

III. TATA CARA PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan di laboratorium Pascapanen Fakultas Pertanian Program Studi Agroteknologi Universitas Muhammadiyah Yogyakarta pada bulan Juni sampai Juli 2018.

B. Bahan dan Alat Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu buah apel Manalagi, minyak atsiri serai, minyak atsiri kayu manis, clorin, CMC (*Carboxymethylcellulose*), gliserol 1,5%, aquades, reagen Folin-Ciocalteu, Natrium karbonat (Na_2CO_3) 15%, alkohol 50%, buffer fosfat pH 7, katekol, guaiacol, dan *Hydrogen peroxide* (H_2O_2) 1%.

Alat yang digunakan pada penelitian ini lemari pendingin, timbangan analitik, *warter bath*, *sterofoam*, mortar dan alu, sendok, tabung reaksi, gelas ukur, pisau, tirisan, pengaduk, spektrofotometer, *chromameter*, dan mikropipet.

C. Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan lingkungan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan rancangan percobaan faktorial yang terdiri dari 2 faktor.

Faktor pertama adalah konsentrasi CMC yang terdiri dari 2 aras yaitu :

C1 : CMC1%

C2 : CMC1,5 %

dan faktor kedua adalah konsentrasi minyak atsiri yang terdiri dari 3 aras yaitu :

M0 : tanpa minyak atsiri

M1 : minyak atsiri serai 0,4%

M2 : minyak atsiri kayu manis 0,7 %

sehingga dihasilkan 7 kombinasi perlakuan. Kombinasi perlakuan yang akan diaplikasikan adalah :

C0M0 : tanpa *edible coating* CMC dan minyak atsiri

C1M0 : CMC1% + tanpa minyak atsiri

C2M0 : CMC1,5% + tanpa minyak atsiri

C1M1 : CMC1% + minyak atsiri serai 0,4%

C2M1 : CMC1,5% + minyak atsiri serai 0,4%

C1M2 : CMC1% + minyak atsiri kayu manis 0,7%

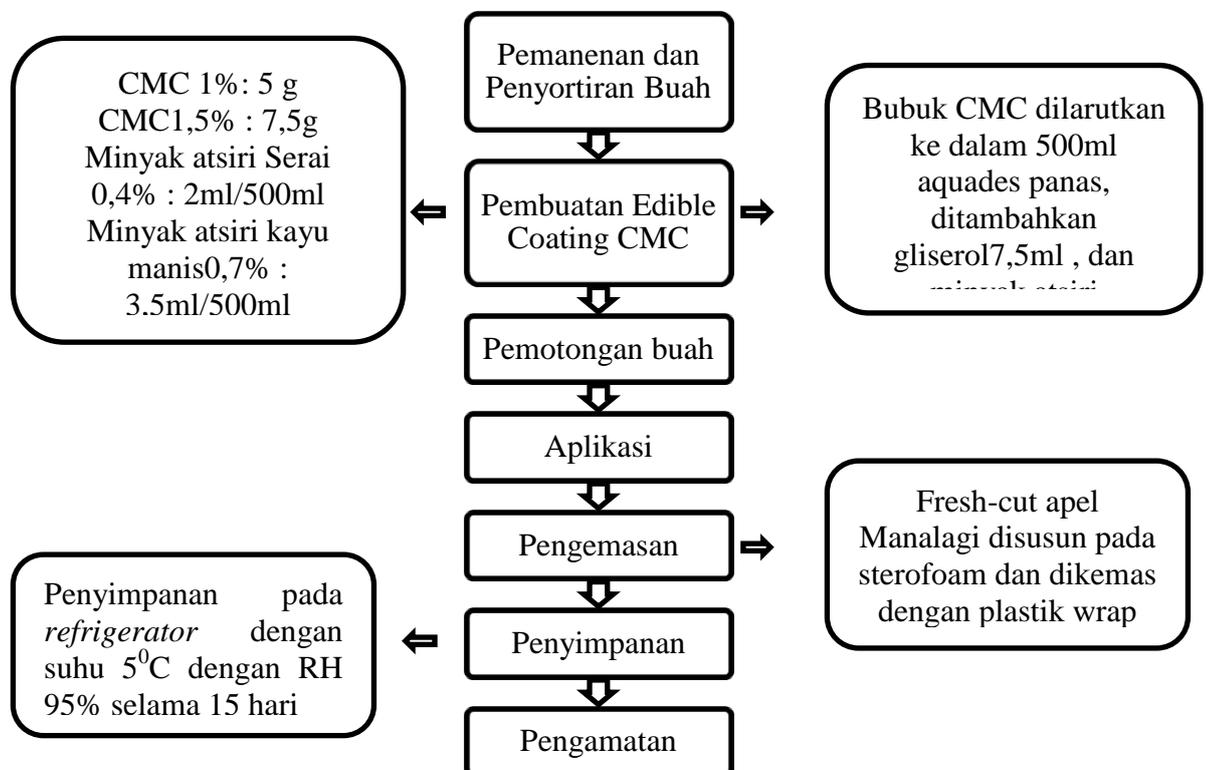
C2M2 : CMC1,5% + minyak atsiri kayu manis 0,7%

Setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali sehingga diperoleh 21 unit percobaan.

D. Cara Penelitian

Penelitian yang dilakukan meliputi ; 1) Pemanenan dan penyortiran buah apel Manalagi, 2) Pembuatan *edible coating* CMC diperkaya minyak atsiri, 3) Aplikasi, 4) Penyimpanan, dan 5) Pengamatan. Pemanenan buah apel Manalagi dilakukan di kebun buah apel yang berada di Kota Batu, Malang, Jawa Timur.

Penyortiran dilakukan langsung setelah pemanenan, buah apel yang digunakan dengan kriteria *grade A* atau memiliki ukuran yang sama dalam 1 kg berisi 4-5 buah. Selain itu buah dipilih yang tidak cacat, dan tidak terdapat luka pada penampakannya. Setelah itu buah dicuci menggunakan larutan klorin dengan konsentrasi $200\mu\text{l/L}^{-1}$, kemudian dibersihkan dari kotoran-kotoran yang menempel.



Gambar 1. Tata laksana penelitian

Pengamatan dilakukan selama 15 hari dengan waktu pengamatan 3 hari sekali (hari ke-0, 3, 6, 9, 12, dan 15). Setiap 3 hari sekali dilakukan pengamatan pada sampel dari setiap perlakuan untuk dilakukan pengujian Total fenol, Uji aktivitas enzim Polifenol peroksidase (PPO), Uji aktivitas enzim *Peroxidase* (POX), dan Warna.

E. Parameter yang Diamati

1. Total Fenol (ppm)

Pengujian Total Fenol (TP) merupakan dasar pengujian aktivitas antioksidan, dimana senyawa tersebut berperan dalam mencegah terjadinya peristiwa oksidasi. Pengujian kadar total fenol bertujuan untuk mengetahui kadar senyawa fenol yang terdapat dalam sampel. Pengujian Total Fenol pada penelitian ini menggunakan metode Folin-Ciocalteu yang didasarkan pada reaksi oksidasi reduksi yang sudah dimodifikasi. Prinsip pengukuran TP dengan reagen Folin-Ciocalteu adalah dengan terbentuknya senyawa kompleks berwarna biru, di mana pereaksi ini mengoksidasi fenolat (garam alkali) atau gugus fenolik-hidroksi mereduksi asam heteropoli (*fosfomolibdat-fosfotungstat*) yang terdapat dalam pereaksi Folin-Ciocalteu menjadi suatu kompleks molibdenum-tungsten. Semakin pekatnya warna biru yang terbentuk, setara dengan konsentrasi ion fenolat yang ada dalam bahan makanan (Apsari dan Susanti, 2011). Adapun tahapan pengujian kadar senyawa fenol adalah sebagai berikut :

1. Sampel dihaluskan kemudian ditimbang seberat 1 gram selanjutnya dilarutkan ke dalam 10 ml aquades.
2. Kemudian diambil 0,5 ml sampel dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi
3. Ditambahkan 5 ml aquades kemudian setelah 5menit ditambahkan natrium karbonat 15% sebanyak 1,5 ml.
4. Setelah itu, ditambahkan 1,5 ml reagen Folin-Ciocalteu untuk selanjutnya digojok.

5. Pengukuran kadar fenol dilakukan dengan memasukkan larutan ke dalam alat spektrofotometer dengan panjang gelombang 765 nm.

Penentuan kadar fenol ditentukan berdasarkan regresi kurva standar asam galat. Nilai absorbansi yang diperoleh konsentrasi larutan dimasukkan ke dalam persamaan regresi larutan standar asam galat sehingga diperoleh kadar fenol total. Adapun rumus perhitungannya yaitu :

$$\text{Kadar Total Fenol} = \frac{C \times V \times fp}{G}$$

Keterangan :

- C : konsentrasi ekivalen dari grafik (nilai x)
- V : volume yang digunakan (ml)
- fp : faktor pengenceran
- G : berat sampel yang digunakan

2. Uji Aktivitas Enzim PPO (*Polyphenol Oxidase*) (unit/menit)

Pengujian aktivitas enzim polifenol oksidase bertujuan untuk mengukur dan mengetahui kadar enzim polifenol oksidase yang terdapat pada *fresh-cut* apel Manalagi yang telah diberi perlakuan edible coating CMC dan minyak atsiri serai dan kayu manis. Pengujian polifenol oksidase menggunakan metode Galeazzi *et al.*, (1981) yang digunakan pula pada penelitian Supavanich *et al.*, (2012) yang dimodifikasi. Adapun tahapan yang dilakukan pada pengujian polifenol oksidase adalah sebagai berikut :

- a. Sampel *fresh-cut* apel Manalagi ditimbang 5 gram
- b. Kemudian sampel ditambahkan dengan 115ml buffer fosfat 50mM pH 7,0 dan disaring menggunakan kain saring
- c. Larutan sampel diambil 4ml dan dimasukan ke dalam tabung reaksi

- d. Kemudian ditambahkan 1ml *Pyrocatechol* (100mM)
- e. Selanjutnya larutan disentrifugasi dengan kecepatan 2683 xg selama 30 menit
- f. Setelah itu pengukuran enzim polifenol oksidase menggunakan *spectrophotometer* dengan panjang gelombang 425nm.

Metode ini dihitung atau dikonversi dari hasil *spectrophotometer*, yang mana hasil setiap 1 unit menunjukkan aktivitas enzim PPO sebanyak 0,001 unit per menit.

3. Uji Aktivitas Enzim POX (*Peroxidase*) (unit/menit)

Pengujian aktivitas enzim peroksidase bertujuan untuk mengukur dan mengetahui kadar enzim peroksidase yang terdapat pada *fresh-cut* apel Manalagi. Pengujian peroksidase menggunakan metode Galeazzi *et al.*, (1981) yang digunakan pula pada penelitian Supavanich *et al.*, (2012) yang dimodifikasi. Adapun tahapan yang dilakukan pada pengujian peroksidase adalah sebagai berikut :

- a. Sampel *fresh-cut* apel Manalagi ditimbang 5 gram
- b. Kemudian sampel ditambahkan dengan 115ml buffer fosfat 50mM pH 7,0 dan disaring menggunakan kain saring
- c. Larutan sampel diambil 24ml
- d. Kemudian ditambahkan 2,5ml guaiacol dan 1ml H₂O₂ 1%
- e. Larutan diambil 5ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi

- f. Selanjutnya larutan disentrifugasi dengan kecepatan 2683 xg selama 30 menit
- g. Selanjutnya pengukuran kadar peroksidase dengan menggunakan *spectrophotometer* dengan panjang gelombang 470 nm.

Metode ini dihitung atau dikonversi dari hasil *spectrophotometer*, yang mana hasil setiap 1 unit menunjukkan aktivitas enzim POX sebanyak 0,01 unit per menit.

4. Warna

Parameter warna untuk *fresh-cut* apel Manalagi dengan perlakuan *edible coating* CMC diperkaya minyak atsiri serai dan kayu manis diukur dengan menggunakan alat *Chromameter Minolta CR - 400*. *Chromameter* merupakan alat yang digunakan untuk mengukur warna dari permukaan objek. Prinsip dasar alat ini adalah interaksi antara energi cahaya diffuse dengan atom atau molekul dari objek yang dianalisis.

Pengukuran warna dengan *Chromameter* ini dinyatakan dalam CIE $L^*a^*b^*$ yang dicirikan dengan notasi L, a, b. pengukuran dilakukan sebanyak 3 kali ulangan dengan titik berbeda. Pengukuran dilakukan dengan cara menempatkan kepala optik secara vertikal diatas sampel kemudian tekan tombol *start*. Namun sebelumnya memilih menu pada alat *chromameter* untuk menggunakan skala pengukuran L, a, dan b. Skala pengukuran L, a, dan b adalah L (kecerahan), a (warna kromatik a negatif untuk hijau dan a positif untuk warna merah), dan b (warna kromatik b negatif untuk warna biru dan b positif untuk

warna kuning). Perubahan warna (ΔE^*) dihitung secara kuantitatif menggunakan rumus :

$$\Delta E = [(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2] \times 0,5$$

Keterangan :

ΔE		= Total Perbedaan Warna
ΔL	($L_{\text{sampel}} - L_{\text{standar}}$)	= perbedaan terang dan gelap (+ = lebih terang, - = gelap)
Δa	($a_{\text{sampel}} - a_{\text{standar}}$)	= perbedaan merah dan hijau (+ = merah, - = hijau)
Δb	($b_{\text{sampel}} - b_{\text{standar}}$)	= perbedaan kuning dan biru (+ = lebih kuning, - = biru)

F. Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan penelitian ini dianalisis menggunakan sidik ragam pada taraf kesalahan 5 % untuk mengetahui pengaruh perlakuan. Jika terdapat pengaruh nyata antar perlakuan maka dilakukan uji lanjutan dengan menggunakan uji jarak berganda duncan (*Duncan Multiple Range Test*) pada taraf kesalahan 5 % untuk mengetahui beda nyata antar perlakuan (Steel dan Torrie, 1991). Hasil pengamatan akan ditampilkan dalam bentuk table, grafik atau histogram.