III. TATA CARA PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Penelitian telah dilakukan pada bulan Mei sampai Juni 2012 di Laboratorium Pascapanen Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

B. Bahan dan Alat Penelitian

Bahan yang akan digunakan dalam penelitian adalah: Tomat varietas Martha yang diperoleh dari petani Kopeng Salatiga, Plastik PP (*polypropilen*), Larutan Amilum (1%), Larutan Iodium standar 0,01 N, Pb Asetat, Na Asetat anhidrid, Regensia Nelson, Reagensia Ansenomolib, Indikator pp (*phenolphthalein)* 1%, NaOH 0,1 N, Aquades, kertas saring.

Alat yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah : wadah pencuci, timbangan digital, *Penetrometer*, buret titrasi, labu takar, *Erlenmeyer*, Pipet tetes, Pipet ukur, gelas piala, OD(*Optical Density*), Tabung reaksi, pH meter, Cooler, Mortar, *drigalsky*, *coloni counter*, oven, botol timbang.

C. Metode Penelitian

Penelitian menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap dengan faktor tunggal yaitu perlakuan berbagai suhu dan jenis pengemas. Masing-masing perlakuan mempunyai 2 ulangan, setiap kemasan berisi tiga buah tomat. Jumlah tomat yang dibutuhkan dalam pengamatan uji kekerasan, kadar vitamin C, total asam titrasi, kadar gula reduksi, dan kadar air, susut berat, presentase kerusakan buah dan uji organoleptik dan uji mikrobiologi. Jumlah seluruh tomat yang digunakan 384 buah. Penelitian dilakukan selama 12 hari dan pengamatan

dilakukan setiap 4 hari dimulai dari hari ke-0, sehingga terdapat 4 kali pengamatan dengan 12 perlakuan yaitu:

P1 : Penyimpanan suhu 10°C pengemas plastik *polypropilen* divakum.
P2 : Penyimpanan suhu 10°C pengemas plastik *polypropilen* lubang.
P3 : Penyimpanan suhu 10 °C pengemas plastik *wrapping*.
P4 : Penyimpanan suhu 10 °C menggunakan *stryfoam* tanpa pengemas.
P5 : Penyimpanan suhu 15°C pengemas plastik *polypropilen* divakum.
P6 : Penyimpanan suhu 15°C pengemas plastik *polypropilen* lubang.
P7 : Penyimpanan suhu 15°C menggunakan plastik *wrapping*.
P8 : Penyimpanan suhu 15°C menggunakan *stryfoam* tanpa pengemas.
P9 : Penyimpanan suhu kamar pengemas plastik *polypropilen* divakum.
P10 : Penyimpanan suhu kamar pengemas plastik *polypropilen* lubang.
P11 : Penyimpanan suhu kamar menggunakan plastik *wrapping*.
P12 : Penyimpanan suhu kamar menggunakan *stryfoam* tanpa pengemas.

D. Tata Laksana Penelitian

1. Pemilihan Buah Tomat

Tomat yang digunakan dalam penelitian Varietas Martha dalam tingkat kematangan turning atau fase pecah warna diperoleh dari supplier buah dan sayuran yang diambil dari petani di Kopeng Salatiga. Tomat yang didapat telah terlebih dahulu melewati tahapan sortasi dan grading kemudian dimasukkan ke dalam kotak plastik. Setelah itu tomat dibawa menuju Kampus UMY. Tomat kemudian dikemas dalam satu kemasan berisi tiga buah. Masing-masing perlakuan disimpan pada suhu yang berbeda yaitu 10°C, 15 °C dan suhu kamar. Tomat disimpan selama 12 hari, masing-masing perlakuan mempunyai dua ulangan.

2. Pengemasan

Perlakuan pengemasan pada penelitian ini terdapat empat model yaitu:

a. Plastik *polypropilen* (PP) divakum.

Plastik yang digunakan berukuran 20 cm x 35 cm ketebalan 0,5 dan divakum.

b. Plastik *polypropilen* (PP) berlubang.

Plastik yang digunakan berukuran 20 cm x 35 cm ketebalan 0,5 dan diberi 10 lubang pada masing-masing sisi. Plastik diberi lubang pada beberapa bagian permukaannya untuk sirkulasi udara. Kegunaan dari kemasan ini adalah : Mengurangi penguapan yang berlebihan untuk memperpanjang umur simpan dan mengurangi kemungkinan kontaminasi silang.

c. Plastik *wrapping.*

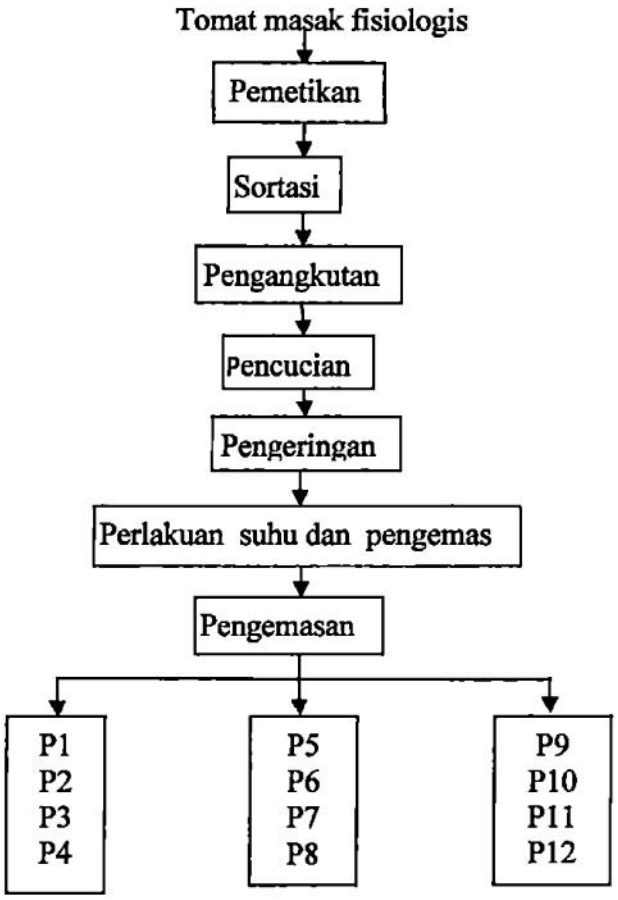
Jenis *cling wrap* yang digunakan berukuran 30cm x 30 cm.

d. *stryfoam* terbuka.

stryfoam yang digunakan dengan ukuran 12,5 cm x 12,5 cm x 2 cm tanpa pengemas.

3. Penyimpanan

Buah tomat yang sudah di kemas, disimpan dalam *cooler* suhu 10°C dan suhu 15 °C serta suhu kamar. Setiap 4 hari sekali akan diambil sampel untuk dilakukan pengematan meliputi susut berat, kadar air, kekerasan, kerusakan, warna, kadar vitamin C, kadar gula reduksi, total asam titrasi, uji mikro dan uji organoleptik.



Gambar 2. Diagram alir penelitian

E. Parameter Pengamatan

1. Susut berat

Pengamatan susut berat dilakukan pada hari ke-0, ke-4, ke-8, dan ke-12 dengan menggunakan metode penimbangan buah dengan menggunakan timbangan digital untuk mengetahui selisih berat awal dengan berat setelah penyimpanan. Rumus susut berat sebagai berikut:

Susut berat = $\frac{a-b}{a}$X100%

Keterangan:
a = berat sebelum disimpan/berat awal
b = berat setelah disimpan

2. Kadar air daging buah

Pengukuran kadar air buah dilakukan pada awal (sebelum disimpan), pada hari ke-4, hari ke-8 dan ke-12. Langkah-langkah dalam mengukur kadar air buah menggunakan metode oven adalah:

a. Buah yang telah dihaluskan ditimbang sebanyak 2 g dalam botol timbang yang telah diketahui beratnya.
b. Bahan dikeringkan dalam oven pada suhu 100°C – 105°C selama 5 jam, kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Dipanaskan lagi dalam oven selama 60 menit, didinginkan dalam desikator dan ditimbang, perlakuan diulangi sampai dicapai berat konstan.
c. Pengurangan berat menunjukkan banyaknya kadar air dalam bahan yang dinyatakan dalam rumus :

$$\text{Kadar air} = \frac{B-C}{B-A} \times 100\%$$ (Anonim, 2002 dalam Hayati, 2006)

Keterangan :
A = berat botol timbang kosong (g)
B = berat botol timbang + sampel basah (g)
C = berat botol timbang + sampel kering konstan (g)

3. Kekerasan buah

Pengukuran kekerasan dilakukan pada hari ke-0, ke-4, ke-8 dan ke-12 pengukuran dilakukan dengan menggunakan pnemometer pada 3 bagian yaitu: bagian ujung, tengah dan pangkal. Data yang diperoleh berupa rata-rata pengukuran bagian ujung, tengah dan pangkal buah dinyatakan dalam gram/detik.

4. Presentase kerusakan buah

Pengamatan kerusakan dilakukan pada hari ke-0, ke-4, ke-8 dan ke-12 dengan mengamati tingkat kerusakan buah. Buah dinyatakan rusak apabila kulitnya kisut, tekstur melunak, tangkai buah menghitam dan terdapat luka atau noda pada buah minimal 25% dari luas buah.

$$\text{kerusakan buah (\%)} = \frac{\text{jumlah buah yang rusak}}{\text{jumlah buah yang disimpan}} \times 100\%$$

5. Perubahan Warna

Pengamatan warna dilakukan dengan mengamati tingkat perubahan warna dengan menggunakan *tomato ripening chart* dengan skoring sebagai berikut:

Tabel 3. Tingkat kematangan warna kulit buah tomat

Tingkatan	Keterangan
1	*Green* atau Fase hijau
2	*Breakers* atau fase masak hijau
3	*Turning* atau fase pecah warna
4	*Pink* termasuk fase matang
5	*Light red* atau fase matang
6	*Red* atau fase matang

Sumber: Logario (2012)

6. Kadar vitamin C

Pengukuran kadar vitamin C dilakukan pada hari ke-0 (sebelum dilakukan penyimpanan), ke-4, ke-8 dan ke-12 dengan menggunakan metode titrasi Iod, yaitu: mengambil contoh sampel sebanyak 25 gram lalu mengencerkan sampai 250 ml. mengambil filtrat 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 menggunakan

metode titrasi Iod. Perhitungan kandungan vitamin C dilakukan dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{vitamin C (\%)} = \frac{\frac{axb}{0{,}01x0{,}08x100}\%}{\text{berat sampel(mg)}}$$

Keterangan:
a = Volume titrasi sampel seluruhnya
b = Konsentrasi larutan Iod(N)

7. Kadar gula reduksi

Pengukuran kadar gula reduksi dilakukan 5 kali yaitu pada hari ke-0, ke-4, ke-8 dan ke-12. Pengujian tersebut menggunakan *spectrophotometer* dengan metode Nelson-Samogyi dengan cara:

a. Sampel dihaluskan ditimbang 2g, dimasukkan ke dalam labu takar dan diencerkan menjadi 100 ml.
b. Ditambahkan larutan Pb asetat setetes demi setetes sampai larutan jernih
c. Menambahkan Na Oksalat Anhidrid secukupnya untuk menghilangkan larutan Pb, selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda dileher labu, digojog dan saring.
d. Mengencerkan filtrat menjadi 100 kali dengan cara mengencerkan 1 ml filtrate pada labu ukur 100 ml dengan aquades sampai tanda.
e. 1 ml larutan contoh yang jenuh kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan menambahkan 1 ml *regensia Nelson.*
f. Di panaskan sampai mendidih selama 20 menit.
g. Semua tabung diambil dan di dinginkan dnegam memasukkan ke dalam gelas piala.

h. Ditambah 1 ml reagensia Arsenomolib dan 7 ml aquades, setelah dingin gojog sampai homogen.

i. Menera dengan *spectrophotometer* pada panjang gelombang 540 mm. Hasil pengenceran dihitung dengan rumus:

$$\text{gula reduksi (\%)} = \frac{X \times FP \times 100}{n}$$

Keterangan:
X = nilai regresi kadar gula yang diperoleh dari pengamatan 4 macam konsentrasi glukosa standar.
FP = Faktor pengenceran
n = berat sampel

8. Total asam titrasi

a. Sampel ditumbuk, ditimbang 5 g dimasukkan ke dalam gelas piala dan ditambahkan 70 ml aquades dan diaduk-aduk.

b. Pindahkan ke dalam labu takar 100 ml dan tambahkan aquades sampai tanda pada labu takar, gojog kemudian disaring.

c. Ambillah filtrat sebnayak 20 ml dengan pipet masukkan ke dalam Erlenmeyer dan tambahkan indikator pp (*phenolphthalein*) 1% sebanyak 2-3 tetes.

d. Titrasi dengan NaOH 0,1 N sampai warna merah muda yang tidak hilang selama 30 detik, catat volume NaOH 0,1 N yang diperlukan.

e. Hitunglah total asam sebagai asam sitrat (70,03)

$$\text{Total asam(\%)} = \frac{\text{ml NaOH x N NaOHx BM as sitrat}}{\text{mg sampel (5000)}} \text{ x } 100\%$$

9. Uji Mikrobiologi

Uji mikrobiologi dilakukan pada hari ke-0, ke-4, ke-8 dan ke-12. Penyimpanan dengan menghitung total mikrobia mengunakan metode *plate count.* Langkah-langkah dalam uji mikrobiologi sebagai berikut (Jutono dkk, 1980) :

a. Membuat medium Malt Ekstrak Agar (MEA) dengan bahan ekstrak daging 3g, peptone 5 g, aquadest 1000 ml, dan agar-agar 15 g. bahan-bahan tersebut dicampur dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer steril kemudian dipanaskan dalam penangas air sampai larutan mendidih. Dinginkan dan cek pH dibuat menjadi 5,5 dengan penambahan NaOH 0,1%, tambahkan aquadest yang hilang selama pemanasan hingga mencapai volume tepat 1000 ml kembali, kemudian disterilkan dengan otoklaf tekanan 1 atm selama 20 menit.

b. Menyiapkan sampel

   1) Bahan (buah) yang telah dihaluskan ditimbang sebanyak 1 g, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 9 ml aquadest steril, gojog homogen dan saring.

   2) Diencerkan 10^{-2}, diambil 1 ml hasil penyaringan pada langkah pertama, kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi berisi 9 ml aquadest steril dan digojog sampai homogen.

   3) Diencerkan 10^{-3}, diambil 1 ml hasil pengenceran 10^{-2}, kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi berisi 9 ml aquadest steril dan digojog sampai homogen.

4) Diencerkan 10^{-4}, diambil 1 ml hasil pengenceran 10^{-3}, kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi berisi 9 ml aquadest steril dan digojog sampai homogen.

5) Diencerkan 10^{-5}, diambil 1 ml hasil pengenceran 10^{-4}, kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi berisi 9 ml aquadest steril dan digojog sampai homogen.

6) Diencerkan 10^{-6}, diambil 1 ml hasil pengenceran 10^{-5}, kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi berisi 9 ml aquadest steril dan digojog sampai homogen.

7) Diencerkan 10^{-7}, diambil 1 ml hasil pengenceran 10^{-6}, kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi berisi 9 ml aquadest steril dan digojog sampai homogen.

8) Diencerkan 10^{-8}, diambil 1 ml hasil pengenceran 10^{-7}, kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi berisi 9 ml aquadest steril dan digojog sampai homogen.

c. Disiapkan petridish yang telah diisi medium MEA ± 8 ml dan masing-masing petridish diberi label untuk pengenceran 10^{-6}, 10^{-7}, dan10^{-8}.

d. Masing-masing suspensi hasil pengenceran diinokulasikan pada petridish yang berisi medium sebanyak 0,1 ml.

e. Suspensi mikroba diratakan dengan *drigalsky* steril.

f. *Petridish* yang berisi suspensi mikroba diinkubasikan selam 2 hari pada suhu kamar.

g. Jumlah mikroba yang tumbuh pada *petridish* dihitung dengan *coloni counter*. Dengan syarat – syarat sebagai berikut:

1. Jumlah koloni tiap cawan antara 30- 300 koloni.
2. Tidak ada koloni dari pengenceran yang berturut-turut antara pengenceran yang lebih besar dengan pengenceran sebelumnya. Jika sama atau lebih kecil dari 2 maka hasilnya dirata- rata dan jika lebih besar dari 2 maka yang dipakai adalah koloni dari hasil pengenceran sebelumnya.
3. Jika dengan ulangan setelah memenuhi syarat hasilnya dirata- rata.

10. Uji Organoleptik

Dilakukan pada pengamatan hari ke-0 dan hari ke-12. pengujian ini meliputi warna, aroma/ bau, tekstur/ kekenyalan yang dilakukan oleh 10 panelis dengan kriteria sebagai berikut:

1 = Sangat suka
2 = Tidak suka
3 = Cukup suka
4 = Suka
5 = Sangat suka

F. Analisis Data

Data periodik dianalis dengan grafik atau histogram. Seluruh data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan sidik ragam (*ANOVA*), kemudian jika didapatkan hasil yang berpengaruh nyata, dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf nyata 5 %.