

### III. METODE

#### 3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Hortikultura, Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari—Februari 2012. Analisis *scanning electron microscope* (SEM) dilaksanakan di Laboratorium Uji Polimer, Pusat penelitian Fisika-LIPI Bandung, Jawa Barat.

#### 3.2 Bahan dan Alat Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah jambu biji ‘Crystal’ (Gambar 1). Buah jambu biji berasal dari PT Nusantara Tropical Fruits (PT NTF), Way Jepara, Lampung Timur.



Gambar 1. Buah jambu biji ‘Crystal’.

Buah dibawa langsung ke Laboratorium Hortikultura, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Buah jambu biji disortir berdasarkan ukuran dan tingkat kematangan dan segera diberi perlakuan. Bahan lain yang diperlukan adalah kitosan, asam asetat 0.5%, aquades, NaOH 0.1 N, fenolftalin, dan IAA.

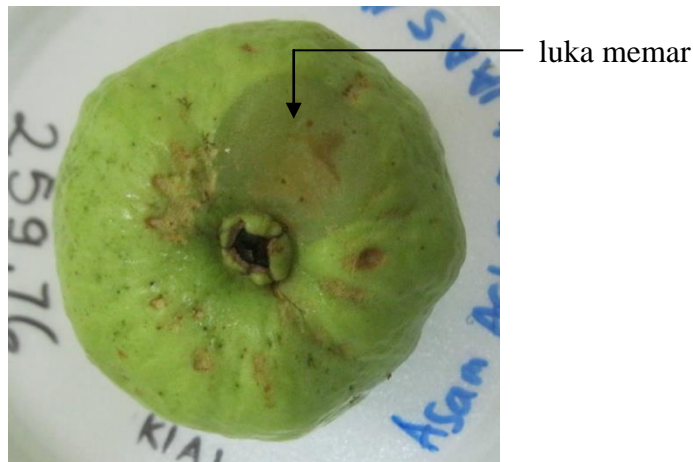
Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah labu ukur, pipet tetes, hand refraktometer, penetrometer, lemari es, blender, sentrifius, labu erlemeyer, timbangan, gelas ukur, dan pipet gondok.

### **3.3 Metode Penelitian**

Rancangan perlakuan disusun secara faktorial (3 x 3). Faktor pertama adalah pelapisan dengan tiga taraf, yaitu kontrol [aquades ( $k_0$ )], perlakuan asam asetat 0.5 % ( $k_1$ ), dan kitosan 2,5% ( $k_2$ ). Faktor kedua adalah pemberian zat pengatur tumbuh IAA yang terdiri atas tiga taraf, yaitu 0  $\mu$ M ( $a_0$ ), 5  $\mu$ M ( $a_1$ ), dan 10  $\mu$ M ( $a_2$ ). Perlakuan diterapkan pada unit percobaan dalam rancangan teracak sempurna (RTS) dengan tiga kali ulangan. Masing-masing ulangan terdiri atas 1 buah jambu biji. Sebagai pembanding, 3 buah jambu biji langsung diamati pada awal penelitian.

Pada salah satu ulangan perlakuan  $k_1a_1$ , buah jambu biji 'Crystal' tampak busuk. Hal ini diketahui saat pengamatan pada hari ke-3 penyimpanan buah (Gambar 2). Buah tersebut busuk kemungkinan besar disebabkan oleh luka memar pada buah. Luka memar dimungkinkan terjadi saat mensortir sampel, kurang hati-hati saat aplikasi perlakuan perendaman, dan saat pengamatan dilakukan. Data pengamatan pada ulangan ini dianggap sebagai data hilang berdasarkan Gomez

dan Gomez (2010) bahwa kerusakan sampel percobaan yang diakibatkan oleh selain perlakuan, dapat dianggap sebagai data hilang.



Gambar 2. Jambu biji 'Crystal' yang mengalami luka memar.

Pendugaan data yang hilang dilakukan dengan rumus sebagai berikut (Gomes dan Gomez, 2010).

$$X = \frac{rBo + tTo - Go}{(r - 1)(t - 1)}$$

Keterangan :

$X$  = dugaan data yang hilang

$t$  = banyaknya perlakuan

$r$  = banyaknya ulangan

$Bo$  = jumlah nilai pengamatan dari ulangan di mana terdapat data yang hilang.

$To$  = jumlah nilai pengamatan dari perlakuan di mana terdapat data yang hilang.

$Go$  = jumlah umum dari semua pengamatan.

Seluruh data yang diperoleh dianalisis dengan ANOVA. Analisis data dilanjutkan dengan *Orthogonal Contrast* (Tabel 1) dan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf 5% (SAS System for Windows V6.12)

Tabel 1. Perbandingan *orthogonal contrast*

| Contrast                                | Kombinasi Perlakuan* |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |
|---|----------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
|   | k <sub>0a0</sub>     | k <sub>0a1</sub> | k <sub>0a2</sub> | k <sub>1a0</sub> | k <sub>1a1</sub> | k <sub>1a2</sub> | k <sub>2a0</sub> | k <sub>2a1</sub> | k <sub>2a2</sub> |
| 1. Asam asetat 0,5% vs kitosan 2,5%     | 0                    | 0                | 0                | 1                | 0                | 0                | -1               | 0                | 0                |
| 2. IAA dengan perendaman vs celup cepat | 0                    | 1                | 1                | 0                | 1                | 1                | 0                | -2               | -2               |
| 3. Tanpa IAA vs dengan IAA              | 2                    | -1               | -1               | 2                | -1               | -1               | 2                | -1               | -1               |
| 4. IAA dalam air vs IAA dalam asam      | 0                    | 1                | 1                | 0                | -1               | -1               | 0                | 0                | 0                |

Keterangan : \* k<sub>0a0</sub>= kontrol; k<sub>0a1</sub>= IAA 5  $\mu$ M; k<sub>0a2</sub>= IAA 10  $\mu$ M; k<sub>1a0</sub>= asam asetat 0,5%; k<sub>1a1</sub>= asam asetat 0,5% + IAA 5  $\mu$ M; k<sub>1a2</sub>= asam asetat 0,5% + IAA 10  $\mu$ M; k<sub>2a0</sub>= kitosan 2,5%; k<sub>2a1</sub>= kitosan 2,5% + IAA 5  $\mu$ M; dan k<sub>2a2</sub>= kitosan 2,5% + IAA 10  $\mu$ M.

### 3.3.1 Pelaksanaan Penelitian

Buah jambu biji ‘Crystal’ yang diperoleh dari PT Nusantara Tropical Fruits (PT NTF) dibawa ke Laboratorium Hortikultura, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Buah jambu biji ‘Crystal’ disortir berdasarkan keseragaman tingkat kematangan dan segera diperlakukan sesuai dengan perlakuan yang akan diberikan.

Bobot molekul IAA (C<sub>10</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>2</sub>) adalah 175,18. Larutan stok 1 mM IAA sebanyak 500 ml dibuat dengan cara menimbang bubuk IAA sebanyak 87,59 mg, lalu ditetesi dengan KOH 1 N sebanyak 10 tetes, diaduk hingga larut, lalu dilarutkan ke dalam aquades hingga 500 ml. Larutan untuk perlakuan k<sub>0a1</sub> (larutan IAA 5  $\mu$ M) dibuat dengan cara: larutan stok IAA 1 mM diambil sebanyak 10 ml lalu ditambah aquades hingga 2 liter dan diaduk hingga rata. Untuk perlakuan k<sub>0a2</sub> (larutan IAA 10  $\mu$ M): larutan stok IAA 1 mM diambil sebanyak 20 ml, dan dicampur dengan aquades hingga 2 liter, lalu diaduk hingga rata. Larutan untuk perlakuan k<sub>1a0</sub> (larutan asam asetat 0,5%) dibuat dengan cara: sebanyak 10 ml asam asetat dilarutkan ke dalam aquades hingga 2 liter. Untuk

perlakuan  $k_{1a_1}$  (larutan asam asetat 0,5% + IAA 5  $\mu\text{M}$ ): sebanyak 10 ml asam asetat ditambah 10 ml larutan stok IAA 1 mM, lalu ditambahkan aquades hingga 2 liter dan diaduk hingga rata. Untuk perlakuan  $k_{1a_2}$  (larutan asam asetat 0,5% + IAA 10  $\mu\text{M}$ ): sebanyak 10 ml asam asetat dicampur dengan 20 ml larutan stok IAA 1 mM, lalu ditambahkan aquades hingga 2 liter dan diaduk hingga rata.

Larutan pelapis untuk perlakuan  $k_{2a_0}$  (larutan kitosan 2,5%) dibuat dengan cara, yaitu sebanyak 25 g kitosan ditambah dengan 5 ml asam asetat lalu ditambah aquades hingga 1 liter dan diaduk hingga rata. Untuk perlakuan  $k_{2a_1}$  (larutan kitosan 2,5% + IAA 5  $\mu\text{M}$ ): sebanyak 25 g kitosan ditambah 5 ml asam asetat, kemudian dicampur dengan 5 ml larutan stok IAA 1 mM, lalu ditambahkan aquades hingga 1 liter dan diaduk hingga rata. Untuk perlakuan  $k_{2a_2}$  (larutan kitosan 2,5% + IAA 5  $\mu\text{M}$ ): sebanyak 25 g kitosan ditambah 5 ml asam asetat, kemudian dicampur dengan 10 ml larutan stok IAA 1 mM, lalu ditambahkan aquades hingga 1 liter dan diaduk hingga rata.

Buah jambu biji diperlakukan sesuai dengan perlakuan. Perlakuan pada buah diaplikasikan dengan teknik celup-cepat dan perendaman selama 60 menit.

Teknik celup-cepat diterapkan pada kontrol (air) dan perlakuan kitosan 2,5%, sedangkan teknik perendaman diberikan pada perlakuan asam asetat dan IAA.

Setelah buah diberi perlakuan, kemudian ditiriskan (sampai kering-angin) di atas kertas koran, lalu buah diletakkan di atas piring *styrofoam*. Buah jambu biji

'Crystal' yang sudah diberi perlakuan, kemudian disimpan di dalam laboratorium pada suhu ruang ( $\pm 28\text{ }^\circ\text{C}$ ).

Pengamatan dilakukan setiap hari dengan cara mengamati perubahan warna. Pengamatan dihentikan apabila buah menunjukkan gejala kemerosotan mutu (telah muncul bintik hitam kurang lebih 50% di permukaan kulit buah atau keriput), lalu dilakukan penimbangan bobot buah dan pengukuran kekerasan buah dengan menggunakan alat penetrometer. Selanjutnya, daging buah diekstrak untuk mendapatkan sampel kandungan padatan terlarut ( $^{\circ}$ Brix) dan asam bebas.

### 3.3.2 Peubah Pengamatan

Pengamatan dilakukan pada awal dan akhir pengamatan terhadap peubah masa simpan, bobot buah, kekerasan buah, kandungan padatan terlarut ( $^{\circ}$ Brix), dan asam bebas. Untuk menggambarkan kondisi permukaan kulit buah, analisis *scanning electron microscope* (SEM) dilakukan pada sampel buah kontrol dan yang diperlakukan dengan kitosan. Pengamatan dihentikan apabila buah menunjukkan gejala kemerosotan mutu (telah muncul bintik hitam kurang lebih 50% atau warna kusam pada kulit, Gambar 3).



Gambar 3. Buah jambu biji ‘Crystal’ yang mengalami bercak coklat.

### 3.3.2.1 Masa Simpan

Buah jambu biji 'Crystal' yang telah diberi perlakuan diamati perubahan fisiknya setiap hari. Masa simpan buah dihitung dari hari pertama buah mulai disimpan (setelah buah diberi perlakuan) hingga menunjukkan gejala kemerosotan mutu (timbul bercak coklat atau warna kusam pada kulit).

### 3.3.2.2 Bobot Buah

Susut bobot dihitung dari selisih bobot awal buah sebelum diberi perlakuan dengan bobot akhir buah setelah perlakuan dihentikan. Selisih bobot tersebut kemudian dibagi dengan bobot awal dan dikalikan 100%.

### 3.3.2.2 Kekerasan Buah

Kekerasan buah (dalam kg/cm<sup>2</sup>) diukur dengan alat penetrometer (type FHM-5 ujung berbentuk silinder dengan diameter 5 mm; Takemura Electric Work, Ltd., Jepang). Masing-masing unit dan ulangnya diuji pada bagian yang sama (bagian tengah buah jambu biji). Untuk pengukuran, kulit di bagian yang diukur kekerasannya dikupas dengan pisau.

### 3.3.2.4 Kandungan padatan terlarut (°Brix)

°Brix diukur dengan *hand refractometer* 'Atago' pada suhu ruang. Untuk menghindari pengaruh pengenceran, °Brix (dalam %) diukur langsung pada sari buah tanpa pengenceran.

### 3.3.2.5 Kandungan asam bebas

Sekitar 50 g daging buah di-*blender* dengan  $\pm$  100 ml aquades, kemudian disentrifius pada 2500 rpm selama 5—10 menit hingga cairan terpisah dari endapannya. Cairannya dimasukkan ke labu ukur 250 ml, lalu ditambahkan aquades sampai tera. Sampel sari buah tersebut kemudian dimasukkan ke dalam botol sampel  $\pm$  100 ml dan dibekukan di *freezer* sambil menunggu analisis berikutnya. Analisis asam bebas dilakukan dengan titrasi 0,1 N NaOH dan fenolftalein sebagai indikator dan hasilnya dinyatakan dalam g asam sitrat/100 g daging buah.

### 3.3.2.6 *Image* kondisi kulit luar dan pelapisan buah dengan kitosan

Sampel buah kontrol dan yang telah dilapisi kitosan 2.5% dikirim ke Laboratorium Uji Polimer, Pusat penelitian Fisika-LIPI Bandung, Jawa Barat untuk analisis dengan *scanning electron microscope* (SEM). Analisis SEM diperlukan untuk menggambarkan kondisi kulit luar buah dan pelapisan buah dengan kitosan.