

## BAB III METODE PENELITIAN

### 3.1. Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan februari sampai dengan bulan juni 2018 di Laboratorium Riset Kimia Makanan Departemen Pendidikan Kimia Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pendidikan Indonesia.

### 3.2. Alat dan Bahan

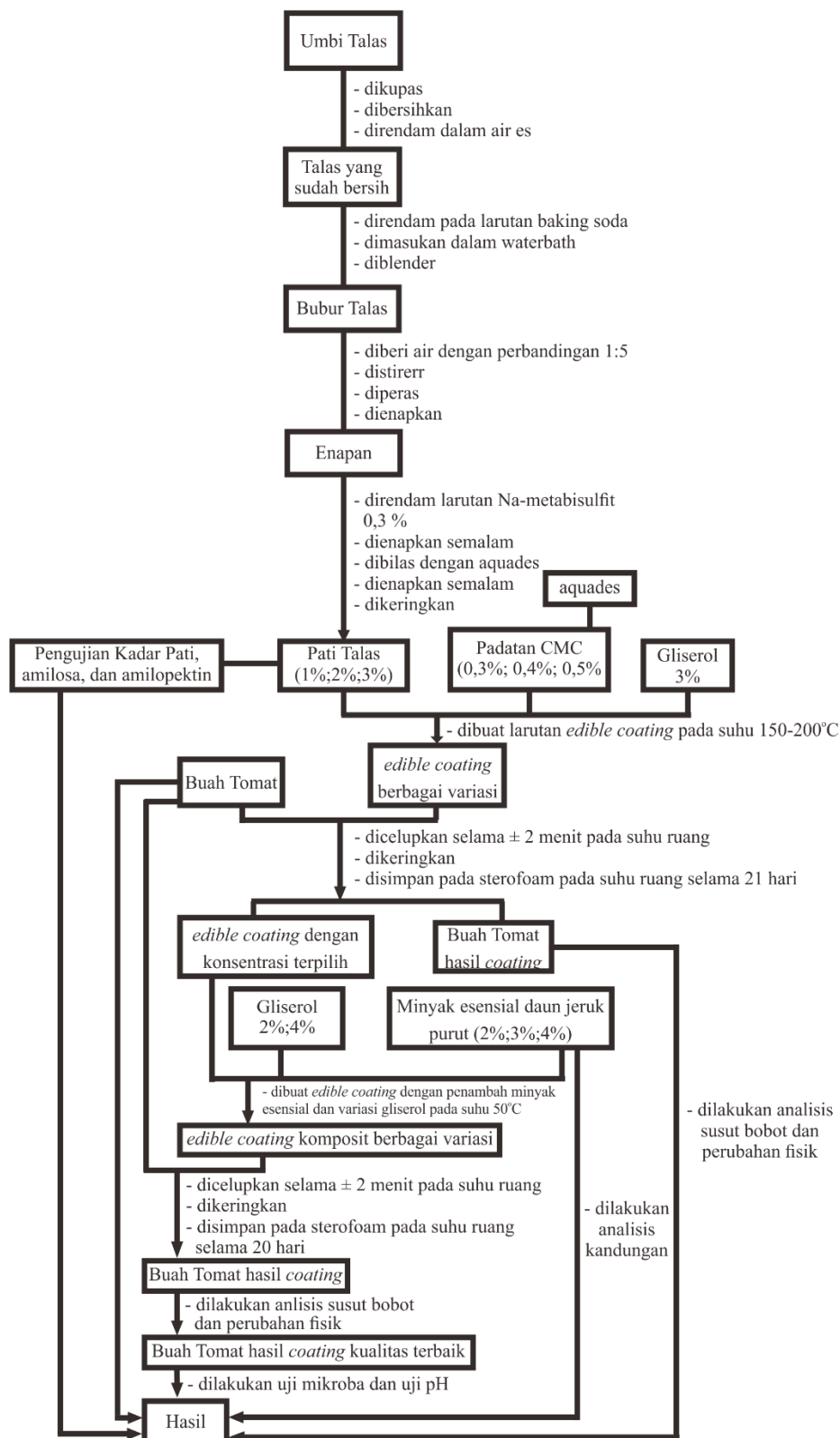
#### 3.2.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi timbangan analitik, baskom, spatula, batang pengaduk, sendok makan, sarung tangan lateks, gelas kimia 250 mL dan 500 mL, oven, plastik pembungkus, talenan plastik, tabung reaksi, pisau, gelas ukur 10 mL, serta saringan. Alat-alat yang digunakan dalam analisis adalah pipet tetes, pipet ukur, cawan alumunium, gelas ukur, *hot plate*, blender, pisau, tabung reaksi, *waterbath* dan penjepit.

#### 3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah buah tomat (*Solanum lycopersicum* L.), bahan *edible coating* dari pati talas, dan bahan tambahan yang dibutuhkan adalah *carboxymethyl cellulose* (CMC), gliserol, minyak esensial daun jeruk purut, natrium metabisulfit, natrium bikarbonat, aquades, etanol 95%, NaOH, asam asetat 1N, kalium iodide, iodium, nutrient agar, HCl 25%, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 25%, Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 0,1N, amilum, dan larutan Luff Schoorl.

### 3.3. Bagan Alir Penelitian



### **3.4. Tahap Penelitian**

#### **3.4.1 Pembuatan Pati**

Pembuatan pati pada penelitian ini dilakukan berdasarkan metode yang dilakukan oleh (Rosmiyati, 2017) dengan sedikit modifikasi. Hal yang pertama dilakukan adalah memisahkan umbi talas dari kulitnya. Daging buah dan kulit biji tersebut ditimbang secara terpisah. Kemudian umbi talas di potong potong seperti dadu. Selanjutnya merendam potongan umbi talas pada air es. Potongan umbi talas dimasukan kedalam larutan natrium bikarbonat 4% kemudian diinkubasi dalam waterbath pada suhu 40°C selama 1 jam. Selanjutnya potongan umbi talas diblender dan ditambahkan sedikit air. Bubur talas kemudian di tambah air dengan perbandingan 1:5 dan distirer selama 10 menit. Kemudian dilakukan pemerasan dengan saringan kain lapis ganda hingga diperoleh suspensi pati yang ditampung dalam wadah. Suspensi pati kemudian diendapkan beberapa jam. Cairan pada bagian atas pati dibuang dan diganti dengan larutan natrium metabisulfit 0,3% dan diendapkan selama semalam. Cairan bagian atas kemudian dibuang dan pati dibilas dengan aquades, kemudian diendapkan kembali selama semalam. Kemudian cairan bagian atas dibuang dan pati dikeringkan dengan oven dengan suhu 100°C selama 4 jam hingga massanya konstan.

#### **3.4.2 Analisa Kandungan Pati**

##### **a. Penentuan Kadar Pati**

Sampel sebanyak 0,1 gram ditimbang dalam Erlenmeyer 250 mL dan ditambahkan 50 mL aquadest, dan 5 mL HCl 25%, kemudian dipanaskan pada suhu 100°C selama 1-2 jam. Kemudian didinginkan, suspensi dinetralkan dengan NaOH 25% sampai pH 7. Pindahkan secara kuantitatif dalam labu takar 100 mL, kemudian tepatkan hingga tanda tera dengan air. Larutan ini kemudian disaring kembali menggunakan kertas saring.

Sebanyak 25 mL dari persiapan sampel ditambahkan 25 mL larutan Luff Schoorl dalam labu dasar bulat dibuat pada perlakuan blanko yaitu 25 mL larutan Luff Schoorl dengan aquades, labu dasar bulat dihubungkan dengan pendingin balik, kemudian dididihkan. Pendidihan larutan dipertahankan selama 10 menit. Selanjutnya cepat-cepat didinginkan dan di tambah 15 mL KI 20% dan dengan hati-hati ditambah  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  0,1 N memakai indikator pati 0,5% sebanyak 2-3 mL untuk

memperjelas perubahan warna pada akhir titrasi maka sebaiknya pati diberikan pada saat titrasi hampir berakhir.

Dengan mengetahui selisih antara titrasi blanko dan titrasi sampel, kadar gula reduksi (setelah dihidrolisis dengan HCl 25%) dalam bahan, dapat dicari dengan menggunakan tabel konversi Luff Schoorl lalu dikalikan 0,9 merupakan kadar pati dalam bahan.

#### **b. Penentuan Kadar Amilosa**

Sebanyak 40 mg amilosa murni dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan 1mL etanol 95% dan 9 mL NaOH 1N. campuran dipanaskan dalam penangas air bersuhu 100°C selama 10 menit, lalu didinginkan, campuran dipindahkan kedalam labu ukur 100 mL kemudian ditambahkan aquades sampai tanda batas.

Larutan tersebut diambil masing-masing 1, 2, 3, 4, dan 5 mL dan dimasukkan dalam labu ukur 100 mL. kemudian ditambahkan asam asetat 1 N masing masing 0,2 ; 0,4; 0,6; 0,8; dan 1 mL, lalu ditambahkan masing-masing 2 mL larutan iodin 0,2 %. Campuran tersebut lalu ditambahkan aquades hingga mencapai tanda batas dan dibiarkan selama 20 menit.

Intensitas warna biru yang terbentuk diukur dengan spektrofotometer pada Panjang gelombang 620 nm. Kemudian dibuat kurva standar antara konsentrasi amilosa murni dengan absorbansi. Selanjutnya dilakukan penentuan kadar amilosa pati umbi talas.

Sebanyak 100 mg pati dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan 1 mL etanol 95% dan 9 mL NaOH 1 N. campuran dipanaskan dalam penangas air bersuhu 100°C selama 10 menit, kemudian didinginkan. Campuran di pindahkan ke dalam labu ukur 100 mL lalu di tambahkan aquades sampai volumenya 100 mL.

Larutan tersebut di ambil 5 mL kemudian larutan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL, ditambahkan 1 mL asam asetat 1 N dan 2 mL larutan iodin 0,2%. Campuran dalam labu ukur ditambahkan aquades sampai volumenya 50 mL, lalu dikocok hingga homogen dan dibiarkan selama 20 menit.

Intensitas warna biru yang terbentuk diukur dengan spektrofotometer pada Panjang gelombang 620 nm. Kadar amilosa sampel dihitung dengan persamaan :

$$\text{kadar amilosa (\%)} = \frac{C_{\text{sampel}} \times f.p \times 100\%}{C_{\text{induk}}}$$

Keterangan:

$C_{\text{sampel}}$  = konsentrasi amilosa sampel dari persamaan kurva standar (ppm)

$C_{\text{induk}}$  = konsentrasi larutan induk sampel (ppm)

### c. Penentuan Kadar Amilopektin

Pengukuran kadar amilopektin dilakukan dengan mengurangi hasil perhitungan kadar pati dengan kadar amilosa:

$$\text{kadar amilopektin (\%)} = 100\% - \% \text{kadar amilosa}$$

### 3.4.3 Tahap Optimasi

#### a. Optimasi Konsentrasi Larutan Edible Coating

Pembuatan *edible coating* pada penelitian ini dilakukan berdasarkan pada metode Nawab dkk., (2017) dengan sedikit modifikasi. Pati talas yang digunakan yaitu 1%; 2%; dan 3% (b/v aquades), CMC yang digunakan yaitu 0,3%; 0,4%; 0,5% dan gliserol yang digunakan yaitu 2%; 3%; dan 4% (v/v).

#### b. Optimasi Konsentrasi Minyak Esensial Daun Jeruk Purut

Pembuatan *edible coating* dengan penambahan minyak esensial pada penelitian ini dilakukan berdasarkan metode Alparslan dkk.(2016) dengan sedikit modifikasi. Minyak esensial daun jeruk purut yang ditambahkan yaitu 1%; 2%; dan 3% (v/b massa *edible coating*).

### 3.4.4 Aplikasi Edible Coating Pada Buah Tomat

Sebelum proses *coating*, buah tomat terlebih dahulu dicuci dengan menggunakan air bersih dan sabun untuk sayur daun buah. Proses pelapisan dilakukan dengan mencelupkan buah tomat pada larutan *edible coating* selama  $\pm 3$  menit dan dikeringkan di udara. Kemudian buah tersebut disimpan pada sterofom tertutup selama 20 hari penyimpanan dengan suhu ruang. Buah tomat dilakukan beberapa analisis kualitas sebagai berikut:

### a. Susut Bobot

Pengukuran susut bobot dilakukan secara gravimetri, yaitu membandingkan selisih bobot sebelum penyimpanan dengan sesudah penyimpanan. Kehilangan bobot selama penyimpanan dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Susut bobot (\%)} = \frac{W - W_a}{W} \times 100\%$$

Dimana:

W = bobot buah tomat pada awal penyimpanan

W<sub>a</sub> = bobot buah tomat pada akhir penyimpanan

(AOAC, 1995)

### b. Analisa Perubahan Fisik

Analisis perubahan fisik pada buah tomat dianalisis oleh peneliti dengan aspek kekerutan dan timbul jamur. Analisis ini dilakukan dengan cara pengamatan dan pemberian nilai (skor), yaitu 1 (segar); 2 (lunak); 3 (berjamur); 4 (busuk) selama 20 hari penyimpanan.

#### 3.3.5 Pengujian pH Buah Tomat Hasil Optimasi

Pengukuran pH dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui keadaan asam organik didalam buah. Nilai pH akan berkaitan dengan asam organik yang terkandung di dalam buah tersebut (Alexandra & Nurlina, 2014). Pengukuran nilai pH buah dilakukan menggunakan alat pH meter. Sebelum dilakukan pengukuran pada sampel, pH meter dikalibrasi terlebih dahulu dengan pH 4 dan pH 7. Sampel buah dipotong-potong lalu dihancurkan, kemudian diambil ± 10 gram dan dilarutkan dengan 100 mL aquades, kemudiann diencerkan dalam labu ukur 250 ml sampai tanda batas, selanjutnya disaring dan diukur nilai pH sebanyak tiga kali, lalu dirata-ratakan (Oloke, Majolagbe, Ogundele, Aina, & Adetunji, 2012).

#### 3.3.6 Pengujian Total Mikrobiologi Buah Tomat Hasil Optimasi

Pengujian total mikroba menggunakan metode *total plate count* (TPC) bertujuan untuk mengetahui jumlah mikroba yang terdapat pada buah tomat dengan cara menghitung koloni bakteri yang ditumbuhkan pada media agar dan mengetahui efektifitas penggunaan *edible coating* dengan penambahan minyak esensial daun jeruk purut. Pengujian ini dilakukan dengan metode hitungan cawan (*plate count methode*) dengan cara tuang (*pour plate method*).

Pengujian yang dilakukan sesuai dengan metode Lukman (2009) dalam Darmansyah (2011) dengan sedikit modifikasi. Buah tomat yang akan diuji, dihancurkan terlebih dahulu, dan diambil sebanyak 1ml lalu dimasukkan kedalam aquades yang sudah disterilisasi, kemudian dilakukan pengenceran hingga  $10^{-4}$ . Hasil pengenceran  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  dan  $10^{-4}$  di tuangkan sebanyak 1ml pada cawan petri yang sudah disterilisasi terlebih dahulu. Media yang digunakan adalah nutrient agar (NA) cair dengan suhu  $44-46^{\circ}\text{C}$  yang kemudian dituangkan sebanyak 9ml pada setiap cawan petri. Kemudian dihomogenkan dengan cara cawan petri digoyangkan membentuk angka 8 pada permukaan yang rata secara hati-hati. Cawan petri kemudian dimasukkan ke dalam inkubator dan diletakan dalam posisi terbalik pada suhu  $\pm 37^{\circ}\text{C}$ . pengamatan koloni dilakukan selama 24 jam penyimpanan pada incubator. Jumlah mikroba yang tumbuh pada setiap cawan petri dihitung dengan rumus :

$$\text{Jumlah mikroba (cfu/ml)} = (\text{julah koloni}) \times (\text{faktor pengenceran})$$

$$\text{Faktor pengenceran} = 1/\text{tingkat pengenceran.}$$