

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian akan dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial. Faktor pertama adalah kadar kitosan yang terdiri dari : 2%, 2,5%, dan 3%. Faktor kedua adalah lama perendaman yang terdiri dari : 30 dan 60 menit.

Faktor I adalah variasi konsentrasi kitosan yang terdiri dari 4 taraf meliputi:

1. K_0 = Tanpa pelapisan kitosan
2. K_1 = Pelapisan dengan kitosan 2%
3. K_2 = Pelapisan dengan kitosan 2,5%
4. K_3 = Pelapisan dengan kitosan 3%

Faktor II adalah lama perendaman yang terdiri dari 2 taraf meliputi:

1. P_1 = Perendaman 30 menit
2. P_2 = Perendaman 60 menit

Tabel 3.1 Model perlakuan

Konsentrasi kitosan (K)	Lama Perendaman (P)	
	30 menit (P_1)	60 menit (P_2)
K_1	K_1P_1	K_1P_2
K_2	K_2P_1	K_2P_2
K_3	K_3P_1	K_3P_2

Keterangan :

K₁P₁: Pelapisan dengan kitosan 2% dan lama perendaman 30 menit

K₂P₁: Pelapisan dengan kitosan 2,5% dan lama perendaman 30 menit

K₃P₁: Pelapisan dengan kitosan 3% dan lama perendaman 30 menit

K₁P₂: Pelapisan dengan kitosan 2% dan lama perendaman 60 menit

K₂P₂: Pelapisan dengan kitosan 2,5% dan lama perendaman 60 menit

K₃P₂: Pelapisan dengan kitosan 3% dan lama perendaman 60 menit

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari-Maret 2014 di Laboratorium Biokimia Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang dan di Laboratorium Kimia, Jurusan Pendidikan Biologi, FKIP, Universitas Muhammadiyah Malang.

3.3 Variabel Penelitian

Variabel pada penelitian ini adalah :

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi kadar kitosan (2%, 2.5%, dan 3%) dan lama perendaman 30 dan 60 menit.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah susut bobot, kandungan vitamin C, warna, dan jumlah koloni mikroba.

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya adalah timbangan analitik, pisau, bak plastik, beaker glas, gelas ukur, cawan petri, tabung reaksi, mikropipet, mortal, *colour* reader, dan blender.

3.4.2 Bahan

Bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini diantaranya adalah brokoli, kitosan, asam asetat, aquades, amilum 1%, iodin, dan PCA.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Penyiapan Larutan Kitosan

Asam asetat sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam labu takar ukuran 100 ml. Kemudian ditambahkan aquades hingga mencapai batas 100 ml. Setelah itu larutan dikocok hingga menyatu. Kemudian larutan kitosan dibuat dari bubuk kitosan yang dilarutkan dalam 100 ml larutan asam asetat 1% dengan kadar yang sudah ditentukan. Penelitian ini menggunakan kadar kitosan yang terdiri atas 2%, 2,5%, dan 3%.

3.5.2 Proses *Coating* pada Brokoli

Brokoli setelah dicuci bersih diperlakukan sebagai berikut:

- a. Direndam dalam larutan kitosan konsentrasi 2%, 2,5%, dan 3% selama 30 menit dan 60 menit
- b. Disimpan pada suhu kamar (25-27°C)

3.5.3 Penentuan Susut Bobot

Persentase susut bobot dapat dihitung dengan rumus (Sudaro, 2000):

$$\% \text{ susut bobot} = \frac{A-B}{A} \times 100\%$$

Keterangan :

A = berat sebelum penyimpanan (gram)

B = berat sesudah penyimpanan (gram)

3.5.4 Pengamatan Warna

Pengukuran perubahan warna buah dilakukan dengan menggunakan alat color reader. Pengukuran warna brokoli (*Brassica oleracea* L.) adalah :

1. Alat color reader yang digunakan adalah color reader minolta
2. Ubah tombol on-off ke posisi on untuk menyalakan alat
3. Atur posisi sedemikian rupa sehingga sensor bersentuhan dengan sampel yang hendak diukur tingkat warnanya
4. Sampel harus ditempatkan pada wadah yang transparan (kaca atau plastik)
5. Tekan tombol target, yang akan diikuti suara beep, pertanda pembacaan selesai dilakukan
6. Catat angka L, a, dan b pada layar monitor alat colour reader
7. Tekan reset untuk pengukuran selanjutnya
8. Ubah posisi tombol on-off ke arah off untuk mematikan alat
9. Simpan alat pada tempat yang kering dan terhindar dari sinar matahari.

Keterangan:

1. Nilai L = kecerahan
2. Nilai a- = hijau
3. Nilai a+ = merah
4. Nilai b+ = kuning
5. Nilai b- = biru
6. Nilai L, a, b tergantung komoditas yang diuji
7. Kisaran nilai antara 1 – 100
8. Pada brokoli nilai a- menunjukkan warna hijau, semakin tinggi nilai a- maka warna hijau brokoli semakin tinggi

3.5.5 Pengukuran Kadar Vitamin C

Pengukuran kadar vitamin C dilakukan diawal dan diakhir pengamatan selama 5 hari, menggunakan metode titrasi dengan cara sebagai berikut (Sudarmadji, 1997):

20 gram bahan dihancurkan dengan mortal. Kemudian dimasukkan dalam labu ukur 100 ml, encerkan sampai tanda batas dengan menambah akuades yang digunakan sebagai pembilas mortal, selanjutnya disaring menggunakan kertas saring. Diambil 5 ml filtrat dimasukkan ke dalam erlenmeyer, ditambahkan 2-3 tetes amilum 1%, kemudian dititrasi dengan larutan iodine 0,01 N sampai timbul perubahan warna yang stabil (biru ungu). Setiap ml iodine sebanding 0,88 asam askorbat, sehingga kadar asam (vitamin C) dari bahan dapat dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Asam Askorbat} = \frac{\text{ml iodine} \times 0,01 \text{ N} \times 0,88 \times F_p}{\text{Berat contoh}} \times 100$$

Keterangan :

Fp : faktor pengencer

3.5.6 Uji Total Jumlah Koloni Mikroba (*Total Plate count (TPC)*)

Brokoli sebanyak 10 gr diblender, kemudian diambil 1 ml dan secara aseptis dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi pengencer 9 ml. Setelah dikocok, diambil dengan pipet steril 1 ml untuk pengenceran berikutnya. Pemupukan dilakukan dengan metode agar tuang (*pour plate*), yaitu sebanyak 1ml sampel yang telah diencerkan sampai pada tingkat tertentu, diambil dengan pipet steril secara aseptis, dan dipindahkan ke dalam cawan petri. Media PCA cair dengan suhu kira-kira 45°C dituang ke dalam petri. Setelah dingin diinkubasi selama 48 jam.

Cara perhitungan:

1. Jika jumlah koloni pada satu pengenceran antara 25-250, hitung rata-rata x faktor pengenceran
2. Jika koloni pada salah satu dari dua cawan petri ada yang kurang dari 25 atau lebih dari 250 hitung rata-rata x factor pengenceran
3. Jika jumlah koloni pada 2 pengenceran berada diantara 25-250 koloni, hitung rata-rata keduanya . jika rata-rata pada pengenceran tertinggi lebih besar dari 2x rata-rata pengenceran terkecil, maka rata-rata jumlah koloni pada pengenceran terkecil yang dihitung
4. Jika jumlah koloni pada masing-masing pengenceran tidak terdapat diantara 25-250 koloni, hitung semua jumlah koloni lalu dirata-rata
5. Jika jumlah koloni pada semua pengenceran lebih dari 250 koloni, hitung jumlah koloni pada 2 cawan petri dengan pengenceran tertinggi lalu dibagi menjadi 2,4,8 sektor, hitung jumlah koloni dalam 1 bagian atau

lebih. Hitung jumlah rata-rata jumlah koloni kalikan dengan factor pembagi dan pengenceran. Jika dalam 1/8 bagian cawan petri 200 koloni maka,

$$\text{Jumlah koloni} = 8 \times 200 = 1600 \times \text{faktor pengenceran}$$

Jika lebih maka,

$$\text{Jumlah koloni} > 1600 \times \text{faktor pengenceran}$$

6. Jika tidak ada koloni yang tumbuh dalam cawan petri nyatakan jumlah jumlah perkiraan lebih kecil dari satu dikalikan dengan pengenceran terendah (<10)

7. Menghitung koloni perambat (spreader)

- Bila terjadi hanya 1 (satu) perambatan (seperti rantai) maka koloni dianggap satu
- Bila satu atau lebih rantai terbentuk dan berasal dari sumber yang terpisah-pisah, maka tiap sumber dihitung sebagai satu koloni
- Perambatan yang terjadi antara dasar cawan petri dan perbenihan atau perambatan yang terjadi pada pinggir atau permukaan perbenihan sebaiknya pemeriksaan diulangi karena sulit dihitung

8. Dalam melaporkan jumlah koloni hanya 2 angka penting yang digunakan, yaitu angka yang pertama dan kedua

- Angka pertama didepan koma dan angka kedua dibelakang koma
- Jika angka ketiga ≥ 5 harus dibulatkan 1 angka lebih tinggipada angka yang kedua
- Jika angka yang ketiga < 5 , angka tersebut diganti dengan 0

Contoh : 523.00 dilaporkan sebagai 520.000 ($5,2 \times 10^5$)

83.600 dilaporkan sebagai 84.000 ($8,4 \times 10^4$)

3.6 Analisa Data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan *Analisis of Varian* (ANOVA) *two way* dengan taraf kepercayaan 5%. Apabila diperoleh perbedaan nyata maka dilanjutkan dengan uji jarak Duncan.



3.7 Bagan Rancangan Penelitian

