

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan tempat penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret 2024 sampai bulan April 2024 di dalam ruangan steril yang bertempat di Desa Kulur, Kecamatan Majalengka, Kabupaten Majalengka.

#### **3.2 Alat dan bahan penelitian**

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini adalah buret, *beaker glass*, baki, pisau, blender, timbangan, talenan, gelas ukur, erlenmeyer, spatula, tabung reaksi, saringan, refraktometer, higrometer, pipet tetes, *magnetic stirrer*, botol semprot, dan *rotary evaporator*.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak daun pandan wangi, serbuk kitosan, pisang Cavendish indeks kematangan 3, akuades, asam asetat 1%, air panas, bubuk magnesium sulfat, HCl pekat, HCl 2 N, larutan besi klorida, Fenolptalein, NaOH 0,1 N, dan etanol 96%.

#### **3.3 Metode penelitian**

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial yang terdiri dari 2 faktor, yaitu ekstrak daun pandan wangi (E) dan kitosan (K) yang masing-masing terdiri dari 3 perlakuan dengan 3 kali ulangan. Perlakuan konsentrasi yang dicoba adalah sebagai berikut:

Ekstrak daun pandan wangi (E):

$e_0$  = Ekstrak daun pandan wangi 0%

$e_1$  = Ekstrak daun pandan wangi 10%

$e_2$  = Ekstrak daun pandan wangi 20%

Kitosan (K):

$k_0$  = Kitosan 0%

$k_1$  = Kitosan 1%

$k_2$  = Kitosan 2%

Percobaan ini terdiri dari 9 kombinasi perlakuan dan setiap perlakuan terdiri dari 5 sampel. Kombinasi antara perlakuan ekstrak daun pandan wangi dan kitosan disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Kombinasi perlakuan

Ekstrak daun pandan wangi (E)	Kitosan (K)		
	k <sub>0</sub>	k <sub>1</sub>	k <sub>2</sub>
e <sub>0</sub>	e <sub>0</sub> k <sub>0</sub>	e <sub>0</sub> k <sub>1</sub>	e <sub>0</sub> k <sub>2</sub>
e <sub>1</sub>	e <sub>1</sub> k <sub>0</sub>	e <sub>1</sub> k <sub>1</sub>	e <sub>1</sub> k <sub>2</sub>
e <sub>2</sub>	e <sub>2</sub> k <sub>0</sub>	e <sub>2</sub> k <sub>1</sub>	e <sub>2</sub> k <sub>2</sub>

### 3.4 Analisis data

Berdasarkan rancangan yang digunakan, maka dikemukakan model linier dari Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial yang dianalisis menggunakan sidik ragam dan kaidah pengambilan keputusan berdasarkan uji F.

Tabel 4. Analisis ragam (ANOVA)

SK	DB	JK	KT	F <sub>hitung</sub>	F <sub>tabel 0,05</sub>
Perlakuan	8	$\sum T^2/r - FK$	JK <sub>P</sub> /db <sub>P</sub>	KT <sub>P</sub> /KT <sub>G</sub>	2,51
Ekstrak daun pandan wangi (E)	2	$\sum E^2/rK - FK$	JK <sub>E</sub> /db <sub>E</sub>	KT <sub>E</sub> /KT <sub>G</sub>	3,55
Kitosan (K)	2	$\sum K^2/rE - FK$	JK <sub>K</sub> /db <sub>K</sub>	KT <sub>K</sub> /KT <sub>G</sub>	3,55
E x K	4	JK <sub>E</sub> -JK <sub>K</sub>	JK <sub>ExK</sub> /db <sub>ExK</sub>	KT <sub>ExK</sub> /KT <sub>G</sub>	2,93
Galat	18	JK <sub>T</sub> -JK <sub>P</sub>	JK <sub>G</sub> /db <sub>G</sub>		
Total	26	$\sum x^2 - FK$			

(Sumber: Gomez dan Gomez, 2010)

Tabel 5. Kaidah pengambilan keputusan

Hasil Analisis	Kesimpulan Analisis	Keterangan
F <sub>hitung</sub> ≤ F <sub>0,05</sub>	Berbeda tidak nyata	Tidak ada pengaruh
F <sub>hitung</sub> > F <sub>0,05</sub>	Berbeda nyata	Ada pengaruh

Apabila F<sub>hitung</sub> menunjukkan perbedaan nyata pada interaksi, maka dilakukan uji lanjutan dengan Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf nyata 5% dengan rumus:

$$LSR = S_x \times SSR$$

Nilai S<sub>x</sub> dapat dicari dengan rumus sebagai berikut:

- 1) Apabila terjadi interaksi, untuk membedakan pengaruh faktor E pada seluruh taraf faktor K, dan sebaliknya untuk membedakan pengaruh faktor K pada seluruh taraf faktor E, S<sub>x</sub> digunakan rumus:

$$S_x = \sqrt{\frac{KT G}{r}}$$

- 2) Apabila tidak terjadi interaksi, untuk membedakan pengaruh faktor E (ekstrak daun pandan wangi) pada setiap taraf faktor K (kitosan) digunakan rumus:

$$S_E = \sqrt{\frac{KT G}{r \times E}}$$

- 3) Apabila tidak terjadi interaksi, untuk membedakan pengaruh faktor K (kitosan) pada seluruh taraf faktor E (ekstrak daun pandan wangi) digunakan rumus:

$$S_K = \sqrt{\frac{KT G}{r \times K}}$$

Keterangan:

LSR = *Least Significant Ranges*

SSR = *Studentized Significant Ranges*

$S_x$  = Galat baku rata-rata

$S_e$  = Galat baku rata-rata ekstrak daun pandan

$S_k$  = Galat baku rata-rata kitosan

KT G = Kuadrat tengah galat

r = Jumlah ulangan

E = Db perlakuan e

K = Db perlakuan k

### 3.5 Pelaksanaan penelitian

#### 3.5.1 Pemilihan buah pisang Cavendish

Buah pisang Cavendish yang digunakan untuk bahan percobaan diperoleh dari petani pisang Cavendish di Desa Andir, Kecamatan Jatiwangi, Kabupaten Majalengka. Buah pisang Cavendish yang digunakan adalah buah dengan indeks warna 3 (Tabel 1), yaitu warna hijau lebih dominan daripada kuning. Buah pisang Cavendish yang dipilih yaitu buah yang memiliki penampakan baik tanpa ada kerusakan fisik seperti kulit buah tidak terdapat bercak jamur atau penyakit, dengan tingkat kematangan seragam.

Buah pisang Cavendish yang telah disortir sesuai dengan kriteria selanjutnya dicuci dengan air mengalir, kemudian dikering anginkan, setelah kering

buah pisang Cavendish siap untuk diaplikasikan dengan ekstrak daun pandan dan kitosan. Jumlah buah yang digunakan sebanyak 5 buah per unit perlakuan, dengan 9 kombinasi perlakuan, dan diulang sebanyak 3 kali sehingga secara keseluruhan digunakan sebanyak 135 buah pisang Cavendish.

### 3.5.2 Pembuatan larutan ekstrak daun pandan wangi (Juariah dkk., 2022 dengan modifikasi)

Pembuatan ekstrak daun pandan wangi dilakukan dengan menyiapkan daun pandan wangi yang masih segar, tidak terkena hama dan penyakit, kemudian daun pandan wangi dicuci, lalu dipotong kecil-kecil, dan dikeringkan dengan sinar matahari selama 3 jam. Setelah kering, daun pandan wangi diblender sampai menjadi serbuk, kemudian serbuk ditimbang sebanyak 100 g, selanjutnya serbuk direndam dengan etanol 96% yang disimpan pada wadah kaca, dengan perbandingan 1:10 (100 g serbuk/1000 ml etanol 96%). Serbuk yang telah direndam diaduk sebentar, kemudian ditutup, lalu wadah disimpan di tempat yang tidak terkena sinar matahari selama 48 jam. Setelah 2 hari penyimpanan, sampel disaring dan dibuang ampasnya, kemudian ekstrak cair daun pandan wangi diuapkan dengan rotary evaporator pada suhu 60°C selama 1 jam.

Setiap buah pisang Cavendish membutuhkan 5 ml larutan ekstrak daun pandan wangi. Pembuatan larutan ekstrak daun pandan wangi dibuat sesuai dengan konsentrasi perlakuan, yaitu 10% dan 20%. Pembuatan konsentrasi 10% dilakukan dengan melarutkan larutan ekstrak daun pandan wangi sebanyak 10 ml dengan aquades hingga volume 100 ml. Pembuatan konsentrasi 20% dilakukan dengan melarutkan larutan ekstrak daun pandan wangi sebanyak 20 ml dengan aquades hingga volume 100 ml.

### 3.5.3 Pembuatan larutan kitosan (Hilma dkk., 2018 dengan modifikasi)

Pembuatan larutan serbuk kitosan dibuat sesuai dengan konsentrasi perlakuan, yaitu 1% dan 2%. Pembuatan larutan serbuk kitosan dengan konsentrasi 1% sebanyak 100 ml yaitu 1 g serbuk kitosan dilarutkan ke dalam 100 ml asam asetat 1%, sedangkan untuk membuat larutan serbuk kitosan dengan konsentrasi 2% sebanyak 100 ml yaitu 2 g serbuk kitosan dilarutkan ke dalam 100 ml asam asetat

1%. Larutan kemudian diaduk rata, dipanaskan pada suhu 30°C selama 50 menit menggunakan *magnetic stirrer*, sehingga didapatkan larutan kitosan yang kental.

Setiap buah pisang Cavendish membutuhkan 5 ml larutan kitosan. Pembuatan larutan kitosan dibuat sesuai dengan konsentrasi perlakuan, yaitu 1% dan 2%. Pembuatan konsentrasi 1% dilakukan dengan melarutkan larutan kitosan sebanyak 1 ml dengan aquades hingga volume 100 ml. Pembuatan konsentrasi 2% dilakukan dengan melarutkan larutan kitosan sebanyak 2 ml dengan aquades hingga volume 100 ml.

#### 3.5.4 Aplikasi perlakuan *coating*

Teknik aplikasi *coating* pada buah pisang Cavendish dilakukan dengan teknik semprot menggunakan botol semprot, dengan arah penyemprotan dilakukan secara merata yang dimulai dari bagian atas (tangkai buah) sampai bagian bawah buah. Buah pisang Cavendish disemprot sebanyak 5 ml dengan larutan ekstrak daun pandan wangi, lalu dikering anginkan selama 15 menit. Setelah kering, buah pisang Cavendish disemprot sebanyak 5 ml dengan larutan kitosan, lalu kering anginkan kembali. Setelah kering, buah pisang Cavendish disimpan pada baki selama 10 hari pada suhu ruang. Buah disimpan pada baki penyimpanan di ruangan penyimpanan yang disusun sesuai dengan tata letak percobaan pada Lampiran 1.

### 3.6 Parameter pengamatan

#### 3.6.1 Pengamatan penunjang

##### 1. Suhu dan kelembaban

Pengamatan suhu dan kelembaban dilakukan dua kali sehari. Pengamatan dilakukan pada pagi dan sore hari.

##### 2. Uji fitokimia ekstrak daun pandan wangi

Uji fitokimia ekstrak daun pandan wangi dilakukan dengan skrining fitokimia. Skrining fitokimia ekstrak daun pandan wangi dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak daun pandan wangi. Tahapan dalam skrining fitokimia ekstrak daun pandan wangi meliputi uji senyawa flavonoid, saponin, dan tannin.

a. Uji kualitatif senyawa flavonoid

1 g ekstrak daun pandan wangi dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 2 mg bubuk magnesium sulfat dan 3 tetes HCl pekat, kemudian dikocok, lalu perubahan yang terjadi diamati. Terbentuknya warna merah, kuning atau jingga pada larutan menunjukkan adanya senyawa flavonoid (Rahmasiahi dkk., 2023).

b. Uji kualitatif senyawa saponin

2 g ekstrak daun pandan wangi dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 10 mL air panas, kemudian dikocok secara vertikal selama  $\pm 10$  detik yang menunjukkan adanya buih pada sampel, selanjutnya ditambahkan 1 tetes HCL 2 N, lalu dikocok secara vertikal selama 10 detik. Terbentuknya buih setinggi 1–10 cm yang stabil selama minimal 10 menit (busa tidak hilang) menunjukkan adanya saponin (Rahmasiahi dkk., 2023).

c. Uji kualitatif senyawa tanin

1 g ekstrak daun pandan wangi dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 2 tetes larutan besi klorida 10%, kemudian dikocok, lalu perubahan warna yang terjadi diamati. Warna biru tua atau hitam kehijauan menunjukkan adanya tanin (Rahmasiahi dkk., 2023).

### 3.6.2 Pengamatan utama

#### 1. Susut bobot buah

Perhitungan susut bobot dilakukan 2 kali yaitu pada hari ke-4 dan ke-7. Menurut Widodo dkk., (2019), susut bobot dihitung dengan rumus:

$$\text{Susut bobot} = \frac{\text{Bobot awal buah} - \text{Bobot buah hari ke-n}}{\text{Bobot awal buah}} \times 100\%$$

#### 2. Umur pembusukan

Buah pisang Cavendish diamati setiap hari untuk mengetahui kondisi buah pisang Cavendish sampai dengan mengalami pembusukan, sehingga dapat diketahui awal terkena serangan dan dapat diketahui konsentrasi yang paling efektif untuk menghambat pembusukan pada buah pisang Cavendish. Buah pisang Cavendish yang mengalami pembusukan ditandai dengan adanya perubahan warna dari kuning menjadi coklat kehitaman, perubahan tekstur menjadi sangat lunak, dan

perubahan aroma buah menjadi aroma yang tidak sedap atau busuk. Menurut Ifmalinda dan Windasari (2018), jumlah buah busuk dihitung dengan rumus:

$$\text{Buah busuk} = \frac{\text{Jumlah buah busuk}}{\text{Jumlah total buah}} \times 100\%$$

### 3. Intensitas kerusakan buah

Pengamatan intensitas kerusakan buah pisang Cavendish dilakukan pada hari ke-4, ke-7, dan ke-10. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan perhitungan:

$$\text{Intensitas kerusakan} = \frac{\sum(n \times v)}{Z \times N} \times 100\%$$

Keterangan:

- n = Jumlah buah pada skala-v
- v = Nilai skala kerusakan buah
- Z = Nilai skala kerusakan tertinggi
- N = Jumlah buah yang diamati

Tabel 6. Nilai skala skor kerusakan buah

Nilai skala	Tingkat kerusakan (%)	Kategori kerusakan
0	0%	Tidak ada kerusakan
1	1–25%	Ringan (bercak coklat hitam melebar)
2	25–50%	Sedang (kulit coklat kehitaman di bagian atas atau bawah)
3	50–75%	Berat (hampir seluruh kulit coklat kehitaman, sedikit berjamur di bagian atas atau bawah)
4	> 75%	Sangat berat (kulit hitam, berair, berjamur seluruhnya)

(Sumber: Deden dkk., 2023 dengan modifikasi)

### 4. Total padatan terlarut (TPT)

Pengukuran TPT dilakukan dengan menggunakan alat refraktometer. Nilai TPT dinyatakan dalam satuan °Brix. Pengamatan TPT dilakukan pada hari ke-1 dan ke-5 setelah aplikasi. Pengukuran TPT dilakukan dengan cara mengambil sampel buah yang akan diukur, lalu buah dihancurkan dan diperas tanpa penambahan air, kemudian larutan buah diteteskan pada kaca refraktometer manual, selanjutnya skala pada refraktometer dibaca dan dicatat hasilnya (Kusumiyati dkk., 2018).

## 5. Total asam buah (TA)

Penentuan TA dilakukan dengan cara titrasi. Daging buah diambil sebanyak 10 g, lalu dihaluskan, kemudian dimasukkan ke dalam gelas piala, lalu dipindahkan ke dalam labu ukur dan ditambahkan akuades hingga volume 100 ml, labu ukur dibolak-balikan agar larutan buah dan akuades tercampur, kemudian larutan disaring dan diambil 10 ml larutan, lalu masukkan ke dalam erlenmeyer, selanjutnya indikator fenolphtalein diteteskan sebanyak 3 tetes dan digoyangkan sebentar, kemudian larutan dititrasi dengan NaOH 0,1 N sampai berwarna merah muda, dan volume NaOH 0,1 N yang digunakan untuk titrasi dicatat, awal larutan dicatat kemudian ketika larutan sudah berubah menjadi merah muda dicatat kembali (Gardjito dan Wardana, 2003). Pengamatan TA dilakukan pada hari ke-1 dan ke-5 setelah aplikasi. Menurut Sadler dan Murphy (2010), perhitungan total asam dihitung dengan rumus:

$$TA = \frac{\text{NaOH (ml)} \times \text{NaOH (N)} \times \text{FP} \times \text{BE}}{\text{Berat sampel (g)} \times 1000} \times 100\%$$

Keterangan:

FP = Faktor Pengencer (100/10 = 10)

BE = Berat ekuivalen (asam sitrat = 64)

## 6. Uji organoleptik

Uji organoleptik ini dilakukan terhadap warna kulit buah, aroma, dan tingkat kesegaran yang ditentukan berdasarkan skala nilai (Tabel 7) yang telah disepakati oleh 15 orang panelis. Panelis merupakan panel agak terlatih yang sebelumnya dilatih untuk mengetahui sifat-sifat tertentu seperti warna, aroma, dan tekstur. Menurut Khairunnisa dan Syukri (2021), panel agak terlatih terdiri dari 15–25 orang yang sebelumnya dilatih untuk mengetahui sifat sensorik tertentu. Uji organoleptik aroma dan tekstur dilakukan 2 kali pengamatan, yaitu pada hari ke-4 dan ke-7, sedangkan uji organoleptik warna kulit buah dan tingkat kesegaran dilakukan 3 kali pengamatan, yaitu pada hari ke-1, ke-4, dan ke-7. Kriteria dan skor uji organoleptik dapat dilihat pada Tabel 7.

Pengujian dilakukan pada semua buah pisang Cavendish yang diberi perlakuan *coating* ekstrak daun pandan dan kitosan sehingga dapat terlihat



perubahan pisang Cavendish dalam skala nilai tersebut. Uji warna kulit dilakukan dengan cara melihat warna kulit buah pisang Cavendish, uji aroma dilakukan dengan cara mencium aroma buah pisang Cavendish, uji tekstur dilakukan untuk mengukur kekerasan buah yaitu dengan menekan permukaan kulit buah pisang Cavendish, dan uji tingkat kesegaran dilakukan dengan melihat kesegaran buah pisang Cavendish.

Tabel 7. Kriteria penilaian uji organoleptik pisang Cavendish

Penilaian	Kriteria Penilaian	Skor
Warna Kulit	Kuning Banyak Bintik Coklat	5
	Kuning Sedikit Bintik Coklat	4
	Kuning Seluruhnya	3
	Kuning Semburat Hijau	2
	Hijau	1
Tingkat Kesegaran	Sangat Tidak Segar	5
	Tidak Segar	4
	Agak Segar	3
	Segar	2
	Sangat Segar	1
Aroma	Sangat Busuk	5
	Busuk	4
	Tidak Beraroma	3
	Harum	2
	Sangat Harum	1
Tekstur	Sangat Lunak	5
	Lunak	4
	Agak Lunak	3
	Keras	2
	Sangat Keras	1