

III. TATA CARA PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan selama bulan November hingga Desember 2019, bertempat di Laboratorium Pascapanen Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

B. Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kompor, pisau, panci, gelas beker, sendok pengaduk, kertas pH, tabung reaksi, cawan petri, erlenmeyer, neraca analitik, autoklaf, jarum ose, drigalsky, botol semprot, pipet mikro, pipet tetes, botol suntik, tip, gelas ukur, labu ukur, kertas payung, karet, bunsen, kapas, label, nampan, LAF, tisu, aluminium foil, shaker, kain lap, styrofoam, plastik wrap, statif, handrefraktometer, penetrometer, oven dan kulkas.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah jambu air varietas Citra dengan *grade* A yang langsung dipetik dari kebun petani di daerah Dukuh Ngangkrang, Desa Tempuran, RT 05 RW 04, Kecamatan Demak, Kabupaten Demak, Jawa Tengah. Bahan-bahan lain yakni alkohol 95 %, minyak atsiri vanili, aquades, indikator PP, NaOH, media PCA, media PDA, daun cincau hijau, alginat, gliserol dan CaCl.

C. Metode Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan dalam dua tahapan. Tahap pertama atau uji pendahuluan dilakukan untuk melihat daya hambat minyak atsiri vanili sebagai antimikroba terhadap mikroba yang ada pada jambu air varietas Citra. Hasil pada uji pendahuluan tahap pertama akan digunakan sebagai dasar dalam penelitian tahap kedua dan dilanjutkan dengan pengujian mutu buah selama penyimpanan.

1. Uji Pendahuluan

Dalam uji pendahuluan menggunakan tiga macam konsentrasi minyak atsiri vanili yaitu 0,1% ; 0,3% ; 0,6% serta tanpa penambahan antimikroba.

Hasil terbaik dari uji pendahuluan ini akan menjadi dasar dalam penelitian tahap kedua.

2. Penelitian Tahap Kedua

Berdasarkan hasil uji pendahuluan didapatkan hasil konsentrasi minyak atsiri vanili 0,3% yang paling baik dalam menghambat jamur dan konsentrasi 0.6% yang paling baik dalam menghambat bakteri, sehingga kedua konsentrasi tersebut yang akan digunakan dalam penelitian lanjutan atau tahap kedua.

Penelitian lanjutan akan dilakukan menggunakan metode eksperimen dengan rancangan faktor tunggal yang disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (Lampiran 1), Perlakuan konsentrasi *edible coating* cincau hijau dan minyak atsiri vanili terdiri dari 4 perlakuan dan 1 sebagai tanpa pelapisan yang terdiri dari :

- A. *edible coating* cincau hijau konsentrasi 0,2% dan minyak atsiri vanili konsentrasi 0,3%
- B. *edible coating* cincau hijau konsentrasi 0,2% dan minyak atsiri vanili konsentrasi 0,6%
- C. *edible coating* cincau hijau konsentrasi 0,4% dan minyak atsiri vanili konsentrasi 0,3%
- D. *edible coating* cincau hijau konsentrasi 0,4% dan minyak atsiri vanili konsentrasi 0,6%
- E. Perlakuan tanpa pelapisan (tanpa perlakuan cincau hijau dan minyak atsiri)

Setiap perlakuan terdiri dari 3 kali ulangan dengan menggunakan 3 buah sampel dan 6 buah korban.

D. Cara Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan dalam dua tahapan yakni uji pendahuluan yakni uji daya hambat mikroba dan penelitian tahap kedua yakni pengujian mutu buah selama penyimpanan.

1. Uji Pendahuluan

- a. Kriteria Buah

Buah jambu air dipilih yang memiliki ukuran sama dan telah busuk di pohon atau buah yang sudah tampak terserang mikroba. Buah tersebut memiliki ukuran yang besar dengan berat mencapai ± 100 gram/buah.

b. Isolasi dan Karakterisasi Isolat Mikroorganisme Pembusukan Buah Jambu Air Varietas Citra

i. Persiapan Alat dan Bahan

Alat dan bahan disterilisasi menggunakan autoklaf pada tekanan 1 atm dengan suhu 121°C selama 30 menit. Alat-alat yang akan disterilkan dicuci bersih, dikeringkan, dan dibungkus dengan kertas payung sebelum dimasukkan ke dalam autoklaf. Alat dan bahan yang disterilkan antara lain gelas beker, sendok pengaduk, tabung reaksi, cawan petri, erlenmeyer, jarum ose, drigalsky, pipet mikro, pipet tetes, botol suntik, tip, gelas ukur, labu ukur dan *Plate Count Agar* (PCA) dan *Potato dextrose Agar* (PDA). Alat lain yang digunakan seperti pisau, nampan, timbangan analitik, bunsen dan mikro pipet.

ii. Pembuatan Media

Plate Count Agar (PCA) diformulasikan untuk isolasi mikroba jenis bakteri. Cara pembuatannya yakni dengan melarutkan 22,5 gram PCA ke dalam 1 liter air, bahan-bahan pembuat PCA dihomogenkan dengan pemanasan dalam air mendidih sebanyak 1 liter, kemudian didinginkan hingga $45-50^{\circ}\text{C}$ dan dituangkan ke dalam cawan petri dan dibiarkan selama 25-30 menit (Mohamed *et al.*, 2018)

Potato dextrose Agar (PDA) digunakan untuk isolasi mikroorganisme jenis jamur (Mohamed *et al.*, 2018). Cara pembuatannya yakni dengan melarutkan 39 gram PDA ke dalam 1 liter air mendidih. Larutan PDA disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C . Setelah disterilisasi, larutan PDA dibiarkan hingga suhunya menjadi lebih hangat dari sebelumnya dan dituangkan ke dalam cawan petri sebanyak 10 ml kemudian disimpan di *cooler* hingga agarnya menjadi padat dan siap digunakan.

iii. Isolasi Mikroorganisme Buah Jambu Air Varietas Citra

Hal yang harus dilakukan yakni diantaranya adalah buah dikeluarkan dari kemasan, buah dipotong-potong kemudian dihaluskan menggunakan mortar dan alu, buah ditimbang dan dihaluskan sebanyak 1 gram, selanjutnya dimasukkan sampel sebanyak 1 gram ke dalam botol suntik yang berisi aquades steril 99 ml (10^{-2}) dan digojok hingga homogen, filtrat diambil 1 ml dari pengenceran sebelumnya kemudian dimasukkan ke dalam 99 ml aquades steril (10^{-4}), digojok hingga homogen, lalu diambil 1 ml dari pengenceran sebelumnya dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 9 ml aquades steril (10^{-5}), diulangi hingga mendapatkan seri pengenceran (10^{-7}), selanjutnya menyiapkan petridish yang berisi medium PDA dan PCA kurang lebih 10 ml dan masing-masing petridish diberi label untuk pengenceran 10^{-5} , 10^{-6} , dan 10^{-7} , lalu menginokulasikan masing-masing suspensi hasil pengenceran 10^{-5} , 10^{-6} , dan 10^{-7} sebanyak 0,1 ml pada petridish yang berisi medium PDA dan PCA, meratakan suspensi mikroba dengan driglasky steril, menginkubasikan petridish yang berisi mikroba pada temperatur kamar selama 48 jam, dan diamati pertumbuhan *yeast* dan bakteri.

iv. Pemurnian dan Perbanyak Mikroorganisme

Mikroorganisme yang diperoleh dari isolasi mikroorganisme pembusuk jambu kemudian dikarakterisasi menjadi *yeast*, bakteri, dan jamur. Mikroorganisme jenis *yeast*, bakteri dan jamur yang telah dipilih kemudian diperbanyak dengan diinokulasikan pada media PCA (bakteri) dan PDA (*yeast* dan jamur) (Mohamed *et al.*, 2018).

c. Uji Daya Hambat dengan Metode *Paper Disk* (cm)

Uji aktivitas antimikroba minyak atsiri vanili terhadap mikroba pembusuk jambu air varietas Citra dilakukan dengan cara suspensi bakteri dituangkan pada permukaan media PCA sedangkan suspensi *yeast* dan jamur dituangkan pada permukaan media PDA. Kemudian diletakkan kertas cakram (*paper disk*) berdiameter 1 cm yang telah ditetesi masing-masing larutan konsentrasi minyak atsiri vanili yang telah ditentukan. Selanjutnya, media diinkubasi pada suhu ruang selama 48 jam. Zona

hambat yang akan terbentuk dari masing-masing kertas cakram diukur menggunakan jangka sorong dengan satuan cm sebagai data penelitian.

2. Penelitian Tahap Kedua

a. Kriteria Buah

Buah jambu air dipilih yang memiliki ukuran sama dan umur 2 bulan setelah berbunga (*grade A*). Buah dengan kriteria tersebut memiliki ukuran yang besar dengan berat mencapai ± 100 gram/buah atau dalam 1 kg berisi 8-10 buah. Total buah yang diperlukan sebanyak 205 buah (Lampiran 2. A). Buah disimpan pada suhu 14°C hingga diproses. Sebelum disimpan, buah terlebih dahulu dicuci menggunakan Natrium Metabisulfit sebanyak 0,2 gr/l. Kemudian dikeringanginkan dan dibersihkan dari bagian-bagian yang tidak dibutuhkan.

b. Pembuatan Ekstrak Cincau Hijau

Pembuatan ekstrak cincau diawali dengan mencuci daun cincau segar dengan air suhu kamar, kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C selama 18 jam. Daun yang sudah kering tersebut kemudian digiling dan diayak dengan ayakan berdiameter 0,5 milimeter (Koswara, 2002) (Lampiran 3. B). Bubuk hasil penyaringan disebut ekstrak konsentrasi 100% dan total bubuk cincau hijau yang dibutuhkan adalah 12 gram pada semua perlakuan dan 3 ulangan (Lampiran 2. B).

c. Pembuatan Larutan *Edible Coating* Cincau Hijau

Berdasarkan modifikasi metode Olivas, *et al.* (2007) proses pembuatannya sebagai berikut menyiapkan air sebanyak 1 liter, selanjutnya dimasukkan bubuk cincau hijau sesuai perlakuan dengan kecepatan putar *hot plate stirrer 2* dengan suhu 50°C selama 30 menit, selanjutnya dimasukkan alginat sebanyak 20 gr/l dengan kecepatan putar *hot plate stirrer 2* dengan suhu 75°C selama 30 menit, lalu ditunggu hingga homogen dan ditambahkan gliserol 0,5 gr/l dengan kecepatan putar *hot plate stirrer 2* dengan suhu 85°C selama 10 menit dan terakhir ditambahkan minyak atsiri sesuai dengan perlakuan (Lampiran 3. C).

d. Pelapisan Buah Jambu Air Varietas Citra

Buah yang dicuci dengan klorin dan sudah dikeringanginkan, siap untuk diberikan perlakuan. Dichelupkan ke perlakuan selama 3 menit. Buah kemudian segera dicelupkan ke dalam larutan CaCl 2 % selama ± 15 menit hingga terbentuk lapisan (Lampiran 3. D).

e. Pengemasan

Jambu air yang telah dikeringanginkan kemudian dikemas dengan *sterofoam* dan *wrap*, kemudian disimpan dalam *cooler* bersuhu 14°C (Lampiran 5).

E. Variabel Pengamatan

Penyimpanan jambu air yang diberikan perlakuan *edible coating* cincau hijau dan penambahan minyak atsiri vanili dilakukan selama beberapa hari, dengan pengamatan parameternya dilakukan pada hari ke-0, ke-3, ke-6, ke-9, ke-12, dan ke-15, kecuali pengamatan mikrobiologi hanya dilakukan empat hari sekali (Lampiran 6). Parameter yang diamati antara lain :

1. Analisis Sifat Fisik

a. Uji Susut Bobot (%)

Pengukuran susut bobot dilakukan untuk mengetahui perkembangan kadar air yang ada pada setiap buah. Susut bobot ditentukan dengan menimbang buah setiap hari dengan timbangan analitik menggunakan 3 sampel buah dengan membandingkan selisih berat sebelum penyimpanan dengan sesudah penyimpanan. Rumus yang digunakan adalah :

$$\% \text{Susut Bobot} = \frac{\text{Bobot awal} - \text{Bobot akhir}}{\text{Bobot awal}} \times 100\%$$

b. Uji Kekerasan (N/m²)

Pengujian tekstur buah dilakukan untuk mengetahui tingkat perubahan turgor pada buah. Pengujian tekstur buah diukur dengan alat penetrometer dengan cara menusukkannya ke permukaan buah jambu air dengan 3 kali ulangan setiap buahnya ditempat yang berbeda-beda setiap 3 hari sekali. Nilai dari gaya untuk menekan kekerasan jambu akan secara otomatis muncul pada alat penetrometer yang digunakan (Santi dkk., 2014). Rumus yang digunakan adalah :

$$\text{Kekerasan buah} = \frac{\text{Gaya yang diberikan}}{\text{Luas permukaan mata tekan}}$$

2. Analisis Sifat Sensoris

a. Uji Organoleptik

Dilakukan setiap 3 hari sekali pada buah, pengujian ini meliputi kesukaan terhadap penampakan berupa warna, tekstur, aroma, rasa, dan keseluruhan yang dilakukan oleh panelis dengan kriteria sebagai berikut:

Penilaian Warna	Penilaian Aroma
1 = Merag segar	1 = Sangat bau
2 = Merah sedikit berkerut	2 = Bau
3 = Merah berkerut	3 = Sedikit bau
4 = Merah berair agak bau	4 = Kurang segar
5 = Merah tua dan berbau busuk	5 = Segar
Penilaian Rasa	Penilaian Keseluruhan
1 = Sangat tidak suka	1 = Sangat tidak suka
2 = Tidak suka	2 = Tidak suka
3 = Cukup suka	3 = Cukup suka
4 = Suka	4 = Suka
5 = Sangat suka	5 = Sangat suka
Penilaian Tekstur	
1 = Sangat keriput >50%	
2 = Cukup banyak keriput 20-50%	
3 = Sedang 5-20%	
4 = Sedikit keriput <5%	
5 = Tidak terjadi keriput	

(Adapted from UTT, BAFT, B.Sc. Food Science and Technology, Student Project for PROJ2005 Capstone, 2012)

3. Analisis Sifat Kimia

a. Kadar Total Asam Titrasi (%)

Uji total asam titrasi dilakukan untuk mengukur keadaan total asam organik pada larutan sampel menggunakan metode titrasi dengan cara buah ditumbuk sampai halus, ditimbang 5 gram, dipindahkan ke dalam labu takar 100 ml dan ditambahkan akuades, gojok kemudian disaring, diambil

filtratnya sebanyak 10 ml dengan pipet, dimasukkan ke dalam Erlenmeyer, ditambahkan Indikator Phenolphthalein (PP) 1 % sebanyak 2 – 3 tetes. Titrasi dengan NaOH 0,1 N sampai warna berubah menjadi merah muda dan tidak hilang dalam 30 detik, dan dicatat volume NaOH 0,1 N yang diperlukan. Dilakukan setiap 3 hari sekali. Rumus yang digunakan adalah:

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

Keterangan :

ml NaOH = volume NaOH yang digunakan untuk penitrasi

N NaOH = normalitas NaOH yang digunakan untuk menitrasi

BM = berat molekul asam dominan (BM=192)

FP = faktor pengenceran

b. Total Padatan Terlarut (brix)

Sampel dihancurkan menggunakan mortar dan alu, kemudian larutan diambil menggunakan pipet lalu diteteskan diatas *hand refractometer*.

4. Analisis Sifat Biologi atau Uji Daya Hambat dengan Metode *Paper disk* (cm)

Uji mikrobiologi dilakukan pada hari ke-0, hari ke-4, hari ke-8, hari ke-12 dan hari ke-16 penyimpanan dengan mengukur daya hambat mikroba menggunakan metode *paper disk*. Hal yang harus dilakukan yakni diantaranya adalah buah dikeluarkan dari kemasan, buah dipotong-potong kemudian dihaluskan menggunakan mortar dan alu, buah ditimbang dan dihaluskan sebanyak 1 gram, selanjutnya dimasukkan sampel sebanyak 1 gram ke dalam botol suntik yang berisi aquades steril 99 ml (10^{-2}) dan digojok hingga homogen, filtrat diambil 1 ml dari pengenceran sebelumnya kemudian dimasukkan ke dalam 99 ml aquades steril (10^{-4}), digojok hingga homogen, lalu diambil 1 ml dari pengenceran sebelumnya dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 9 ml aquades steril (10^{-5}), diulangi hingga mendapatkan seri pengenceran (10^{-7}), selanjutnya menyiapkan petridish yang berisi medium PCA kurang lebih 10 ml dan masing-masing petridish diberi label untuk pengenceran 10^{-5} , 10^{-6} , dan 10^{-7} , lalu menginokulasikan masing-masing suspensi hasil pengenceran 10^{-5} , 10^{-6} , dan 10^{-7} sebanyak 0,1 ml pada petridish yang berisi medium PCA, meratakan suspensi mikroba dengan driglasky steril,

