 jam setelah itu hitung jumlah mikroba dengan *plate count*.

C. Parameter yang Diamati

Parameter yang diamati meliputi Uji Fisik, Uji Kimia, dan Uji

Mikrobiologi:

1. Uji Fisik (dilakukan setiap 3 hari sekali)

a. Susut Berat (%) (AOAC, 2000)

Dilakukan dengan alat timbangan analitik. Rumus yang digunakan adalah :

$$\text{Susut Berat}(\%) = \frac{\text{bobot awal sebelum disimpan} - \text{bobot akhir setelah disimpan}}{\text{bobot awal sebelum disimpan}} \times 100\%$$

- b. Kekerasan (N/m^2)

$$F = \text{Gaya} / \pi r^2$$

Keterangan :

r = jari-jari

$\pi = 22/7$ (3,14)

2. Uji Kimia (dilakukan setiap 3 hari sekali)

- a. Total padatan terlarut (brix %)

Uji total padatan terlarut dilakukan dengan mengambil cairan dari buah korban lalu diukur dengan menggunakan alat *Refractometer* Digital yang dilakukan 3 hari sekali.

- b. Total Asam Titrasi (%) (AOAC, 2000)

$$\text{Total asam (\%)} = \frac{mlNaOH \times NNaOH \times BMAsamMalat \times FP}{mgsampel} \times 100\%$$

Keterangan:

FP = Faktor Pengenceran

BM = Berat Molekul

N = Normalitas

- c. Kadar Gula Reduksi (%)

Uji gula reduksi dilakukan setiap 3 hari sekali pada masing-masing perlakuan. Pengujian dilakukan di Fakultas Farmasi, Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

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

3. Uji Mikrobiologi (cfu)

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

4. Uji Organoleptik

Dilakukan 3 hari sekali dengan 10 orang panelis. Uji organoleptik meliputi warna, aroma, rasa, dan kesukaan. Uji organoleptik menggunakan scoring sebagai berikut :

1 = Sangat Tidak Suka

2 = Tidak Suka

3 = Agak Suka

4 = Suka

5 = Suka Sekali

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

D. Analisis Data

Setelah data hasil penelitian diperoleh, analisis data dilakukan dengan pengujian menggunakan sidik ragam (Analisis of Variance), bila ada beda nyata antar perlakuan maka dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji DMRT (Duncan's Multiple Range Test).