

III. TATA CARA PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Pascapanen Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Yogyakarta pada bulan Februari s.d Maret 2019.

B. Bahan dan Alat Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah pepaya California yang diperoleh langsung dari petani. Bahan yang digunakan untuk formasi *edible coating* adalah alginat, madu, gliserol, larutan chlorine, aquadest steril, CaCl_2 , Indikator PP 1%, NaOH 0,05%, Iod 0,01N, NaOH 0,1N, amilum 1%, dan *Plate Count Agar*.

Peralatan yang digunakan adalah kompor, timbangan analitik, blender, pnetrometer, refraktometer, pisau, sterofom, baskom plastik, gelas plastik, mikro pipet, drigalsky, coloni counter, pH stick, botol timbang, statif dan buret, botol suntik, kertas payung, refrigerator, autoklaf, gelas piala, petridish, gelas ukur, erlenmeyer, labu takar, pengaduk, pipet tetes, pipet ukur, mortal dan alu.

C. Metode Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dengan menggunakan metode eksperimental yang disusun menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktor tunggal dengan perlakuan yang diujikan, yaitu:

- A = Madu 5%, alginat 2%
- B = Madu 10%, alginat 2%
- C = Madu 15%, alginat 2%
- D = Madu 20%, alginat 2%
- E = Alginat 2%
- F = Tanpa pemberian alginat dan madu

Jumlah perlakuan yang diujikan yaitu 6 dengan setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali sehingga menghasilkan 18 unit. Setiap unit perlakuan terdiri dari 2 potong sampel dengan ukuran panjang 8 cm, lebar 3 cm dan ketebalan 3 cm.

D. Tata Laksana Penelitian

Penelitian ini terdiri dari dua tahap pengujian, yaitu uji pendahuluan dan uji inti. Uji inti terdiri dari persiapan buah pepaya California terolah minimal, pembuatan larutan *edible coating* dan penambahan madu, serta pengaplikasian *edible coating* pada buah pepaya terolah minimal. Berikut tahapan yang akan dilakukan dalam penelitian ini :

1. Uji Pendahuluan

a. Persiapan Alat

Persiapan alat meliputi pembersihan dan pengecekan alat-alat seperti timbangan analitik, pisau, statif, gelas piala, gelas ukur, erlenmeyer, tabung reaksi, cawan petri, botol suntik, botol spray, *drigladsky*, pemanas bunsen, mikropipet, buret, blender, kertas payung, rak tabung reaksi, lemari pendingin, *coloni counter*, *hand Penetrometer* dan *hand refractometer*.

Persiapan bahan dilakukan dengan menyiapkan buah pepaya California sebanyak 1 buah, pembelian madu dan media tumbuh mikroba PCA, alcohol 96%, aquades, *plastic wrap*, sterofom, amilum 1%, klorin, Iod 0,01 N, NaOH 0,1 N, dan Indikator PP 1%.

b. Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat dilakukan menggunakan autoklaf pada tekanan 1 atm dengan suhu 121⁰C selama 30 menit. Alat-alat yang akan disterilkan disumbat dengan kapas kemudia dibungkus dengan kertas payung sebelum dimasukkan ke dalam autoklaf. Alat yang disterilkan antara lain petridish, erlenmeyer, botol suntik dan tabung reaksi.

c. Pembuatan Media

Pembuatan media dilakukan dengan cara melarutkan PCA 22,5 gram dalam aquades 1000 ml kemudian diaduk hingga homogen. Setelah homogen, medium diukur pH 6-7 menggunakan kertas pH lalu disterilkan dalam autoklaf dengan suhu 121⁰C dan tekanan 1 atm selama 15 menit. Media yang telah steril didinginkan sebentar kemudian dituang ke dalam petridish dan ditunggu hingga padat. Pembuatan media ini digunakan dalam uji mikrobiologi.

d. Pembuatan Larutan *Edible Coating*

Pertama-tama bubuk alginat 2% dilarutkan ke dalam 300 ml aquades sambil diaduk hingga homogen. Kemudian larutan dipanaskan pada suhu 85⁰C menggunakan *waterbath* sambil terus diaduk. Selanjutnya, ditambahkan dengan gliserol 1,5% (v/v) ke dalam larutan alginat serta dihomogenkan

selama 15 menit hingga homogen dan larutan menjadi jernih. Proses selanjutnya adalah pendinginan formula *edible coating* pada suhu kamar (25-30°C). Kemudian dilakukan penambahan madu dengan konsentrasi sesuai perlakuan (5%, 10%, 15%, 20%) sambil terus diaduk sampai homogen.

e. Aplikasi *Edible Coating*

Sebelum dikupas buah pepaya dicuci terlebih dahulu menggunakan larutan klorin dengan konsentrasi 200 µl/L hingga bersih kemudian ditiriskan dan dipotong menggunakan pisau tajam dan bersih menjadi bagian yang lebih kecil dengan panjang 8 cm dan lebar 3 cm. *Edible coating* diaplikasikan pada *fresh cut* buah pepaya dengan cara mencelupkan buah pepaya ke dalam larutan *edible coating* selama 15 detik lalu ditiriskan dengan tirisan selama 2 menit, lalu dicelupkan kembali ke dalam larutan *edible coating* selama 10 detik. Kemudian *fresh cut* buah pepaya dicelupkan ke dalam larutan CaCl₂ 2% (v/v) dan ditiriskan serta dikering anginkan. Setelah itu buah dibungkus dengan sterefoam dan di wrapping. Buah disimpan dalam lemari pendingin dengan suhu 5°C selama 3 hari.

f. Uji Mikrobiologi Pepaya California

Media yang digunakan yaitu *Plate Count Agar* (PCA). Uji mikrobiologi dilakukan dengan cara menghaluskan bahan dan ditimbang sebanyak 1 g, kemudian dimasukkan ke dalam botol suntik berisi 99 ml aquades steril digojog sampai homogen dan didapatkan pengenceran 10⁻². Selanjutnya diencerkan menjadi 10⁻³ hingga 10⁻¹⁰. Setiap seri pengenceran dari 10⁻¹ sampai 10⁻¹⁰ masing-masing diambil 0,1 ml dengan mikro pipet dan diinokulasi pada

media PCA dengan metode *surface* menggunakan dryglasky lalu dibungkus dengan kertas payung dan diinkubasi selama 48 jam. Kemudian diamati pada seri pengenceran ke berapa koloni mikroba tumbuh paling banyak dan dapat dihitung. Mikroba yang tumbuh pada media PCA tersebut dihitung dengan menggunakan *Coloni Counter*. Jumlah mikroba dinyatakan dalam satuan CFU/ml.

g. Pengamatan

Pengamatan untuk penelitian pendahuluan dilakukan pada hari ke-0 dan ke-3 penyimpanan. Pengamatan yang dilakukan meliputi susut bobot, uji kekerasan, total asam tertitrasi, total padatan terlarut, kadar vitamin C dan perubahan warna.

2. Uji Inti

a. Persiapan Alat

Persiapan alat meliputi pembersihan dan pengecekan alat-alat seperti timbangan analitik, pisau, statif, gelas piala, gelas ukur, erlenmeyer, tabung reaksi, cawan petri, botol suntik, botol spray, *driglasky*, pemanas bunsen, mikropipet, buret, blender, kertas payung, rak tabung reaksi, lemari pendingin, *coloni counter*, *hand Penetrometer* dan *hand refractometer*. Persiapan bahan dilakukan dengan menyiapkan buah pepaya California sebanyak 1 buah, pembelian madu dan media tumbuh mikroba PCA, alcohol 96%, aquades, *plastic wrap*, sterofom, amilum 1%, klorin, Iod 0,01 N, NaOH 0,1 N, dan Indikator PP 1%.

b. Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat dilakukan menggunakan autoklaf pada tekanan 1 atm dengan suhu 121°C selama 30 menit. Alat-alat yang akan disterilkan disumbat dengan kapas kemudia dibungkus dengan kertas payung sebelum dimasukkan ke dalam autoklaf. Alat yang disterilkan antara lain petridish, erlenmeyer, botol suntik dan tabung reaksi.

c. Persiapan Buah Pepaya California

Buah pepaya yang telah dipanen lalu disortasi berdasarkan berat yang seragam, tidak terserang penyakit, tidak memar ataupun luka, kulit yang mulus, bersih serta dipilih buah pepaya pada indeks warna 4 yaitu buah pepaya dengan warna lebih kuning dari hijau. Kemudian, buah pepaya dicuci menggunakan larutan klorin dengan konsentrasi $200 \mu\text{l/L}$ dan dikering anginkan. Setelah itu, dilakukan pengupasan kulit buah yang kemudian buah pepaya dipotong dengan ukuran yang seragam yaitu panjang 8 cm, lebar 3 cm dan ketebalan 3 cm.

d. Pembuatan Media

Pembuatan media dilakukan dengan cara melarutkan PCA 22,5 gram dalam aquades 1000 ml kemudian diaduk hingga homogen. Setelah homogen, medium diukur pH 6-7 menggunakan kertas pH lalu disterilkan dalam autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit. Media yang telah steril didinginkan sebentar kemudian dituang ke dalam petridish dan ditunggu hingga padat. Pembuatan media ini digunakan dalam uji mikrobiologi.

e. Pembuatan Larutan *Edible Coating*

Pertama-tama bubuk alginat 2% dilarutkan ke dalam 300 ml aquades sambil diaduk hingga homogen. Kemudian larutan dipanaskan pada suhu 85°C menggunakan *waterbath* sambil terus diaduk. Selanjutnya, ditambahkan dengan gliserol 1,5% (v/v) ke dalam larutan alginat serta dihomogenkan selama 15 menit hingga homogen dan larutan menjadi jernih. Proses selanjutnya adalah pendinginan formula *edible coating* pada suhu kamar (25-30°C). Kemudian dilakukan penambahan madu dengan konsentrasi sesuai perlakuan (5%, 10%, 15%, 20%) sambil terus diaduk sampai homogen.

f. Aplikasi *Edible Coating*

Buah dicuci menggunakan larutan klorin dengan konsentrasi 200 µl/L hingga bersih kemudian ditiriskan dan dipotong menggunakan pisau tajam dan bersih menjadi bagian yang lebih kecil dengan panjang 8 cm dan lebar 3 cm. *Edible coating* diaplikasikan pada *fresh cut* buah pepaya dengan cara mencelupkan buah pepaya ke dalam larutan *edible coating* selama 15 detik lalu ditiriskan dengan tirisan selama 2 menit, lalu dicelupkan kembali ke dalam larutan *edible coating* selama 10 detik. Kemudian *fresh cut* buah pepaya dicelupkan ke dalam larutan CaCl₂ 2% (v/v) dan ditiriskan serta dikering anginkan. Setelah itu buah dibungkus dengan sterefoam dan di wrapping. Buah disimpan dalam lemari pendingin dengan suhu 5°C. Penyimpanan *fresh cut* buah pepaya dilakukan selama 12 hari.

g. Pengamatan

Pengamatan dilakukan 3 hari sekali masing-masing pada hari ke 0,3,6,9 dan 12. Parameter yang diamati meliputi sifat fisik (susut berat, kekerasan, perubahan warna), kimia (vitamin C, gula total, asam tertitrasi), sifat biologis (uji mikrobiologi) serta uji organoleptik pada *fresh cut* buah pepaya.

E. Variabel Pengamatan

Pengamatan dilakukan setiap 3 hari sekali selama 12 hari penyimpanan buah. Parameter yang diamati adalah susut bobot buah, kekerasan buah, total padatan terlarut, total asam tertitrasi, uji kandungan vitamin C, uji organoleptik dan uji mikrobiologi.

1. Susut Bobot Buah

Susut bobot buah dihitung dari bobot awal buah sebelum diberi perlakuan dikurangi bobot akhir buah setiap kali pengamatan dilakukan. Susut bobot buah dihitung menggunakan timbangan analitik. Hasil timbangan buah dapat dinyatakan dalam gram dan presentase susut berat dinyatakan dalam satuan persen (Rahmawati, 2015). Perhitungan susut bobot buah digunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Susut bobot (\%)} = \frac{A-B}{A} \times 100\%$$

Keterangan :

A = Berat buah awal penyimpanan (g)

B = Berat buah hari ke-n (g)

2. Kekerasan Buah (AOAC, 2000)

Kekerasan buah (kg/cm^3) diukur dengan alat penetrometer. Pengukuran kekerasan buah dilakukan dengan cara meletakkan alat penetrometer

secara vertikal tepat di atas daging buah kemudian menusuk menggunakan jarum probe dengan diameter 3 mm yang dilakukan pada tiga bagian buah yaitu pangkal, tengah dan ujung buah. Kedalaman lubang yang diakibatkan oleh penusukan tersebut akan menyatakan kelunakan buah tomat tersebut dan penetrometer akan menunjukkan gaya yang dinyatakan dalam satuan N. Hasil pengukuran kekerasan buah dinyatakan dalam satuan kg/cm^3 .

$$\text{Kekerasan} = \frac{\text{Gaya yang diberikan buah (N)}}{\text{luas permukaan lempengan}}$$

3. Total Asam Titrasi (AOAC, 2000)

Pengukuran total asam titrasi dilakukan dengan cara daging buah dihaluskan terlebih dahulu kemudian ditimbang sebanyak 10 gram. Daging buah yang sudah dihaluskan dimasukkan ke dalam labu takar 250 ml dan diberi aquadest sampai tanda tera. Kemudian sampel dihomogenkan dan disaring. Setelah itu, diambil 5 ml larutan ke dalam erlenmeyer dan diberi indikator fenolftalein. Kemudian dititrasi menggunakan NaOH 0,1 N hingga larutan berubah warna menjadi merah muda. Hasil uji total asam titrasi dinyatakan dalam persen (%).

Perhitungan total asam titrasi digunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Total Asam \%} = \frac{V \times N \times FP \times BE \text{ Asam Malat}}{W} \times 100\%$$

Keterangan:

V = volume titrasi (ml NaOH)

N = Normalisasi NaOH

FP = Faktor pengencer

BE = Ekuivalen asam Malat yaitu 124

W = berat sampel

4. Total Padatan Terlarut (AOAC, 2000)

Pengukuran total padatan terlarut dilakukan dengan menggunakan alat *hand refractometer* yaitu dengan cara menghaluskan buah sampel terlebih dahulu menggunakan blender. Sari buah kemudian diletakkan pada alat *hand refractometer* untuk diukur total padatan terlarutnya. Hasil pengukuran total padatan terlarut dinyatakan dalam satuan % Brix.

5. Uji Kandungan Vitamin C (AOAC, 2000)

Kandungan vitamin C ditentukan berdasarkan titrasi iodin. Daging buah dihaluskan terlebih dahulu kemudian ditimbang sebanyak ditimbang 10 gram kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 250 ml dan diberi aquadest sampai tanda tera. Kemudian sampel dihomogenkan dan disaring. Setelah itu, diambil 25 ml larutan ke dalam erlenmeyer dan diberi amilum 1% sebanyak 2 ml. Kemudian dititrasi menggunakan Iod 0,01 N hingga larutan berubah warna menjadi biru. Hasil uji kadar vitamin C dinyatakan dalam persen (%). Perhitungan kandungan vitamin C digunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Vitamin C} = \frac{a \times b \times 0,88 \times FP}{W} \times 100\%$$

Keterangan:

- a = volume titrasi sampel seluruhnya
- b = Konsentrasi larutan Iod (N)
- FP = Faktor pengenceran

6. Uji Mikrobiologi

Uji mikrobiologi dilakukan dengan menghitung total mikroba/bakteri menggunakan metode *plate count*. Media yang digunakan yaitu *Plate Count Agar* (PCA). Uji mikrobiologi dilakukan dengan cara menghaluskan

bahan dan ditimbang sebanyak 1 g, kemudian dimasukkan ke dalam botol suntik berisi 99 ml aquades steril digojog sampai homogen dan didapatkan pengenceran 10^{-2} . Seri pengenceran 10^{-2} diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam botol suntik yang berisi 99 ml aquades steril sehingga mendapatkan seri pengenceran 10^{-4} , kemudian diencerkan ke seri pengenceran 10^{-6} . Selanjutnya diencerkan menjadi 10^{-7} dengan cara seri pengenceran 10^{-6} diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml aquades steril sehingga mendapatkan seri pengenceran 10^{-7} . Kemudian diencerkan ke seri pengenceran 10^{-8} dan 10^{-9} . Setiap seri pengenceran 10^{-7} , 10^{-8} , dan 10^{-9} masing-masing diambil 0,1 ml dengan mikro pipet dan diinokulasi pada media PCA dengan metode *sureface* menggunakan dryglasky lalu dibungkus dengan kertas payung dan diinkubasi selama 48 jam. Kemudian mikroba yang tumbuh pada media PCA tersebut dihitung dengan menggunakan *Coloni Counter*. dinyatakan dalam satuan CFU/ml.

7. Perubahan Warna

Pengukuran warna adalah salah satu metode yang digunakan dalam menilai kualitas penampakan (visual) produk segar hortikultura. Pengukuran warna diukur menggunakan indeks warna buah pepaya. Indeks warna tingkat kematangan pepaya dengan skoring (lampiran 2) sebagai berikut :

- a. Indeks Warna 1 : Hijau penuh
- b. Indeks Warna 2 : Hijau dengan jejak kuning
- c. Indeks Warna 3 : Lebih hijau dari kuning
- d. Indeks Warna 4 : Lebih kuning dari hijau
- e. Indeks Warna 5 : Kuning dengan jejak hijau
- f. Indeks Warna 6 : Sepenuhnya kuning

8. Uji Organoleptik (AOAC, 2000)

Uji organoleptik/sensoris dilakukan untuk mengetahui sejauh mana konsumen masih menerima perubahan mutu buah yang menyangkut perubahan sifat fisik dan kimia selama penyimpanan. Uji organoleptik dilakukan kepada 15 panelis. Penilaian berdasarkan skala hedonik terhadap warna daging buah, rasa, aroma dan tekstur yang dinyatakan dengan skala numerik sebagai berikut :

$$\text{Nilai} : \frac{(\sum \text{nilai} \times \text{nilai mutu responden})}{\text{jumlah responden}}$$

- a. sangat tidak suka
- b. tidak suka
- c. agak suka
- d. suka
- e. sangat suka

F. Analisis Data

Data hasil pengamatan dianalisis dengan menggunakan sidik ragam (ANOVA) pada taraf α 5%. Apabila terdapat perbedaan nyata antar perlakuan yang diujikan maka dilakukan uji lanjut dengan menggunakan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT).