

III. TATA CARA PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Pascapanen Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan September-Oktober 2018.

B. Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi timbangan analitik, pisau, statif, gelas piala, gelas ukur, erlenmeyer, tabung reaksi, cawan petri, kawat ose, drigalsky, pemanas bunsen, mikropipet, mortar, buret, kertas saring, kertas payung, pisau, saringan, *hand refractometer*, *hand penetrometer*, *Chromameter Minolta CR-400*, karet, kapas, plastik *wrapfilm*, styrofoam dan alat tulis.

Bahan yang digunakan untuk penelitian ini apel Manalagi umur panen yang seragam (114 hari setelah bunga mekar), media tumbuh mikroba PCA, alkohol, aquades, amilum, NaOH 1 N (uji asam titrasi), Indikator PP, CMC 1%, Natrium bisulfit, Regensi nelson C, arsenomoblidat .

C. Metode Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan dengan metode eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan rancangan percobaan faktorial yang terdiri dari 2 faktor.

Faktor pertama adalah konsentrasi Natrium bisulfit yang terdiri dari 4 aras yaitu:

B1 = 50 ppm

B2 = 100 ppm

B3 = 150 ppm

B4 = 200 ppm

Faktor kedua adalah perlakuan *edible coating* CMC 1% yang terdiri dari dua aras yaitu:

C0 = tanpa *edible coating* CMC 1%

C1 = *edible coating* CMC 1%

Sehingga dihasilkan 8 kombinasi perlakuan yaitu:

B1C0= Natrium bisulfit 50 ppm+ tanpa *edible coating* CMC 1%

B1C1 = Natrium bisulfit 50 ppm+ *edible coating* CMC 1%

B2C0 = Natrium bisulfit 100 ppm+ tanpa *edible coating* CMC 1%

B2C1 = Natrium bisulfit 100 ppm+ *edible coating* CMC 1%

B3C0 = Natrium bisulfit 150 ppm+ tanpa *edible coating* CMC 1%

B3C1 = Natrium bisulfit 150 ppm+ *edible coating* CMC 1%

B4C0 = Natrium bisulfit 200 ppm+ tanpa *edible coating* CMC 1%

B4C1 = Natrium bisulfit 200 ppm+*edible coating* CMC 1%

KO (Kontrol) = Tanpa perlakuan

Dengan demikian terdapat 9 perlakuan, yang diulang sebanyak 3 kali sehingga terdapat 27 unit perlakuan. (Lampiran 2)

D. Tata Laksana Penelitian

Penelitian dilakukan dalam dua 2 tahap yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian inti.

1. Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan hanya menggunakan 1 perlakuan yang diuji cobakan. Selain itu, pengamatan hanya dilakukan satu kali yaitu pada hari ke 3.

a. Persiapan alat dan bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi timbangan analitik, pisau, statif, gelas piala, cawan petri, kawat ose, pemanas bunsen, mikropipet, mortar, buret, kertas saring, kertas payung, pisau, saringan, *coloni counter*, *hand refractormeter*, *hand penetrometer*, *Chromameter Minolta CR-400*, *coloni counter*, karet, kapas, dan alat tulis.

Terdapat beberapa alat yang perlu disterilkan terlebih dahulu. Sterilisasi alat menggunakan autoklaf pada tekanan 1 atm dengan suhu 121°C selama 30 menit. Alat-alat yang akan disterilkan dibungkus dengan kertas payung sebelum dimasukkan ke dalam autoklaf. Alat yang disterilkan antara lain petridish, Erlenmeyer, botol suntik, drigalsky, dan tabung reaksi

Bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah Natrium Bisulfit, apel Manalagi umur panen yang seragam (114 hari setelah bunga mekar), alkohol, aquades, plastik *wrap*, sterofom, amilum, NaOH 1 N (uji asam titrasi), Indikator PP, CMC, Regensi nelson C, arsenomoblidat. Selain bahan-bahan tersebut, perlu dipersiapkan bahan-bahan yang digunakan untuk membuat media PCA yang digunakan untuk uji mikrobiologi. Pembuatan media PCA dilakukan dengan cara

melarutkan 22,5 gram PCA ke dalam 1 liter aquades. Setelah itu media disterilkan dalam autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 1,5 jam.

Penyiapan buah apel Manalagi dilakukan dengan membeli buah disalah satu tengkulak yang ada di Malang. Buah apel dipilih yang memiliki ukuran sama (*grade A*) dengan umur panen yang seragam (114 hari setelah bunga mekar). Buah dengan kriteria tersebut memiliki ukuran yang besar dengan berat mencapai ± 250 gram/buah atau dalam 1 kg berisi 4-5 buah, buah tidak cacat dan tidak memiliki luka. Buah apel Manalagi dibawa ke laboratorium pascapanen. Buah disimpan pada suhu 14°C hingga diproses

b. Pembuatan larutan Natrium Bisulfit dan larutan CMC 1%

Natrium bisulfit ditimbang sebanyak 200 mg menggunakan timbangan analitik. Setelah ditimbang, Natrium bisulfit diberi aquades kemudian diaduk hingga larut. Setiap perlakuan membutuhkan volume penambahan aquades yang berbeda-beda. Pada konsentrasi 200 ppm ditambahkan aquades sebanyak 1 liter, pada perlakuan 150 ppm ditambahkan aquades sebanyak 1,67 liter, pada perlakuan 100 ppm ditambahkan 2 liter aquades, dan pada perlakuan 50 ppm ditambahkan 4 liter air.

Pembuatan CMC dilakukan dengan cara memanaskan aquades sebanyak 500 ml di dalam *glass beaker* menggunakan *water bath* bersuhu 90°C. Apabila aquades sudah panas, tambahkan bubuk *Carboxy methyl cellulose* sebanyak 5 gram dan diaduk dengan kecepatan sedang hingga terbentuk larutan CMC. Setelah terbentuk larutan CMC, tambahkan gliserol 1,5 % sebanyak 7,5 ml/500 ml aquades dan aduk kembali hingga homogen

c. Tahap Aplikasi

Tahap aplikasi dilakukan dengan cara pencucian buah terlebih dahulu menggunakan air yang telah dicampur dengan klorin 200 µl/l sebagai desinfektan lalu dikeringkan dengan tissue, setelah dicuci 1 buah apel dipotong menjadi 6 bagian dan dihilangkan bagian bijinya.

Buah direndam sesuai dengan perlakuan. Buah apel di rendam ke dalam Natrium Bisulfit sesuai dengan perlakuan selama 3 menit lalu ditiriskan. Buah apel yang diberi perlakuan pelapisan CMC 1% setelah ditiriskan di celupkan ke dalam larutan CMC yang telah dibuat. Setelah itu buah apel ditiriskan kembali. Buah diletakkan ke dalam *styrofoam* dan ditutup dengan *wrapping film* kemudian dimasukkan ke dalam kulkas pendingin dengan suhu 4-6°C

d. Pengamatan

Pengamatan pada penelitian pendahuluan hanya dilakukan pada hari ke-3. Setiap perlakuan memiliki 3 ulangan dan setiap ulangan memiliki 3 sampel pengujian. Pengamatan yang dilakukan meliputi susut bobot, uji kekerasan, kadar gula reduksi, total asam titrasi, total padatan terlarut, uji mikrobiologi dan warna.

2. Penelitian Inti

a. Persiapan alat dan bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi timbangan analitik, pisau, statif, gelas piala, cawan petri, kawat ose, pemanas bunsen, mikropipet, mortar, buret, kertas saring, kertas payung, pisau, saringan, *coloni counter*, *hand*

refractormeter, hand penetrometer, Chromameter Minolta CR-400, coloni counter, karet, kapas, dan alat tulis.

Terdapat beberapa alat yang perlu disterilkan terlebih dahulu. Sterilisasi alat menggunakan autoklaf pada tekanan 1 atm dengan suhu 121°C selama 1 jam. Alat-alat yang akan disterilkan dibungkus dengan kertas payung sebelum dimasukkan ke dalam autoklaf. Alat yang disterilkan antara lain petridish, Erlenmeyer, botol suntik, drigalsky, dan tabung reaksi

Bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah Natrium Bisulfit, apel Manalagi umur panen yang seragam (114 hari setelah bunga mekar), alkohol, aquades, plastik *wrap*, sterfoam, amilum, NaOH 1 N (uji asam titrasi), Indikator PP, CMC, Regensi nelson C, arsenomoblidat. Selain bahan-bahan tersebut, perlu dipersiapkan bahan-bahan yang digunakan untuk membuat media PCA yang digunakan untuk uji mikrobiologi.

Pembuatan media PCA dilakukan dengan melarutkan 22,5 gram dalam 1 liter aquades dan diaduk secara terus-menerus sampai homogen. Setelah homogen lalu disterilkan dalam autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 1,5 jam. Penyiapan buah apel Manalagi dilakukan dengan memetik buah di salah satu kebun buah di daerah Malangi. Buah apel dipilih yang memiliki ukuran sama (*grade A*) dengan umur panen yang seragam (114 hari setelah bunga mekar). Buah dengan kriteria tersebut memiliki ukuran yang besar dengan berat mencapai ± 250 gram/buah atau dalam 1 kg berisi 4-5 buah, buah tidak cacat dan tidak memiliki luka. Buah apel Manalagi dibawa ke laboratorium pascapanen. Buah disimpan pada suhu 14°C hingga diproses.

b. Pembuatan larutan Natrium Bisulfit dan larutan CMC 1%

Pembuatan larutan Natrium bisulfit dilakukan dengan cara menimbang 200 mg Natrium bisulfit menggunakan timbangan analitik. Setelah ditimbang, Natrium Bisulfit diberi aquades kemudian diaduk hingga larut. Setiap perlakuan membutuhkan volume penambahan aquades yang berbeda-beda. Pada konsentrasi 200 ppm ditambahkan aquades sebanyak 1 liter, pada perlakuan 150 ppm ditambahkan aquades sebanyak 1,67 liter, pada perlakuan 100 ppm ditambahkan 2 liter aquades, dan pada perlakuan 50 ppm ditambahkan 4 liter air.

Pembuatan CMC dilakukan dengan cara memanaskan aquades sebanyak 500 ml di dalam *glass beaker* menggunakan *water bath* bersuhu 90⁰C. Apabila aquades sudah panas, tambahkan bubuk *Carboxy methyl cellulose* sebanyak 5 gram dan diaduk dengan kecepatan sedang hingga terbentuk larutan CMC. Setelah terbentuk larutan CMC, tambahkan gliserol 1,5 % sebanyak 7,5 ml dan aduk kembali hingga homogen

c. Tahap Aplikasi

Tahap aplikasi dilakukan dengan cara pencucian buah terlebih dahulu menggunakan air yang telah dicampur dengan klorin 200 µl/l sebagai desinfektan lalu dikeringkan dengan tissue, setelah dicuci 1 buah apel dipotong menjadi 6 bagian dan dihilangkan bagian bijinya.

Buah direndam sesuai dengan perlakuan. Buah apel di rendam ke dalam Natrium Bisulfit sesuai dengan perlakuan selama 5 menit lalu ditiriskan. Buah apel yang diberi perlakuan pelapisan CMC 1% setelah ditiriskan dicelupkan ke dalam larutan CMC yang telah dibuat. Setelah itu buah apel ditiriskan kembali.

Buah diletakkan ke dalam *styrofoam* dan ditutup dengan *wrapping film* kemudian dimasukkan ke dalam kulkas pendingin dengan suhu 4-6°C

d. Pengamatan

Pengamatan pada penelitian inti dilakukan pada hari ke-0, 3, 6, 9, 12, dan 15. Setiap 3 hari sekali dilakukan pengujian perlakuan. Setiap perlakuan memiliki 3 ulangan dan setiap ulangan memiliki 3 sampel pengujian. Pengamatan yang dilakukan meliputi susut bobot, uji kekerasan, kadar gula reduksi, total asam titrasi, total padatan terlarut, uji mikrobiologi dan warna

E. Parameter yang Diamati

Pengamatan pada penelitian inti dilakukan pada hari ke-0, 3, 6, 9, 12, dan 15. Setiap 3 hari sekali dilakukan pengujian perlakuan. Setiap perlakuan memiliki 3 ulangan dan setiap ulangan memiliki 3 sampel pengujian. Pada penelitian ini parameter yang diamati yaitu :

1. Uji Susut Berat (%)

Menurut Eka (2017) Pengukuran susut berat dilakukan dengan cara menimbang buah apel menggunakan timbangan analitik, kemudian menghitung pengurangan berat buah sebagai susut berat dengan menggunakan rumus :

$$\text{Susut Bobot (\%)} = \frac{\text{bobot awal sebelum disimpan} - \text{bobot akhir setelah disimpan}}{\text{bobot awal sebelum disimpan}} \times 100\%$$

2. Kekerasan(N/mm²)

Menurut Eka (2017) Pengujian kekerasan dilakukan dengan menggunakan alat *Hand penetrometer fruit*. Permukaan daging buah apel Manalagi ditusuk jarum *probe* dengan dengan diameter 3 mm pada tiga potong buah apel , sehingga kedalaman lubang yang diakibatkan oleh penusukan tersebut akan menyatakan kelunakan buah apel dan *penetrometer* akan menunjukkan gaya yang dinyatakan dalam satuan N. Kemudian data yang diperoleh dirata-ratakan. Hasil uji kekerasan pada daging buah dinyatakan dalam satuan (N/mm²).

$$\text{Kekerasan} = \frac{\text{Gaya yang diberikan}}{\text{luas permukaan}}$$

3. Uji Total Asam Titrasi (%)

Pengujian ini dilakukan dengan menghaluskan buah apel lalu menimbang 5 gram dan melarutkan pada 100 ml aquades. Mengambil 10 ml filtrat lalu memasukan ke erlenmyer dan meneteskan indikator PP sebanyak 1-3 tetes. Setelah itu melakukan titrasi dengan NaOH 1 N sampai terjadi perubahan warna menjadi merah jambu. Perhitungan dilakukan dengan 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:

ml NaOH 1 N = volume NaOH yang digunakan untuk penitrasi

N NaOH 1 N = normalitas NaOH yang digunakan untuk menitrasi

FP = faktor pengenceran

4. Total Padatan Terlarut (brix%)

Metode yang digunakan dalam pengujian total padatan terlarut adalah metode refraktometri. Pengujian total padatan terlarut dilakukan dengan cara menghaluskan 10 gram buah apel kemudian mengambil sari buah untuk dicek gula total dengan alat *hand refractometer* (Brix 0-32%). Meneteskan dua tetes di atas prisma refraktometer yang sudah distabilkan lalu dilakukan pembacaan. Sebelum dan sesudah digunakan, membersihkan prisma refraktometer dengan alkohol. Uji gula total dinyatakan dalam °Brix sukrosa.

5. Kadar Gula Reduksi (%)

Metode yang digunakan dalam uji gula reduksi adalah metode *Nelson Samogyi*. Menurut Nelson (1944), Uji gula reduksi dilakukan dengan membuat nelson C dan larutan glukosa standar untuk mengetahui persamaan gula reduksi yang digunakan dalam perhitungan gula reduksi. Nelson C sendiri terbuat dari campuran nelson a dan nelson b dengan perbandingan 25:1. Pengujian dilakukan dengan cara menghaluskan dan menimbang buah apel sebanyak 1 gram dan melarutkannya pada 100 ml aquades. Mengambil sampel dengan pipet sebanyak 0,1ml dan menambahkan 0,9 ml aquades. Langkah selanjutnya adalah menambahkan reagen nelson C pada larutan sampel kemudian memanaskannya. Setelah sampel dingin, menambahkan 1 ml arsenomolibdat dan 7 ml aquades. Ditera pada *spectrophotometer* dengan gelombang 540 nm dan menghitung hasilnya dengan rumus :

$$\% \text{ Gula Reduksi} = \frac{\text{konsentrasi} \times \text{faktor pengenceran}}{\text{Mg Bahan}} \times 100\%$$

6. Warna (*Hue*)

Parameter warna diukur berdasarkan parameter a, dimana -a yang menunjukkan warna mendekati hijau, sedangkan nilai +a menunjukkan warna mendekati merah. Kecerahan diukur berdasarkan intensitas warna dengan menggunakan *Chronmometer Minolta CR - 400*. Pengamatan dilakukan setiap 3 hari sekali selama 15 hari. Pengukuran warna meliputi atribut warna CIELAB (L, a, b, C, °H, ΔE). L menunjukkan kecerahan dengan nilai 0 (gelap/hitam) hingga 100 (terang/putih), sedangkan a dan b adalah koordinat – koordinat *chromameter*, dimana a untuk warna hijau (a negatif) sampai merah (a positif) dan b untuk warna biru (b negatif) sampai warna kuning (b positif). Total perubahan warna (ΔE) selama penyimpanan diperoleh dengan menggunakan rumus :

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

Keterangan :

ΔE = Total perbedaan warna

ΔL (L sampel dikurangi L standar) = Perbedaan terang dan gelap (+ = lebih terang, - = lebih gelap)

Δa (a sampel dikurangi a standar) = Perbedaan merah dan hijau (+ = merah, - = hijau)

Δb (b sampel dikurangi b standar) = perbedaan kuning dan biru (+ = kuning, - = biru)

7. Uji Organoleptik

Uji organoleptik ini dilakukan dengan metode *Hedonic Scale Scoring* (Kartika, dkk., 1987/1988). Uji organoleptik/ sensoris dilakukan untuk mengetahui sejauh mana konsumen masih menerima perubahan mutu buah yang menyangkut perubahan sifat fisik dan kimia selama penyimpanan dingin. Adapun kriteria tingkat kesukaan sebagai berikut :

- a. Nilai 1 untuk sangat tidak suka
- b. Nilai 2 untuk tidak suka
- c. Nilai 3 untuk cukup suka
- d. Nilai 4 untuk suka
- e. Nilai 5 untuk sangat suka

Uji *organoleptic* dilakukan dengan minimal 10 panelis yang kemudian di hitung *score* dengan rumus :

$$\text{Score} = \frac{(\text{Score} \times \text{Jumlah panelis yang memilih score})}{\text{Jumlah total panelis}}$$

8. Uji Mikrobiologi (CFU/ml)

Uji mikrobiologi dilakukan untuk menduga daya tahan simpan suatu makanan dan sebagai indikator sanitasi makanan atau indikator keamanan makanan. Pengujian mikrobiologi diantaranya meliputi uji kuantitatif untuk menentukan mutu dan daya tahan suatu makanan, uji kualitatif bakteri patogen untuk menentukan tingkat kemannya, dan uji bakteri indikator untuk mengetahui tingkat sanitasi makanan tersebut (Fardiaz, 1993). Metode yang

digunakan untuk uji mikrobiologi yaitu metode *surface plate* dengan menginokulasikan sejumlah bakteri pada medium dan diratakan pada bagian permukaan medium dengan menggunakan drygladski. Tahapan uji mikrobiologi yang dilakukan yaitu :

- a. Menyiapkan media PCA yang telah di buat sebelumnya.
- b. *Fresh cutapel* ditumbuk sampai halus dengan mortar dan alu seberat 1 gram.
- c. Kemudian dimasukkan ke dalam 99 ml aquades steril untuk dijadikan pengenceran 10^{-2} . Pengenceran dilakukan hingga mendapatkan 10^6 .
- d. Kemudian di inokulasi ke media PCA dari pengenceran 10^{-4} , 10^{-5} sampai 10^{-6} dengan cara surface menggunakan *drygladsky* steril dan diatas bunsen agar tetap steril.
- e. Hasil inokulasi di bungkus dengan kertas payung dan diberi label sesuai perlakuan.
- f. Menginkubasi suspense selama 48 jam dan menghitung hasil pertumbuhan mikroba menggunakan alat *coloni counter*.

Uji mikrobiologi dilakukan dengan menghitung total mikroba menggunakan metode *plate count* dengan menunjukkan jumlah mikroba yang terdapat dalam suatu produk dengan cara menghitung jumlah koloni bakteri yang ditumbuhkan pada media agar. Perhitungan mikroba dilakukan dengan metode plate count harus memenuhi syarat, yaitu sebagai berikut 1) Jumlah koloni tiap cawan 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

F. Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan Sidik Ragam atau *Analysis of Variance* (ANOVA) pada taraf signifikansi α 5 %. Apabila terdapat beda nyata antar perlakuan yang diujikan maka dilakukan uji lanjut dengan menggunakan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT).