

Data berat jenis sari buah jeruk nipis tersebut kemudian digunakan untuk menentukan besar konsentrasi sari buah jeruk nipis yang ditambahkan ke dalam sampel nasi dengan menggunakan perhitungan sebagai berikut.

Misal banyaknya sari buah jeruk nipis yang digunakan adalah 10 mL, maka:

$$\text{Berat Jenis } (\rho) = \frac{\text{berat zat } (w)}{\text{volume zat } (v)}$$

$$\begin{aligned} \text{Berat zat } (w) &= \text{berat jenis } (\rho) \times \text{volume zat } (v) \\ &= 1,0247 \text{ g/mL} \times 10 \text{ mL} \\ &= 10,247 \text{ g} \end{aligned}$$

$$\% \text{Sari buah jeruk nipis} = \frac{\text{berat sari buah jeruk nipis } (g)}{\text{berat beras } (g) + \text{berat air } (g)} \times 100\%$$

$$\% \text{Sari buah jeruk nipis} = \frac{10,247 \text{ g}}{(1000 + 1200) \text{ g}} \times 100\% = 0,467\%$$

Untuk menyederhanakan besar konsentrasi di atas, maka dilakukan pembulatan menjadi dua desimal dibelakang koma menjadi 0,47%. Cara yang sama juga dilakukan untuk sari buah jeruk nipis dengan volume 20, 30, dan 40 mL sehingga diperoleh konsentrasi berturut-turut 0,93%; 1,40%; dan 1,87%. Akan tetapi, pada aplikasinya satuan yang digunakan adalah satuan volume.

4.1.2 Kadar Asam Sitrat dalam Sari Buah Jeruk Nipis

Pada penentuan asam sitrat ini, sebanyak 10 mL sari buah jeruk nipis dititrasi dengan 132 mL larutan NaOH 0,1 M. Kadar asam sitrat tersebut dapat diketahui melalui persamaan berikut:

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$M_1 = \frac{V_2 \times M_2}{V_1}$$

$$M_{\text{asam sitrat}} = \frac{132 \text{ mL} \times 0,10245 \text{ M}}{10 \text{ mL}} = 1,35234 \text{ M}$$

$$M = \frac{n}{V}$$

$$n = M \times V$$

$$\frac{w}{Mr} = M \times V$$

$$\frac{w}{V} = M \times Mr = 1,35234 \text{ mol.L}^{-1} \times 188 \text{ g.mol}^{-1} = 254,24 \text{ g.L}^{-1}$$

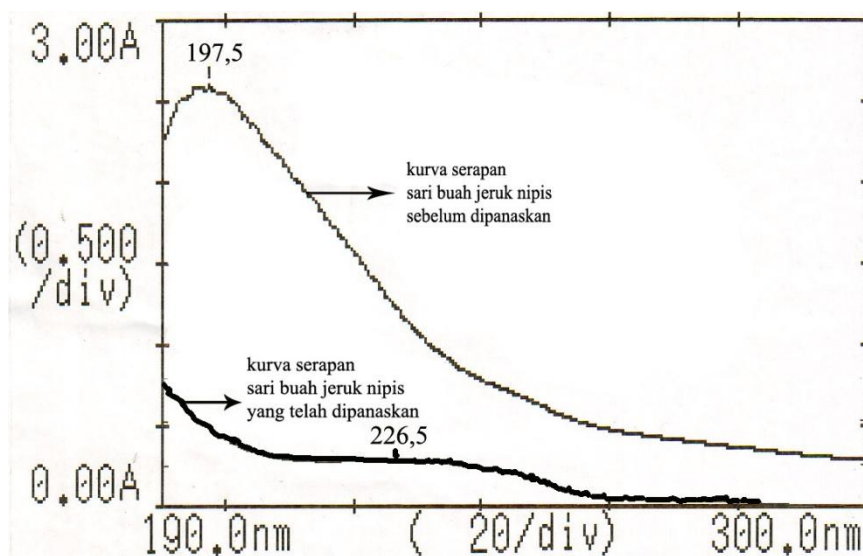
Jadi, dalam 1 mL sari buah jeruk nipis yang digunakan terdapat asam sitrat sebanyak 0,25424 g atau 24,81%. Kadar asam sitrat tersebut relatif tidak berubah pada masa penyimpanan selama 12 minggu.

4.1.3 pH Sari Buah Jeruk Nipis

Dari hasil pengukuran tersebut diperoleh pH sari buah jeruk nipis sebesar pH 1,49.

4.1.4 Stabilitas Sari Buah Jeruk Nipis dalam Nasi

Stabilitas sari buah jeruk nipis selama penanakan nasi disimulasikan dengan pendidihan sari buah jeruk nipis di atas api bunsen. Selain itu, disiapkan juga sari buah jeruk nipis yang tidak dididihkan. Kedua sari buah jeruk nipis tersebut diukur serapannya menggunakan alat spektrofometer UV-Vis pada panjang gelombang 190-300 nm. Berikut ini hasil dari pengukuran kurva serapannya.



Gambar 4.2. Kurva serapan sari buah jeruk nipis sebelum dan sesudah pemanasan

Gambar 4.2 di atas menunjukkan telah terjadi sedikit degradasi pada senyawa-senyawa aktif yang terkandung dalam sari jeruk nipis selama penanakan nasi. Hal ini dapat dilihat dari adanya pergeseran panjang gelombang dari puncak kurva serapan senyawa-senyawa aktif tersebut yang asalnya pada panjang gelombang 197,5 nm menjadi 226,5 nm.

4.2 Hasil Produksi Nasi

Nasi yang dibuat merupakan nasi tanpa penambahan sari buah jeruk nipis (Nk/kontrol) dan nasi yang diberi sari buah jeruk nipis. Nasi dibuat dari campuran beras sebanyak 1 kg dan akuades sebanyak 1,2 L kemudian dimasak dengan menggunakan alat penanak sekaligus penghangat nasi (*magic com*) selama 30 menit, menghasilkan nasi sebanyak $\pm 1,8$ kg. Setelah matang, nasi secara otomatis dihangatkan terus-menerus selama 4 hari dalam alat tersebut pada suhu $71,5^{\circ}\text{C}$. Pada penentuan konsentrasi optimum dari sari buah jeruk nipis, sari buah jeruk nipis ($\rho = 1,0247$ g/mL) dengan variasi konsentrasi 0,47%; 0,93%; 1,40%; dan

1,87% ditambahkan sebelum menanak nasi. Sampel-sampel nasi tersebut kemudian diberi kode N1 (nasi dengan 0,47% sari buah jeruk nipis), N2 (nasi dengan 0,93% sari buah jeruk nipis), N3 (nasi dengan 1,40% sari buah jeruk nipis), dan N4 (nasi dengan 1,87% sari buah jeruk nipis).

Setelah kelima sampel nasi dibuat, kemudian dilakukan pengamatan mengenai karakteristik aroma, warna, rasa, tekstur, dan kepulennanya. Pengamatan dilakukan oleh 5 orang panelis yang bertugas untuk mendeskripsikan sifat-sifat fisik sampel nasi pada lembar penilaian uji deskripsi. Sampel nasi disajikan di atas piring kaca kecil, kemudian dicicipi oleh para panelis. Berikut ini adalah hasil dari pengamatan tersebut.

Tabel 4.1. Karakteristik tampilan fisik sampel nasi Nk, N1, N2, N3, dan N4

Kualitas Sifat	Nk	N1	N2	N3	N4
Warna	Putih	Putih	Putih mengkilat	Putih mengkilat	Putih mengkilat
Aroma	Sedikit wangi beras	Wangi beras	Wangi beras	Sedikit wangi jeruk nipis	Sangat tercium wangi jeruk nipis
Rasa	Tawar	Tawar	Tawar	Agak asam	Asam
Kepulenan	Pulen	Pulen	Pulen	Pulen	Pulen
Keempukan	Empuk	Empuk	Empuk	Empuk	Empuk

Berdasarkan pengamatan fisik terhadap kelima sampel nasi tersebut, diperoleh hasil bahwa karakteristik dari segi warna untuk semua nasi adalah putih. Akan tetapi sampel N2, N3, dan N4 memiliki warna putih mengkilat, hal ini terjadi karena adanya efek dari asam sitrat dalam sari buah jeruk nipis yang memiliki kemampuan untuk memutihkan. Sedangkan dari segi aroma, sampel N4

memiliki aroma jeruk nipis yang sangat kuat dibandingkan sampel yang lain. Dari segi rasa pun, sampel N4 memiliki tingkatan rasa asam yang lebih tinggi daripada sampel yang lain. Perbedaan yang dimiliki sampel N4 baik dari segi rasa maupun aroma disebabkan karena konsentrasi sari buah jeruk nipis yang dikandungnya lebih tinggi dibandingkan sampel yang lain.

Setelah diperoleh konsentrasi optimum dari sari buah jeruk nipis, selanjutnya dilakukan penentuan waktu penambahan sari buah jeruk nipis dan tempat penyimpanan nasi yang optimum. Penentuan ini dilakukan dengan cara menambahkan 0,93% sari buah jeruk nipis kepada nasi yang telah matang. Nasi tersebut kemudian disimpan di tempat yang berbeda, yaitu di dalam *magic com* (diberi kode N_D) dan di dalam bakul (diberi kode N_L). Karakterisasi awal terhadap sampel N_D dan N_L tidak dilakukan karena dianggap karakter fisiknya tidak akan berbeda jauh dengan karakter fisik N2.

4.3 Penentuan Konsentrasi Optimum Penggunaan Sari Buah Jeruk Nipis

Untuk mengetahui konsentrasi optimum penggunaan sari buah jeruk nipis yang efektif dalam mengawetkan nasi, dilakukan penambahan sari buah jeruk nipis ke dalam beras yang akan ditanak dengan variasi konsentrasi 0,47%; 0,93%; 1,40%; dan 1,87%. Keefektifan penggunaan sari sari buah jeruk nipis ini dilihat dari ketahanan nasi yang diindikasikan oleh parameter-parameter fisik (warna, aroma/bau, dan rasa), waktu kadaluarsa, dan parameter mikrobiologi (jumlah bakteri) sampel nasi.

4.3.1 Hasil Pengamatan Sifat Fisik Nasi

Pengamatan warna, bau, dan rasa sampel nasi ini dilakukan oleh peneliti. Pengamatan ini dilakukan dengan cara melihat, membaui, dan mencicipi sampel yang dilakukan setiap selang waktu 12 jam selama 4 hari. Berikut ini hasil pengamatan ketahanan nasi yang ditunjukkan pada tabel-tabel berikut ini.

Tabel 4.2. Perubahan warna pada sampel Nk, N1, N2, N3, dan N4

No.	Kode Sampel	Konsentrasi Sari Buah Jeruk Nipis yang Ditambahkan (%)	Jam ke-					
			12	24	36	48	60	72
1.	Nk	0	-	-	+	++	++	+++
2.	N1	0,47	-	-	+	++	++	+++
3.	N2	0,93	-	-	-	-	+	+
4.	N3	1,40	-	-	-	-	+	+
5.	N4	1,87	-	-	-	-	+	+

Keterangan :
 - = tidak ada perubahan
 + = agak kuning
 ++ = sedikit kuning
 +++ = kuning

Tabel 4.3. Perubahan bau pada sampel Nk, N1, N2, N3, dan N4

No.	Kode Sampel	Konsentrasi Sari Buah Jeruk Nipis yang Ditambahkan (%)	Jam ke-					
			12	24	36	48	60	72
1.	Nk	0	-	-	+	++	++	+++
2.	N1	0,47	-	-	+	+	++	++
3.	N2	0,93	-	-	-	-	+	+
4.	N3	1,40	-	-	-	-	+	+
5.	N4	1,87	-	-	-	-	+	+

Keterangan :
 - = tidak ada perubahan
 + = agak bau
 ++ = sedikit bau
 +++ = bau

Tabel 4.4. Perubahan rasa pada sampel Nk, N1, N2, N3, dan N4

No.	Kode Sampel	Konsentrasi Sari Buah Jeruk Nipis yang Ditambahkan (%)	Jam ke-					
			12	24	36	48	60	72
1.	Nk	0	-	-	+	++	++	+++
2.	N1	0,47	-	-	+	+	++	+++
3.	N2	0,93	-	-	-	-	+	++
4.	N3	1,40	-	-	-	-	+	++
5.	N4	1,87	-	-	-	-	+	++

Keterangan :
 - = tidak ada perubahan
 + = agak basi
 ++ = sedikit basi
 +++ = basi

Dari tabel 4.2-4.4 di atas terlihat bahwa nasi dengan penambahan sari buah jeruk nipis pada rentang konsentrasi 0,93-1,87% memiliki ketahanan yang lebih baik daripada nasi tanpa penambahan sari buah jeruk nipis ataupun nasi dengan penambahan 0,47% sari buah jeruk nipis. Dari segi rasa, sampel yang paling baik adalah sampel N2 karena pada jam ke-0 memiliki rasa yang tawar (tabel 4.1) dan memiliki rentang waktu perubahan rasa yang sama dengan sampel N3 dan N4.

4.3.2 Waktu Kadaluarsa Nasi

Penentuan waktu kadaluarsa nasi dilakukan untuk mengetahui sampai sejauh mana nasi layak untuk dikonsumsi. Penentuan ini dilakukan melalui uji kesukaan (hedonik) oleh 5 orang panelis yang harus mengisi lembar uji hedonik dengan 7 skala rating, yaitu (1) *none*, (2) *very slight*, (3) *slight*, (4) *moderate*, (5) *moderately strong*, (6) *strong*, (7) *very strong* (Susiwi, 2009). Adapun skor untuk

menentukan batas kadaluarsa adalah sebesar 2,5. Berikut ini adalah hasil dari pengujian tersebut.

Tabel 4.5. Data hasil uji hedonik terhadap nasi tanpa penambahan sari buah jeruk nipis (Nk)

Periode Pengujian	Jam Sejak Nasi Dibuat	Skor Sampel					Rata-rata Total Skor Sampel
		Panelis 1	Panelis 2	Panelis 3	Panelis 4	Panelis 5	
(a)	(b)	(c)	(d)	(e)	(f)	(g)	(h)
0	12	1,5	1,6	1,5	1,4	1,3	1,46
I	24	1,7	2,0	1,8	1,8	2,1	1,88
II	36	2,3	2,5	2,4	2,5	2,6	2,46
III	48	2,5	2,5	2,6	2,8	2,7	2,62
IV	60	2,8	2,7	3,0	2,9	3,1	2,9
V	72	3,1	3,1	3,3	3,2	3,3	3,2

Tabel 4.6. Data hasil uji hedonik terhadap nasi dengan penambahan 0,47% sari buah jeruk nipis (N1)

Periode Pengujian	Jam Sejak Nasi Dibuat	Skor Sampel					Rata-rata Total Skor Sampel
		Panelis 1	Panelis 2	Panelis 3	Panelis 4	Panelis 5	
(a)	(b)	(c)	(d)	(e)	(f)	(g)	(h)
0	12	1,3	1,2	1,3	1,2	1,3	1,26
I	24	1,5	1,3	1,4	1,3	1,5	1,4
II	36	1,7	1,5	1,6	1,5	1,7	1,6
III	48	1,9	1,7	1,7	1,6	1,9	1,76
IV	60	2,1	1,9	1,8	1,8	2,0	1,92
V	72	2,3	2,2	2,1	2,0	2,3	2,18

Tabel 4.7. Data hasil uji hedonik terhadap nasi tanpa dengan penambahan 0,93% sari buah jeruk nipis (N2)

Periode Pengujian	Jam Sejak Nasi Dibuat	Skor Sampel					Rata-rata Total Skor Sampel
		Panelis 1	Panelis 2	Panelis 3	Panelis 4	Panelis 5	
(a)	(b)	(c)	(d)	(e)	(f)	(g)	(h)
0	12	1,1	1,2	1,3	1,2	1,3	1,22
I	24	1,3	1,4	1,6	1,3	1,4	1,4
II	36	1,5	1,7	1,6	1,5	1,5	1,56
III	48	1,8	1,9	1,7	1,6	1,8	1,76
IV	60	2,0	1,9	1,8	1,8	1,9	1,88
V	72	2,0	2,1	2,0	2,0	1,9	2,0

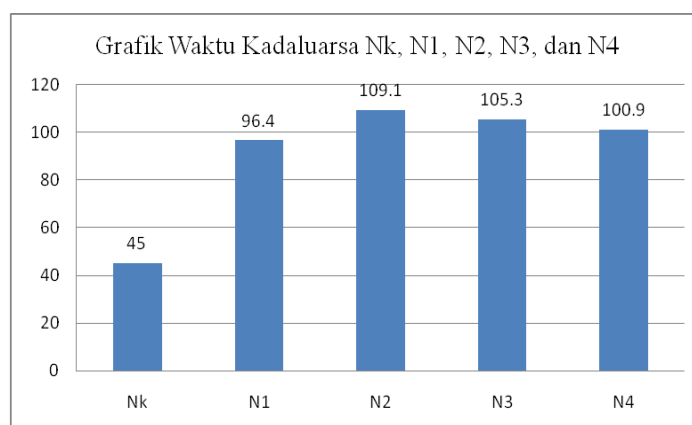
Tabel 4.8. Data hasil uji hedonik terhadap nasi dengan penambahan 1,40% sari buah jeruk nipis (N3)

Periode Pengujian	Jam Sejak Nasi Dibuat	Skor Sampel					Rata-rata Total Skor Sampel
		Panelis 1	Panelis 2	Panelis 3	Panelis 4	Panelis 5	
(a)	(b)	(c)	(d)	(e)	(f)	(g)	(h)
0	12	1,1	1,2	1,1	1,2	1,0	1,12
I	24	1,3	1,4	1,2	1,3	1,3	1,3
II	36	1,5	1,6	1,2	1,4	1,4	1,42
III	48	1,8	1,9	1,5	1,6	1,7	1,7
IV	60	2,0	1,9	1,8	1,8	1,9	1,88
V	72	2,0	2,1	2,0	2,0	2,0	2,02

Tabel 4.9. Data hasil uji hedonik terhadap nasi dengan penambahan 1,87% sari buah jeruk nipis (N4)

Periode Pengujian	Jam Sejak Nasi Dibuat	Skor Sampel					Rata-rata Total Skor Sampel
		Panelis 1	Panelis 2	Panelis 3	Panelis 4	Panelis 5	
(a)	(b)	(c)	(d)	(e)	(f)	(g)	(h)
0	12	1,0	1,2	1,1	1,2	1,0	1,1
I	24	1,2	1,4	1,2	1,3	1,3	1,28
II	36	1,5	1,6	1,2	1,4	1,4	1,42
III	48	1,7	1,9	1,5	1,6	1,7	1,68
IV	60	1,9	2,0	1,7	1,8	1,9	1,86
V	72	2,1	2,1	2,0	2,0	2,1	2,06

Penentuan waktu kadaluarsa dari data pada tabel-tabel di atas dapat dilakukan dengan cara memplotkan kolom (b) terhadap kolom (h). Dari hasil analisis regresi, tabel 4.5 memiliki persamaan linear $y = 0,028x + 1,228$; tabel 4.6 $y = 0,015x + 1,054$; tabel 4.7 $y = 0,013x + 1,082$; tabel 4.8 $y = 0,015x + 0,921$; dan tabel 4.9 $y = 0,016x + 0,886$. Dengan mensubstitusikan nilai 2,5 sebagai skor “*cut off*”, maka diperoleh waktu kadaluarsa untuk Nk, N1, N2, N3, dan N4 berturut-turut 45 jam; 96,4 jam; 109,1 jam; 105,3 jam; dan 100,9 jam. Untuk lebih memperjelas, berikut ini adalah grafiknya.



Gambar 4.3. Grafik waktu kadaluarsa sampel Nk, N1, N2, N3, dan N4

Dengan kata lain nasi tanpa penambahan sari buah jeruk nipis memiliki masa layak konsumsi yang lebih singkat daripada nasi dengan penambahan sari buah jeruk nipis.

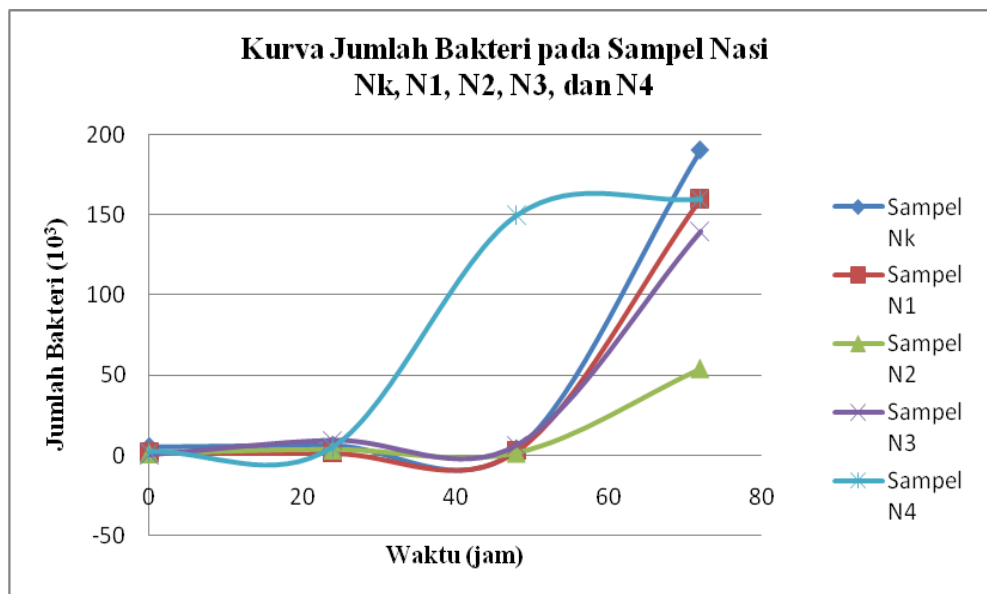
4.3.3 Hasil Analisis Mikrobiologi Nasi

Analisis mikrobiologi ini meliputi penghitungan jumlah koloni bakteri dan pewarnaan Gram. Penghitungan jumlah koloni bakteri ini dimulai dengan mencampurkan ± 1 gram sampel nasi dicampurkan dengan 9 mL akuades steril, kemudian menghaluskannya dengan blender yang telah disterilkan sehingga diperoleh stok sampel dengan pengenceran 10^{-1} . Pengenceran kemudian dilakukan dari 10^{-2} sampai 10^{-4} . Selanjutnya stok pengenceran 10^{-2} sampai 10^{-4} dimasukkan ke cawan Petri yang telah diisi dengan medium Nutrien agar, dan diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C di dalam inkubator. Pengerjaan isolasi dan penumbuhan bakteri ini dilakukan secara duplo. Berikut ini adalah hasil penghitungan jumlah dari sampel nasi bakteri tersebut.

Tabel 4.10. Jumlah bakteri dari sampel nasi Nk, N1, N2, N3, dan N4

Jam ke-	Nk	N1	N2	N3	N4
0	$5,4 \times 10^3$	$1,6 \times 10^3$	$1,1 \times 10^3$	$0,5 \times 10^3$	$2,2 \times 10^3$
24	$6,3 \times 10^3$	$1,5 \times 10^3$	$3,6 \times 10^3$	$9,6 \times 10^3$	$5,3 \times 10^3$
48	$4,0 \times 10^3$	$3,0 \times 10^3$	$1,5 \times 10^3$	$6,6 \times 10^3$	150×10^3
72	190×10^3	160×10^3	54×10^3	140×10^3	160×10^3

Dari tabel di atas dapat dibuatkan grafiknya untuk lebih memperjelas perbandingan jumlah bakteri dari tiap sampel, seperti ditunjukkan pada gambar 4.4 berikut.



Gambar 4.4. Kurva jumlah bakteri pada sampel nasi Nk, N1, N2, N3, N4

Dari gambar 4.4 di atas dapat dilihat bahwa pada jam ke-0, masih terdapat bakteri dalam jumlah yang cukup banyak pada tiap sampel. Hal ini terjadi karena *Bacillus cereus* tergolong ke dalam jenis bakteri mesofilik yang mampu mengubah bentuk menjadi endospora yang tahan terhadap panas, sehingga bakteri ini mampu bertahan hidup selama proses pemasakan nasi (Jääskeläinen, 2008). Tabel 4.10 di atas juga memperlihatkan bahwa penambahan sari buah jeruk nipis ke dalam nasi mampu menekan pertumbuhan *B. cereus* yang ada pada nasi. Jumlah bakteri dari nasi dengan penambahan 0,93% sari buah jeruk nipis paling sedikit di antara sampel-sampel yang lainnya, kenaikan kembali jumlah bakteri ini terjadi pada nasi dengan penambahan 1,40% dan 1,87% sari buah jeruk nipis.

Dari tabel di atas juga terlihat adanya kenaikan dan penurunan jumlah bakteri mulai dari jam ke-0 sampai jam ke-72. Hal ini terjadi karena adanya degradasi pada senyawa-senyawa aktif yang terkandung dalam sari buah jeruk

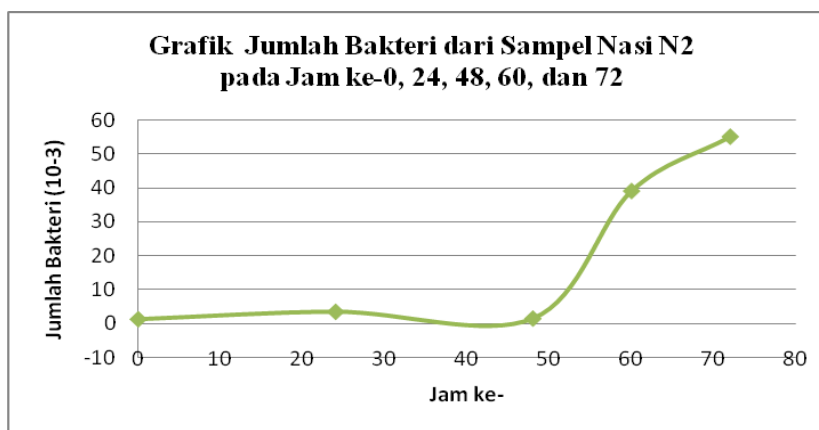
nipis selama proses pemasakan nasi (gambar 4.2), sehingga senyawa-senyawa aktif tersebut sedikit kehilangan kemampuannya untuk menghambat pertumbuhan *Bacillus cereus*. Pada tabel 4.10 terlihat bahwa jumlah bakteri pada sampel N3 dan N4 lebih besar dari pada sampel kontrol (Nk), hal ini dapat terjadi karena adanya bakteri lain yang justru teraktifkan pada pH yang sangat rendah dan suhu yang sangat tinggi (Halimatul, 2009). Selain itu, tingginya konsentrasi sari buah jeruk nipis yang diberikan juga dapat merangsang pertumbuhan bakteri karena sari buah jeruk nipis memberikan tambahan nutrisi (seperti karbohidrat, protein dan vitamin-vitamin) sehingga dapat memacu pertumbuhan bakteri.

Setelah diperoleh konsentrasi sari buah jeruk nipis yang optimum, yaitu 0,93% sari buah jeruk nipis selanjutnya dilakukan penghitungan kembali jumlah bakteri pada sampel nasi yang telah ditambah 0,93% sari buah jeruk nipis dengan selang waktu yang lebih pendek antara jam ke-48 dan jam ke-72, yaitu pada jam ke-60. Hal ini dilakukan untuk mengetahui pada jam ke-berapakah terjadi lonjakan jumlah bakteri. Berikut ini adalah hasil dari penghitungan kembali bakteri tersebut.

Tabel 4.11. Jumlah bakteri dari sampel nasi N2

Jam ke-	Jumlah Bakteri
0	$1,2 \times 10^3$
24	$3,4 \times 10^3$
48	$1,4 \times 10^3$
60	39×10^3
72	55×10^3

Dari tabel di atas dapat dibuatkan grafiknya seperti ditunjukkan pada gambar 4.5 berikut.



Gambar 4.5. Kurva jumlah bakteri pada sampel nasi N2

Dari gambar 4.5 diatas terlihat bahwa lonjakan jumlah bakteri terjadi pada jam ke-60. Meskipun terjadi lonjakan yang cukup besar, sampel nasi N2 ini masih aman dikonsumsi karena jumlah bakteri yang ada masih berada di bawah batas maksimum yang ditetapkan yaitu 10^6 (Afrianto, 2009).

Untuk meyakinkan bahwa bakteri yang dominan terdapat pada nasi merupakan bakteri yang tergolong ke dalam genus basilus, maka dilakukan pewarnaan Gram pada bakteri yang telah ditumbuhkan pada medium agar. Pewarnaan Gram dilakukan dengan cara mengoleskan koloni bakteri ke atas kaca preparat yang telah ditetesi akuades, kemudian olesan tersebut difiksasi panas. Setelah kering olesan lalu ditetesi larutan kristal violet dan dibiarkan selama 3 menit. Setelah itu ditetesi larutan lugol dan dibiarkan selama 60 detik. Olesan kemudian dicuci dengan alkohol 96% yang terdapat di dalam gelas kimia dan digoyang-goyang selama 1 menit. Setelah bersih, kaca preparat dibilas dengan

akuades, dikeringkan, ditetesi larutan safranin, dan dibiarkan selama 3 menit. Tahap selanjutnya adalah mencuci kaca preparat tersebut dengan akuades, lalu dikeringkan dan diamati dengan mikroskop.

Dari hasil penelitian, bakteri yang diwarnai menjadi berwarna ungu. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri yang dominan terdapat pada nasi termasuk ke dalam golongan Gram positif, dan setelah diidentifikasi bakteri tersebut memiliki ciri-ciri: berbentuk streptobasil dan terdapat endospora di bagian tengah tubuhnya. Berikut ini adalah gambar bakteri yang dominan terdapat pada nasi atau dengan kata lain *Bacillus cereus*.



Gambar 4.6. Bakteri hasil pewarnaan

4.3.4 Interpretasi Data Perhitungan Jumlah Bakteri

Untuk melihat apakah pada penentuan konsentrasi optimum sari jeruk nipis terdapat perbedaan yang bermakna diantara parameter jumlah bakteri dari masing-masing nasi baik tanpa penambahan sari jeruk nipis maupun nasi dengan penambahan sari jeruk nipis pada berbagai variasi konsentrasi, maka data-data parameter jumlah bakteri yang terdapat dalam tabel 4.10 diinterpretasikan secara statistik dengan menggunakan uji t-student pasangan sepadan.

Tabel 4.12. Analisis t-student jumlah bakteri pada nasi dengan penambahan 0,47% sari buah jeruk nipis (Y) terhadap nasi tanpa penambahan sari buah jeruk nipis (X)

Jam ke-	X (10^3)	Y (10^3)	D	D ²	t
0	5,4	1,6	3,8	14,44	5,389
24	6,3	1,5	4,8	23,04	
48	4,0	3,0	1,0	1,0	
72	190	160	30	900	
Jumlah	205,7	166,1	39,6	938,48	

Tabel 4.13. Analisis t-student jumlah bakteri pada nasi dengan penambahan 0,93% sari buah jeruk nipis (Y) terhadap nasi tanpa penambahan sari buah jeruk nipis (X)

Jam ke-	X (10^3)	Y (10^3)	D	D ²	t
0	5,4	1,1	4,3	18,49	8,926
24	6,3	3,6	2,7	7,29	
48	4,0	1,5	2,5	6,25	
72	190	54	136	18.496	
Jumlah	205,7	60,2	145,5	18.528,03	

Tabel 4.14. Analisis t-student jumlah bakteri pada nasi dengan penambahan 1,40% sari buah jeruk nipis (Y) terhadap nasi tanpa penambahan sari buah jeruk nipis (X)

Jam ke-	X (10^3)	Y (10^3)	D	D ²	t
0	5,4	0,5	4,9	24,01	4,8553
24	6,3	9,6	-3,3	10,89	
48	4,0	6,6	-2,6	6,76	
72	190	140	50	2.500	
Jumlah	205,7	156,7	49	2.541,63	

Tabel 4.15. Analisis t-student jumlah bakteri pada nasi dengan penambahan 1,87% sari buah jeruk nipis (Y) terhadap nasi tanpa penambahan sari buah jeruk nipis (X)

Jam ke-	X (10^3)	Y (10^3)	D	D ²	t
0	5,4	2,2	3,2	10,24	-58302
24	6,3	5,3	1,0	1,0	
48	4,0	150	-146	21.316	
72	190	160	30	900	
Jumlah	205,7	317,5	-111,8	22.227,24	

Untuk melihat keefektifan dari perlakuan yang diberikan pada sampel, dapat dilihat dari perbandingan hasil analisis t-student pada tabel 4.16 berikut.

Tabel 4.16. Hasil uji t-student pasangan sepadan jumlah bakteri pada nasi yang ditambahkan sari buah jeruk nipis dengan variasi konsentrasi 0,47% (N1); 0,93% (N2); 1,40% (N3); dan 1,87% (N4) terhadap nasi tanpa penambahan sari buah jeruk nipis (Nk)

Kode Sampel	t	t kritis pada p=0,05	Keterangan
N1	5,389	3,1825	B
N2	8,926	3,1825	B
N3	4,8553	3,1825	B
N4	-5,8302	3,1825	TB

Keterangan : B = berarti
TB = tidak berarti

Perbedaan jumlah bakteri antara nasi tanpa penambahan sari buah jeruk nipis dengan nasi yang diberi sari buah jeruk nipis pada konsentrasi 0,47-1,40% berbeda secara bermakna. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan sari buah jeruk nipis dengan konsentrasi 0,47-1,40% mempengaruhi jumlah bakteri pada nasi secara signifikan. Akan tetapi jumlah bakteri pada nasi yang diberi 1,87% sari buah jeruk nipis tidak berbeda secara bermakna, artinya pemberian sari buah jeruk nipis dengan konsentrasi 1,87% tidak mempengaruhi jumlah bakteri yang

ada pada nasi jika dibandingkan dengan kontrol (nasi tanpa penambahan sari buah jeruk nipis). Jika dilihat dari nilai t pada tabel 4.16 di atas, dapat dikatakan bahwa sari buah jeruk nipis 0,93% merupakan konsentrasi yang efektif dan optimal dalam mengurangi jumlah bakteri karena nilai t pada N2 sangat jauh dari titik t kritis pada $\alpha=0,05$.

4.3.5 Pengaruh Penambahan Sari Buah Jeruk Nipis terhadap pH dan Kandungan Gizi Nasi

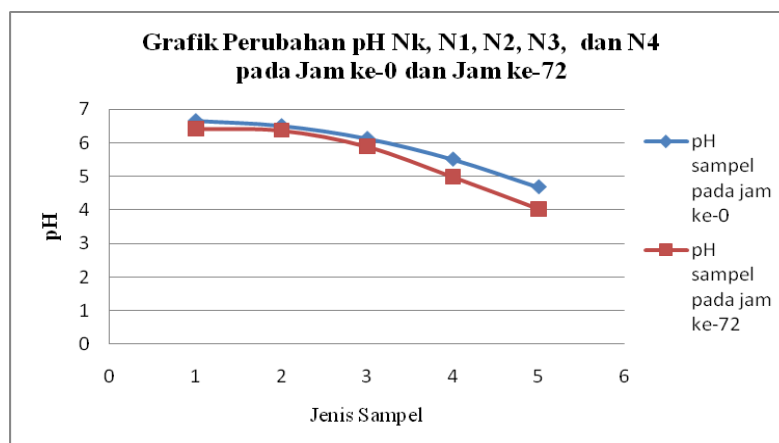
4.3.5.1 Hasil Analisis pH Nasi

Pengukuran pH sampel-sampel nasi ini dilakukan untuk mengetahui apakah terjadi perubahan pH setelah proses penanakan nasi dan setelah masa pengawetan selama 4 hari. Pada percobaan ini, sebanyak 5 gram sampel nasi dicampurkan dengan 50 mL akuades. Setelah itu larutan sampel diukur pH-nya menggunakan pHmeter yang telah dikalibrasi. Hasil pengukuran tersebut dapat dilihat pada tabel 4.17 berikut ini.

Tabel 4.17. pH pada sampel Nk, N1, N2, N3, dan N4

No.	Kode Sampel	Konsentrasi Sari Buah Jeruk Nipis yang Ditambahkan (%)	pH		
			Sari buah jeruk nipis	Nasi jam ke-0	Nasi jam ke-72
1.	Nk	0	-	6,66	6,42
2.	N1	0,47	1,49	5,51	5,37
3.	N2	0,93	1,49	5,13	4,89
4.	N3	1,40	1,49	4,51	3,98
5.	N4	1,87	1,49	3,68	3,02

Untuk lebih memperjelas, data pada tabel di atas dapat dibuatkan grafik seperti berikut.



Keterangan: jenis sampel 1 = Nk, jenis sampel 2 = N1, jenis sampel 3 = N2, jenis sampel 4 = N3, dan jenis sampel 5 = N4

Gambar 4.7. Grafik perubahan pH Nk, N1, N2, N3, dan N4 pada jam ke-0 dan jam ke-72

Dari tabel di atas terlihat bahwa pH sampel pada jam ke-72 lebih rendah dari pada jam ke-0. Penurunan pH ini disebabkan oleh adanya senyawa-senyawa sisa metabolisme yang dihasilkan *Bacillus cereus*, seperti 2,3-butandiol, etanol, asam asetat, asam format, dan asam suksinat.

4.3.5.2 Analisis Kandungan Gizi

Tahap analisis ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh penambahan sari buah jeruk nipis terhadap kandungan gizi nasi dan untuk mengetahui apakah terjadi perubahan nilai gizi pada nasi setelah mengalami masa pengawetan tertentu, sehingga analisis ini dilakukan hanya pada jam ke-0 dan jam ke-72. Adapun analisis kandungan gizi yang dilakukan pada adalah analisis kadar air, karbohidrat, dan protein.

4.3.5.2.1 Analisis Kadar Air

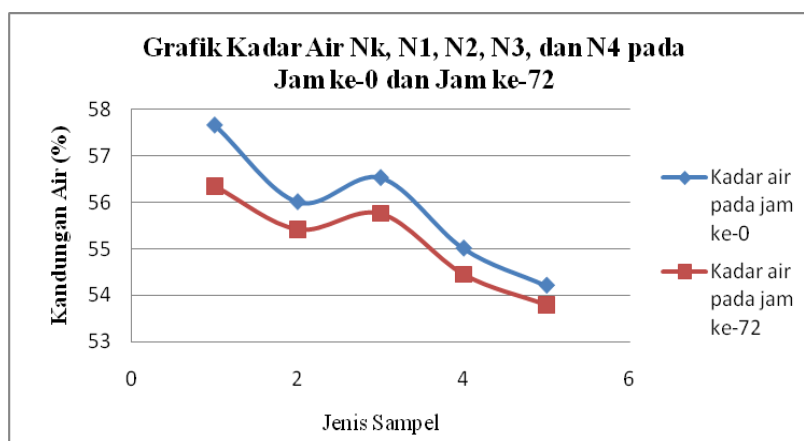
Kadar air pada tiap sampel ini ditentukan dengan menggunakan metode gravimetri. Sebanyak 1-2 gram sampel nasi dimasukkan ke dalam cawan krus yang telah diketahui bobotnya, kemudian cawan + tutup + sampel dikeringkan

dalam oven pada suhu 105°C lalu didinginkan dalam desikator. Pengerjaan tersebut diulangi sampai diperoleh bobot yang konstan. Berikut ini adalah hasil dari penentuan kadar air tersebut.

Tabel 4.18. Kandungan air per 100 g sampel nasi

No.	Kode Sampel	Konsentrasi Sari Jeruk Nipis yang Ditambahkan (%)	Kandungan Air (%)	
			Jam ke-0	Jam ke-72
1.	Nk	0	57,66	56,35
2.	N1	0,47	56,01	55,42
3.	N2	0,93	56,53	55,76
4.	N3	1,40	55,01	54,45
5.	N4	1,87	54,21	53,49

Data pada tabel di atas dapat dibuat menjadi grafik berikut.



Keterangan: jenis sampel 1 = Nk, jenis sampel 2 = N1, jenis sampel 3 = N2, jenis sampel 4 = N3, dan jenis sampel 5 = N4

Gambar 4.8. Grafik kadar air Nk, N1, N2, N3, dan N4 pada jam ke-0 dan jam ke-72

Pada gambar 4.8 di atas terlihat bahwa pada jam ke-0 kadar air dari tiap sampel menurun seiring dengan tingginya penambahan konsentrasi sari buah jeruk nipis. Kadar air yang terkandung akan mempengaruhi terhadap ketahanan suatu produk. Semakin sedikit kandungan air yang terdapat dalam produk, semakin tahan dan awet produk tersebut. Bila dilihat dari kadar air tiap nasi yang dibuat

maka dapat diperkirakan bahwa N4 memiliki ketahanan dan keawetan yang paling baik. Penurunan jumlah kadar air pada jam ke-72 dari tiap sampel disebabkan oleh lamanya penyimpanan nasi di dalam *magic com* sehingga nasi menjadi kering.

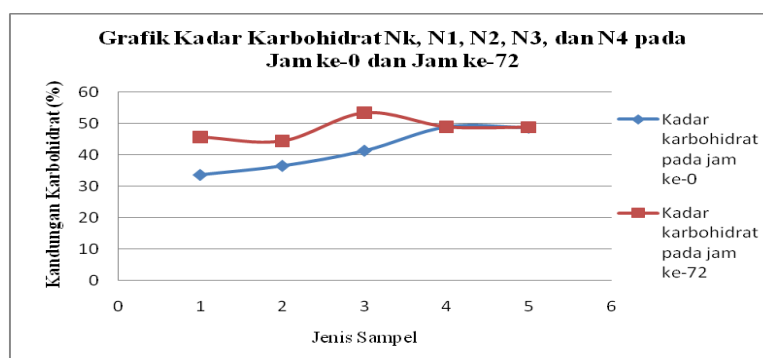
4.3.5.2.2 Analisis Kadar Karbohidrat

Penentuan kadar karbohidrat ini dilakukan di Laboratorium Pusat Penelitian Kimia (LIPI) Bandung karena peneliti terus-menerus gagal membuat larutan *Luff Schroll*. Berikut ini adalah hasil dari pengukuran kadar karbohidrat pada tiap sampel nasi.

Tabel 4.19. Kandungan karbohidrat per 100 g sampel nasi

No.	Kode Sampel	Konsentrasi Sari Jeruk Nipis yang Ditambahkan (%)	Kandungan Karbohidrat (%)	
			Jam ke-0	Jam ke-72
1.	Nk	0	33,56	45,69
2.	N1	0,47	36,43	44,41
3.	N2	0,93	41,25	53,40
4.	N3	1,40	48,85	48,91
5.	N4	1,87	48,55	48,81

Data pada tabel di atas dapat dibuat menjadi grafik berikut.



Keterangan: jenis sampel 1 = Nk, jenis sampel 2 = N1, jenis sampel 3 = N2, jenis sampel 4 = N3, dan jenis sampel 5 = N4

Gambar 4.9. Grafik kadar karbohidrat Nk, N1, N2, N3, dan N4 pada jam ke-0 dan jam ke-72

Pada gambar 4.9 di atas terlihat bahwa pada jam ke-0 jumlah karbohidrat pada nasi meningkat seiring dengan tingginya konsentrasi sari buah jeruk nipis yang ditambahkan, yaitu pada rentang konsentrasi 0-1,40% dan mengalami sedikit penurunan pada nasi dengan penambahan 1,87% sari buah jeruk nipis. Hal ini menunjukkan bahwa semakin banyak sari buah jeruk nipis yang ditambahkan, semakin banyak jumlah *Bacillus cereus* yang mati sehingga jumlah karbohidrat pada nasi mendekati utuh karena seperti yang kita ketahui bahwa *B. cereus* membutuhkan glukosa untuk memperoleh energi (Jinn-Chyi Wang, 2001). Kenaikan kadar karbohidrat pada jam ke-72 terjadi karena adanya pengurangan kadar air sehingga konsentrasi karbohidrat dalam nasi menjadi lebih pekat dan kadarnya meningkat.

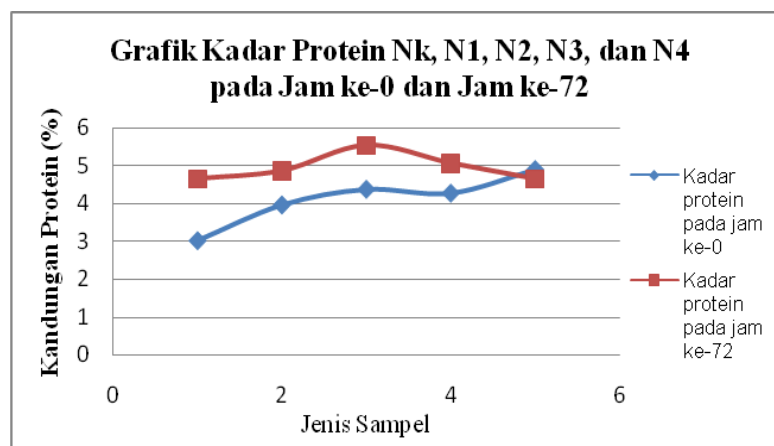
4.3.5.2.3 Analisis Kandungan Protein

Penentuan kadar protein ini dilakukan di Laboratorium Pusat Penelitian Kimia (LIPI) Bandung karena peneliti terus-menerus gagal membuat larutan *Luff Schroll*. Berikut ini adalah hasil dari pengukuran kadar protein pada tiap sampel nasi.

Tabel 4.20. Kandungan protein per 100 g nasi

No.	Kode Sampel	Konsentrasi Sari Jeruk Nipis yang Ditambahkan (%)	Kandungan Protein (%)	
			Jam ke-0	Jam ke-72
1.	Nk	0	3,02	4,66
2.	N1	0,47	3,96	4,87
3.	N2	0,93	4,37	5,54
4.	N3	1,40	4,27	5,07
5.	N4	1,87	4,89	4,66

Data pada tabel di atas dapat dibuat menjadi grafik berikut.



Keterangan: jenis sampel 1 = Nk, jenis sampel 2 = N1, jenis sampel 3 = N2, jenis sampel 4 = N3, dan jenis sampel 5 = N4

Gambar 4.10. Grafik kadar protein Nk, N1, N2, N3, dan N4 pada jam ke-0 dan jam ke-72

Pada gambar 4.10 di atas terlihat bahwa pada jam ke-0 jumlah protein pada nasi meningkat seiring dengan tingginya konsentrasi sari buah jeruk nipis yang ditambahkan. Selain membutuhkan karbohidrat, *B. cereus* juga membutuhkan beberapa asam amino untuk memperoleh energi (Jinn-Chyi Wang, 2001). Hal ini berarti sesuai dengan hasil penelitian yang diperoleh, yaitu semakin banyak sari buah jeruk nipis yang ditambahkan, semakin banyak jumlah *Bacillus cereus* yang mati sehingga jumlah protein pada nasi mendekati utuh. Kenaikan kadar protein pada jam ke-72 terjadi karena adanya pengurangan kadar air sehingga konsentrasi protein dalam nasi menjadi lebih pekat dan kadarnya meningkat.

4.4 Penentuan Waktu Penambahan Sari Buah Jeruk Nipis dan Cara Penyimpanan Nasi Optimum

Setelah diperoleh konsentrasi optimum penggunaan sari buah jeruk nipis yang efektif dalam mengawetkan nasi, selanjutnya dilakukan optimalisasi waktu penambahan sari buah jeruk nipis dan cara penyimpanan nasi. Pada penentuan waktu optimum penambahan sari buah jeruk nipis ke dalam nasi, sari buah jeruk nipis dengan konsentrasi 0,93% ditambahkan ke dalam nasi yang telah matang. Selanjutnya dilakukan optimalisasi tempat penyimpanan nasi, yaitu dengan cara menyimpan nasi tersebut di wadah yang berbeda. Sampel ini kemudian diberi kode N_D (untuk sampel nasi yang disimpan dalam *magic com*) dan N_L (untuk nasi yang disimpan dalam bakul plastik).

Ketepatan waktu penambahan sari buah jeruk nipis dan cara penyimpanan kedua sampel tersebut dilihat dari ketahanannya yang diindikasikan oleh parameter-parameter fisik (warna, aroma/bau, dan rasa), waktu kadaluarsa, dan parameter mikrobiologi (jumlah bakteri) sampel nasi. Adapun analisis kandungan gizi dari kedua sampel tersebut tidak ditentukan karena dianggap tidak berbeda jauh dengan kandungan gizi sampel N2.

4.4.1 Hasil Pengamatan Sifat Fisik Nasi

Pengamatan warna, aroma/bau, dan rasa sampel nasi ini dilakukan oleh peneliti. Pengamatan ini dilakukan dengan cara melihat, membaui, dan mencicipi sampel yang dilakukan setiap selang waktu 12 jam selama 4 hari. Berikut ini hasil pengamatan ketahanan nasi yang ditunjukkan pada tabel-tabel berikut ini.

Tabel 4.21. Perubahan warna pada sampel nasi N_D dan N_L

No.	Kode Sampel	Konsentrasi Sari Buah Jeruk Nipis yang Ditambahkan (%)	Jam ke-					
			12	24	36	48	60	72
1.	N_D	0,93	-	+	+	++	++	+++
2.	N_L	0,93	-	-	+	+	+	+

Keterangan :
 - = tidak ada perubahan
 + = agak kuning
 ++ = sedikit kuning
 +++ = kuning

Tabel 4.22. Perubahan aroma/bau pada sampel nasi N_D dan N_L

No.	Kode Sampel	Konsentrasi Sari Buah Jeruk Nipis yang Ditambahkan (%)	Jam ke-					
			12	24	36	48	60	72
1.	N_D	0,93	-	+	+	++	++	+++
2.	N_L	0,93	-	-	+	+	+	++

Keterangan :
 - = tidak ada perubahan
 + = agak bau
 ++ = sedikit bau
 +++ = bau

Tabel 4.23. Perubahan rasa pada sampel nasi N_D dan N_L

No.	Kode Sampel	Konsentrasi Sari Buah Jeruk Nipis yang Ditambahkan (%)	Jam ke-					
			12	24	36	48	60	72
1.	N_D	0,93	-	-	+	++	++	+++
2.	N_L	0,93	-	+	*	*	*	*

Keterangan :
 - = tidak ada perubahan
 + = agak basi
 ++ = sedikit basi
 +++ = basi
 * = berjamur

Pada tabel 4.21-4.23 di atas, terlihat bahwa warna nasi yang disimpan dalam bakul (N_L) perubahan warna dan bau yang terjadi tidak sebesar yang terjadi pada nasi yang disimpan dalam *magic com* (N_D). Sampel N_L cenderung menjadi kering dan mengeras, hal ini terjadi karena terjadinya respirasi dan transpirasi (proses penguapan air) dalam sel pada nasi. Kedua proses ini berlangsung lebih cepat karena sampel tersebut disimpan di ruangan terbuka. Sedangkan sampel N_D semakin lama disimpan semakin berwarna kuning dan berbau lebih tengik, hal ini terjadi karena suhu di dalam *magic com* cukup tinggi yaitu $71,5^{\circ}\text{C}$ sehingga terjadi kerusakan pada senyawa-senyawa yang terdapat pada nasi. Pengamatan perubahan rasa dari N_L hanya dilakukan pada jam ke-12 karena pada jam-jam berikutnya sampel tersebut telah ditumbuhi jamur berwarna putih kehitaman. Pada jam ke-72, terdapat lebih dari 2 koloni jamur yang tumbuh pada sampel N_L . Jamur-jamur tersebut tumbuh pada sampel N_L dan tidak tumbuh pada sampel N_D karena sampel N_L memiliki kondisi yang cocok bagi pertumbuhan jamur, sebab jamur hanya dapat hidup pada $a_w < 0,87$ (Purnomo, 2007).

4.4.2 Waktu Kadaluarsa Nasi

Cara penentuan waktu kadaluarsa kedua sampel ini sama dengan cara penentuan waktu kadaluarsa sampel N_k , N_1 , N_2 , N_3 , dan N_4 . Berikut ini adalah hasil penentuan kadaluarsa sampel nasi N_D dan N_L .

Tabel 4.24. Data hasil uji hedonik terhadap nasi dengan penambahan 0,93% sari buah jeruk nipis yang ditambahkan setelah menanak nasi dan disimpan dalam *magic com* (N_D)

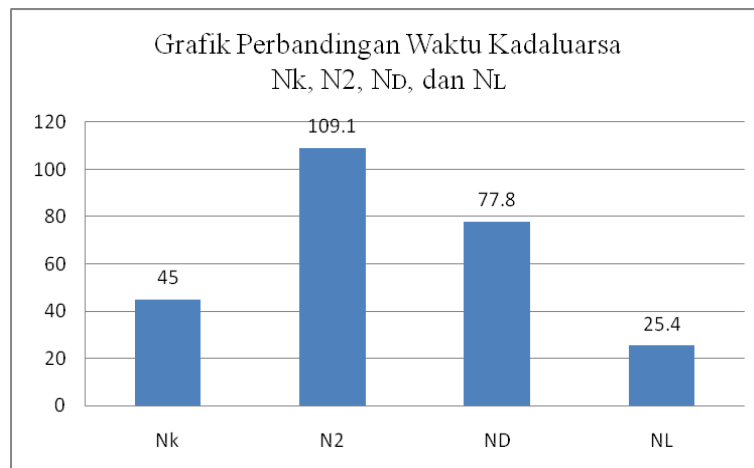
Periode Pengujian	Jam Sejak Nasi Dibuat	Skor Sampel					Rata-rata Total Skor Sampel
		Panelis 1	Panelis 2	Panelis 3	Panelis 4	Panelis 5	
(a)	(b)	(c)	(d)	(e)	(f)	(g)	(h)
0	12	1,3	1,4	1,5	1,6	1,4	1,44
I	24	1,5	1,7	1,5	1,9	1,7	1,66
II	36	1,8	1,9	1,7	2,0	1,9	1,86
III	48	2,0	2,1	2,0	2,0	2,1	2,1
IV	60	2,2	2,3	2,1	2,3	2,3	2,24
V	72	2,4	2,5	2,3	2,4	2,5	2,42

Tabel 4.25. Data hasil uji hedonik terhadap nasi dengan penambahan 0,93% sari buah jeruk nipis yang ditambahkan setelah menanak nasi dan disimpan dalam bakul plastik (N_L)

Periode Pengujian	Jam Sejak Nasi Dibuat	Skor Sampel					Rata-rata Total Skor Sampel
		Panelis 1	Panelis 2	Panelis 3	Panelis 4	Panelis 5	
(a)	(b)	(c)	(d)	(e)	(f)	(g)	(h)
0	12	2,0	2,1	2,0	2,2	2,0	2,06
I	24	2,3	2,4	2,3	2,5	2,3	2,36
II	36	2,9	3,0	2,8	3,1	3,0	2,96

Penentuan waktu kadaluarsa dari data pada tabel-tabel di atas dapat dilakukan dengan cara memplotkan kolom (b) terhadap kolom (h). Dari hasil analisis regresi, tabel 4.10 memiliki persamaan linear $y = 0,016x + 1,256$ dan tabel 4.11 $y = 0,037x + 1,56$. Dengan mensubstitusikan nilai 2,5 sebagai skor “cut

off’, maka diperoleh waktu kadaluarsa untuk N_D , dan N_L berturut-turut 77,8 jam dan 25,4 jam. Untuk lebih memperjelas, berikut ini adalah grafiknya.



Gambar 4.11. Grafik perbandingan waktu kadaluarsa N_k , N_2 , N_D , dan N_L

Dari gambar di atas terlihat bahwa N_D dan N_L memiliki waktu kadaluarsa yang lebih singkat daripada N_2 walaupun walaupun sama-sama ditambahkan sari buah jeruk nipis dengan konsentrasi yang sama dengan N_2 .

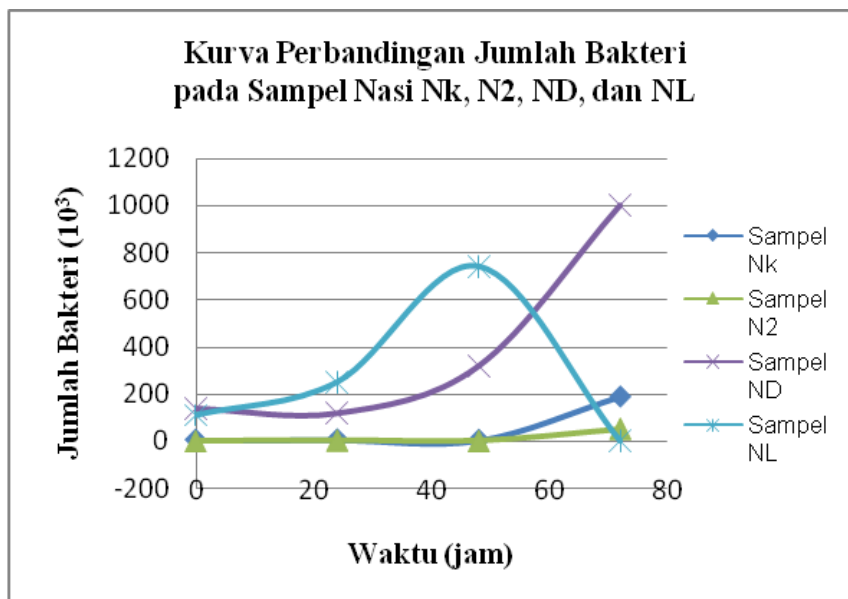
4.4.3 Hasil Analisis Mikrobiologi Nasi

Cara yang digunakan untuk analisis mikrobiologi kedua sampel ini sama dengan cara analisis mikrobiologi sampel N_k , N_1 , N_2 , N_3 , dan N_4 . Berikut ini adalah hasil analisis mikrobiologi sampel nasi N_D dan N_L .

Tabel 4.26. Perbandingan jumlah bakteri antara N_k , N_2 , N_D , dan N_L

Jam ke-	N_k	N_2	N_D	N_L
0	$5,4 \times 10^3$	$1,1 \times 10^3$	140×10^3	110×10^3
24	$6,3 \times 10^3$	$3,6 \times 10^3$	120×10^3	250×10^3
48	$4,0 \times 10^3$	$1,5 \times 10^3$	320×10^3	740×10^3
72	190×10^3	54×10^3	1000×10^3	TBUD

Untuk memperjelas perbandingan jumlah bakteri pada keempat sampel tersebut, dapat dibuatkan grafik sebagai berikut.



Gambar 4.12. Kurva perbandingan jumlah bakteri antara N_k, N₂, N_D dan N_L

Dari gambar 4.12 di atas terlihat bahwa jumlah bakteri pada N_D dan N_L lebih banyak dari pada N₂ walaupun mengandung konsentrasi sari buah jeruk nipis yang sama, yaitu sebesar 0,93%. Hal ini disebabkan oleh tingkat kontaminasi pada N_D dan N_L lebih tinggi daripada N_k karena pada saat menambahkan sari buah jeruk nipis ke dalam nasi yang telah matang dan mengaduknya sampai rata, bakteri yang ada di udara akan masuk ke dalam *magic com*. Terlebih lagi pada N_L yang disimpan dalam bakul plastik, akan ada banyak bakteri yang mengkontaminasi nasi tersebut.