

### **III. TATA CARA PENELITIAN**

#### **A. Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini telah dilakukan di Laboratorium Pasca Panen Fakultas Pertanian dan Laboratorium Farmasi, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. Penelitian ini di mulai pada tanggal 21 Maret- 12 April 2017.

#### **B. Bahan dan Alat Penelitian**

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain buret, mortal dan alu, kertas saring, oven, pendingin, peralatan gelas, *pH* meter, statif dan klem, timbangan.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun cincau hitam, buah tomat yang seragam, *gliserol*, larutan *iod* (uji vitamin C), media tumbuh mikrobial (*MEA*), larutan *NaOH* (uji asam titrasi), alkohol 70 % dan aquadest.

#### **C. Metode Penelitian**

Penelitian dilaksanakan menggunakan metode eksperimen dengan rancangan faktor tunggal yang disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (Lampiran 1). Perlakuan konsentrasi ekstrak daun cincau hitam terdiri dari 4 perlakuan serta 1 sebagai kontrol yang terdiri dari:

- A. Perlakuan kitosan 1,5 % Tanpa ekstrak cincau hitam (kontrol)
- B. Perlakuan kitosan 1,5% + ekstrak cincau hitam 5 %
- C. Perlakuan kitosan 1,5% + ekstrak cincau hitam 10%
- D. Perlakuan kitosan 1,5% + ekstrak cincau hitam 15%

E. Perlakuan kitosan 1,5% + ekstrak cincau hitam 20%

Setiap perlakuan terdiri dari 3 kali ulangan dengan menggunakan 3 buah sampel dan 6 buah korban

#### **D. Cara Penelitian**

1. Persiapan alat dan bahan

Buah tomat yang digunakan memiliki tingkat kematangan yang sama. Kondisi fisik buah dalam keadaan yang baik, seragam ukuran dan warnanya. Buah yang terpilih dicuci dengan air mengalir, kemudian dikeringkan dengan cara dikering-anginkan.

2. Ekstraksi daun cincau hitam

Sebanyak 800 gram daun cincau hitam bersih dikeringkan dengan oven pada suhu 60°C selama  $\pm$  2 jam, kemudian daun dihancurkan dengan blender sehingga diperoleh serbuk daun cincau hitam. Serbuk cincau hitam dimaserasi dengan pelarut alkohol 70 % dan didiamkan selama  $\pm$  3-4 hari sambil sesekali digojog. Bahan yang telah dimaserasi disaring, sehingga diperoleh filtrat. Selanjutnya, *filtrat* tersebut dimasukkan ke dalam *vacum rotary evaporator* dengan suhu 60° C, 35 rpm selama  $\pm$  1,5 jam sehingga diperoleh ekstrak kental. Selanjutnya ekstrak kental diencerkan dengan aquadest sehingga diperoleh konsentrasi 5%, 10%, 15% dan 20%.

3. Pencampuran ekstrak cincau hitam dan kitosan

Ekstrak cincau hitam dan kitosan dicampurkan sesuai dengan perlakuan yang telah ditentukan, pencampuran tersebut terdiri dari beberapa wadah, yaitu wadah 1 ( kitosan 1,5 % + ekstrak cincau hitam 0%), wadah 2 (kitosan 1,5 % +

ekstrak cincau hitam 5 %), wadah 3 (kitosan 1,5% + ekstrak cincau hitam 10 %), wadah 4 (kitosan 1,5% + ekstrak cincau hitam 15%) dan wadah 5 (kitosan 0,5% + ekstrak cincau hitam 20%).

#### 4. Pelapisan buah tomat

Buah tomat disortir dan dibersihkan dari kotoran-kotoran yang melekat, kemudian tomat dicelupkan ke dalam 1000 ml larutan *edible coating* selama 5 menit dan dilakukan penirisan. Pencelupan tomat dilakukan sebanyak dua kali untuk mendapatkan hasil yang baik, kemudian ditiriskan dan dikering-anginkan.

#### 5. Penyimpanan

Buah tomat disimpan pada suhu ruang setelah pelapisan (*edible coating*), kemudian dilakukan pengamatan sesuai dengan variabel pengamatan.

#### 6. Pengamatan

Pengamatan dilakukan sesuai parameter masing-masing. Pengamatan kekerasan buah, uji asam tertitrasi, kadar gula total, kandungan vitamin C buah dilakukan pada hari ke-0, hari ke-3, hari ke-6, hari ke-9, hari ke-12, dan hari ke-15.

## E. Parameter yang Diamati

### 1. Uji mikrobial

Uji total mikrobial dilakukan pada hari ke-15 karena di asumsikan mikrobial akan maksimal setelah maksimal penyimpanan. Pengujian ini diambil dari 3 buah sampel dengan cara : menyiapkan sampel pengenceran  $10^{-1}$ , menimbang 1 gram buah yang telah dihaluskan kemudian memasukkannya ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml aquadest steril dan menggojog sampai homogen. Membuat seri pengenceran kelipatan 10 sampai  $10^{-7}$ . Menyiapkan petridish yang berisi medium NA kurang lebih 8 ml dan masing-masing petridish diberi label untuk pengenceran  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ , dan  $10^{-7}$ .

Menginokulasikan masing-masing suspensi hasil pengenceran  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ , dan  $10^{-7}$  sebanyak 0,1 ml pada petridish yang berisi medium MEA. Meratakan suspensi mikrobial dengan *drigalsky* steril. Menginkubasikan petridish yang berisi mikrobial pada temperatur kamar kemudian menghitung jumlah mikrobial yang tumbuh pada media MEA dengan menggunakan *coloni counter*. Penghitungan total mikrobial dengan menggunakan metode *plate count*.

### 2. Bobot buah

Bobot buah dilakukan setiap 3 hari sekali, yaitu pada hari ke-0, sampai hari ke-15 yang diambil dari 3 buah sampel. Berat awal buah ditimbang sebelum perlakuan dan berat buah setiap 3 hari sekali 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.

### 3. Uji kadar gula total

Uji ini dilakukan dengan menggunakan alat refractometer yang ada di laboratorium pasca panen terhadap tingkat kemanisan atau kadar gula buah yang dilakukan 3 hari sekali pada hari ke-0, sampai hari ke-15 dimana diambil dari buah korban. Uji kadar gula buah dengan menggunakan refractometer dilakukan dengan cara menekan tombol *start* kemudian tekan *zero*, selanjutnya ditetesi dengan ekstrak buah tomat hingga muncul nilai kadar gula dengan satuan brix % (gambar refractometer dilampirkan dalam lampiran 4).

### 4. Uji total asam tertitrasi

Uji total asam tertitrasi dilakukan setiap 3 hari sekali, yaitu pada hari ke-0, sampai hari ke-15 yang diambil dari buah korban. Uji total asam tertitrasi dilakukan untuk mengukur keadaan tingkat keasaman pada larutan sampel menggunakan metode titrasi dengan cara : memasukkan larutan contoh sebanyak 10 ml ke dalam erlenmayer dengan menambahkan indikator PP sebanyak 1-3 tetes kemudian dititrasi dengan NaOH 0,1 N sampai terjadi perubahan warna menjadi merah jambu. Perhitungan dilakukan dengan menggunakan rumus :

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

Keterangan :

ml NaOH 0,1 N = volume NaOH yang digunakan untuk penitrasi.

FP = faktor pengenceran.

#### 5. Uji kandungan vitamin C

Pengukuran kadar vitamin C dilakukan setiap 3 hari sekali, yaitu pada hari ke-0, sampai hari ke-15 yang diambil dari buah korban dengan titrasi Iod, caranya adalah : mengambil contoh sampel sebanyak 10 gram lalu mengencerkan sampai 250 ml. Mengambil filtrat sebanyak 25 ml, menambahkan 2 ml larutan amilum (1%) sebagai indikator. Menitrasi dengan 0,01 N larutan iodium standar sampai terbentuk warna biru konstan. Perhitungan kandungan vitamin C dilakukan dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ vitamin C} = \frac{\frac{a \times b}{0,01 \times 0,88 \times 100} \%}{\text{berat sample (mg)}}$$

Keterangan :

a : volume titrasi sample seluruhnya

b : konsentrasi larutan Iod (N).

#### 6. Kekerasan buah

Kekerasan buah diamati 3 hari sekali, yaitu pada hari ke-0, sampai hari ke-15 yang diambil dari buah korban. Kekerasan buah diukur dengan penetrometer. Pengukuran kekerasan buah yang dilakukan dengan penetrometer dilaksanakan dengan cara menghidupkan *power on* pada penetrometer kemudian dipilih peak H dan satuan dipilih Ib kemudian memilih diameter penusuk buah yang akan digunakan, menekan tombol *zero* dan ditusukkan pada buah tomat hingga muncul nilai kekerasan buah (gambar penetrometer dilampirkan dalam lampiran 4).

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

#### 7. Uji organoleptik

Uji ini dilakukan dengan menggunakan responden untuk mengetahui warna, rasa dan aroma buah tomat pada hari ke-0, hari ke-5, dan hari ke-9, yang diambil dari buah korban, sehingga dapat diketahui pada hari ke-berapa tingkat kesukaan responden. Adapun kriteria tingkat kesukaan sebagai berikut :

Nilai 1 untuk sangat tidak suka

Nilai 2 untuk tidak suka

Nilai 3 untuk cukup suka

Nilai 4 untuk suka

Nilai 5 untuk sangat suka

#### **F. Analisis Data**

Hasil pengamatan kuantitatif dianalisis dengan menggunakan Sidik Ragam atau *Analysis of Variance* (ANOVA). Apabila ada perbedaan nyata antar perlakuan yang diujikan maka dilakukan uji lanjut dengan menggunakan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) dengan taraf  $\alpha$  5%. Analisis data juga dilaksanakan dengan metode komparatif atau metode perbandingan.