

III. TATA CARA PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Pasca Panen Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret hingga April 2019.

B. Bahan dan Alat Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu alginat, buah pepaya Calina yang diperoleh dari petani langsung, gliserol, aquades, larutan chlorine, minyak atsiri lemon, minyak atsiri kayu manis, CaCl_2 , indikator PP 1%, NaOH 0,1N, Iod 0,01N, amilum 1%, *plate count agar*, alkohol, dan spiritus.

Alat yang digunakan *waterbath*, plastik *wrapping*, sterofom, pisau, blender, petridish, tabung reaksi, autoklaf, timbangan analitik, kamera, penetrometer, refraktometer, baskom plastik, gelas plastik, mikro pipet, drigalsky, coloni counter, pH stick, cawan timbang, statif dan buret, lampu bunsen, peniris, botol suntik, kertas payung, kapas, plastik sterilisasi, refrigerator, dan alat-alat laboratorium lainnya (gelas piala, gelas ukur, erlenmeyer, pengaduk, pipet tetes, dan pipet ukur).

C. Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimen faktor tunggal yang disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan yang diuji yaitu perlakuan konsentrasi minyak atsiri lemon dan kayu manis pada *fresh-cut* buah pepaya Calina. Adapun perlakuan yang diujikan :

- A : Alginat 2% + minyak atsiri lemon 2%
- B : Alginat 2% + minyak atsiri lemon 3%
- C : Alginat 2% + minyak atsiri kayu manis 0,7%
- D : Alginat 2% + minyak atsiri kayu manis 1,5%
- E : Alginat 2%
- K : Tanpa alginat dan minyak atsiri

Jumlah perlakuan yaitu 6 dengan setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali sehingga menghasilkan 18 unit. Setiap unit terdiri dari 36 potong sampel dengan ukuran sampel panjang 8 cm, lebar 3 cm, dan tebal 3 cm.

D. Cara Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui 2 tahap yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian inti.

1. Penelitian pendahuluan

a. Isolasi isolat mikroba pada *fresh-cut* buah pepaya

1) Sterilisasi alat

Alat-alat yang digunakan dicuci bersih dan direbus kemudian ditiriskan hingga kering. Peralatan seperti pestidish dan tip dibungkus dengan plastik dan peralatan seperti drigalsky dibungkus dengan kertas payung. Sterilisasi alat menggunakan autoklaf selama 15-30 menit dengan tekanan 1 atm dan suhu 121°C.

2) Pembuatan media

Media yang digunakan yaitu media *plate count agar* (PCA). Pembuatan media PCA dengan menimbang 22,5 g lalu dimasukkan ke

dalam gelas piala dan ditambahkan aquades sebanyak 1000 ml, kemudian dipanaskan di atas api kecil sambil diaduk hingga mendidih. Selanjutnya pH media diukur hingga mencapai 6-7. Media dituang ke dalam erlemeyer lalu ditutup dengan kapas dan kertas payung.

3) Sterilisasi media

Media yang disterilisasi meliputi media PCA dan media aquades yang dimasukkan ke dalam botol suntik dan tabung reaksi. Sterilisasi media menggunakan autoklaf selama 15 menit dengan tekanan 1 atm dan suhu 121°C.

4) Isolasi mikroba *fresh-cut* buah pepaya

Fresh-cut buah pepaya yang telah terlihat busuk diisolasi, dengan cara sampel buah dihaluskan dan ditimbang sebanyak 1 g lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml aquades steril lalu digojog sampai homogen dan didapatkan seri pengenceran 10^{-1} , kemudian diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml aquades steril sehingga mendapatkan seri 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 *sureface* menggunakan drigalsky 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 (Shodiq, 2017).

b. Pembuatan formula *edible coating*

Edible coating berbasis alginat dibuat dengan cara alginat 2% (w/v) dicampurkan ke dalam aquades steril, kemudian dipanaskan pada suhu 85°C menggunakan *waterbath* dan diaduk sampai homogen. Setelah homogen ditambahkan gliserol 1,5% (v/v) dan yang terakhir ditambahkan minyak atsiri lemon (2% dan 3%) dan minyak atsiri kayu manis (0,7% dan 1,5% (v/v) (Rosa *et al.*, 2007). Formula *edible coating* didinginkan pada suhu kamar (25- 30⁰C).

c. Pengaplikasian *edible coating* pada *fresh-cut* buah pepaya

Fresh-cut buah pepaya dicelupkan ke dalam larutan *edible coating*, kemudian dicelupkan ke dalam larutan kalsium klorida 2% (v/v) (Rosa *et al.*, 2007), kemudian ditiriskan serta dikering anginkan di atas *tray* berlubang pada suhu ruang selama 10 menit.

d. Pengamatan

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

2. Penelitian inti

a. Persiapan alat dan bahan isolasi mikroba pada *fresh-cut* buah pepaya

1) Sterilisasi alat

Alat-alat yang digunakan dicuci bersih dan direbus kemudian ditiriskan hingga kering. Peralatan seperti pestidish dan tip dibungkus dengan plastik dan peralatan seperti drigalsky dibungkus dengan kertas payung. Sterilisasi alat menggunakan autoklaf selama 15-30 menit dengan tekanan 1 atm dan suhu 121°C.

2) Pembuatan media

Media yang digunakan yaitu media *plate count agar* (PCA). Pembuatan media PCA dengan menimbang 22,5 g lalu dimasukkan ke dalam gelas piala dan ditambahkan aquades sebanyak 1000 ml, kemudian dipanaskan di atas api kecil sambil diaduk hingga mendidih. Selanjutnya pH media diukur hingga mencapai 6-7. Media dituang ke dalam erlemeyer lalu ditutup dengan kapas dan kertas payung.

3) Sterilisasi media

Media yang disterilisasi meliputi media PCA dan media aquades yang dimasukkan ke dalam botol suntik dan tabung reaksi. Sterilisasi media menggunakan autoklaf selama 15 menit dengan tekanan 1 atm dan suhu 121°C.

b. Persiapan *fresh-cut* buah pepaya

Buah pepaya Calina berasal dari kebun petani Selomartani, Kalasan, Sleman yang telah dipanen pada sore hari dengan tingkat kematangan 2

yakni hijau dengan jejak kuning dan ukuran yang seragam. Buah pepaya disortasi dengan berat antara 1,5 hingga 2 kg yang terbebas dari penyakit, tidak memar ataupun luka, dan kulit yang mulus serta bersih, kemudian buah pepaya dibungkus koran dan dimasukkan ke dalam karung untuk dibawa ke laboratorium pasca panen.

Fresh-cut pepaya Calina yang digunakan memiliki tingkat kematangan 4 dimana pepaya berwarna lebih kuning dari hijau. Kemudian dilakukan pencucian pepaya Calina menggunakan larutan klorin dengan konsentrasi 200 $\mu\text{l/L}$ lalu dikering anginkan. Setelah itu buah pepaya dikupas dan dipotong menggunakan pisau yang tajam dan bersih dengan ukuran panjang 8 cm, lebar 3 cm, dan tebal 3 cm.

c. Pembuatan formula *edible coating*

Edible coating berbasis alginat dibuat dengan cara alginat 2% (w/v) dicampurkan ke dalam aquades steril, kemudian dipanaskan pada suhu 85°C menggunakan *waterbath* dan diaduk sampai homogen. Setelah homogen ditambahkan gliserol 1,5% (v/v) dan yang terakhir ditambahkan minyak atsiri lemon (2% dan 3%) dan minyak atsiri kayu manis (0,7% dan 1,5% (v/v) (Rosa *et al.*, 2007). Formula *edible coating* didinginkan pada suhu kamar (25- 30°C).

d. Pengaplikasian *edible coating* pada *fresh-cut* buah pepaya

Fresh-cut buah pepaya dicelupkan ke dalam larutan *edible coating*, kemudian dicelupkan ke dalam larutan kalsium klorida 2% (v/v) (Rosa *et*

al., 2007), kemudian ditiriskan serta dikering anginkan di atas *tray* berlubang pada suhu ruang selama 10 menit.

e. Pengemasan

Fresh-cut buah pepaya yang telah dilapisi *edible coating* dikemas menggunakan *sterofoam* lalu di tutup dengan plastik wrap. Setiap *sterofoam* berisi 2 *fresh-cut* buah pepaya.

f. Penyimpanan

Fresh-cut buah pepaya yang telah dikemas kemudian disimpan dalam refrigerator dengan suhu berkisar antara 4-6°C. Penyimpanan *fresh-cut* buah pepaya dilakukan selama 12 hari dengan layout penelitian (Lampiran 1).

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, dan perubahan warna), kimia (vitamin C, total padatan terlarut, dan asam tertitrasi) dan sifat biologis (uji mikrobiologi) serta uji organoleptik pada *fresh-cut* buah pepaya.

E. Parameter Pengamatan

1. Susut berat (%)

Susut berat dapat diketahui dengan menimbang buah menggunakan timbangan analitik, dimana hasil timbangan buah dinyatakan dalam satuan gram dan susut berat dinyatakan dalam satuan persen (%) (Fajri, 2017). Presentase susut berat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

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

2. Kekerasan (N/mm²)

Pengujian kekerasan dilakukan dengan menggunakan alat *hand penetrometer* (Fajri, 2017). Kekerasan dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Kekerasan} = \frac{\text{gaya yang diberikan (N)}}{\text{luas permukaan lempengan (mm}^2\text{)}}$$

3. Total padatan terlarut (°brix)

Kadar gula total dihitung dengan menggunakan refractometer. Sebelum alat refractometer digunakan harus dibersihkan terlebih dahulu dengan alkohol atau air dan di lap hingga kering. Sari buah yang akan diukur, diletakkan secukupnya pada tempat pembacaan sehingga nilai total padatan terlarut akan langsung dibaca pada alat.

4. Total asam tertitrasi (%)

Total asam dihitung dengan cara dititrasi dengan larutan NaOH 0,1N. Buah pepaya ditumbuk hingga halus lalu ditimbang 10 g. Setelah itu dilarutkan ke dalam 250 ml aquadest kemudian diambil sarinya sebanyak 25 ml dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Pada setiap erlenmeyer ditambahkan indikator *phenolphthalein* 2 tetes, kemudian dititrasi hingga warnanya berubah menjadi merah muda (Fajri, 2017). Presentase total asam dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Total asam} = \frac{\text{ml NaOH} \times \text{N NaOH} \times \text{Faktor Pengenceran} \times \text{BE Asam Malat}}{\text{berat sampel (mg)}} \times 100\%$$

5. Total vitamin C (%)

Total vitamin C dihitung dengan cara dititrasi dengan larutan Iod 0,01N. Buah pepaya ditumbuk hingga halus lalu ditimbang 10 g. Setelah itu dilarutkan ke dalam 250 ml aquadest kemudian diambil sarinya sebanyak 25 ml dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Pada setiap erlenmeyer ditambahkan indikator amilum 1% sebanyak 2 ml, kemudian dititrasi hingga warnanya berubah menjadi violet (Fajri, 2017). Presentase kadar vitamin C dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ Kadar vitamin C} = \frac{\text{ml Iod} \times \text{N Iod} \times 0,88 \times \text{Faktor Pengenceran}}{\text{berat sampel (mg)}} \times 100\%$$

6. Uji mikrobiologi (CFU/ml)

Uji mikrobial dilakukan dengan menggunakan metode *plate count*. Media yang digunakan yaitu PCA. Uji mikrobiologi dilakukan dengan cara menimbang sampel buah sebanyak 1 g yang telah dihaluskan dan dimasukkan ke dalam botol suntik yang berisi 99 ml aquades steril lalu digojog sampai homogen dan didapatkan seri 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 drigalsky lalu dibungkus dengan kertas payung dan diinkubasi selama 48 jam. Kemudian mikroba yang tumbuh pada media PCA tersebut dihitung dengan menggunakan *Coloni Counter*. Jumlah mikroba dinyatakan dalam satuan CFU/ml dengan bantuan alat *coloni counter* (Shodiq, 2017).

7. Uji organoleptik

Uji organoleptik dilakukan menggunakan 15 responden untuk memberikan penilaian terhadap rasa, warna, aroma, dan tekstur dari *fresh-cut* buah pepaya. Penilaian dinyatakan dalam skala angka tingkat kesukaan (Fajri, 2017). Adapun kriteria tingkat kesukaan sebagai berikut:

Nilai 1 sangat tidak suka

Nilai 2 tidak suka

Nilai 3 biasa

Nilai 4 suka

Nilai 5 sangat suka

$$\text{Nilai} = \frac{\sum \text{nilai responden}}{\text{jumlah responden}}$$

8. Perubahan warna

Pengamatan perubahan warna buah pepaya dilakukan dengan mengamati tingkat perubahan warna buah dengan menggunakan tingkat kematangan buah pepaya dengan *scoring* (Purnomo, 2013) (lampiran 2) sebagai berikut:

Indeks warna 1 : hijau penuh

Indeks warna 2 : hijau dengan jejak kuning

Indeks warna 3 : lebih hijau dari kuning

Indeks warna 4 : lebih kuning dari hijau

Indeks warna 5 : kuning dengan jejak hijau

Indeks warna 6 : sepenuhnya kuning

F. Analisis Data

Hasil pengamatan kuantitatif dianalisis dengan menggunakan *analysis of variance* (ANOVA) pada taraf α 5%. Apabila ada beda nyata antar perlakuan yang diujikan maka dilakukan uji lanjut dengan menggunakan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT).