

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Dasar Fakultas Pertanian Universitas Siliwangi, Kelurahan Mugarsari, Kecamatan Tamansari, Kota Tasikmalaya, Jawa Barat pada bulan Agustus 2022 sampai bulan November 2022.

3.2 Alat dan bahan penelitian

Alat yang digunakan berupa gelas ukur, *beaker glass*, tabung reaksi, batang pengaduk, baki, neraca digital, neraca analitik, termometer, *hygrometer*, refraktometer, *magnetic stirrer*, ayakan, mortar, alu, blender, oven, buret, statif, klem, pompa, pipet volume, pipet tetes, erlenmeyer, kaca arloji, labu takar, cawan petri, cawan porselen, desikator, keranjang penyimpanan, baskom dan alat tulis.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah tomat varietas tymoti dengan tingkat kematangan yaitu *breakers*, *turning* dan *pink* (dengan kriteria seperti terlihat pada Tabel 1.), cangkang kulit udang, kitosan kepiting komersil, *aquades*, CH₃COOH, NaOH. HCl, NaOCl, indikator phenolptalin, kertas saring, pH *indicator universal*, kertas label.

3.3 Metode penelitian

Penelitian dilakukan dengan metode eksperimental menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) pola faktorial yang terdiri dari 2 faktor dan 3 ulangan. Faktor pertama adalah jenis kitosan (J) terdiri dari 3 taraf yaitu:

j_1 = *aquades* (kontrol)

j_2 = kitosan kepiting 1,5%

j_3 = kitosan udang 1,5%

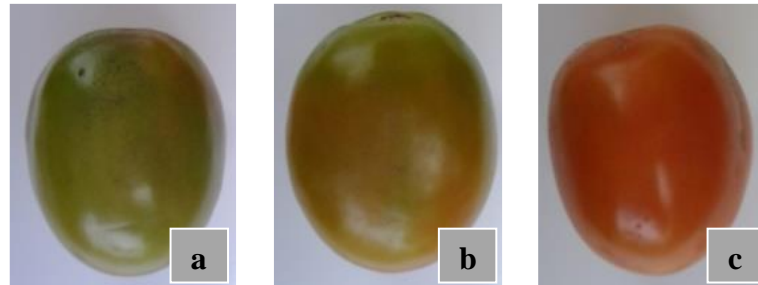
Faktor kedua adalah tingkat kematangan buah tomat saat dipetik/dipanen (T) terdiri dari 3 taraf yaitu:

t_1 = *breakers* (tingkat kematangan hijau kekuningan 10%)

t_2 = *turning* (tingkat kematangan kuning kehijauan 10 sampai 30%)

t_3 = *pink* (tingkat kematangan merah atau jingga 30 sampai 60%)

Secara visual tingkat kematangan buah yang diuji seperti terlihat pada gambar berikut:



Gambar 1. Tingkat kematangan tomat yang digunakan untuk pengamatan
a. *breakers* b. *turning* c. *pink*

Percobaan ini terdiri dari 9 kombinasi perlakuan. Kombinasi antara jenis kitosan dengan tingkat kematangan buah tomat adalah sebagai berikut:

Tabel 2. Kombinasi perlakuan jenis kitosan (J) dan tingkat kematangan buah tomat (T)

Jenis kitosan (J)	Tingkat kematangan buah tomat (T)		
	t_1 (<i>Breakers</i>)	t_2 (<i>Turning</i>)	t_3 (<i>Pink</i>)
j_1 = aquades (kontrol)	j_1t_1	j_1t_2	j_1t_3
j_2 = kitosan kepiting 1,5%	j_2t_1	j_2t_2	j_2t_3
j_3 = kitosan udang 1,5%	j_3t_1	j_3t_2	j_3t_3

Berdasarkan rancangan yang digunakan, maka model liniernya adalah sebagai berikut:

$$X_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{i(j)k} \text{ dengan } i = 1,2,\dots ; j = 1,2,\dots ; k = 1,2,\dots$$

$$X_{ijk} = \text{Nilai pengamatan}$$

$$\mu = \text{Rataan umum}$$

$$\alpha_i = \text{Pengaruh jenis kitosan (J)}$$

$$\beta_j = \text{Pengaruh tingkat kematangan buah tomat (T)}$$

$$(\alpha\beta)_{ij} = \text{Pengaruh interaksi antara faktor jenis kitosan (J) dan faktor tingkat kematangan buah tomat (T)}$$

$$\varepsilon_{i(j)k} = \text{Galat percobaan}$$

Data hasil pengamatan diolah menggunakan analisis statistik dan dimasukkan ke dalam daftar sidik ragam untuk mengetahui taraf nyata dari uji F.

Tabel 3. Analisis ragam

Sumber keragaman	db	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	F _{hit}	F _{0,05}
Ulangan	2	$\frac{\Sigma r^2}{jt} - FK$	$\frac{JKU}{dbU}$	$\frac{KTU}{dbG}$	3,55
Perlakuan	8	$\frac{\Sigma t^2}{r} - FK$	$\frac{JKP}{dbP}$	$\frac{KTP}{KTG}$	2,51
Faktor J	2	$\frac{\Sigma r^2}{jt} - FK$	$\frac{JKK}{dbK}$	$\frac{KTJ}{KTG}$	3,55
Faktor T	2	$\frac{\Sigma r^2}{jt} - FK$	$\frac{JKT}{dbT}$	$\frac{KTT}{KTG}$	3,55
Interaksi JT	4	$JKP - JKK - JKT$	$\frac{JK jxt}{db jxt}$	$\frac{KT JxT}{KTG}$	2,93
Galat	18	$JKT - JKU - JKP$	$\frac{JKG}{dbG}$		
Total	26	$\Sigma X_{ij}^2 - FK$			

Sumber: Gomez dan Gomez (2015)

Kaidah pen gambilan keputusan berdasarkan nilai F_{hit} dapat dilihat pada:

Tabel 4. Kaidah pengambilan keputusan

Hasil analisis	Kesimpulan	Keterangan
$F_{hit} \leq F_{0,05}$	Berbeda tidak nyata	Tidak ada perbedaan antar perlakuan
$F_{hit} > F_{0,05}$	Berbeda nyata	Terdapat perbedaan antar perlakuan

Sumber: Gomez dan Gomez (2015)

Bila terdapat perbedaan yang nyata, maka dilakukan uji lanjutan dengan uji jarak berganda Duncan pada taraf 5% dengan rumus berikut :

$$LSR(\alpha, db_g) = SSR(\alpha, db_g) \times S_x$$

$$LSR = \text{Least Significant Range}$$

$$SSR = \text{Student zed Significant Range}$$

$$\alpha = \text{Taraf nyata}$$

$$db_g = \text{Derajat bebas galat}$$

$$S_x = \text{Simpangan baku rata-rata}$$

1. Apabila terjadi interaksi, untuk membedakan faktor jenis kitosan (J) pada setiap taraf faktor tingkat kematangan buah tomat (T), dan membedakan faktor tingkat kematangan buah tomat (T) pada setiap taraf faktor jenis kitosan (J). S_x diperoleh dengan rumus:

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

2. Apabila tidak terjadi interaksi,

- a. untuk membedakan faktor J pada seluruh taraf faktor T, S_x diperoleh dengan rumus:

$$S_x = \sqrt{\frac{KTG}{rt}}$$

- b. untuk membedakan faktor T pada seluruh taraf faktor J, S_x diperoleh dengan rumus

$$S_x = \sqrt{\frac{KTG}{rj}}$$

3.4 Pelaksanaan penelitian

3.4.1 Pemilihan buah tomat

Tomat yang digunakan untuk bahan percobaan diperoleh dari petani tomat di Desa Cigorowong, Kecamatan Cisayong, Kabupaten Tasikmalaya. Teknik pengambilan buah tomat dilakukan dengan cara mengacu pada penelitian Johansyah dkk. (2014):

- a. Buah tomat yang digunakan adalah varietas Tymoti yang diperoleh dari petani. Warna buah tomat yang digunakan sesuai dengan tingkat kematangan yang akan dicoba yaitu *breakers* (hijau kekuningan 10%), *turning* (kuning kehijauan 10 sampai 30%), *pink* (kemerahan atau jingga 30 sampai 60%). Panjang buah antara 4 cm sampai 6 cm, diameter 4 cm sampai 5 cm dan bobot buah antara 50 gr sampai 70 gr.
- b. Buah tomat yang dipilih tidak cacat fisik seperti kulit buah tidak terdapat bercak jamur atau penyakit dan bersih tidak mempunyai luka.

Buah tomat yang telah disortir sesuai dengan masing-masing tingkat kematangan yang dicoba, ukuran buah, bobot buah dan kondisi fisik buah selanjutnya dicuci menggunakan air mengalir, kemudian dikering-anginkan selama 1 jam, setelah kering tomat siap untuk diaplikasikan dengan kitosan. Jumlah buah yang digunakan sebanyak 12 buah per unit perlakuan (9 kombinasi perlakuan) dan diulang sebanyak 3 kali sehingga secara keseluruhan digunakan sebanyak 324 buah tomat.

3.4.2 Pembuatan kitosan udang

a. Persiapan bahan kulit udang

Limbah kulit udang dicuci dengan air sampai bersih, kemudian dikeringkan dibawah 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/10 ml NaOH 10%) selama 12 jam. Setelah 12 jam, endapan disaring menggunakan kain saring, dicuci dengan air mengalir sampai bersih. Residu sisa penyaringan kemudian direndam dalam larutan HCl 8% 1:10 (1 g serbuk residu/10 ml HCl 8%) selama 6 jam. Kemudian residu disaring dengan kain saring lalu dicuci dengan air mengalir sampai bersih. Hasil residu kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 24 jam sehingga dihasilkan kitin kasar berwarna putih kemerahan. Kitin kasar yang lalu direndam dalam larutan NaOH 50% 1:10 (1 g serbuk/ 10 ml NaOH 50%) kemudian dipanaskan pada suhu 100°C. Suspensi tersebut didiamkan selama 3 sampai 4 jam sampai didapat endapan. Endapan kemudian disaring menggunakan kain saring lalu dicuci dengan air mengalir sampai bersih. Residu penyaringan dikeringkan pada suhu 105°C selama 24 jam sehingga diperoleh kitosan kasar berwarna putih yang sudah dapat digunakan (Sitorus dkk., 2014).

3.4.3 Pembuatan larutan kitosan

Larutan kitosan untuk aplikasi *edible coating* dibuat dengan konsentrasi sesuai perlakuan yang dicoba yaitu 0% dan 1,5% (b/v). Untuk membuat larutan kitosan udang konsentrasi 1,5% sebanyak 100 ml yaitu 1,5 gram serbuk kitosan udang dilarutkan ke dalam 100 ml asam asetat 2%. Sedangkan untuk membuat larutan kitosan kepiting konsentrasi 1,5% sebanyak 100 ml yaitu 1,5 gram serbuk kitosan kepiting dilarutkan ke dalam 100 ml asam asetat 1%. Larutan kemudian diaduk rata, dipanaskan pada suhu 30°C selama 15 menit menggunakan *magnetic stirrer* (Hilma dkk., 2018). Masing-masing konsentrasi dibuat sebanyak 3 wadah yaitu untuk merendam sampel buah tomat pada tiap tingkat kematangan.

3.4.4 Aplikasi *edible coating* pada tomat

Larutan kitosan untuk setiap konsentrasi yang dicoba (0% dan 1,5%) dibuat dalam *beaker glass*, masing-masing konsentrasi terdiri dari 3 *beaker glass* (sesuai dengan tingkat kematangan buah yang dicoba) sehingga terdapat 9 *beaker glass*. Sampel buah sesuai dengan tingkat kematangan yang dicoba masing-masing sebanyak 36 buah (untuk 3 ulangan) di direndam dalam larutan kitosan sesuai dengan konsentrasi yang dicoba pada *beaker glass* selama 15 menit. Selanjutnya tomat dikering-anginkan pada suhu ruang agar gel yang melapisi buah dapat menempel rata. Buah tomat selanjutnya diletakkan dalam keranjang penyimpanan sebanyak 12 buah per unit perlakuan. Kemudian penyimpanan dilakukan pada suhu ruang (ruang laboratorium). Buah disimpan pada keranjang penyimpanan di Laboratorium disusun sesuai dengan tata letak percobaan (Lampiran 1).

3.5 Pengamatan

3.5.1 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 karakteristik kitosan, suhu dan kelembaban, serta hama dan penyakit yang menyerang tomat pada saat pengamatan.

Untuk parameter karakteristik kitosan yaitu:

a. Kadar air

Sampel kitosan ditimbang dan dimasukkan ke dalam cawan porselin yang telah diketahui berat sebelumnya. Sampel dipanaskan dalam oven pada suhu 100-105°C selama 2 jam. Kemudian didinginkan dalam desikator selama kurang lebih 30 menit dan ditimbang. Dipanaskan lagi dalam oven, lalu didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Perhitungan kadar air dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Kadar Air} = \frac{A - B}{C} \times 100\%$$

Keterangan:

A = berat wadah + berat sampel awal (g)

B = berat wadah + berat sampel setelah kering (g)

C = berat sampel awal (g)

b. Kelarutan kitosan

Kelarutan kitosan merupakan salah satu parameter yang dapat dijadikan sebagai standar penilaian mutu kitosan. Semakin tinggi kelarutan pada kitosan berarti 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 dkk., 2004; Mukherjee, 2001 dalam Agustina, Swantara dan Suartha, 2015).

c. Uji ninhidrine

Kitosan dimasukkan kedalam tabung sebanyak 2 ml dengan menambahkan 5 tetes larutan ninhidrine 0,1%, kemudian dipanaskan sampai mendidih selama 5 menit. Lakukan pengamatan dengan berubahnya warna sampel menjadi ungu, jika terjadi perubahan warna maka diketahui adanya gugus amina dalam sampel. (Taniyo, Salimi dan Iyabu, 2021).

d. Rendemen

Rendemen transformasi kitin menjadi kitosan ditentukan berdasarkan persentase berat kitosan yang dihasilkan terhadap berat kitin yang diperoleh (Zahiruddin, Ariesta dan Salamah, 2008).

% Rendemen transformasi kitin menjadi kitosan =

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

3.5.2 Pengamatan utama

Pengamatan utama yaitu pengamatan yang datanya dianalisis secara statistik dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh di luar perlakuan. Parameter yang diamati pada pengamatan utama yaitu:

a. Susut bobot buah

Pengukuran susut bobot buah tomat dilakukan untuk mengetahui penurunan berat tomat pada hari ke-n dengan berat buah pada hari ke (n-1). Pengamatan susut bobot buah dilakukan pada 5 dan 10 hari setelah perlakuan (HSP). sPengukuran dilakukan dengan cara penimbangan menggunakan timbangan analitik. Hasil penimbangan dinyatakan dalam persentase susut bobot dihitung dengan rumus (Alhassan dan Abdul-Rahaman, 2014):

$$\% \text{ Susut bobot} = \frac{\text{berat awal (gram)} - \text{berat buah hari ke-n (gram)}}{\text{berat awal (gram)}} \times 100\%$$

b. Total padatan terlarut (TPT)

Pengukuran total padatan terlarut menggunakan alat refraktometer yang merupakan alat untuk mengukur kadar total padatan terlarut. Pengukuran total padatan terlarut buah tomat dilakukan menggunakan refraktometer dengan satuan °Brix (Alhassan dan Rahaman, 2014). Pengamatan dilakukan pada 0, 5 dan 10 HSP. Sampel buah tomat diambil sebagian untuk dihaluskan. Bagian cairan yang didapat dari sampel dipisahkan dari bagian daging buah kemudian ambil secukupnya sampel yang akan diukur untuk diteteskan pada tempat pembacaan.

c. Total asam tertitrasi (TAT)

Pengukuran pada total asam tertitrasi bertujuan untuk mengetahui perubahan kandungan total asam yang terkandung pada buah tomat selama penyimpanan. Kandungan total asam tertitrasi diukur dengan metode titrasi (AOAC, 1990) Sampel tomat sebanyak 10 gram dihaluskan menggunakan mortar, kemudian tambahkan aquades pada labu takar hingga volume 100 ml. sampel hasil pengenceran diambil sebanyak 10 ml, lalu ditambahkan tiga tetes indikator phenolptalin. Sampel dititrasi dengan 0,1 N NaOH sampai terjadi perubahan warna menjadi merah jambu. Pengamatan total asam teetitrasi dapat dilakukan pada 0, 5 dan 10 HSP. Penentuan total asam dihitung berdasarkan persamaan sebagai berikut:

$$\text{Total asam tertitrasi} = \frac{V \text{ NaOH (ml)} \times N \text{ NaOH} \times \text{BE asam} \times \text{FP}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

Keterangan:

V NaOH = volume NaOH yang digunakan saat titrasi

N NaOH = normalitas NaOH

BE asam = berat eqivalen asam sitrat

Fp = faktor pengenceran

d. Tingkat kerusakan

Pengamatan tingkat kerusakan pada tomat merupakan parameter yang diamati secara subjektif. Tingkat kerusakan tomat diukur dengan persentase 0 sampai

100%. Kriteria yang digunakan bila terjadinya kerusakan yaitu terdapat bercak atau bintik hitam pada tomat, munculnya jamur, terjadinya perubahan tekstur, berair dan beraroma busuk (Lospiani, Utama dan Pudja, 2017). Pengamatan dilakukan pada 10 HSP.

$$\text{Tingkat kerusakan} = \frac{kbu}{kbu+kba} \times 100 \%$$

Keterangan :

Kbu = jumlah kondisi busuk buah tomat selama penyimpanan

Kba = jumlah kondisi baik buah tomat selama penyimpanan

e. Uji organoleptik

Pengujian dilakukan dengan penilaian terhadap penampilan karakteristik fisik tomat pada 0, 5 dan 10 HSP yang telah dilakukan perlakuan pemberian pelapis *edible coating* kitosan. Pengujian meliputi parameter warna, tingkat kesegaran dan tingkat kesukaan yang diuji menggunakan uji Friedman. Pengujian ini dilakukan oleh 15 panelis semi terlatih yang terdiri dari mahasiswa program studi Agroteknologi Fakultas Pertanian dengan mengisi lembar penilaian pada berbagai skor penilaian yang disajikan.

Tabel 5. Skor uji penilaian organoleptik

Skor penilaian	Warna	Tingkat kesegaran	Tingkat kesukaan
1	Hijau	Sangat layu	Tidak suka
2	Hijau kekuningan	Layu	Agak suka
3	Merah jingga	Agak layu	Netral
4	Merah	Segar	Suka
5	Sangat merah	Sangat segar	Sangat suka