

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan tempat percobaan

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Fakultas Pertanian Universitas Siliwangi, Kelurahan Mugarsari, Kecamatan Tamansari, Kota Tasikmalaya, Jawa Barat pada bulan Februari 2023.

3.2 Bahan dan alat

Alat yang digunakan berupa gelas ukur, *beaker glass*, batang pengaduk, neraca digital, neraca analitik, termometer, *hygrometer*, penetrometer, refraktometer, *magnetic stirrer*, ayakan ukuran 40 *mesh*, mortar, alu, blender, oven, pipet tetes, labu takar, wadah penyimpanan, baskom dan alat tulis.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah tomat, cangkang kulit udang, aquades, CH_3COOH , NaOH , HCl , kertas saring, kertas label.

3.3 Metode percobaan

Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial yang terdiri dari 2 faktor. Faktor pertama adalah konsentrasi kitosan (K) terdiri dari 3 taraf yaitu:

k_1 = kitosan konsentrasi 2%

k_2 = kitosan konsentrasi 4%

k_3 = kitosan konsentrasi 6%

Faktor kedua adalah lama perendaman (M) terdiri dari 3 taraf yaitu:

m_1 = direndam selama 15 menit

m_2 = direndam selama 30 menit

m_3 = direndam selama 45 menit

Dengan demikian percobaan ini terdiri dari 9 perlakuan dan diulang sebanyak 3 kali ulangan sehingga terdiri dari 27 unit percobaan, setiap unit terdiri dari 3 tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill). Kombinasi perlakuan antara konsentrasi kitosan dan lama perendaman tercantum pada Tabel 3.

Tabel 3. Kombinasi Perlakuan antara Konsentrasi Kitosan dan Lama Perendaman.

Konsentrasi (K)	Lama perendaman (M)		
	m ₁	m ₂	m ₃
k₁	$k_1 m_1$	$k_1 m_2$	$k_1 m_3$
k₂	$k_2 m_1$	$k_2 m_2$	$k_2 m_3$
k₃	$k_3 m_1$	$k_3 m_2$	$k_3 m_3$

3.4 Analisis data hasil pengamatan

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis sidik ragam atau uji ANOVA (*Analysis of Variance*) dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial apabila ada pengaruh antar perlakuan maka dilanjutkan dengan uji Duncan's Multiple Range Test pada $\alpha = 5\%$.

Model linier dari Rancangan Acak Lengkap (RAL) adalah sebagai berikut:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Dengan:

i : 1, 2, 3

j : 1, 2, 3

k : 1, 2, 3

Keterangan:

Y_{ijk} : Nilai pengamatan

μ : Rataan umum

α_i : Pengaruh konsentrasi kitosan

β_j : Pengaruh lama perendaman

$(\alpha\beta)_{ij}$: Pengaruh interaksi antara faktor konsentrasi kitosan (K) dan faktor lama perendaman (M)

ε_{ijk} : Galat percobaan

Berdasarkan model linier tersebut disusun daftar sidik ragam sebagaimana tabel Tabel 4 berikut ini:

Tabel 4. Daftar Sidik Ragam

Sumber keragaman	Db	JK	KT	Fhitung	F _{0,05}
Perlakuan	3.3 – 1 = 8	JKP	$\frac{JKP}{dbP}$	$\frac{KTP}{KTG}$	2,51
K	3-1 = 2	JKK	$\frac{JKK}{dbK}$	$\frac{KTK}{KTG}$	3,55
M	3-1 = 2	JKM	$\frac{JKM}{dbM}$	$\frac{KTM}{KTG}$	3,55
KM	(3-1) (3-1) = 4	JKKM	$\frac{JKKM}{dbKM}$	$\frac{KTKM}{KTG}$	2,93
Galat	(3-1) (3.3 – 1) = 18	JKG	$\frac{JKG}{dbG}$		
Jumlah	3.3.3 – 1 = 26	JKt			

Sumber: Gomez dan Gomez, (2010).

Pengaruh yang diberikan terhadap buah tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill) diketahui dengan menggunakan uji F.

Tabel 5. Kaidah Pengambilan Keputusan

Hasil analisa	Kesimpulan analisa	Keterangan
Fhit ≤ F 0,05	Tidak berbeda nyata	Tidak ada perbedaan pengaruh antar perlakuan
Fhit > F 0,05	Berbeda nyata	Ada perbedaan pengaruh antar perlakuan

Sumber: Gomez dan Gomez, (2010).

Jika hasil uji F dinyatakan berpengaruh nyata, maka dilakukan uji lanjut dengan Uji Jarak Berganda *Duncan* pada taraf nyata 5% dengan rumus sebagai berikut:

$$SSR = (\alpha. dbg. p)$$

$$LSR (\alpha. dbg. p) = SSR (\alpha. dbg. p) \times S_x$$

Nilai S_x dicari menggunakan rumus sebagai berikut :

1. Bila terjadi interaksi

$$S\bar{x} = \sqrt{\frac{KT\ galat}{r}}$$

2. Bila tidak terjadi interaksi, tetapi berbeda nyata pada perlakuan Faktor K

$$S\bar{x}_k = \sqrt{\frac{KT\ galat}{r.m}}$$

3. Bila tidak terjadi interaksi, tetapi berbeda nyata pada perlakuan Faktor M

$$S\bar{x}_m = \sqrt{\frac{KT \text{ galat}}{r.k}}$$

Keterangan:

S_x : Galat baku rata-rata (*Standart Error*)

KTG : Kuadrat tengah galat

r : Jumlah ulangan pada tiap nilai tengah perlakuan yang dibandingkan

SSR : *Significant studentized range*

α : Taraf nyata

dbg : Derajat bebas galat

p : Jarak antara perlakuan (*range*)

LSR : *Least significant range*

3.5 Pelaksanaan percobaan

3.5.1 Pembuatan kitosan

a. Persiapan bahan kulit udang

Limbah kulit udang diambil dari tambak udang di Cikalong Kabupaten Tasikmalaya. Limbah tersebut kemudian dicuci dengan air sampai bersih, lalu dikeringkan di bawah sinar matahari sampai kering. Kulit udang yang sudah kering, kemudian dihaluskan dengan blender dan diayak untuk menghasikan serbuk halus kulit udang.

b. Isolasi dan sintesis kitosan

Serbuk halus kulit udang kemudian direndam dalam larutan NaOH 10% 1:10 (1 g serbuk dicampur dengan 10 ml NaOH 10%) selama 1 jam sambil diaduk dengan *shaker* lalu dipanaskan diatas *hot plate* selama 1 jam. Setelah 1 jam, endapan disaring menggunakan kain saring, lalu dicuci dengan air mengalir sampai bersih. Residu sisa penyaringan kemudian di oven selama 30 menit dengan suhu 145°C. Selanjutnya residu yang sudah kering direndam dalam larutan HCl 8% 1:10 (1 g serbuk residu dicampur dengan 10 ml HCl 8%) selama 1 jam sambil diaduk dengan *shaker* lalu dipanaskan diatas *hot plate* dengan suhu 100°C selama 1 jam. Kemudian residu disaring dengan kain saring lalu dicuci dengan air mengalir

sampai bersih. Hasil residu kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 145°C selama 30 menit sehingga dihasilkan kitin kasar berwarna putih kemerahan. Kitin kasar yang diperoleh direndam dalam larutan NaOH 50% 1:10 (1 g serbuk dicampur dengan 10 ml NaOH 50%) selama 1 jam sambil diaduk dengan *shaker* lalu dipanaskan diatas *hot plate* dengan suhu 100°C selama 1 jam. Endapan kemudian disaring menggunakan kain saring lalu dicuci dengan air mengalir sampai bersih. Residu penyaringan dikeringkan pada suhu 145°C selama 30 menit sehingga diperoleh kitosan kasar berwarna putih yang sudah dapat digunakan (Isnawati, Wahyuningsih, Erfanur Adlhani, 2015).

3.5.2 Penyediaan sampel buah tomat

Buah tomat yang digunakan dipanen secara langsung dengan tujuan mendapatkan keseragaman dalam ukuran dan tingkat kematangan. Tomat dipanen langsung dari kebun tomat di Manggungsari, Kecamatan Rajapolah Kabupaten Tasikmalaya. Kriteria tomat yang dipanen yaitu dengan tingkat kematangan seragam bewarna *turning* dan berdiameter 4 sampai 5 cm yang diukur menggunakan jangka sorong. Jumlah tomat tiap unit adalah 3 buah dengan total 27 unit percobaan sehingga tomat yang digunakan adalah sebanyak 81 buah.

3.5.3 Pembuatan larutan

Larutan kitosan untuk aplikasi *edible coating* dibuat dengan konsentrasi sesuai perlakuan yang dicoba yaitu 2%, 4% dan 6% (b/v). Untuk membuat larutan kitosan konsentrasi 2% sebanyak 1000 ml yaitu 20 gram serbuk kitosan udang dilarutkan ke dalam 980 ml akuades dengan ditambahkan 20 ml asam asetat 1% kemudian diaduk rata. Perlakuan ini dilakukan juga pada pembuatan *edible coating* dari kitosan 4% dan 6%.

3.5.4 Penerapan perlakuan

Larutan kitosan untuk setiap konsentrasi yang dicoba (2%, 4% dan 6%) dibuat dalam *beaker glass*, masing-masing konsentrasi terdiri dari 9 wadah (sesuai dengan konsentrasi kitosan). Selanjutnya rendam masing-masing 9 buah tomat kedalam tiap wadah secara hati-hati sehingga tidak terjadi gesekan antara buah yang

satu dengan yang lainnya. Setelah semua buah tomat direndam lalu mulai menyalakan *stopwatch*, proses pengambilan buah tomat dari wadah disesuaikan dengan waktu yang sudah ditentukan yaitu 15 menit, 30 menit, dan 45 menit. Setelah mencapai batas waktu yang sudah ditentukan buah tomat dikering anginkan di atas meja yang permukannya sudah diberi lapisan tisu, ketika kondisi buah tomat sudah kering lalu buah tomat ditimbang menggunakan timbangan digital untuk mengetahui bobot awal buah saat penyimpanan setelah itu buah tomat disimpan pada penyimpanan buah dalam wadah penyimpanan di Laboratorium disusun sesuai dengan tata letak percobaan. Kemudian penyimpanan dilakukan pada suhu ruang (ruang laboratorium). Pada setiap perlakuan tersebut terdapat tiga buah tomat dalam satu kelompok dan diulang sebanyak tiga kali ulangan. Jumlah keseluruhan buah tomat yang diperlukan sebanyak 81 buah. Percobaan ini dilakukan selama 12 hari.

3.6 Pengamatan

3.6.1 Pengamatan penunjang

Pengamatan penunjang yaitu pengamatan yang datanya tidak dianalisis secara statistik dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh luar dari perlakuan. Pengamatan penunjang yang dilakukan terhadap suhu dan kelembaban, serta OPT (Organisme Pengganggu Tanaman) pasca panen yang menyerang buah tomat pada saat pengamatan.

3.6.2 Pengamatan utama

Adapun parameter pengamatan utama pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

a. Susut bobot buah tomat

Susut bobot diamati setiap 4 hari pada hari ke-4, 8 dan hari ke-12 HSI dengan menghitung penurunan bobot buah tomat. Penghitungan dilakukan pada buah sebelum diberikan perlakuan menggunakan timbangan digital. Perhitungan susut bobot dilakukan berdasarkan presentase penurunan berat bahan sejak awal

hingga akhir penyimpanan (Alhassan dan Abdul-Rahaman, 2014). Digunakan persamaan sebagai berikut :

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

b. Uji organoleptik

Uji organoleptik adalah uji dengan menggunakan indera manusia sebagai alat. Dalam penelitian ini menggunakan uji organoleptik menurut Sumardilan *et al* (2015) yang sudah dimodifikasi. Uji ini dilakukan dengan penilaian terhadap penampilan karakteristik fisik tomat yang telah dilakukan perlakuan pemberian pelapis *edible coating* kitosan. Pengujian dilakukan berdasarkan skala nilai yang disepakati oleh 15 orang panelis semi terlatih secara objektif pada hari ke-12 HSI. Parameter pengujian meliputi tingkat penerimaan/tingkat kesukaan. Skala penilaian pengujian organoleptik dapat dilihat pada Tabel 6 berikut:

Tabel 6. Uji Organoleptik

Skala Penilaian	Penilaian	Skor
Penerimaan/kesukaan	Sangat suka	4
	Suka	3
	Kurang suka	2
	Tidak suka	1

c. Tingkat kekerasan

Tingkat kekerasan buah diukur pada hari ke-4, 8 dan 12 HSI menggunakan alat penetrometer dengan memasukkan *cone* ke permukaan tomat. Pengukuran dilakukan pada beberapa lokasi yang berbeda pada buah seperti bagian atas, tengah, dan bawah buah tomat.

d. Waktu pembusukan

Setiap hari tomat diamati untuk mengetahui tanda pembusukkan pada permukaan tomat yang akan dicatat di atas kertas yang sudah dipersiapkan yang berisi catatan hari ke berapa tomat mengalami pembusukkan berdasarkan letak penyimpanan buah tomat, konsentrasi yang diberikan serta lama perendaman, sehingga dapat diketahui awal terkena serangan dan konsentrasi serta lama

perendaman yang paling efektif untuk menghambat pembusukan pada buah tomat. Namun, data yang didapat tidak dianalisis secara statistik. Kritea yang digunakan bila terjadinya pembusukan yaitu terdapat bercak atau bintik hitam pada tomat, munculnya jamur, terjadinya perubahan tekstur, berair dan beraroma busuk (Lospiani dkk., 2017).

e. Total padatan terlarut

Kandungan total padatan terlarut diukur menggunakan refraktometer digital. Sampel yang akan dianalisa dihaluskan dan cairan yang diperoleh diteteskan pada prisma pengukur refraktometer. Kandungan total padatan terlarut dibaca dengan satuan °Brix (Alhassan dan Rahaman, 2014). Pengamatan dilakukan pada 4, 8 dan 12 hari setelah inkubasi (HSI).