

III. TATA CARA PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Pasca Panen, Fakultas Pertanian UMY pada bulan Maret sampai Mei 2018.

B. Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan yaitu ember 15 l, botol 1500 ml, gelas ukur 50 ml dan 500 ml, penggaris, busur, pisau atau *cutter*, gunting, sterofom, mikropipet, bunsen, botol suntik, corong, batang pengaduk atau sendok, timbangan digital, *erlenmeyer*, tabung reaksi, tip, galon, mortar dan alu, kamera, cawan petri, autoklaf, *drigalsky*, *coloni counter*

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu bunga potong Gerbera mahkota tersusun satu lapis yang berwarna *pink* dari daerah Batu Malang Jawa Timur, aquades, sitokinin, gula, asam sitrat, ekstrak daging, *peptone*, agar, alkohol, kapas, karet, kertas label, dan kertas payung.

C. Metode Penelitian

Penelitian dilakukan dengan menggunakan metode eksperimen faktor tunggal yang disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan yang diujikan yaitu :

A0 = air

A1 = larutan sitokinin 0 ppm

A2 = larutan sitokinin 5 ppm

A3 = larutan sitokinin 10 ppm

A4 = larutan sitokinin 15 ppm

A5 = larutan sitokinin 20 ppm

Setiap perlakuan diulang 3 kali, masing – masing ulangan terdapat 3 unit dan korban sebanyak 5 unit. Jumlah sampel setiap perlakuan yaitu 24 unit, sehingga total yang diperoleh yaitu 144 unit.

D. Cara Penelitian

1. Persiapan Alat dan Bahan
 - a. Botol berukuran 1500 ml dipotong sepanjang 10 cm dari ujung atas botol (lampiran 4).
 - b. *Sterofom* dipotong melingkar dengan diameter yang sama dengan diameter botol (lampiran 4).
 - c. Bagian tengah *sterofom* yang telah dipotong diberi lubang dengan diameter 1 cm untuk meletakkan bunga gerbera (lampiran 4).
 - d. Menimbang gula pasir sebanyak 1,35 kg dan asam sitrat sebanyak 2,1 g.
2. Membuat larutan stok sitokinin yaitu dengan cara sitokinin sebanyak 1 g dimasukkan ke dalam botol kecil 150 ml kemudian diberi 10 ml pelarut yaitu HCl 1N. Setelah bahan larut kemudian ditambahkan aquades sebanyak 100 ml. Kemudian larutan stok diberi label dan disimpan di lemari pendingin (lampiran 4).
3. Sterilisasi Alat dan Pembuatan Media Natrium Agar (NA).

Sterilisasi alat : alat – alat yang akan digunakan seperti botol suntik,

tabung reaksi dan tip direndam dalam panci menggunakan air sabun yang dididihkan lalu dibilas dengan air bersih kemudian di rendam semalaman dengan larutan bayclin setelah itu dibersihkan dengan air lalu botol suntik diisi aquades sebanyak 90 ml yang ditutup dengan plastik dan karet, tabung reaksi diisi aquades sebanyak 9 ml yang ditutup dengan kapas serta tip disterilisasikan dengan autoklaf (lampiran 4) pada suhu 121 °C selama 30 menit.

4. Pembuatan media NA

Nutrient Agar (NA) merupakan media yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri. Bahan yang digunakan yaitu ekstrak daging 3 g, pepton 5 g, aquades 1000 ml, agar-agar 15 g. Adapun cara pembuatannya yaitu :

- a. Bahan – bahan seperti ekstrak daging 3 g dan pepton 5 g dimasukkan kedalam gelas ukur bersamaan dengan aquades 1000 ml.
- b. Kemudian dimasukkan agar - agar secara perlahan-lahan sambil di aduk agar larutan menjadi homogen.
- c. Media langsung dipindah dalam tabung Erlenmeyer kemudian tabung ditutup menggunakan kapas, kertas payung dan karet.
- d. Media dimasukkan kedalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit.

5. Penyiapan larutan perendam

- a. Pembuatan larutan sitokinin yaitu dengan cara melarutkan sitokinin dengan aquades sesuai dengan masing – masing konsentrasi :

1) Larutan sitokinin 5 ppm: jika dikonversikan menjadi 0,5 ml/liter.

Jumlah larutan yang dibutuhkan adalah 100 ml per unit dan yang digunakan adalah sebanyak 24 [3 ulangan x (3 unit + 5 korban)] unit

maka jumlah yang dibutuhkan adalah $100 \text{ ml} \times 24 = 2.400 \text{ ml} \sim 3.000 \text{ ml}$. Sehingga jumlah larutan sitokinin untuk pembuatan 3.000 ml adalah 1,5 ml.

2) Larutan sitokinin 10 ppm : jika dikonversikan menjadi 1 ml/liter. Jumlah larutan yang dibutuhkan adalah 100 ml per unit dan yang digunakan adalah sebanyak 24 [3 ulangan x (3 unit + 5 korban)] unit maka jumlah yang dibutuhkan adalah $100 \text{ ml} \times 24 = 2.400 \text{ ml} \sim 3.000 \text{ ml}$. Sehingga jumlah larutan sitokinin untuk pembuatan 3.000 ml adalah 3 ml.

3) Larutan sitokinin 15 ppm : jika dikonversikan menjadi 1,5 ml/liter. Jumlah larutan yang dibutuhkan adalah 100 ml per unit dan yang digunakan adalah sebanyak 24 [3 ulangan x (3 unit + 5 korban)] unit maka jumlah yang dibutuhkan adalah $100 \text{ ml} \times 24 = 2.400 \text{ ml} \sim 3.000 \text{ ml}$. Sehingga jumlah larutan sitokinin untuk pembuatan 3.000 ml adalah 4,5 ml.

4) Larutan sitokinin 20 ppm : jika dikonversikan menjadi 2 ml/liter. Jumlah larutan yang dibutuhkan adalah 100 ml per unit dan yang digunakan adalah sebanyak 24 [3 ulangan x (3 unit + 5 korban)] unit maka jumlah yang dibutuhkan adalah $100 \text{ ml} \times 24 = 2.400 \text{ ml} \sim 3.000 \text{ ml}$. Sehingga jumlah larutan sitokinin untuk pembuatan 3.000 ml adalah 6 ml.

b. Pembuatan larutan gula 10 %

Konsentrasi larutan gula yang digunakan adalah 10 %, apabila

dikonversikan dalam gram yaitu 100 g/liter. Jumlah larutan yang dibutuhkan yaitu 100 ml untuk 96 [4 perlakuan x 3 ulangan x (3 unit + 5 korban)] unit dan 150 ml untuk 24 [3 ulangan x (3 unit + 5 korban)] unit sehingga jumlah larutan yang dibutuhkan adalah 13.200 ml ~ 13.500 ml. Maka gula pasir yang dibutuhkan adalah 1.350 g ~ 1,35 kg (Lampiran 2).

c. Pembuatan larutan asam sitrat 150 ppm

Konsentrasi larutan asam sitrat yang digunakan adalah 150 ppm, jika dikonversikan yaitu 150 mg/liter. Jumlah larutan yang dibutuhkan yaitu 100 ml untuk 96 [4 perlakuan x 3 ulangan x (3 unit + 5 korban)] unit dan 150 ml untuk 24 [3 ulangan x (3 unit + 5 korban)] unit sehingga jumlah larutan yang dibutuhkan adalah 13.200 ml ~ 13.500 ml. Maka asam sitrat yang dibutuhkan adalah 2.100 mg ~ 2,1 g (Lampiran 2).

6. Penyiapan bunga gerbera

Bunga potong diperoleh dari daerah Batu, Malang, Jawa Timur. Bunga dipilih yang berwarna pink dan mekar dengan panjang tangkai bunga 40 cm. Pemotongan bunga dilakukan dengan ujung tangkai bunga dibuat meruncing atau dengan posisi miring untuk memperluas permukaan penyerapan.

7. Aplikasi bahan

a. Larutan sitokinin konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm dan 20 ppm ditambahkan larutan tambahan lainnya yaitu larutan gula 10 % dan asam sitrat 150 ppm sedangkan perlakuan air hanya diberikan air saja kemudian masing-masing larutan perendam dituang ke dalam botol.

b. Larutan perendam diaduk agar homogen

- c. *Sterof foam* yang telah dilubangi dibagian tengah dipasang sebagai penutup botol kemudian bunga gerbera dimasukkan ke dalam botol.

E. Parameter yang Diamati

Pengamatan dilakukan selama delapan hari dengan parameter pengamatan sebagai berikut :

1. Derajat keasaman (pH) larutan

Keasaman (pH) merupakan faktor internal pada larutan perendam yang mempengaruhi percepatan penyerapan larutan oleh tangkai bunga potong. Pengamatan pH larutan diukur pada hari pertama, keempat dan ketujuh pengamatan dengan menggunakan kertas lakmus.

2. Jumlah larutan terserap (ml)

Jumlah larutan terserap menunjukkan banyaknya kehilangan air akibat penyerapan. Larutan yang terserap pada bunga potong selama penyimpanan adalah selisih antara volume awal larutan dengan volume tiga hari berikutnya. Pengukuran dilakukan pada hari pertama, keempat dan ketujuh. Hasil pengamatan dinyatakan dalam satuan mililiter. Adapun rumus perhitungan jumlah larutan terserap adalah :

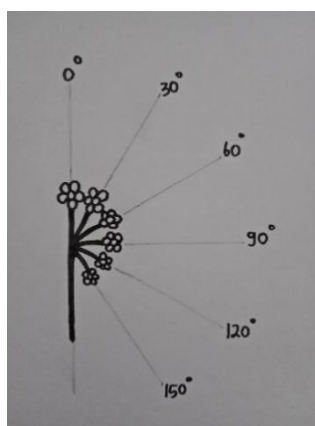
$$V_a - V_1$$

Keterangan : V_a = Volume awal larutan

V_1 = Volume setelah perendaman

3. Ketegaran tangkai bunga

Ketegaran tangkai bunga diperoleh dari ketegakan bunga dengan busur ($^{\circ}$) dan pengamatan dilakukan selama delapan hari. Adapun ciri – ciri ketegaran tangkai bunga dilihat dari tangkai dengan kecondongan 0° , tangkai dengan kecondongan 30° , tangkai dengan kecondongan 90° , tangkai dengan kecondongan 120° dan tangkai dengan kecondongan 150° .



Gambar 2. Kecondongan tangkai bunga dengan busur

Tabel 2. Kriteria ketegaran tangkai bunga






Skor	Keterangan
1	Tangkai bunga kecondongan 0°
2	Tangkai bunga kecondongan 30°
3	Tangkai bunga kecondongan 60°
4	Tangkai bunga kecondongan 90°
5	Tangkai bunga kecondongan 120°
6	Tangkai bunga kecondongan 150°

(Rochayat, 2012)

4. Kesegaran tangkai

Kesegaran tangkai diketahui dengan cara melihat perubahan kondisi pada tangkai yakni dari segar menuju busuk. Pengamatan dilakukan selama delapan hari. Adapun ciri – ciri kesegaran tangkai adalah mulai tangkai tidak berlendir berwarna hijau, tangkai berlendir berwarna hijau kemudian berwarna hijau kekuningan, kuning kecoklatan dan coklat kehitaman.

Tabel 3. Kriteria kesegaran tangkai

Skor	Gambar	Keterangan
1		Tangkai tidak berlendir warna hijau
2		Tangkai berlendir warna hijau
3		Tangkai berlendir warna hijau kekuningan
4		Tangkai berlendir warna kuning kecoklatan
5		Tangkai berlendir warna coklat kehitaman

5. Jumlah total bakteri (CFU/ml)

Ujung tangkai bunga potong gerbera yang terendam larutan perendam dipotong lalu ditumbuk dan ditimbang sebanyak 1 g, kemudian dimasukkan kedalam botol suntik yang telah disterilisasi dengan seri pengenceran 10^{-8} , 10^{-9} dan 10^{-10} kemudian diinokulasikan pada medium NA. Setelah itu diinkubasi selama 48 jam dan dihitung jumlah koloni tiap cawan petri dengan *plate count*, yang memenuhi syarat sehingga dapat diketahui jumlah mikroba tiap gram

bahan. Satuan pembentuk koloni yaitu *Colony Forming Units* (CFU). Pengamatan jumlah total bakteri yaitu pada hari pertama, keempat dan ketujuh.

Adapun syarat perhitungan dengan metode *Total Plate Count* yang harus dipenuhi adalah jumlah koloni tiap cawan petri antara 30-300, tidak ada koloni menutup lebih dari setengah luas cawan petri (*spreader*), perbandingan jumlah koloni dari pengenceran berturut-turut antara pengenceran yang lebih besar dengan pengenceran sebelumnya. Pengamatan dilakukan pada hari ke 1, 4 dan 7. Hasil pengamatan dinyatakan dalam satuan CFU/ml.

6. Warna bunga

Pengamatan warna bunga yaitu dengan cara mengamati perubahan warna bunga yang dilakukan selama delapan hari pengamatan.

Tabel 4 . Kriteria perubahan warna bunga

Skor	Gambar	Keterangan
1		Pink
2		Pink pudar keunguan
3		Ungu kecoklatan

Sumber gambar: dokumentasi pribadi diambil pada saat uji pendahuluan.

F. Analisis Data

Hasil pengamatan kuantitatif dianalisis dengan menggunakan Sidik Ragam

atau Analysis of Variance (ANOVA) pada taraf ketelitian 5% dan apabila ada perbedaan nyata antar perlakuan yang diujikan maka dilakukan uji lanjut dengan menggunakan Duncan's Multiple Range Test (DMRT). Selain itu, data yang diperoleh dari hasil pengamatan di laboratorium kemudian ditabulasi berdasarkan skoring selanjutnya dianalisa dengan penjabaran deskriptif.