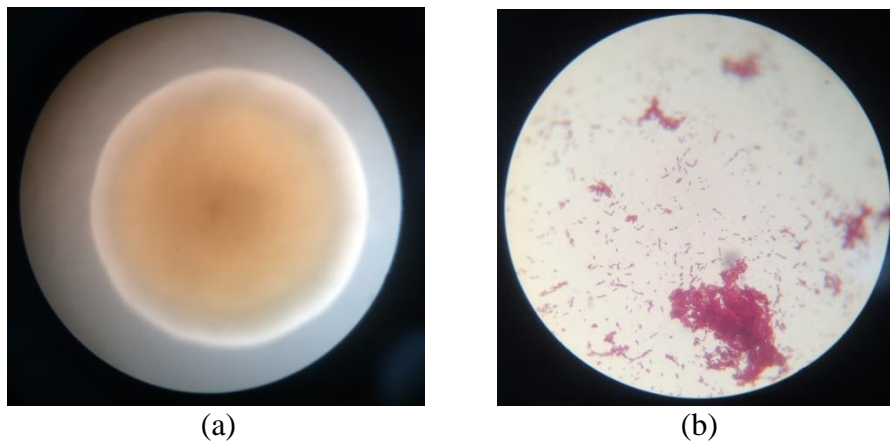


IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pembusuk Buah

Pada penelitian ini identifikasi bakteri pembusuk berasal dari *fresh-cut* buah Apel Manalagi yang telah dibusukkan. Buah yang sudah busuk ditandai dengan adanya lendir pada buah. Buah busuk tersebut selanjutnya diisolasi pada media PCA, dan diinkubasi selama 48 jam guna mendapatkan populasi bakteri. Populasi bakteri yang dapat dihitung yaitu pada seri pengenceran 10^{-4} , 10^{-5} , dan 10^{-6} . Identifikasi bakteri yang tumbuh terbanyak dari hasil isolasi dapat dilihat pada gambar 1a. Bentuk koloni (perbesaran mikroskop 40x), 1b. Sel bakteri hasil cat gram (perbesaran mikroskop 1000x), dan tabel 1.



Gambar 1. (a) Bentuk Koloni, (b) Sel Bakteri Hasil Cat Gram

Tabel 1. Identifikasi Bakteri pada *Fresh-cut* Buah Apel Manalagi

No.	Identifikasi	Bakteri Pembusuk Apel
1.	Warna Koloni	Krem
2.	Bentuk Koloni	Bulat (<i>Circular</i>)
3.	Bentuk Tepi	Entire (Rata)
4.	Elevasi	<i>Low Convex</i>
5.	Diameter	0,2 cm
6.	Struktur Dalam	<i>Smooth</i>
7.	Sifat Aerobisitas	Aerob Fakultatif
8.	Sifat Gram	Negatif
9.	Bentuk Sel	<i>Basil</i> (Batang)

Berdasarkan hasil identifikasi diduga bakteri yang tumbuh pada *Fresh-cut* buah apel Manalagi yaitu Bakteri Asam Asetat (BAA). Bakteri ini dapat ditemukan pada buah apel, nanas, rambutan, mangga, cheri, dan longan (Moryadee and Pathorn, 2008). Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Williams dan Cannon (1989), bakteri asam asetat memiliki ciri-ciri bakteri gram negatif dan sel-selnya berbentuk basil atau batang serta bersifat aerobik.

Bakteri asam asetat merupakan bakteri gram negatif yang berbentuk basil atau batang. Bakteri ini dapat mengoksidasi etanol menjadi asam asetat. Setelah bakteri diidentifikasi, selanjutnya dilakukan perbanyakan bakteri pada *nutrient agar* (NC) untuk diaplikasikan pada *fresh-cut* buah apel Manalagi.

B. Daya Hambat

1. Metode *Paper Disk*

Pengujian daya hambat metode *paper disk* dilakukan dengan cara menggunakan kertas saring berukuran 1,2 cm dicelupkan ke dalam minyak atsiri vanili 0,6 %, vanili 0,9 %, kemangi 0,3 % dan kemangi 0,6 %. Kertas saring yang telah dicelupkan dalam minyak atsiri selanjutnya diletakkan dalam cawan petri yang sudah terisi media PCA dan telah diisolasi mikroba pembusuk *fresh-cut* buah apel. Kemudian diinkubasi selama 48 jam dan diamati zona bening yang telah terbentuk disekitar kertas saring.

Berdasarkan hasil uji daya hambat metode *paper disk* (tabel 2), dapat diketahui bahwa terdapat zona hambat antara kontrol dan minyak atsiri. Minyak atsiri

mempunyai daya hambat terhadap bakteri dari *fresh-cut* buah apel Manalagi. Daya hambat paling besar yaitu minyak atsiri kemangi 0,6 % dengan diameter 2,8 cm.

Tabel 2. Hasil Rerata Daya Hambat dengan Metode Paper Disk

Perlakuan	Daya Hambat (cm)
Vanili 0,6 %	2,3
Vanili 0,9 %	2,4
Kemangi 0,3 %	2,6
Kemangi 0,6 %	2,8
Kontrol	0,0

Mekanisme minyak atsiri menghambat pertumbuhan bakteri yaitu minyak atsiri masuk ke dalam sel bakteri dengan melalui membran sel (Christina dkk., 2012). Minyak atsiri yang mengandung senyawa eugenol memiliki sifat lipofilik yang dapat mengakibatkan terjadinya adesi dengan membran sel bakteri sehingga tekanan osmotik meningkat, menyebabkan kerusakan pada membran sel dan menghambat respirasi bakteri. Terhambatnya proses respirasi pada bakteri akan menimbulkan terganggunya transpor ion pada sel sehingga bakteri akan mengalami kematian. Di dalam senyawa eugenol juga terdapat ikatan fenol yang jika menempel pada sel bakteri akan membuat bakteri mengalami lisis kemudian mati. Hal ini terjadi karena protein yang dimiliki mengalami penggumpalan sehingga enzim transpeptidase mengalami perubahan. Selanjutnya muncul gangguan pada proses pembentukan dinding sel bakteri yang tersusun oleh peptidoglikan dengan gugus polisakarida dan polipeptida. Dinding sel yang telah rusak dan tidak terbentuk dapat menyebabkan bakteri mengalami kematian (Kumala dkk., 2008).

2. Metode *Pour Plate*

Pengujian daya hambat metode *pour plate* dilakukan dengan cara mencampurkan minyak atsiri vanili 0,6 %, vanili 0,9 %, kemangi 0,3 % dan kemangi 0,6 % dalam media PCA kemudian dituang ke dalam cawan petri. Setelah media mengeras, dilakukan isolasi bakteri pembusuk *fresh-cut* buah apel Manalagi dan diinkubasi selama 48 jam. Jumlah bakteri yang tumbuh dihitung menggunakan *coloni counter*.

Berdasarkan tabel 3, terdapat daya hambat pada perlakuan minyak atsiri kemangi 0,6 % terhadap bakteri pembusuk *fresh-cut* buah apel Manalagi. Hal ini ditandai dengan tidak adanya bakteri yang tumbuh pada media PCA yang telah dicampur dengan minyak atsiri kemangi 0,6 %. Sedangkan perlakuan kontrol bakteri tumbuh memenuhi media.

Tabel 3. Perhitungan daya hambat dengan metode *pour plate*

Perlakuan	Populasi Bakteri x 10 ⁵ (CFU/ml)
Vanili 0,6 %	89,67
Vanili 0,9 %	41
Kemangi 0,3 %	1
Kemangi 0,6 %	0
Kontrol	111 + <i>Spreader</i>

Minyak atsiri vanili memiliki senyawa eugenol. Kemampuan antibakteri dari senyawa tersebut dengan cara merusak membran sel bakteri, mengganggu struktur dan fungsi membran sel, yang selanjutnya mempengaruhi pH (Ravindran dan Pillai, 2004). Minyak atsiri vanili memiliki sifat antioksidan dan antimikrobia terhadap ragi, jamur, dan bakteri.

Menurut Maryati dkk., (2007), minyak atsiri kemangi tersusun atas senyawa phenol (eugenol 1–19 %, iso-eugenol), eter phenolat (metil clavicol 3-31 %, metil eugenol 1-9 %), dan alkohol. Minyak atsiri kemangi mengandung eugenol yang merupakan turunan senyawa fenol. Efek senyawa ini yaitu sebagai antiseptik dan bekerja dengan cara merusak membran sel bakteri (Siswandono, 1995). Minyak atsiri kemangi mampu menghasilkan zona hambat lebih besar (Shafique *et al.*, 2012).

Mekanisme senyawa eugenol menghambat pertumbuhan bakteri yakni minyak atsiri masuk ke dalam sel bakteri dengan melalui membran sel (Christina dkk., 2012). Senyawa eugenol memiliki sifat lipofilik yang dapat mengakibatkan terjadinya adesi dengan membran sel bakteri sehingga tekanan osmotik meningkat, menyebabkan kerusakan pada membran sel dan menghambat respirasi bakteri. Terhambatnya proses respirasi pada bakteri akan menimbulkan terganggunya transpor ion pada sel sehingga bakteri akan mengalami kematian. Di dalam senyawa eugenol juga terdapat ikatan fenol yang jika menempel pada sel bakteri akan membuat bakteri mengalami lisis kemudian mati. Hal ini terjadi karena protein yang dimiliki mengalami penggumpalan sehingga enzim transpeptidase mengalami perubahan. Selanjutnya muncul gangguan pada proses pembentukan dinding sel bakteri yang tersusun oleh peptidoglikan dengan gugus polisakarida dan polipeptida. Dinding sel yang telah rusak dan tidak terbentuk dapat menyebabkan bakteri mengalami kematian (Kumala dkk., 2008).

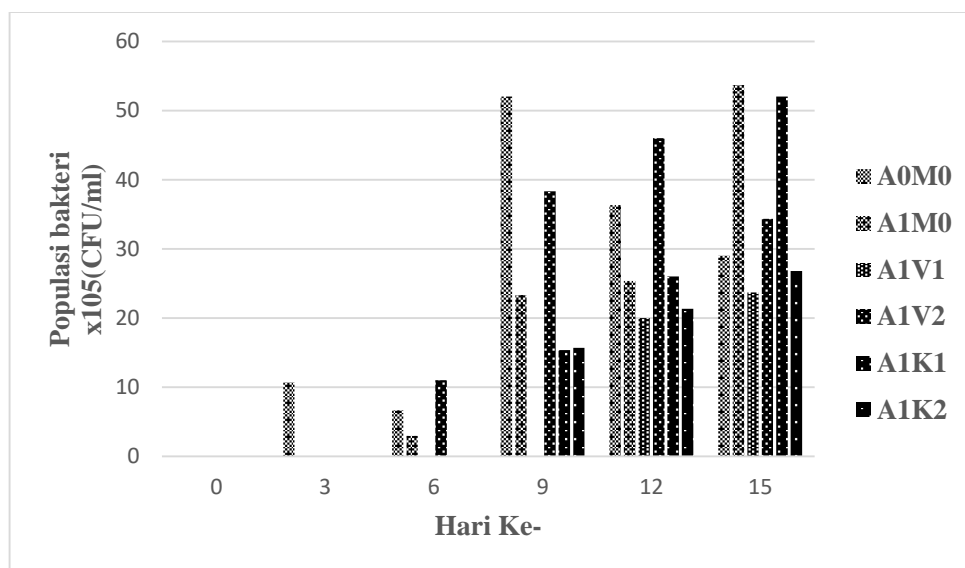
C. Uji Mikrobiologi

Uji mikrobiologi dilakukan setiap 3 hari sekali yaitu pada hari ke 0, 3, 6, 9, 12, dan 15. Media yang digunakan untuk uji mikrobiologi adalah *Plate Count Agar* (PCA). Metode Total Plate Count (TPC) digunakan dalam uji mikrobiologi yaitu untuk menghitung jumlah bakteri yang tumbuh.

Pada hari ke-0 hingga ke-6, pertumbuhan bakteri seluruh perlakuan belum menunjukkan adanya pertumbuhan populasi bakteri. Diduga pertumbuhan bakteri dalam fase lag atau fase dimana bakteri masih dalam proses adaptasi dalam lingkungan yang baru dengan ditandai belum terlihat adanya peningkatan jumlah bakteri. Hari ke-9 penyimpanan, terlihat mulai adanya peningkatan jumlah bakteri pada *fresh-cut* buah apel Manalagi. Hal ini dikarenakan bakteri telah memasuki fase log atau fase eksponensial yang merupakan fase mulainya ada peningkatan jumlah bakteri, namun perlakuan tanpa alginat dan minyak atsiri telah berada pada puncak pertumbuhan bakteri. Pada hari ke-12 hingga ke-15, seluruh perlakuan telah memasuki fase log, namun pada perlakuan tanpa alginat dan minyak atsiri telah mengalami fase stasioner. Fase ini merupakan fase dimana bakteri tidak dapat bertambah populasi dikarenakan telah mencapai keadaan maksimal dalam pertumbuhan.

Berdasarkan data yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa pemberian alginat 2 % dan penambahan minyak atsiri dalam *edible coating* mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Perlakuan pemberian alginat 2 % + minyak atsiri vanili 0,6 % mampu menghambat pertumbuhan bakteri yang lebih baik dibandingkan perlakuan lainnya hingga hari ke-9. Sesuai dengan penelitian Rojas Grau *et al.*

(2007), penggunaan *edible coating* alginat yang mengandung minyak atsiri vanili 0,3 % dan 0,6 % pada buah apel potong segar secara signifikan dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Minyak atsiri vanili mengandung senyawa eugenol yang dapat menghambat aktivitas metabolisme bakteri.



Gambar 2. Histogram Pertumbuhan Bakteri pada *Fresh-cut* Buah Apel

Keterangan: A0 M0 : Kontrol (Tanpa Alginat dan Minyak Atsiri)

A1 M0 : Alginat 2 %

A1 V1 : Alginat 2 % + Minyak Atsiri Vanili 0,6 %

A1 V2 : Alginat 2 % + Minyak Atsiri Vanili 0,9 %

A1 K1 : Alginat 2 % + Minyak Atsiri Kemangi 0,3 %

A1 K2 : Alginat 2 % + Minyak Atsiri Kemangi 0,6 %

Senyawa eugenol memiliki sifat lipofilik yang dapat mengakibatkan terjadinya adesi dengan membran sel bakteri sehingga tekanan osmotik meningkat, menyebabkan kerusakan pada membran sel dan menghambat respirasi bakteri. Terhambatnya proses respirasi pada bakteri akan menimbulkan terganggunya transpor ion pada sel sehingga bakteri akan mengalami kematian. Di dalam senyawa eugenol juga terdapat ikatan fenol yang jika menempel pada sel bakteri akan membuat bakteri mengalami lisis kemudian mati. Hal ini terjadi karena protein

yang dimiliki mengalami penggumpalan sehingga enzim transpeptidase mengalami perubahan. Selanjutnya muncul gangguan pada proses pembentukan dinding sel bakteri yang tersusun oleh peptidoglikan dengan gugus polisakarida dan polipeptida. Dinding sel yang telah rusak dan tidak terbentuk dapat menyebabkan bakteri mengalami kematian (Kumala dkk., 2008).

D. Susut Berat

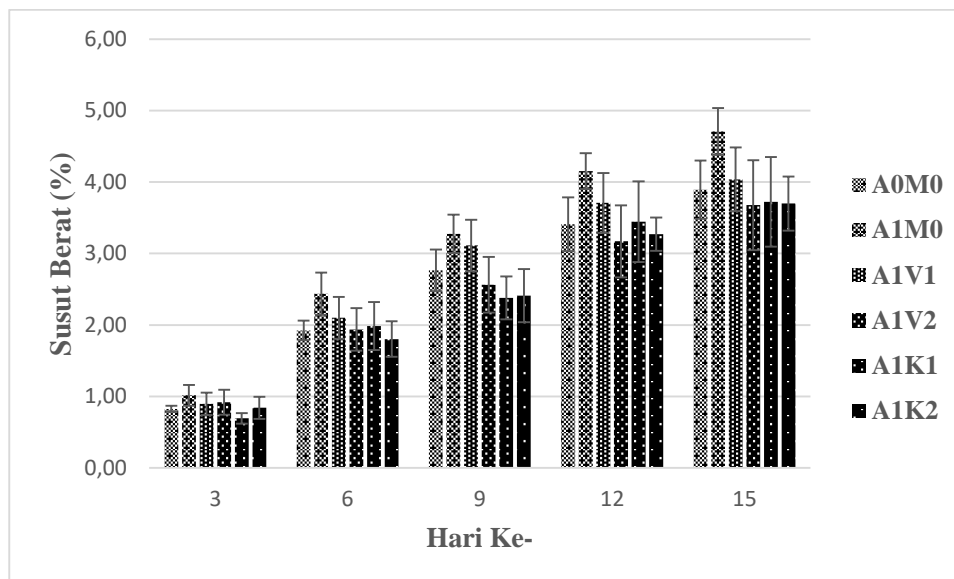
Pengolahan minimal dikenal dengan pemotongan pada buah segar yang melibatkan adanya pengupasan dan pengirisan dapat menyebabkan rusaknya lapisan dinding pelindung yang ada dalam buah sehingga dapat meningkatkan susut berat. Susut berat juga terjadi akibat adanya laju kehilangan air yang disebabkan oleh proses respirasi dan transpirasi. Menurut Ryal dan Lipton (1972), semakin tinggi laju respirasi maka semakin cepat perombakan yang menyebabkan kemunduran produk. Selain itu, peningkatan laju kehilangan air juga dapat disebabkan oleh adanya bakteri pada *fresh-cut* buah apel Manalagi.

Tabel 4. Hasil Rerata Susut Berat (%) *Fresh-cut* Buah Apel Manalagi

Perlakuan	Rerata Susut Berat (%)				
	3	6	9	12	15
Tanpa Alginat dan Minyak Atsiri	0,83 ab	1,92 ab	2,76 abc	3,41 ab	3,89 ab
Alginat 2 %	1,02 a	2,44 a	3,27 a	4,15 a	4,71 a
Alginat 2 % + Vanili 0,6 %	0,90 ab	2,10 ab	3,11 ab	3,71 ab	4,04 ab
Alginat 2 % + Vanili 0,9 %	0,92 ab	1,94 ab	2,56 bc	3,17 b	3,68 b
Alginat 2 % + Kemangi 0,3 %	0,69 b	1,99 ab	2,38 c	3,44 ab	3,72 b
Alginat 2 % + Kemangi 0,6 %	0,84 ab	1,80 b	2,41 c	3,27 b	3,70 b

Keterangan : Angka rerata yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata berdasarkan hasil DMRT pada taraf α 5 %.

Berdasarkan hasil analisis sidik ragam susut berat (lampiran 6a) menunjukkan tidak berbeda nyata antar perlakuan pada hari pengamatan ke-0 hingga ke-15.



Gambar 3. Histogram Susut Berat (%) Fresh-cut Buah Apel Manalagi

Keterangan: A0 M0 : Kontrol (Tanpa Alginat dan Minyak Atsiri)
 A1 M0 : Alginat 2 %
 A1 V1 : Alginat 2 % + Minyak Atsiri Vanili 0,6 %
 A1 V2 : Alginat 2 % + Minyak Atsiri Vanili 0,9 %
 A1 K1 : Alginat 2 % + Minyak Atsiri Kemangi 0,3 %
 A1 K2 : Alginat 2 % + Minyak Atsiri Kemangi 0,6 %

Pada tabel 4, menunjukkan rerata susut berat *fresh-cut* buah apel Manalagi bahwa tidak adanya beda nyata antara perlakuan tanpa alginat dan minyak atsiri dengan perlakuan yang diberi alginat 2 % dan penambahan minyak atsiri. Hal ini diduga bahwa pemberian *edible coating* alginat pada *fresh-cut* buah apel Manalagi tidak mampu menahan kehilangan air yang dapat menyebabkan penyusutan berat. *Edible coating* alginat mengandung banyak air karena dalam alginat terdapat gugus hidroksi yang mampu menyerap air. Selama proses penyimpanan, air tersebut akan menguap sehingga menyebabkan penyusutan berat *fresh-cut* buah apel Manalagi. *Edible coating* alginat mampu menahan pertukaran gas oksigen, namun mempunyai

sifat hidrofilik yaitu mempunyai permeabilitas yang tinggi terhadap penguapan air atau ketahanan uap air yang rendah (Bounocore *et al.*, 2005).

Susut berat *edible coating* pada *fresh-cut* buah apel Manalagi selama penyimpanan mengalami peningkatan (gambar 3). Hal ini didukung oleh pernyataan Kismaryanti (2007), kenaikan susut berat terjadi karena buah apel tergolong dalam buah klimaterik yang mengalami peningkatan respirasi seiring dengan proses pematangan pada buah. Menurut Ryal dan Lipton (1972), dalam proses respirasi, oksigen akan diserap untuk membakar bahan-bahan organik dalam buah yang nantinya akan menghasilkan CO₂, H₂O, dan energi berupa panas serta mengalami penguapan yang menyebabkan penyusutan berat. Panas yang dihasilkan oleh proses respirasi menyebabkan peningkatan suhu pada buah. Suhu internal buah yang tinggi menyebabkan selisih antara tekanan uap lingkungan dan buah menjadi besar. Semakin besar selisih maka kecepatan laju perpindahan uap air akan semakin tinggi sehingga mempengaruhi penyusutan berat pada buah (Ben-Yehoshua, 1987).

Penyusutan berat pada *fresh-cut* buah apel Manalagi selain disebabkan adanya proses respirasi juga disebabkan karena adanya proses transpirasi. Berdasarkan hasil histogram menunjukkan perlakuan pemberian alginat mempunyai nilai penyusutan lebih tinggi dibandingkan perlakuan lainnya. Hal ini diduga terjadi karena pada pembuatan *edible coating*, bubuk alginat dilarutkan dengan air dan alginat memiliki kemampuan menyerap air sehingga air yang terdapat pada *fresh-cut* buah apel Manalagi semakin banyak. Banyaknya air yang terkandung maka akan menyebabkan transpirasi semakin tinggi karena tekanan yang ada di dalam

buah lebih tinggi dibandingkan dengan di luar buah sehingga uap air akan keluar dari buah (Eveline, 2009).

Mikroba merupakan salah satu penyebab terjadinya susut berat pada *fresh-cut* buah apel Manalagi. Tingginya kandungan air dan gula pada buah menjadikan kondisi yang baik bagi pertumbuhan mikroba (Latifah, 2009). Bakteri yang tumbuh pada *fresh-cut* buah apel manalagi akan menyerang dan dapat menyebabkan terjadinya stress pada buah yang mengakibatkan adanya peningkatan laju respirasi (Murdijati dan Yuliana, 2014).

E. Uji Kekerasan

Kekerasan merupakan salah satu indikator mutu buah segar. Kekerasan yaitu salah satu parameter yang digunakan untuk mengukur tingkat kekerasan *fresh-cut* buah apel Manalagi. Apabila semakin kecil nilai yang diperoleh maka kerusakan semakin tinggi. Pengukuran tingkat kekerasan *fresh-cut* buah apel dilakukan setiap 3 hari sekali menggunakan alat *Hand Pnetrometer* diameter *probe* 3 mm dalam satuan N/m^2 .

Berdasarkan hasil analisis sidik ragam pada parameter kekerasan menunjukkan adanya beda nyata antar perlakuan pada pengamatan hari ke-3, 9, 12, dan ke-15 (Lampiran 6b). Pada tabel 5 menunjukkan adanya beda nyata terhadap rerata kekerasan *fresh-cut* buah apel Manalagi pada perlakuan tanpa alginat dan minyak atsiri dengan perlakuan alginat yang ditambahkan minyak atsiri. Namun, pada pengamatan hari ke-0, dan ke-6 pemberian berbagai konsentrasi minyak atsiri menghasilkan tidak adanya beda nyata dengan tanpa alginat dan minyak atsiri terhadap kekerasan *fresh-cut* buah apel Manalagi. Hal ini diduga adanya degradasi

senyawa pektin karena *fresh-cut* buah apel Manalagi mengalami *stress* akibat pelukaan pada jaringan buah apel oleh aktivitas bakteri.

Berdasarkan data tersebut dapat diketahui bahwa kombinasi *edible coating* alginat 2 % dan minyak atsiri kemangi 0,3 % merupakan perlakuan terbaik karena mampu mempertahankan nilai kekerasan *fresh-cut* hingga hari ke 15 penyimpanan. Hal ini diduga dapat menghambat aktivitas metabolisme bakteri dipermukaan *fresh-cut* buah apel Manalagi yang dapat menyebabkan adanya luka pada jaringan buah apel. Penghambatan pertumbuhan bakteri juga dapat mempengaruhi penekanan terhadap proses respirasi yang dapat menyebabkan permukaan buah menjadi lunak karena adanya penambahan air dari hasil respirasi.

Tabel 5. Hasil Rerata Kekerasan (N/mm²) *Fresh-Cut* Buah Apel Manalagi

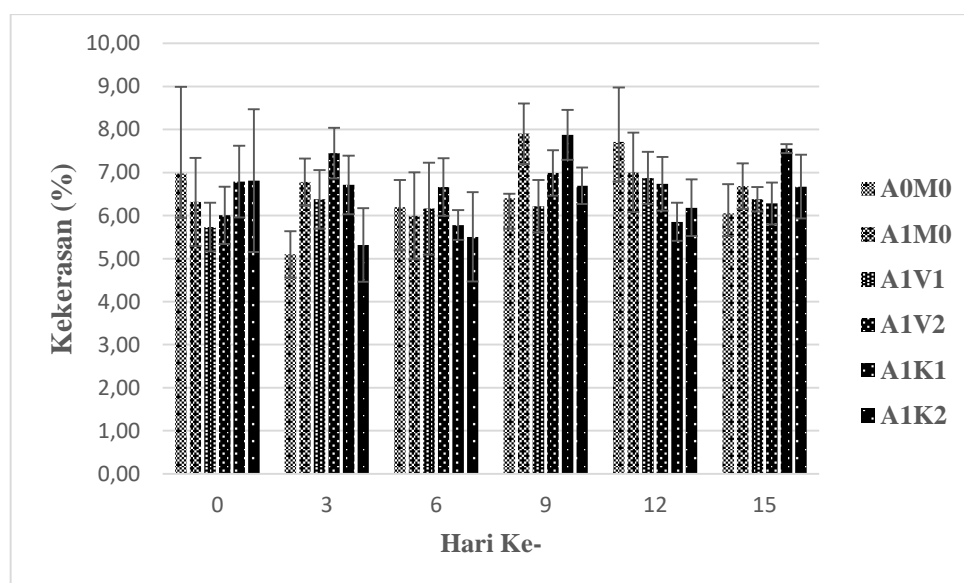
Perlakuan	Rerata Kekerasan (N/mm ²)					
	0	3	6	9	12	15
Tanpa Alginat dan Minyak Atsiri	6,97 a	5,10 c	6,19 a	6,40 b	7,71 a	6,05 b
Alginat 2 %	6,31 a	6,78 a	5,99 a	7,90 a	7,00 ab	6,68 ab
Alginat 2 % + Vanili 0,6 %	5,73 a	6,37 ab	6,16 a	6,22 b	6,87 ab	6,38 b
Alginat 2 % + Vanili 0,9 %	6,00 a	7,45 a	6,66 a	6,99 ab	6,73 ab	6,28 b
Alginat 2 % + Kemangi 0,3 %	6,79 a	6,71 a	5,78 a	7,87 a	5,85 b	7,55 a
Alginat 2 % + Kemangi 0,6 %	6,81 a	5,31 bc	5,51 a	6,69 b	6,18 ab	6,67 ab

Keterangan : Angka rerata yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata berdasarkan hasil DMRT pada taraf α 5 %.

Berdasarkan hasil histogram uji kekerasan (Gambar 4) menunjukkan bahwa tingkat kekerasan *fresh-cut* buah apel Manalagi mengalami fluktuasi. Selama 9 hari penyimpanan, kekerasan pada *fresh-cut* buah apel Manalagi cenderung mengalami kesetabilan. Diduga *fresh-cut* buah apel Manalagi mampu bertahan selama penyimpanan dikarenakan terhambatnya proses respirasi. Didukung dengan

penelitian Vina *et al.* (2007), pelapisan dengan *edible coating* mampu menghambat laju respirasi dan menekan terjadinya pelunakan. Proses respirasi terjadi adanya pemecahan gugus senyawa kompleks menjadi bentuk yang sederhana seperti tepung, glukosa, dan asam amino. Pemecahan tersebut berpengaruh terhadap tekstur buah karena pembangunan dinding sel daging buah akan berubah menjadi lunak dan lebih rentan terhadap kerusakan mekanis (Elza, 2016).

Menurut Prabasari (2001), kalsium klorida (CaCl_2) yang digunakan pada saat proses *dipping* yang berperan dalam mempertahankan kekerasan karena dapat menurunkan respirasi, produksi etilen, oksigen dan kenaikan CO_2 .



Gambar 4. Histogram uji kekerasan (N/mm^2) *Fresh-Cut* Buah Apel Manalagi

Keterangan: A0 M0 : Kontrol (Tanpa Alginat dan Minyak Atsiri)
 A1 M0 : Alginat 2 %
 A1 V1 : Alginat 2 % + Minyak Atsiri Vanili 0,6 %
 A1 V2 : Alginat 2 % + Minyak Atsiri Vanili 0,9 %
 A1 K1 : Alginat 2 % + Minyak Atsiri Kemangi 0,3 %
 A1 K2 : Alginat 2 % + Minyak Atsiri Kemangi 0,6 %

Pada hari ke-12 hingga hari ke-15, kekerasan buah cenderung mengalami penurunan selama penyimpanan. Penurunan kekerasan buah disebabkan karena

adanya proses pematangan buah. Menurut Pantastico (1975), ada dua proses dalam pematangan buah yaitu peningkatan kandungan pektat dan pektinat yang larut, serta penurunan jumlah zat-zat pektat. Menurut Prabasari (2001), senyawa pektin mengalami depolimerasi dan deesterifikasi sehingga tekstur buah menjadi lunak. Seiring dengan perubahan pektin, kekerasan buah mengalami penurunan. Penurunan kekerasan selama proses pemasakan dipengaruhi oleh aktivitas dari enzim pektolitik seperti poligalakturonase (PG), pektat liase (PL), dan pektin metil esterase (PME). PME berfungsi memecah propektin menjadi pektin yang larut dalam air. Poligalakturonase (PG) berfungsi menghidrolisis ikatan glikosidik antara asam poligalakturonat sehingga jaringan buah menjadi lunak.

F. Total Asam Titrasi

Total asam titrasi (TAT) merupakan total asam yang terkandung dalam buah. Buah mengandung asam-asam organik yang menjadi sumber cadangan energi dan akan menurun pada proses pemasakan. Penurunan asam organik seiring dengan kematangan buah dan disebabkan adanya proses respirasi yakni perubahan asam menjadi gula. Pengujian total asam titrasi dilakukan untuk menganalisis asam utama yaitu asam malat dan asam sitrat yang ada pada buah-buahan. Menurut Sudiyono (2008), pada buah-buahan yang berdaging terdapat asam utama yaitu asam malat dan asam sitrat, apabila asam malat berkurang maka akan diikuti asam sitrat. Pengujian total asam titrasi dilakukan dengan menggunakan indikator *phenolphthalein* (PP) 1 % dan dititrasi dengan NaOH 0,1 N hingga warna berubah menjadi merah muda. Pengamatan dilakukan setiap 3 hari sekali dan dinyatakan dalam satuan persen (%).

Berdasarkan hasil analisis sidik ragam pada uji total asam titrasi menunjukkan adanya beda nyata antar perlakuan pada pengamatan hari ke-3, 6, 9, 12 dan 15 (Lampiran 6c). Pada tabel 6 menunjukkan rerata asam titrasi terlihat bahwa perlakuan alginat 2 % + minyak atsiri vanili 0,6 % merupakan perlakuan terbaik karena mampu memperlambat laju respirasi. Perlakuan selain alginat 2 % + minyak atsiri vanili 0,6 % mengalami kenaikan pada hari ke-6, sedangkan perlakuan alginat + minyak atsiri 0,6 % mengalami kenaikan pada hari ke-9.

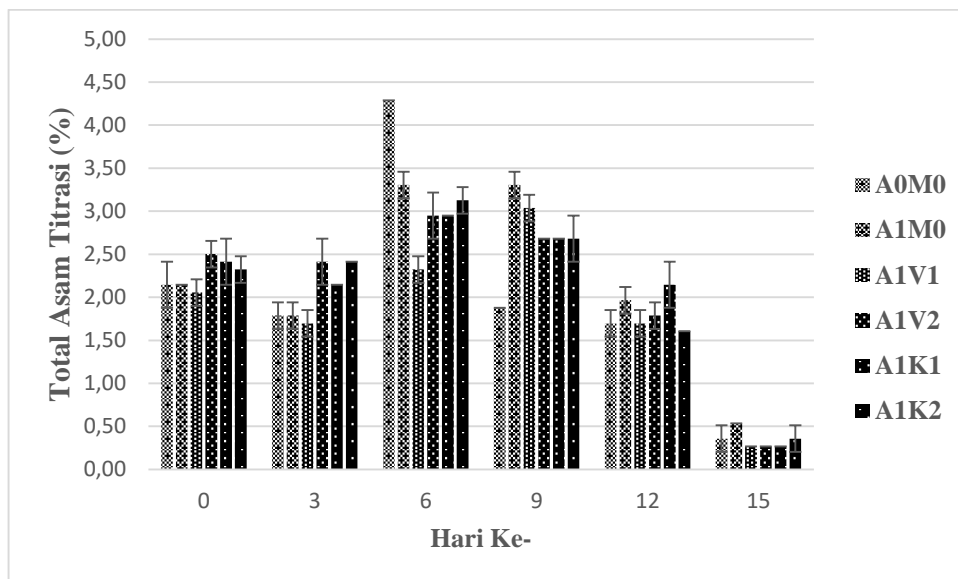
Tabel 6. Hasil Rerata Total Asam Titrasi (%) *Fresh-Cut* Buah Apel Manalagi

Perlakuan	Rerata Total Asam Titrasi (%)					
	0	3	6	9	12	15
Tanpa Alginat dan Minyak Atsiri	2,14 ab	1,79 b	4,29 a	1,88 d	1,70 bc	0,36 b
Alginat 2 %	2,14 ab	1,79 b	3,30 b	3,30 a	1,96 ab	0,54 a
Alginat 2 % + Vanili 0,6 %	2,05 b	1,70 b	2,32 d	3,04 b	1,70 bc	0,27 b
Alginat 2 % + Vanili 0,9 %	2,50 a	2,41 a	2,95 c	2,68 c	1,79 bc	0,27 b
Alginat 2 % + Kemangi 0,3 %	2,41 ab	2,14 a	2,95 c	2,68 c	2,14 a	0,27 b
Alginat 2 % + Kemangi 0,6 %	2,32 ab	2,41 a	3,13 bc	2,68 c	1,61 c	0,36 b

Keterangan : Angka rerata yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata berdasarkan hasil DMRT pada taraf α 5 %.

Berdasarkan hasil histogram (Gambar 5) menunjukkan bahwa rerata total asam titrasi mengalami fluktuasi dari hari ke-0 hingga terakhir pengamatan hari ke-15. Pada hari ke-0 dan ke-3 terlihat rerata perlakuan total asam mengalami penurunan. Selanjutnya pada hari ke-6 mengalami kenaikan nilai total asam dan pada hari ke-9 hingga hari ke-15 rerata total asam titrasi terus mengalami penurunan. Hal ini didukung dengan pernyataan Bambang (2008), buah klimaterik pada awal penyimpanan akan mengalami peningkatan respirasi kemudian kecepatannya akan menjadi minimum pada proses pematangan. Setelah tercapai pematangan, respirasi

kembali meningkat dan kemudian mengalami penurunan seiring dengan lamanya penyimpanan.



Gambar 5. Histogram Rerata Total Asam Titrasi (%) *Fresh-cut* Buah Apel Manalagi

Keterangan: A0 M0 : Kontrol (Tanpa Alginat dan Minyak Atsiri)
 A1 M0 : Alginat 2 %
 A1 V1 : Alginat 2 % + Minyak Atsiri Vanili 0,6 %
 A1 V2 : Alginat 2 % + Minyak Atsiri Vanili 0,9 %
 A1 K1 : Alginat 2 % + Minyak Atsiri Kemangi 0,3 %
 A1 K2 : Alginat 2 % + Minyak Atsiri Kemangi 0,6 %

Pada hari ke-3 pengamatan, terjadi penurunan rerata total asam titrasi dibandingkan dengan hari ke-0 pengamatan. Hal ini diduga adanya penggunaan asam-asam organik untuk proses respirasi. Didukung pernyataan Muhammad (1999), penurunan total asam disebabkan adanya penggunaan asam dalam proses respirasi, asam-asam organik yang terdapat pada buah merupakan cadangan energi dan akan menurun selama peningkatan aktivitas metabolisme. Pada hari ke-6 pengamatan terlihat mengalami peningkatan total asam. Hal ini diduga bahwa peningkatan total asam karena adanya produksi asam organik seperti asam sitrat,

asam malat, asam fumarat, dan asam suksinat yang terbentuk dalam siklus krebs pada proses respirasi. Selain itu, peningkatan total asam juga disebabkan adanya bakteri yang tumbuh pada *fresh-cut* buah apel Manalagi mulai beradaptasi dan mulai memasuki fase log (fase eksponensial), dan bakteri mulai berkembang biak sehingga total asam yang dihasilkan juga semakin tinggi. Merujuk dari hasil pengamatan pertumbuhan populasi bakteri bahwa pada hari ke-6 mulai terjadi peningkatan jumlah bakteri pada *fresh-cut* buah apel Manalagi. Pada hari ke-9 hingga ke-15 terlihat penurunan nilai total asam. Diduga penurunan yang terjadi disebabkan oleh laju respirasi pada *fresh-cut* buah apel Manalagi akan mengalami penurunan setelah terjadi pematangan. Hal ini sesuai dengan parameter gula reduksi bahwa nilai gula reduksi mulai mengalami peningkatan pada hari ke-9.

G. Total Padatan Terlarut

Total padatan terlarut (TPT) merupakan nilai untuk menentukan kualitas internal pada buah. Kualitas buah ditentukan oleh kandungan gula sebagai padatan terlarut. Uji total padatan terlarut dilakukan selama 3 hari sekali selama penyimpanan 15 hari dan dinyatakan dalam bentuk % brix.

Berdasarkan hasil sidik ragam uji total padatan terlarut menunjukkan adanya beda nyata antar perlakuan selama penyimpanan 15 hari (Lampiran 6d). Pada tabel 7, hasil rerata total padatan terlarut menunjukkan perlakuan alginat 2 % + minyak atsiri vanili 0,6 % merupakan perlakuan terbaik. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian *edible coating* alginat dan penambahan minyak atsiri vanili 0,6 % mampu menghambat aktivitas bakteri dan juga memperlambat laju respirasi buah. Didukung oleh pernyataan Murdijati dan Yuliana (2014), bakteri yang menyerang

buah dapat menyebabkan terjadinya stress pada buah yang akan mengakibatkan peningkatan laju respirasi. Selain itu, terhambatnya proses respirasi disebabkan karena berkurangnya oksigen yang masuk kedalam *fresh-cut* buah apel Manalagi yang telah dilapisi alginat, akibatnya penggunaan substrat lebih rendah. Didukung oleh pernyataan Bounocore *et al.* (2005), *edible coating* alginat mampu menahan pertukaran gas oksigen pada buah.

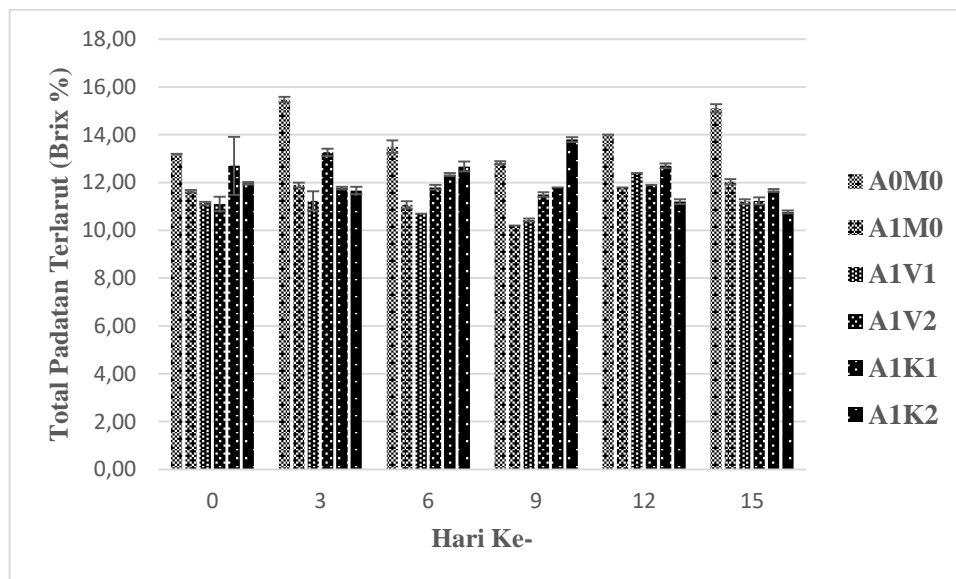
Tabel 7. Hasil Rerata Total Padatan Terlarut (% Brix) *Fresh-Cut* Buah Apel Manalagi

Perlakuan	Rerata Total Padatan Terlarut (% Brix)					
	0	3	6	9	12	15
Tanpa Alginat dan Minyak Atsiri	13,20 a	15,47 a	13,50 a	12,83 b	14,00 a	15,10 a
Alginat 2 %	11,63 c	11,90 c	11,07 e	10,20 f	11,80 d	12,03 b
Alginat 2 % + Vanili 0,6 %	11,13 c	11,23 d	10,70 f	10,43 e	12,40 c	11,20 d
Alginat 2 % + Vanili 0,9 %	11,10 c	13,27 b	11,80 d	11,50 d	11,90 d	11,23 d
Alginat 2 % + Kemangi 0,3 %	12,70 ab	11,77 c	12,33 c	11,80 c	12,70 b	11,67 c
Alginat 2 % + Kemangi 0,6 %	11,97 bc	11,67 c	12,67 b	13,80 a	11,20 e	10,77 e

Keterangan : Angka rerata yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata berdasarkan hasil DMRT pada taraf α 5 %.

Berdasarkan histogram rerata total padatan terlarut menunjukkan adanya fluktuasi dari hari ke-0 hingga hari ke-15 penyimpanan (gambar 6). Pada hari ke-3 rerata total padatan terlarut mengalami peningkatan. Hal ini diduga bahwa kenaikan total padatan terlarut pada buah akibat terbentuknya gula sederhana dari hasil degradasi pada fase pematangan. Pada hari ke-6 hingga ke-9 rerata total padatan terlarut mengalami penurunan, namun kenaikan tertinggi pada hari ke-12

penyimpanan. Pada hari ke-15 rerata total padatan terlarut terlihat mengalami penurunan.



Gambar 6. Histogram Rerata Total Padatan Terlarut (Brix %) *Fresh-cut* Buah Apel Manalagi

Keterangan: A0 M0 : Kontrol (Tanpa Alginat dan Minyak Atsiri)
 A1 M0 : Alginat 2 %
 A1 V1 : Alginat 2 % + Minyak Atsiri Vanili 0,6 %
 A1 V2 : Alginat 2 % + Minyak Atsiri Vanili 0,9 %
 A1 K1 : Alginat 2 % + Minyak Atsiri Kemangi 0,3 %
 A1 K2 : Alginat 2 % + Minyak Atsiri Kemangi 0,6 %

Total padatan terlarut akan mengalami peningkatan seiring dengan lamanya penyimpanan. Peningkatan total padatan terlarut disebabkan terjadinya degradasi pati menjadi gula sederhana. Menurut Patria (2013), perubahan total padatan terlarut disebabkan adanya hidrolisis pati menjadi glukosa, fruktosa, dan sukrosa. Menurut Wolf dalam Hasanah (2009), penurunan total padatan terlarut disebabkan karena gula yang terbentuk dari hasil perombakan pati digunakan sebagai substrat pada proses respirasi untuk menghasilkan energi.

H. Gula Reduksi

Gula reduksi merupakan senyawa karbohidrat yang mempunyai peran utama sebagai substrat dalam proses respirasi. Substrat dari gula digunakan sebagai bahan utama untuk proses respirasi buah. Uji gula reduksi dilakukan setiap 3 hari sekali selama 15 hari penyimpanan buah.

Tabel 8. Hasil Rerata Gula Reduksi (%) *Fresh-Cut* Buah Apel Manalagi

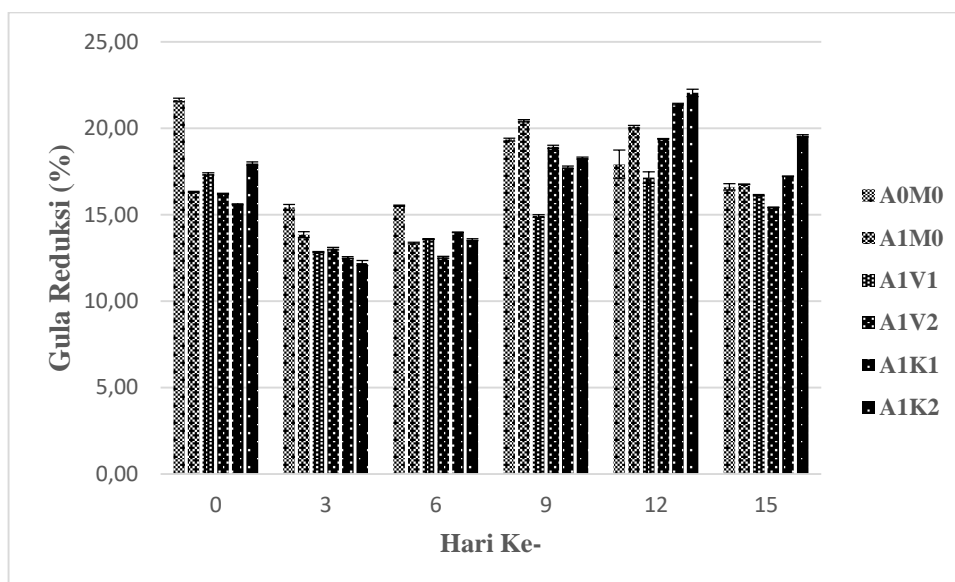
Perlakuan	Rerata Gula Reduksi (%)					
	0	3	6	9	12	15
Tanpa Alginat dan Minyak Atsiri	21,63 a	15,42 a	15,52 a	19,34 b	17,92 d	16,60 c
Alginat 2 %	16,30 d	13,85 b	13,35 d	20,43 a	20,09 b	16,74 c
Alginat 2 % + Vanili 0,6 %	17,34 c	12,83 c	13,58 c	14,92 f	17,14 e	16,12 d
Alginat 2 % + Vanili 0,9 %	16,19 d	13,03 c	12,52 e	18,92 c	19,38 c	15,41 e
Alginat 2 % + Kemangi 0,3 %	15,59 e	12,51 d	13,97 b	17,73 e	21,39 a	17,22 b
Alginat 2 % + Kemangi 0,6 %	17,96 b	12,12 e	13,55 c	18,27 d	22,04 a	19,56 a

Keterangan : Angka rerata yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata berdasarkan hasil DMRT pada taraf α 5%.

Berdasarkan hasil analisis sidik ragam uji gula reduksi diketahui adanya beda nyata antar perlakuan pada hari ke-0 hingga hari ke-15 penyimpanan (lampiran 6e). Pada tabel 8, hasil rerata gula reduksi menunjukkan bahwa perlakuan alginat 2 % + minyak atsiri vanili 0,6 % merupakan perlakuan terbaik karena perubahan nilai gula reduksi tidak terlalu tinggi.

Berdasarkan histogram rerata uji gula reduksi *fresh-cut* buah apel Manalagi (Gambar 7) menunjukkan adanya fluktuasi pada seluruh perlakuan. Terlihat pada hari ke-0 penyimpanan *fresh-cut* buah apel Manalagi mengandung gula reduksi tinggi. Diduga tingginya nilai gula reduksi diawal penyimpanan karena adanya pelukaan pada buah yakni pada hari ke-0 buah dilakukan pemotongan dan

pengemasan. Menurut Latifah (2009), buah yang mengalami berbagai perlakuan seperti pengupasan dan pemotongan dapat mengganggu integritas jaringan dan sel buah, sehingga terjadi peningkatan produksi etilen dan peningkatan laju respirasi.



Gambar 7. Histogram Rerata Gula Reduksi (%) *Fresh-cut* Buah Apel Manalagi

Keterangan: A0 M0 : Kontrol (Tanpa Alginat dan Minyak Atsiri)
 A1 M0 : Alginat 2 %
 A1 V1 : Alginat 2 % + Minyak Atsiri Vanili 0,6 %
 A1 V2 : Alginat 2 % + Minyak Atsiri Vanili 0,9 %
 A1 K1 : Alginat 2 % + Minyak Atsiri Kemangi 0,3 %
 A1 K2 : Alginat 2 % + Minyak Atsiri Kemangi 0,6 %

Pada hari ke-3 penyimpanan terjadi penurunan gula reduksi pada seluruh perlakuan. Hal ini diduga penurunan gula reduksi dikarenakan terjadinya laju respirasi dimana adanya proses pemecahan gula reduksi menjadi asam piruvat dan asam-asam organik lainnya yang kemudian menghasilkan CO₂ dan H₂O. Selain itu, merujuk ke parameter uji mikrobiologi bahwa pada hari ke-3 bakteri dalam fase adaptasi, diduga bakteri juga mengambil gula sederhana untuk dijadikan sumber energi dalam fase tersebut. Didukung oleh pernyataan Dessi, dkk. (2008), gula

reduksi yang terdapat dalam buah akan dimetabolisme oleh bakteri yang tumbuh sebagai nutrisi dan sumber energi untuk melakukan perkembangbiakan sel.

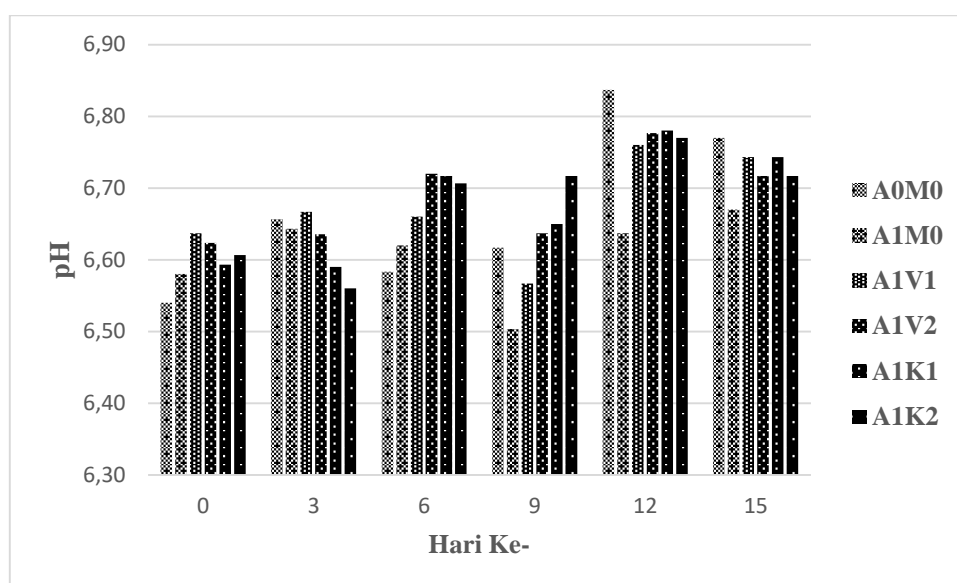
Pada hari ke-6 hingga hari ke-12 selama penyimpanan terjadi peningkatan gula reduksi hampir seluruh perlakuan. Hal ini diduga peningkatan gula reduksi disebabkan oleh aktivitas metabolisme pada bakteri mengalami peningkatan. Banyaknya bakteri yang tumbuh yang kemudian menyerang buah dapan mengakibatkan stress pada buah sehingga laju respirasi menjadi tinggi. Selain itu, peningkatan gula reduksi pada buah apel dipengaruhi oleh tingginya aktivitas respirasi yang akan merangsang etilen sehingga buah menjadi matang. Hal ini juga dipengaruhi oleh aktivitas enzim amilase yang menghidrolisis amilum menjadi sukrosa dan gula reduksi (glukosa dan fruktosa). Peningkatan enzim amilase dapat meningkatkan kadar gula reduksi pada buah (Pantastico, 1989).

Pada hari ke-15 nilai gula reduksi kembali mengalami penurunan. Gula reduksi akan menurun setelah melewati masa pemasakan sempurna, dan juga karena lamanya masa penyimpanan. Selain itu, diduga nutrisi seperti gula yang terkandung dalam *fresh-cut* buah apel Manalagi sudah mulai menipis akibat proses respirasi yang terus berjalan selama penyimpanan. Hal ini karena gula digunakan sebagai substrat untuk menghasilkan energi.

I. Uji pH

Derajat keasaman (pH) merupakan salah satu faktor penting dalam kecepatan pertumbuhan bakteri. pH yang rendah mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Menurut Oktaviani (2016), pH rendah dapat menyebabkan membran sel menjadi jenuh sehingga dapat membatasi transport membran. Hal ini karena sebagian

substansi asam yang tidak terurai meresap ke dalam sel, sehingga terjadi pH dalam sel berubah yang menyebabkan pengiriman asam-asam amino dari RNA terhambat maka pertumbuhan mikroba juga mengalami penghambatan. Pengukuran pH dilakukan untuk mengetahui tingkat keasaman *fresh-cut* buah apel Manalagi. Pengukuran pH dengan menggunakan alat pH meter dan diamati setiap 3 hari sekali selama 15 hari penyimpanan.



Gambar 8. Histogram Rerata pH *Fresh-cut* Buah Apel Manalagi

Keterangan: A0 M0 : Kontrol (Tanpa Alginat dan Minyak Atsiri)
 A1 M0 : Alginat 2 %
 A1 V1 : Alginat 2 % + Minyak Atsiri Vanili 0,6 %
 A1 V2 : Alginat 2 % + Minyak Atsiri Vanili 0,9 %
 A1 K1 : Alginat 2 % + Minyak Atsiri Kemangi 0,3 %
 A1 K2 : Alginat 2 % + Minyak Atsiri Kemangi 0,6 %

Berdasarkan histogram uji pH (gambar 8), menunjukkan bahwa nilai pH pada *fresh-cut* buah apel Manalagi seluruh perlakuan mengalami fluktuasi, namun nilai pH yang dihasilkan selama 15 hari penyimpanan seluruh perlakuan merupakan pH optimum bagi aktivitas bakteri yakni berkisaran antara 6 sampai dengan 7. Didukung oleh pernyataan Kusnadi (2003), pH optimum untuk pertumbuhan

bakteri asam asetat sekitar 6,5 hingga 7,5. Perlakuan pemberian alginat 2 % dan penambahan minyak atsiri tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan penentuan pH.

Bakteri Asam Asetat akan memanfaatkan gula untuk difermentasi menjadi asam-asam organik seperti asam asetat dan asam laktat. Semakin optimum pH pada *fresh-cut* buah apel manalagi maka semakin aktif bakteri dalam merombak gula menjadi asam-asam organik. Hal ini dapat menyebabkan nilai pH pada *fresh-cut* buah apel manalagi mengalami penurunan tingkat keasaman.