

III. TATA CARA PENELITIAN

A. Tempat dan waktu penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober 2016 di Laboratorium Paska Panen Fakultas Pertanian UMY di Jl. Lingkar Selatan, Tamantirto, Kecamatan Kasihan, Kabupaten Bantul, DIY.

B. Bahan dan Alat Penelitian

1. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu cabe varietas TM-99 :zeolit dengan ukuran No.2, KMnO_4 , larutan NaOH 0,1 N, reagen Nelson A, Arsenomolibdat, reagen Nelson B, plastik klip yang transparan, kain kassa, larutan iod 0,01N, media tumbuh mikrobial (NA dan PDA), alkohol 70%, *aquadest*, indikator PP (*Phenolptalein*), spirtus, Mama Lemon dan Amilum

2. Alat

Alat yang digunakan selama penelitian adalah *Penetrometer* wadah pencucian, nampan, lemari pendingin, *sprayer*, *spektrofotometer*, kain kasa, erlenmeyer, tabung reaksi, labu takar, *glassware*, *drieglasky*, pengaduk, pisau, pipet tetes, pipet ukur, *regenerator*, *water bath*, botol suntik, tabung reaksi, kertas payung, mikropipet, cawan petri, *blender*, tissue, pemanas (kompor), autoklaf, bunsen, jarum ose, *biuret*, penjepit tabung reaksi, saringan, *index* warna, *sprayer*, *coloni counter*, timbangan analitik dan Titrasi Iod

C. Metode Penelitian

Percobaan ini disusun dalam metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktor tunggal. Perlakuan yang akan diteliti adalah sebagai berikut :

P0 : KMnO₄ konsentrasi 0,00 %

P1 : KMnO₄ konsentrasi 0,05 %

P2 : KMnO₄ konsentrasi 0,10 %

P3 : KMnO₄ konsentrasi 0,15 %

Sehingga diperoleh 4 perlakuan yang masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali, sehingga terdapat 12 perlakuan. Setiap perlakuan terdiri dari 7 buah cabai yang terdiri dari 21 buah sampel dan 21 buah korban perlakuan. Total buah yang digunakan untuk 12 perlakuan adalah 420 buah.

D. Tata Cara Penelitian

Penelitian dilakukan dalam 2 tahap pelaksanaan yaitu tahap persiapan bahan Cabai Merah Keriting dan aplikasi KMnO₄ pada Cabai Merah Keriting

1. Tahap Pertama :

a. Persiapan bahan Cabai Merah Keriting

Tahap ini meliputi pemanenan, pemilahan yang baik atau buruk, pencucian dan *grading* cabai merah keriting. Buah cabai merah keriting untuk bahan percobaan diperoleh dari petani di Dusun Jodag Sumberadi, Yogyakarta. Sortasi dilakukan untuk mendapatkan cabai yang seragam. Cabai yang diinginkan adalah cabai yang berwarna merah cerah dengan ukuran minimal 11 cm, bentuknya lurus, dan bebas dari penyakit/tidak

rusak. Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah cabai merah keriting segar (Cabai Hibrida - TM 99) yang diambil langsung dari petani di daerah Yogyakarta pada musim panen bulan September. Cabai dipanen mulai pukul 07.00 WIB dan dibawa ke tempat sortasi sekitar pukul 10.00 WIB. Cabai berasal dari kebun yang sama dengan penanganan yang sama mulai dari benih, pemupukan, pemanenan sampai pengangkutan hasil panen dari lapang. Cabai yang baru dipanen diberi perlakuan pendinginan pendahuluan (*pre-cooling*) selama ± 2 jam dengan cara dihamparkan pada tempat yang terlindung dari sinar matahari sambil dilakukan sortasi untuk memisahkan bagian yang tidak layak seperti patah/memar, terkena hama/penyakit dan busuk. Cabai yang sudah terkumpul kemudian dilakukan sortasi dengan tujuan untuk memisahkan antara cabai yang berkualitas baik, keseragaman ukuran dan tingkat kemasakan buah dengan buah yang berkualitas jelek. Cabai yang dipilih memiliki keseragaman warna dan bebas dari penyakit serta kerusakan mekanis maupun busuk. Adapun alasan dalam pemilihan cabai ini adalah mengingat bahwa cabai yang rusak bila disimpan dengan cabai yang bagus akan menulari cabai yang bagus sehingga akan ikut rusak walaupun sudah disimpan dengan metode yang tepat. Kemudian dilakukan *trimming* terhadap cabai merah keriting segar dengan cara membuang daun yang terikut saat pemanenan. Hal ini dilakukan agar mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh mikroba yang terdapat pada daun cabai merah keriting. Kemudian dilakukan pencucian dengan Mama Lemon supaya kotoran yang

menempel hilang kemudian ditiriskan/dikeringkan dengan *tissue*. Penirisan bertujuan untuk menghilangkan sisa air yang menempel pada permukaan cabai merah keriting.

b. Perlakuan

Setiap perlakuan terdiri dari tujuh cabai yang dikemas dalam kantong plastik klip yang transparan bersamaan dengan pasir zeolit yang sudah dibungkus kain kassa, dengan tiga ulangan dan pengamatan secara destruktif sebanyak empat kali. Selain satuan-satuan percobaan dengan perlakuan, juga disiapkan buah cek, yaitu cabai tanpa diberi perlakuan apapun. Tahap-tahap dalam pemberian perlakuan adalah sebagai berikut:

- 1) Cabai dan zeolit di letakkan pada masing-masing baki/nampan untuk dikemas

Cabai dan zeolit di letakkan pada masing-masing baki/nampan untuk dikemas dengan plastik klip yang transparan. Setelah kering, cabai merah keriting setiap satuan percobaan dikemas dan ditambah dengan bahan penyerap etilen sesuai perlakuan (pasir *zeolite* seberat 3 gram yang sudah dibungkus kain kassa). Pengacakan dilakukan pada saat pengemasan, dengan asumsi bahwa buah seragam kematangannya.

2. Tahap kedua :

- a. Aplikasi KMnO_4 pada Cabai Merah Keriting

Larutan KMnO_4 jenuh dibuat dengan melarutkan KMnO_4 serbuk (konsentrasi sesuai masing-masing perlakuan yaitu 0,5 g, 1 g, dan 1,5 g) dalam 1 L air. Selanjutnya cara yang diajukan Scoot

(Pantastico,1997), bahan penyerap larutan KMnO_4 (pasir zeolit 3 gram) direndam dalam larutan KMnO_4 dengan konsentrasi sesuai perlakuan selama 30 menit di dalam gelas *beaker*, kemudian dikeringanginkan kurang lebih 3 jam hingga benar-benar kering dan dikemas dengan kain kassa. Cabai dan zeolit di letakkan pada masing-masing baki/nampan untuk dikemas. Zeolit yang digunakan dalam penelitian ini adalah zeolit dengan ukuran No.2, berwarna hijau kebiru-biruan. Setelah direndam dalam larutan KMnO_4 , zeolit berwarna ungu muda. Buah cabai merah keriting yang akan disimpan, dimasukkan ke dalam plastik klip transparan yang telah dilapisi *Mika Porous* (kain kassa) yang telah dicelupkan ke dalam larutan KMnO_4 dengan kadar (0,5 g, 1 g, dan 1,5 g).

b. Penyimpanan

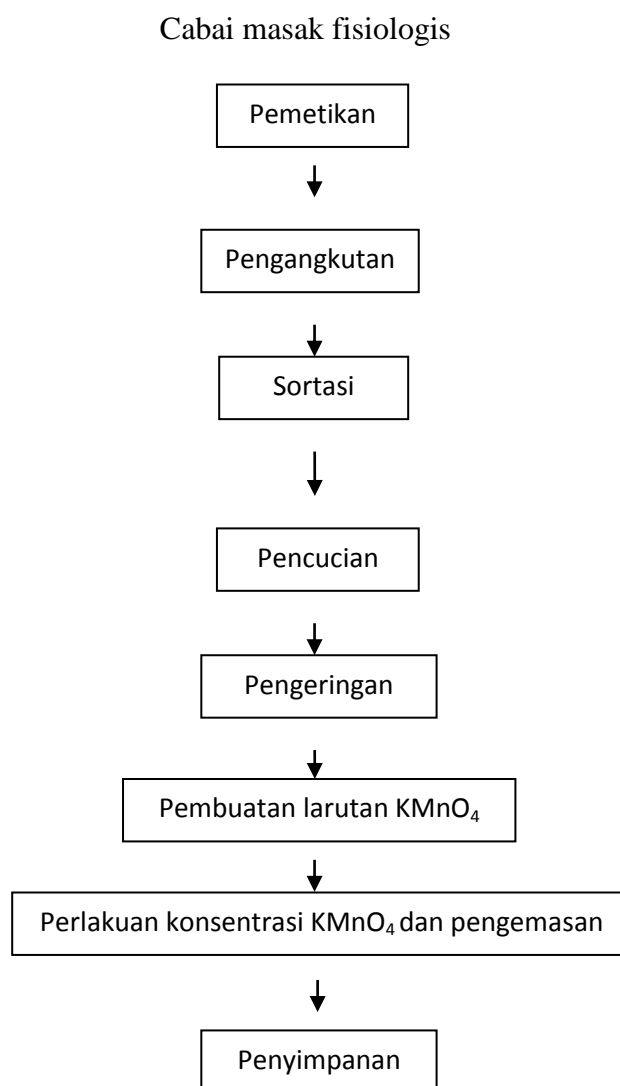
Buah cabai merah keriting yang sudah diaplikasi KMnO_4 , kemudian diletakkan sesuai dengan perlakuan yakni suhu rendah 8°C di ruang pendingin atau *cool storage*.

c. Pengamatan

Pengamatan pada buah dilakukan 7 hari sekali, pada hari ke 0, ke 7, ke 14, dan ke 21 pada cabai korban yaitu kekerasan, uji asam titrasi, uji kadar vitamin C, uji gula reduksi dan uji mikrobiologi. Buah disimpan selama 21 hari dan akan diamati : Susut berat, warna, dan kesegaran dilakukan pada hari ke-0, ke-3, ke-6, ke-9, ke-12, ke-15, ke-

18, dan ke-21. Kekerasan, vitamin C, uji gula reduksi, asam titrasi, dan uji mikrobiologi dilakukan pada hari ke-0, ke-7, ke-14, ke-21

Alur penelitian pada tahap pertama dapat dideskripsikan pada gambar sebagai berikut:



Gambar 1. Diagram Alir Penelitian

d. Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat menggunakan autoklaf pada tekanan 1 atm dengan suhu 121°C selama 15-30 menit. Alat-alat yang disterilkan dibungkus dengan kertas payung sebelum dimasukkan dalam autoklaf. Alat yang disterilkan antara lain *petridish*, *erlenmeyer*, tabung reaksi, *drygalsky*, batang pengaduk.

e. Pembuatan Media

Pembuatan media NA yaitu dengan melarutkan peptone 5 gram dan *beef ekstrak* atau *yeast ekstrak* sebanyak 3 gram dalam aquades 1000 ml dengan api kecil dan diaduk secara continue sampai homogen. Tambahkan agar-agar sebanyak 15 gram. Setelah homogen, medium diukur pH 7,2 lalu disterilkan dalam autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan 1,5 atm selama 15 menit.

Pembuatan media PDA diawali dengan mengupas kentang, lalu dipotong-potong dan ditimbang sebesar 200 g, tambahkan air 1000 ml dan direbus hingga matang dan mengeluarkan cairan. Hasil ekstrak kentang dimasukkan ke dalam gelas beaker 1000 ml, lalu tambahkan *Dextrose* dan agar kemudian diaduk sampai homogen diatas api kecil. Kemudian dilakukan pengecekan pH larutan dengan pH 6-7. Larutan media kemudian disterilkan dengan autoklaf pada 121°C dengan tekanan 1,5 atm selama 15 menit. Tuangkan larutan ke dalam tabung reaksi sebanyak 8 ml dan letakkan dalam posisi miring.

f. Isolasi Mikroba Pembusuk Cabai

Menimbang sampel buah cabai yang telah busuk sebanyak 1 g. Sampel yang telah ditimbang, dihaluskan menggunakan mortar dan *pestle* (penumbukan) kemudian dibuat *suspense* sampai dengan konsentrasi 10^{-3} , 10^{-4} , dan 10^{-5} (PDA) dan 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} dan 10^{-6} (NA). Ambil 1 ml dari pengenceran yang terakhir dan tuangkan ke dalam cawan petri yang selanjutnya diinokulasikan ke masing-masing media NA dan PDA (medium PDA sebelumnya telah ditambahkan *Cloramfenikol* sebanyak 1 kapsul ke dalam 250 ml PDA) diinkubasikan pada suhu kamar sebanyak 2 x 24 jam.

a. Parameter Penelitian

1. Susut Berat (g)

Pengamatan susut berat dilakukan pada hari ke-0, ke-3, ke-6, ke-9, ke-12, ke-15, ke-18 dan ke-21 dengan menggunakan metode penimbangan buah dengan menggunakan timbangan digital untuk mengetahui selisih berat awal dengan berat setelah penyimpanan. Rumus susut berat sebagai berikut:

$$\text{Susut berat} = \frac{a-b}{a} \times 100\%$$

Keterangan :

a = berat sebelum disimpan/berat awal (g)

b = berat setelah disimpan (g) (Sudaro, 2000)

2. Persentase Kesegaran Buah (%)

Persentase kesegaran buah dilakukan pada hari ke-0, ke-3, ke-6, ke-9, ke-12, ke-15, ke-18 dan ke-21. Untuk mengetahui buah cabai dinyatakan

rusak bila kulitnya kisut, tekstur melunak, warna buah berubah, dan ditumbuhi mikrobia secara nilai mutu visual atau *visual quality rating* (VQR) menggunakan metode *scoring* yang dapat dilihat secara visual kerusakan, dinyatakan dengan persentase.



3. Uji Warna

Pengujian warna dilakukan dengan menggunakan *Munsell Color Charts For Plant Tissues*. Pada *Munsell Color Charts For Plant Tissues* digunakan skala 1 sebagai nilai tertinggi dan skala 4 untuk nilai terendah. Pengujian tersebut dilakukan dengan skala penilaian sebagai berikut :

Skala	Keterangan
1	3/10 - 3/8
2	3/8 - 3/6
3	3/6 - 3/5
4	3/5 - 3/6

4. Kekerasan buah (gram/detik) (Mochtadi, 1992)

Kekerasan diukur dengan penetrometer berdasar daya tembus jarum terhadap buah sebelum dikupas dan diamati pada hari ke-0, ke-7, ke-14 dan ke-21. Buah diletakkan kemudian ditusukkan pada tiga yaitu: bagian ujung, tengah dan pangkal sebanyak tiga kali ulangan pada tiap pengukuran dan

kemudian dirata-ratakan. Nilai pengukuran dinyatakan dalam (N/mm^2). Nilai pengukuran dapat dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Kelunakan} = \text{gaya} / \text{luas}$$

$$\text{Luas} = \pi r^2 = d^2/4$$

Keterangan:

d = diameter batang penetrometer (mm)

gaya = kedalaman jarum menembus sampel

5. Kadar Vitamin C (mg)

Pengukuran kadar vitamin C dilakukan pada hari ke-0 (sebelum dilakukan penyimpanan), ke-0, ke-7, ke-14 dan ke-21 dengan menggunakan metode titrasi Iod (Sudarmadji dkk, 1989), yaitu: mengambil contoh sampel sebanyak 10 gram lalu mengencerkan sampai 250 ml. Mengambil filtrate sebanyak 25 ml, menambahkan 2 ml larutan Amilum (1 %) sebagai indikator. Titrasi dengan 0,01 N larutan Iodium standar sampai terbentuk warna biru konstan. Pengukuran dilakukan dengan metode titrasi Iod. Perlindungan kandungan vitamin C dilakukan dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Vitamin C (\%)} = \frac{a \times b}{\text{Berat sampel (mg)}} \times 100$$

Keterangan:

a = Volume titrasi sampel seluruhnya

b = Konsentrasi larutan Iod (N)

6. Total Asam Tertitrasi (AOAC, 2000)

Total asam tertitrasi diukur pada hari ke-0, ke-7, ke-14 dan ke-21. Penentuan total asam tertitrasi dilakukan dengan menghancurkan buah cabai sebanyak 5 g dan dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml dan tambahkan akuades lalu digojok kemudian disaring dengan kain saring dan didapatkan filtrat buah cabai merah. Filtrat lalu diambil 20 ml dengan pipet dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer kemudian ditambahkan 1 - 2 tetes indikator *phenolphthalein* (PP) 1 % maka diperoleh larutan buah cabai merah. Langkah selanjutnya yaitu dititrasi dengan NaOH 0,1 N hingga berwarna merah muda. Selanjutnya hasil titrasi dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Total asam (\%)} = \frac{\text{ml NaOH} \times \text{N NaOH} \times \text{BM Asam Malat} \times \text{FP}}{\text{mg sampel}} \times 100\%$$

Keterangan:

FP = Faktor Pengenceran

BM = Berat Molekul

N = Normalitas

7. Kadar Gula Reduksi (%)

Uji gula reduksi diamati pada hari ke-0, ke-7, ke-14 dan ke-21. Uji kadar gula reduksi menggunakan metode Nelson-Somogyi dalam Gardjito (2003). Kadar gula reduksi ditentukan dengan menggunakan metode *Spectrophotometer* (Nelson Somogyi) dengan cara yakni sebagai berikut :

- a. Sampel dihaluskan dan ditimbang sebanyak 1g.
- b. Bahan cair dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml, ditambahkan aquades sampai tanda dan larutan Pb asetat setetes demi setetes, sehingga penetesan terakhir tidak keruh lagi.

- c. Ditambahkan dengan Na oksalat anhidrid secukupnya yang berfungsi sebagai untuk menghilangkan kelebihan Pb, selanjutnya digojog dan disaring.
- d. Diencerkan menjadi 100 kali dengan cara mengencerkan 1 ml filtrat pada labu ukur 100 ml dengan aquades sampai dengan tanda.
- e. 1 ml larutan contoh yang jenuh kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan menambahkan 1 ml reagensia Nelson.
- f. Dipanaskan sampai mendidih selama 20 menit.
- g. Semua tabung diambil dan didinginkan dengan memasukkan ke dalam gelas piala.
- h. Tambahkan 1 ml reagensia Arsenomolibdat dan 7 ml aquades, setelah dingin digojog sampai homogeny menggunakan *vortex*.
- i. Ditera pada “*Optical Density*” (OD) pada panjang gelombang 754 nm (Lamiran IV. B.1). Hasil peneraan dapat dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Gula reduksi (ml/mg)} : \frac{\text{Nilai } x \text{ Fp } \times 100}{n}$$

Keterangan :

x = Nilai regresi mg kadar gula reduksi yang diperoleh dari pengamatan

Fp = Faktor pengenceran (ml)

N = Berat sampel (mg)

8. Uji Mikrobiologis (CFU/ml)

Uji mikrobiologi dilakukan dengan menghitung total mikroba menggunakan metode plate count (Jutono dkk, 1980). Untuk melihat dari cendawan menggunakan media PDA sedangkan bakteri menggunakan NA. Pengamatan dilakukan pada hari ke 0, 7, 14 dan ke 21 dengan cara sebagai berikut:

a. Seri pengenceran NA:

1. Seri pengenceran

- a) Bahan yang telah dihaluskan ditimbang sebanyak 1 g, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 9 ml aquades steril, digojog sampai homogen dengan *vortex*.
- b) Diencerkan 10^{-3} , diambil 1 ml hasil penyaringan pada langkah pertama,
- c) Kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi berisi 9 ml aquades steril dan digojog sampai homogen
- d) Diencerkan 10^{-4} , diambil 1 ml hasil pengenceran 10^{-3} , kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi berisi 9 ml aquades steril dan digojog sampai homogen
- e) Diencerkan 10^{-5} , diambil 1 ml hasil pengenceran 10^{-4} , kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi berisi 9 ml aquades steril dan digojog sampai homogen
- f) Diencerkan 10^{-6} , diambil 1 ml hasil pengenceran 10^{-5} , kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi berisi 9 ml aquades steril dan digojog sampai homogen.

2. Menyiapkan petridish yang diisi 8 ml dan masing-masing petridish diberi label pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , dan 10^{-6} .
 3. Masing-masing suspensi hasil pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , dan 10^{-6} diinokulasikan pada petridish yang berisi medium NA sebanyak 0,1 ml.
 4. Suspensi mikrobia diratakan dengan *dryglasky*
 5. *Petridish* yang berisi suspense mikrobia diinkubasikan selama 2 hari pada suhu kamar.
 6. Jumlah mikrobia yang tumbuh dihitung dengan *Coloni counter*.
- b. Seri pengenceran PDA :
- 1) Seri pengenceran
 - a) Bahan yang telah dihaluskan ditimbang sebanyak 1 g, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 9 ml aquades steril, digojog sampai homogen dengan vortex.
 - b) Diencerkan 10^{-3} , diambil 1 ml hasil penyaringan pada langkah pertama,
 - c) Kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi berisi 9 ml aquades steril dan digojog sampai homogen
 - d) Diencerkan 10^{-4} , diambil 1 ml hasil pengenceran 10^{-3} , kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi berisi 9 ml aquades steril dan digojog sampai homogen

- e) Diencerkan 10^{-5} , diambil 1 ml hasil pengenceran 10^{-4} , kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi berisi 9 ml aquades steril dan digojog sampai homogen.
- 2) Menyiapkan petridish yang diisi 8 ml dan masing-masing petridish diberi label pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} , dan 10^{-5} .
 - 3) Masing-masing suspensi hasil pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} , dan 10^{-5} diinokulasikan pada petridish yang berisi medium PDA sebanyak 0,1 ml.
 - 4) Suspensi mikrobial diratakan dengan *dryglasky*
 - 5) *Petridish* yang berisi suspensi mikrobial diinkubasikan selama 2 hari pada suhu kamar.
 - 6) Jumlah mikrobial yang tumbuh dihitung dengan *Coloni counter*.

Jumlah sel koloni yang terdapat dalam sampel dapat ditentukan dengan rumus sebagai berikut :

$$\sum \text{sel} = \sum \text{koloni} \times 1/\text{FP} \times 1/\sum \text{inokulasi (CFU/ml)}$$

Perhitungan mikrobial dengan plate count harus memenuhi beberapa syarat, yaitu sebagai berikut :

- 1) Jumlah koloni tiap cendawan petri antara 30-300 koloni
- 2) Tidak ada koloni yang menutup lebih besar dari setengah luas cawan petri (spreader)
- 3) Perbandingan jumlah koloni dari pengenceran sebelumnya jika sama atau lebih kecil 2 maka hasilnya dirata-rata, dan jika lebih besar 2

maka yang dipakai adalah jumlah koloni dari hasil pengenceran sebelumnya

- 4) Jika dengan ulangan memenuhi syarat, maka hasilnya dirata-rata

b. Analisis Data

Analisis data susut berat, kekerasan, asam tertitrasi, kadar vitamin c, kadar gula reduksi dan mikrobiologi dilakukan menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) dengan taraf nyata $\alpha = 5 \%$. Apabila terdapat pengaruh yang signifikan dari perlakuan yang dicobakan, maka dilakukan uji lanjutan menggunakan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) dengan $\alpha = 5 \%$.