

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Proteksi Fakultas Pertanian Universitas Siliwangi dan Klinik Tanaman Balai Perlindungan Tanaman Pangan dan Hortikultura (BTPH) Sub Unit Pelayanan PTPH Wilayah V Kota Tasikmalaya Jawa Barat dimulai pada bulan Maret - April 2023.

3.2 Alat dan bahan penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu wadah, timbangan analitik, blender, ayakan, kain saring, oven, *magnetic stirrer*, *beaker glass*, cawan petri, *Erlenmeyer*, *thermometer*, gelas ukur, spatula, higrometer, lampu LED, kertas karton, selotip, kerangka bentuk persegi 50 cm x 25 cm, gunting, *cutter*, tripod, aplikasi *color grab* dan kamera *smartphone*.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu bunga marigold (*Tagetes patula* L.) (Lampiran 1) yang memiliki warna serta ukuran yang seragam sebanyak 216 bunga, limbah kulit udang *vannamei*, *aquades*, NaOH 48%, NaOH 10%, HCl 8%, asam asetat, dan sukrosa.

3.3 Metode penelitian

Metode yang digunakan pada penelitian ini yaitu metode eksperimental dengan rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari 9 (sembilan) perlakuan. Setiap perlakuan diulang sebanyak 3 (tiga) kali. Perlakuan dalam percobaan ini adalah konsentrasi kitosan, konsentrasi sukrosa, dan campuran dari keduanya dengan perlakuan sebagai berikut :

A : 0% Kitosan + 0% Sukrosa (Kontrol/Tanpa pelapisan)

B : 0,5% Kitosan

C : 1% Kitosan

D : 1% Sukrosa

E : 2% Sukrosa

F : 0,5% Kitosan + 1% Sukrosa

G : 0,5% Kitosan + 2% Sukrosa

H : 1% Kitosan + 1% Sukrosa

I : 1% Kitosan + 2% Sukrosa

3.4 Analisis data hasil pengamatan

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

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}$$

Dengan :

i : 1,2,3,4,5,6,7,8,9

j : 1,2,3

Keterangan :

γ_{ij} : Respon (nilai pengamatan) pada perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

μ : Nilai tengah umum (rata-rata respon)

τ_i : Pengaruh perlakuan ke-i

ϵ_{ij} : Pengaruh galat percobaan dari perlakuan ke- i dan ulangan ke- j

Data hasil pengamatan dianalisis untuk mengetahui pengaruh perlakuan yang diberikan terhadap variabel yang diamati menggunakan sidik ragam (Anova) dan kaidah pengambilan keputusan berdasarkan uji F dengan tingkat kepercayaan 95%. Data yang diperoleh dari hasil uji organolpetik dianalisis menggunakan uji non parametrik statistik uji *friedman-conover* dengan taraf signifikansi 5%, apabila terdapat perbedaan maka dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* menggunakan bantuan program SPSS.

Berdasarkan metode linear tersebut disusun dalam daftar sidik ragam sebagai berikut ini Tabel 2.

Tabel 1 . Daftar Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F tabel 5%
Perlakuan (P)	9-1 = 8	JKP	KTP	$\frac{KTP}{KTG}$	2,51
Galat (G)	9(3 - 1) = 18	JKT- JKP	KTG		
Total (T)	9.3 - 1 = 26	JKT			

Sumber : Gomez dan Gomez, 2010

Kaidah pengambilan keputusan didasarkan pada nilai F hitung yang dibandingkan dengan nilai F tabel (uj F) sebagai berikut :

Tabel 2. Kaidah Pengambilan Keputusan

Hasil analisis	Analisis	Kesimpulan percobaan
$F_{hit} \leq F_{0.05}$	Tidak berbeda nyata	Tidak ada pengaruh antar perlakuan
$F_{hit} > F_{0.05}$	Berbeda nyata	Ada perbedaan pengaruh antar perlakuan

Sumber : Gomez dan Gomez, 2010

Jika nilai F menunjukkan perbedaan nyata maka dilakukan uji lanjutan dengan Uji Jarak Berganda *Duncan* pada taraf nyata 5% dengan rumus sebagai berikut :

$$LSR = SSR \cdot S_x$$

$$SSR = (\alpha, dBg, p)$$

Nilai S_x dapat dicari dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

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

Keterangan :

S_x : Galat baku rata-rata (*Standard 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 antar perlakuan (*range*)

LSR : *Least Significant Range*

3.5 Pelaksanaan penelitian

3.5.1 Pembuatan kitosan

a. Persiapan bahan kulit udang

Limbah kulit udang yang telah diperoleh dari nelayan dicuci dengan air mengalir sampai bersih, kemudian keringkan dibawah sinar matahari sampai kering. Kulit udang yang sudah kering kemudian dihaluskan menggunakan blender dan diayak untuk mendapatkan serbuk kulit udang yang lebih halus.

b. Isolasi dan sintesis kitosan kulit udang

Serbuk halus kulit udang perlu dilakukan ekstraksi kitin untuk memperoleh kitosan yang kemudian dilanjutkan dengan proses deasetilasi kitin untuk mendapatkan serbuk kitosan, untuk mendapatkan kitin diperlukan beberapa tahapan proses yaitu proses deproteinasi dan demineralisasi. Proses deproteinasi dilakukan dengan cara mencampurkan serbuk limbah udang dengan larutan NaOH 10% dengan perbandingan 1:10 (1 g serbuk/10 ml NaOH 10%) selama 2 jam pada suhu 100 °C. Hasil proses deproteinasi kemudian dinetralkan dengan cara mencuci menggunakan air kemudian dikeringkan menggunakan oven. Langkah selanjutnya yaitu tahap demineralisasi dengan larutan HCl 8% 1:10 dengan perbandingan (1 g serbuk residu/10 ml HCl 8%). Padatan dari hasil proses sebelumnya diekstraksi pada suhu 80 °C selama 1 jam dengan larutan HCl 8%. Padatan hasil proses demineralisasi yang telah dikeringkan disebut dengan kitin. Kitin kasar yang telah diperoleh kemudian dilakukan proses deasetilasi menggunakan larutan NaOH untuk menjadi kitosan. Kitin kasar berwarna putih direndam menggunakan larutan NaOH 48% dengan perbandingan 1: 10 (1 g serbuk/ 10 ml NaOH 50%). Proses ekstraksi ini dilakukan pada suhu 110 °C selama 2 jam. Padatan hasil dari proses deasetilasi tersebut dicuci menggunakan air kemudian dikeringkan dalam oven dengan aliran udara panas. Kemudian akan diperoleh kitosan kasar berwarna putih yang sudah dapat digunakan (Purwanti dan Yusuf, 2013).

3.5.2 Pembuatan larutan *edible coating*

Larutan kitosan untuk pengaplikasian *edible coating* dibuat dengan konsentrasi sesuai dengan perlakuan yang diuji yaitu 0,5 %, dan 1%. Setiap unit percobaan membutuhkan 5 ml larutan sehingga setiap plot percobaan membutuhkan 35 ml larutan kitosan, untuk pembuatan konsentrasi 0,5% dilarutkan serbuk kitosan sebanyak 0,175 g dalam 35 ml *aquades* sedangkan pembuatan konsentrasi kitosan 1% dilarutkan serbuk kitosan sebanyak 0,35 g dalam 35 ml *aquades*, perhitungan dosis larutan *edible coating* dapat dilihat pada (Lampiran 3). Guna menghasilkan larutan yang homogen dilakukan pengadukan dengan menggunakan alat *magnetic stirrer* selama 60 menit dengan kecepatan 1.000 rpm.

Larutan sukrosa untuk pengaplikasian *edible coating* dibuat dengan konsentrasi sesuai dengan perlakuan yang akan diuji yaitu 1% dan 2%. Pembuatan

larutan sukrosa dengan konsentrasi 1% dilarutkan serbuk sukrosa sebanyak 0,35 g dalam 35 ml *aquades* sedangkan pembuatan konsentrasi sukrosa 2% dilarutkan serbuk sukrosa sebanyak 0,70 g dalam 35 ml *aquades*. Guna menghasilkan larutan yang homogen diperlukan melarutkan terlebih dahulu serbuk sukrosa dengan dosis masing-masing dengan 5 ml *aquades* kemudian setelah larutan homogen dapat ditambahkan *aquades* dengan volume yang dibutuhkan yaitu sebanyak 35 ml.

3.5.3 Aplikasi *edible coating*

Bunga marigold yang telah diperoleh dari petani dibersihkan dengan air mengalir kemudian dikeringanginkan. Sortasi bunga marigold dilakukan setelah pembersihan menggunakan air mengalir. Sampel dipilih sebanyak 7 bunga marigold, pemilihan sampel berdasarkan kenampakan dari segi ukuran dan warna yang hampir sama.

Teknik pengaplikasian larutan dilakukan dengan cara teknik semprot (*spraying*). Penyemprotan dilakukan pada bunga marigold yang telah disortasi dan dibersihkan menggunakan air mengalir dan kemudian dikeringanginkan. Sampel bunga marigold di semprot larutan sukrosa dengan konsentrasi 1% dan 2% kemudian dikeringanginkan menggunakan kipas angin sampai larutan sukrosa yang melapisi dirasa sudah cukup kering. Perlakuan sukrosa tanpa *coating* kitosan yang sudah cukup kering disimpan pada wadah dengan kondisi terbuka dan untuk bunga marigold yang ditambahkan dengan *coating* kitosan dilanjutkan pada tahap selanjutnya yaitu pelapisan *coating* kitosan.

Pengaplikasian *coating* kitosan dengan konsentrasi 0,5% dan 1% pada bunga marigold yang telah disortasi dan dibersihkan menggunakan air mengalir dan dikeringanginkan. Sampel yang telah diberikan *coating* kitosan kemudian dikeringanginkan menggunakan kipas angin dan jika dirasa sudah cukup kering disimpan pada wadah dengan kondisi terbuka. Bunga marigold dengan perlakuan kombinasi, penyemprotan dilakukan pada bunga marigold yang telah diberi perlakuan sukrosa. Larutan *coating* kitosan dengan konsentrasi 0,5%, dan 1% disemprot pada semua bagian sampel bunga marigold dengan volume semprot 17,5 ml pada 1 plot atau setara dengan 2,5 ml larutan kitosan. Sampel kemudian

dikeringanginkan menggunakan kipas angin sampai *coating* dirasa cukup kering. Sampel yang sudah kering disimpan pada wadah dengan kondisi terbuka.

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 ini dilakukan terhadap karakteristik kitosan, suhu dan kelembaban, serta perubahan warna bunga.

1. Parameter karakteristik kitosan yaitu :

a. Kelarutan kitosan

Kelarutan kitosan merupakan salah satu parameter yang dapat dijadikan sebagai standar penilaian mutu kitosan. Semakin tinggi kelarutan pada kitosan maka mutu kitosan yang dihasilkan semakin baik. Cara untuk mengetahui kelarutan kitosan yaitu dengan melarutkan kitosan dalam asam asetat dengan konsentrasi 2% dengan perbandingan 1:100 (g/mL) (Rochima et al. 2004).

b. Uji ninhidrine

Kitosan dimasukkan sebanyak 0,1 g kedalam wadah dan semprot dengan menggonkan larutan ninhidrine, kemudian diamkan selama 5 menit. Lakukan pengamatan dengan perubahan warna sampel menjadi ungu, jika terjadi perubahan warna maka diketahui adanya gugus amina dalam sampel.

c. Rendemen

Rendemen transformasi kitin menjadi kitosan ditentukan berdasarkan persentase berat kitosan yang dihasilkan terhadap berat kitin yang diperoleh (Zahiruddin et al. 2008). Perhitungan rendemen transformasi kitin menjadi kitosan dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{berat kitosan yang dihasilkan}}{\text{berat kitin}} \times 100\%$$

2. Suhu dan kelembaban :

Pencatatan suhu dan kelembaban dilakukan sebanyak dua kali perhari pada pagi dan sore hari, hal tersebut dilakukan untuk mengetahui suhu serta kelembaban ruangan tempat penelitian yang dapat mempengaruhi kualitas bunga marigold.

Proses pengukuran suhu dan kelembaban menggunakan *thermometer* dan higrometer.

3. Perubahan warna bunga

Warna merupakan faktor terpenting dalam hal penerimaan konsumen, karena jika produk terlihat tidak menarik, maka konsumen akan menolak penuh produk tanpa memperhatikan faktor lainnya. Perubahan warna bunga marigold akan tetap berlangsung setelah dilakukan pemanenan. Intensitas warna bunga marigold diidentifikasi dengan menggunakan aplikasi *color grab* pada *smartphone*. Dengan cara mengunggah gambar pada aplikasi tersebut, kemudian sistem akan mengeluarkan semua informasi pada gambar seperti nama warna, RGB, dan presentase warna. Untuk melakukan pengamatan warna pada bunga marigold diperlukan pembuatan *mini-box studio* yang akan digunakan sebagai tempat proses pemotretan. Adapun tahapan pembuatan *mini-box studio* sebagaiberikut :

- Dibuat kerangka berbentuk persegi dengan ukuran 50 cm x 25 cm.
- Kerangka bagian dalam dilapisi dengan kertas karton berwarna putih.
- Kerangka bagian atas diberi lubang sebagai tempat masuknya kabel lampu LED.
- Bagian kabel lampu LED dinyalakan dengan cara menyambungkan kabel dengan hantaran arus listrik.

Setelah pembuatan *mini-box studio* selesai, dilanjutkan pada tahap pemotretan bunga marigold menggunakan *smartphone*. Tahapan pemotretan dilakukan pada hari ke-0, ke-5, dan ke-10. Pemotretan dilakukan di dalam *mini-box* dengan menggunakan *smartphone* yang berisi aplikasi *color grab* dengan jarak 20 cm dan kamera diatur secara otomatis.

3.6.2. Pengamatan utama

Pengamatan utama yaitu pengamatan yang datanya dianalisis secara statistik. Parameter pengamatan utama pada penelitian ini sebagai berikut :

1. Intensitas kerusakan

Selain karakter fisik bunga, pengamatan juga dapat dilihat dari perkembangan fisik bunga sejak panen hingga bunga layu. Pengamatan intensitas kerusakan bunga marigold dilakukan secara visual di hari ke-0, hari ke-5, dan hari ke-

10 dengan melihat kerusakan fisik bunga marigold. Hasil pengamatan disusun sebagai kriteria indeks kerusakan bunga mengacu pada penelitian yang telah dilakukan oleh (Amiarsi dan Tejasarwana, 2011).

Tabel 3. Indeks kerusakan bunga

Tingkat indeks (Indexes level)	Kriteria kerusakan bunga (Criteria of flower damages)
1	Petal terluar 2-7 helai mulai layu, petal bagian dalam masih segar
2	Petal terluar semua agak layu dan bagian tepi petal mulai mengering, pemudaran warna petal mulai terjadi
3	Petal terluar semua layu/rontok-kering/rontok diikuti oleh lapisan petal bagian dalam layu/rontok, warna petal sudah lebih pudar, sepal mulai mengering.

Sumber : Amiarsi dan Tejasarwana. 2011

Selanjutnya dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$P(\%) = \frac{\sum(n \times v)}{N \times V} \times 100\%$$

Keterangan :

P : Intensitas kerusakan (%)

N : Jumlah bunga dalam satu unit percobaan

V : Nilai rating maksimum (3)

v : Nilai rating kerusakan

n : Jumlah bunga yang masuk kategori rating tertentu

2. Susut bobot

Susut bobot pada bunga dapat berpengaruh pada mutu bunga marigold yang menunjukkan tingkat kesegaran. Menurut Kenneth dan Salveit (2016) berkurangnya berat bunga membuat tampilan bahan kurang menarik, tekstur menjadi jelek dan menurunkan mutu. Perhitungan susut bobot dilakukan untuk mengetahui penyusutan bobot bunga marigold dengan menggunakan timbangan analitik. Perhitungan susut bobot dilakukan pada hari ke-0, hari ke-5, dan hari ke-10 kemudian akan diperoleh selisih bobot bunga marigold setiap 5 hari sekali. Susut bobot dihitung menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Susut bobot} = \frac{W_0 - W_a}{W_0} \times 100\%$$

Keterangan :

W_0 : bobot buah hari ke-

W_a : bobot akhir buah

3. *Vase life*

Vase life atau masa kesegaran bunga potong merupakan komponen utama penentu kualitas bunga potong yang dihitung sejak bunga dipanen hingga layu atau gugur (Hasanatie *et al.*, 2018). Pengamatan bunga marigold dilakukan dengan cara pengamatan visual pada hari ke-0, hari ke-5, hari dan hari ke-10. Pengamatan ini dilakukan dengan metode *skoring* berdasarkan penelitian yang telah dilakukan Fitria *et al.*, (2021). Perubahan penampilan fisik bunga sebagai penentuan skoring adalah sebagai berikut : (a) bunga mekar sempurna ; (b) kuntum bunga tegk dan mahkota segar, berwarna cerah ; (c) Tangkai bunga segar dan berwarna hijau ; (d) ujung mahkota bunga lemas, mengering, mentup (keriput) atau menggulung ke dalam ; (e) mahkota bunga terbuka ; (f) terkulainya tangkai pada bagian dasar mahkota bunga hingga mahkota bunga merunduk ; (g) tangkai berubah warna menjadi coklat ; (h) terjadi perubahan warna menjadi lebih pucat atau memudarnya warna mahkota bunga. Dengan ketentuan skoring **Skor 1** = Segar (semua ciri a,b,c yang dideskripsikan), **Skor 2** = Mulai layu (salah satu atau kombinasi ciri d,e,f,g,h yang di deskripsikan), dan **Skor 3** = Layu (*Senescence*/ mati semua ciri d,e,f,g,h).

4. Uji organoleptik

Uji organoleptik dilakukan menggunakan parameter kenampakan. Panelis yang digunakan yaitu panelis semi terlatih berjumlah 25 orang. Panelis semi terlatih merupakan panelis yang telah diberikan pemahaman mengenai produk dan parameter pengamatan sebelum dilakukan pengujian. Adapun skala masing-masing penilaian yaitu dilihat dari kondisi fisik, tingkat kesegaran, aroma, dan penerimaan/kesukaan bunga marigold tercantum pada Tabel 4.

Uji organoleptik dilakukan dengan cara memberikan kuesioner kepada para panelis. Sebelum kuesioner disebarkan diperlukan terlebih dahulu uji kualitas data untuk mengetahui kuesioner tersebut layak atau tidak disebarkan kepada panelis atau responden. Uji kualitas data diperlukan melalui tahap uji validitas dan uji reliabilitas. Uji validitas digunakan untuk mengukur sah atau valid tidaknya suatu

kuesioner. Suatu kuesioner dikatakan valid jika pernyataan pada kuesioner mampu untuk mengungkapkan sesuatu yang akan diukur oleh kuesioner tersebut. Mengukur validitas dapat dilakukan dengan melakukan kolerasi antar skor butir pertanyaan dengan total skor kontruk variabel. Uji validitas dapat dilakukan dengan menggunakan bantuan program SPSS.

Selanjutnya menggunakan uji reliabilitas yang biasa digunakan untuk melihat konsistensi pada objek dan data, sejauh mana suatu alat ukur dapat dipercaya atau dapat diandalkan, dengan kata lain untuk melihat instrumen yang digunakan untuk mengukur objek yang sama beberapa kali akan menghasilkan data yang sama atau tidak. Uji reliabilitas kuesioner dalam penelitian ini menggunakan metode uji reabilias cronbach's alpha dengan bantuan program SPSS.

Berikut ini ialah skala penilaian uji organoleptik pada bunga marigold (*Tagetes patula* L.) :

Tabel 4. Uji organoleptik

Skala Penilaian	Penilaian	Skor
Kondisi fisik	Sangat baik	4
	Baik	3
	Kurang baik	2
	Tidak baik	1
Tingkat kesegaran	Sangat segar	4
	Segar	3
	Kurang segar	2
	Tidak segar	1
Aroma	Tidak berbau	4
	Agak menyengat	3
	Menyengat	2
	Sangat menyengat	1
Penerimaan/kesukaan	Sangat suka	4
	Suka	3
	Kurang suka	2
	Tidak suka	1

Petunjuk pengisian uji organoleptik terdapat pada (Lampiran 4). Penentuan skala penilaian kondisi fisik bunga marigold dilakukan dengan ketentuan skoring sebagai berikut : **Skor 1** = Tidak baik, indikator warna bunga bagian petal dalam dan terluar memudar dan ada bagian bunga yang rusak ; **Skor 2** = Kurang baik, indikator warna bunga bagian petal dalam dan terluar memudar dan bunga layu ;

Skor 3 = Baik, indikator warna bagian petal memudar, petal bagian terluar segar dan bunga mekar sempurna ; **Skor 4** = Sangat baik, indikator warna bunga bagian petal dalam dan terluar segar dan bunga mekar sempurna. Penentuan skala penilaian tingkat kesegaran dilakukan dengan ketentuan skoring sebagai berikut : **Skor 1** = Tidak segar, indikator bunga rusak/rontok ; **Skor 2** = Kurang segar, indikator bunga sudah layu dan sebagian bagian bunga berwarna kecoklatan ; **Skor 3** = Segar, indikator bunga mekar sempurna dan warna bunga mulai memudar ; **Skor 4** = Sangat segar, indikator bunga mekar sempurna dan warna bunga mencolok. untuk uji aroma yaitu dengan cara mencium mahkota bunga marigold dengan ketentuan sebagai berikut : **Skor 1** = Pada keseluruhan bagian bunga tercium aroma yang tidak sedap ; **Skor 2** = Pada sebagian bagian bunga tercium aroma tidak sedap ; **Skor 3** = Pada bagian bunga tercium samar aroma tidak sedap ; **Skor 4** = Pada keseluruhan bagian bunga tidak tercium aroma, dan untuk uji penerimaan/kesukaan yaitu dengan menilai bunga marigold secara keseluruhan.