

III. TATA CARA PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan April-Mei 2018 di Laboratorium Pascapanen Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

B. Bahan dan Alat Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah buah belimbing varietas Bangkok, pelepah lidah buaya, *essential oil* vanili, asam askorbat, asam sitrat, klorin, *Nelson C*, *arseno molib*, indikator pp, amilum 1%, NaOH 0,1 N, media *Plate Count Agar* (PCA) dan aquadest.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini : blender, *refraktometer*, *penetrometer*, *spectrophotometer*, saringan, *erlenmeyer*, gelas ukur, timbangan digital, *stopwatch*, *waterbath*, *coloni counter*, autoklaf, pipet ukur, *drigalsky*, oven, botol timbang, botol suntik, kertas saring, *petridish*, *magnetic stirrer*, bunsen.

C. Metode Penelitian

Penelitian dilakukan menggunakan metode rancangan perlakuan faktorial (2x3) yang disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (Lampiran 1). Faktor pertama adalah konsentrasi lidah buaya yang terdiri dari dua aras yaitu 10% dan 20%. Faktor kedua adalah konsentrasi *essential oil* vanili yang terdiri dari tiga aras yaitu 0,3%, 0,6%, dan 0,9% serta ditambah satu perlakuan kontrol. Kombinasi perlakuannya yaitu:

L1V1 : Lidah buaya 10% + *essential oil* vanili 0,3%

L1V2 : Lidah buaya 10% + *essential oil* vanili 0,6%

L1V3 : Lidah buaya 10% + *essential oil* vanili 0,9%

L2V1 : Lidah buaya 20% + *essential oil* vanili 0,3%

L2V2 : Lidah buaya 20% + *essential oil* vanili 0,6%

L2V3 : Lidah buaya 20% + *essential oil* vanili 0,9%

L0V0 : Tanpa pelapisan

Setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali dan setiap ulangan terdapat 3 buah belimbing sampel dan 5 buah belimbing korban, sehingga buah belimbing yang digunakan adalah 168 buah.

D. Cara Penelitian

1. Persiapan Buah Belimbing

Buah belimbing yang digunakan adalah belimbing varietas Bangkok yang berasal dari kebun di Blitar yang telah berumur 90 hari setelah berbunga (*grade A*), buah dengan kriteria tersebut memiliki ukuran 250 gram/buahnya. Cara panen buah belimbing dilakukan dengan memotong tangkainya menggunakan gunting panen. Belimbing yang dipanen kemudian dikemas menggunakan koran dan dimasukkan ke dalam peti kayu yang diberi sekat kertas koran antar tingkatannya dengan posisi pangkal buah berada di bawah. Proses *packing* dilakukan menggunakan peti kayu berukuran 70 cm x 35 cm dan kemudian dikirm menggunakan kereta api. Setibanya ditujuan, buah belimbing disimpan pada suhu 14 °C hingga diproses. Buah dicuci menggunakan larutan klorin dengan konsentrasi 200 µl L⁻¹, kemudian dikeringanginkan dan dibersihkan dari bagian-bagian yang tidak dibutuhkan.

2. Pembuatan *Edible Coating* Lidah Buaya

Pembuatan *edible coating* dari gel lidah buaya ini dimulai dari pemilihan (sortasi) pelepah lidah buaya. Pelepah lidah buaya yang dipilih memiliki warna hijau dan tidak ada kotoran serta penyakit. Pelepah lidah buaya harus diproses dalam jangka waktu 36 jam setelah dipanen untuk menghindari degradasi komponen-komponen bioaktif yang terkandung didalamnya (Roberts, H. D., 1997). Selanjutnya pelepah lidah buaya direndam dalam larutan klorin dengan konsentrasi 200 ppm selama 30 menit dan dibilas dengan air matang untuk menghilangkan sisa-sisa larutan klorin yang menempel. Pelepah lidah buaya kemudian dibuang seluruh kulit daunnya. Gel lidah buaya yang dihasilkan dihancurkan dengan menggunakan *wearing blender* selama tidak lebih dari 10 menit, selanjutnya larutan tersebut dipanaskan pada suhu 70°C selama 45 menit dan segera didinginkan untuk menjaga stabilisasi larutan. Larutan kemudian ditambahkan dengan asam askorbat (1,9 – 2,0 g, L⁻¹) dan asam sitrat (4,5 – 4,6 g, L⁻¹) untuk mempertahankan pH 4 larutan (He, Q., *et al.*, 2003). Untuk mendapatkan konsentrasi larutan yang diinginkan (10% dan 20%), *edible coating* lidah buaya ditambahkan masing-masing alginat 1% serta ditambahkan 2% gliseril sebagai perekat (Marpudi, S. L. *et al.*, 2011).

3. Persiapan Larutan *Essential oil* Vanili

Essential oil vanili yang digunakan adalah *essential oil* vanili (Vanilla Oil) yang merupakan produk komersil yang dijual di pasaran. Konsentrasi *essential oil* vanili yang digunakan adalah 0,3%; 0,6% dan 0,9% yang dicampurkan dengan larutan *edible coating* lidah buaya.

4. Aplikasi

a. Tanpa Pelapisan

Buah belimbing yang telah disiapkan langsung disimpan di dalam *refrigerator* dengan suhu 15°C dan kelembaban 95%.

b. *Edible Coating* Lidah Buaya + *Essential oil* Vanili

1) Pencampuran *edible coating* lidah buaya + *essential oil* vanili

Edible coating lidah buaya ditambahkan *essential oil* vanili sesuai konsentrasi (0,3%; 0,6% dan 0,9%) serta diaduk secara selama ± 5 menit menggunakan pengaduk sampai larutan tersebut tercampur rata.

2) Pencelupan

Buah belimbing dicelupkan pada larutan *edible coating* lidah buaya+*essential oil* selama 3 menit kemudian dicelupkan pada larutan CaCl₂, selanjutnya buah belimbing ditiriskan kemudian dimasukkan ke dalam *refrigerator* dengan suhu 15°C dan kelembaban 95%.

5. Pengamatan

Pengamatan dilakukan pada hari ke-0, 4, 8, 12, 16 dan 20 terhadap 3 buah belimbing dari setiap perlakuan untuk dilakukan pengujian susut berat, kekerasan, total padatan terlarut, uji mikrobiologi serta dilakukan pengujian organoleptik.

c. Parameter yang Diamati

1. Susut Bobot (%) (AOAC, 2000)

Pengukuran bobot dilakukan pada hari ke-0, 4, 8, 12, 16 dan 20 dengan cara mengukur bobot buah belimbing menggunakan timbangan digital (OHAUS,

SPS6000, USA) dengan satuan gram. Data hasil pengukuran digunakan untuk menghitung penyusutan buah tomat selama masa penyimpanan. Rumus yang digunakan untuk menghitung presentase susut bobot adalah :

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

2. Kekerasan (N/mm²)

Pengujian kekerasan dilakukan menggunakan alat *hand penetrometer* (Lutron, FR-520, USA). Uji kekerasan dilakukan pada hari ke-0, 4, 8, 12, 16 dan 20. Permukaan buah belimbing ditusuk jarum *probe* dengan diameter 3 cm, sehingga kedalaman lubang yang diakibatkan oleh penusukan tersebut akan menyatakan kelunakan buah belimbing tersebut. Buah belimbing diukur tingkat kekerasannya pada tiga bagian, yaitu bagian ujung, tengah, dan pangkal. Kemudian data yang diperoleh dihitung menggunakan rumus :

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

Keterangan :

$$r = \text{Jari-jari}$$

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

3. Total Padatan Terlarut (°brix)

Pengukuran total padatan terlarut dilakukan pada buah korban pada hari ke-0, 4, 8, 12, 16 dan 20. Pengukuran total padatan terlarut dilakukan dengan cara mengambil sampel dan dihancurkan menggunakan mortar kemudian diambil sebanyak 1 gram lalu dilarutkan didalam 10 ml aquades lalu diteteskan diatas *hand refractometer* (Atago, PAL-1 (3810), Jepang).

4. Gula Reduksi (AOAC, 1995)

Uji gula reduksi dilakukan pada hari ke-0, 4, 8, 12, 16 dan 20 yang dilakukan dengan mengambil sampel yang telah ditumbuk sebanyak 1 gram dimasukkan dalam botol suntik berisi 100 ml aquadest. Filtrat mengambil 0,1 ml dan ditambahkan 0,9 ml aquades. *Nelson regencia C* ditambahkan sebanyak 1 ml dan dipanaskan selama 20 menit, setelah dingin ditambahkan 1 ml *ansemo molib* dan 7 ml aquadest pada filtrat kemudian digojog dan didiamkan 30 menit untuk selanjutnya dilakukan pengecekan dengan alat *spectrophotometer*.

5. Uji Organoleptik

Uji organoleptik merupakan suatu parameter yang bertujuan untuk mengetahui kelayakan produk untuk dikonsumsi. Aspek yang ada di uji organoleptik meliputi warna, aroma, rasa, tekstur dan nilai keseluruhan. Uji organoleptik dilakukan pada pengamatan hari ke-0, 4, 8, 12, 16 dan 20 yang dilakukan oleh panelis dengan cara mengamati buah belimbing dan diberi nilai menggunakan skorsing. Adapun skorsing yang digunakan sebagai berikut:

Tabel 1. *Skorsing* penilaian organoleptik

Skor	Keterangan
9	Amat sangat suka
8	Sangat suka
7	Suka
6	Agak suka
5	Netral
4	Agak tidak suka
3	Tidak suka
2	Sangat Tidak suka
1	Amat sangat tidak suka

6. Uji Mikrobiologi (cfu)

Uji mikrobiologi ini dilakukan pada hari ke-0, 4, 8, 12, 16 dan 20 menggunakan metode *plate count*. Langkah-langkah dalam uji mikrobiologi sebagai berikut :

- i. Alat disterilisasi dengan cara memasukkan semua alat ke dalam autoklaf dengan tekanan 1 atm selama 30 menit.
- ii. Media PCA dibuat dengan cara melarutkan 22,5 media ke dalam 1 liter aquadest steril, kemudian larutan tersebut dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditutup kapas yang dilapisi kertas payung secara rapat. Larutan tersebut selanjutnya di sterilkan menggunakan autoklaf dengan tekanan 1 atm selama 15 menit.
- iii. Buah belimbing yang telah dihaluskan ditimbang sebanyak 1 g, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 9 ml aquadest steril, kemudian digojog menggunakan *vortex*.
- iv. Pada seri pengenceran 10^{-2} , diambil 1 ml dari hasil penyaringan pada langkah pertama, kemudian dimasukkan dalam botol suntik berisi 99 ml aquadest steril dan digojog sampai homogen.
- v. Pada seri pengenceran 10^{-4} , diambil 1 ml hasil pengenceran 10^{-2} , kemudian dimasukkan ke dalam botol suntik berisi 99 ml aquadest steril dan digojog sampai homogen.
- vi. Pada seri pengenceran 10^{-5} , diambil 1 ml hasil pengenceran 10^{-4} , kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 9 ml aquadest steril dan digojog sampai homogen.

- vii. Pada seri pengenceran 10^{-6} , diambil 1 ml hasil pengenceran 10^{-5} , kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 9 ml aquadest steril dan digojog sampai homogen.
- viii. Pada seri pengenceran 10^{-7} , diambil 1 ml hasil pengenceran 10^{-6} , kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 9 ml aquadest steril dan digojog sampai homogen.
- ix. Petridish yang telah diisi medium PCA \pm 10 ml dan diberi label masing-masing petridish untuk pengenceran 10^{-6} , 10^{-7} , dan 10^{-8} .
- x. Masing-masing suspensi hasil pengenceran 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} diinokulasikan sebanyak 0,1 ml pada petridish yang berisi medium NA.
- xi. Suspensi mikrobial diratakan dengan *drigalsky* steril.
- xii. Petridish yang berisi suspensi mikrobial diinkubasi selama 2 hari pada suhu kamar.
- xiii. Jumlah mikrobial yang tumbuh pada petridish dihitung dengan *colony counter*.

Total mikrobial dihitung dengan menggunakan *colony counter*, perhitungan mikroba harus memenuhi beberapa syarat berikut: (1) tidak ada spreader (2) jumlah koloni 30-300, (3) perbandingan antara pengenceran yang lebih besar dengan pengenceran sebelumnya, apabila atau <2 maka dirata-rata, tetapi apabila lebih besar dari 2 maka yang dipakai adalah pengenceran yang di atasnya.

d. Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan dianalisis menggunakan sidik ragam dengan tingkat $\alpha = 5\%$ ANOVA. Apabila dalam sidik ragam menunjukkan adanya beda nyata, maka dilakukan uji lanjut dengan DMRT (Duncan's Multiple Range Test) dengan tingkat $\alpha = 5\%$.