

### **BAB III**

#### **METODE PENELITIAN**

##### **A. Waktu dan Tempat**

Rancangan kajian dilaksanakan pada bulan Maret – Agustus 2023. Penelitian dilaksanakan Laboratorium Agroteknologi Dasar lantai 5 dan ruang kelas gedung J Fakultas Pertanian dan Perikanan, Laboratorium Agroteknologi Terapan gedung I serta Laboratorium Mikrobiologi dan Biokimia Fakultas Biologi, Universitas Muhammadiyah Purwokerto .

##### **B. Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari lempeng hangat (*hot plate*) & pengaduk magnet, oven, timbangan analitik, desikator, blender, cawan, thermometer, pH meter, alat bedah ikan, alat Refraktometer dan waterbath. Alat-alat gelas yang terdiri dari gelas ukur, pipet volume, gelas piala (beaker), labu ukur, labu erlenmayer, corong, batang pengaduk alat tulis, label, kamera handphone.

Untuk bahan yang digunakan dalam kajian meliputi limbah sisik ikan gurami yang berasal dari penjual ikan gurami di pasar Beji dan pasar Wage Purwokerto, buah tomat fresh varietas Gandhi F1 yang berasal dari petani di Desa Blederan, Kec, Mojotengah, Kab.Wonosobo dengan ciri-ciri kulit berwarna orange kemerahan. Untuk bahan ekstrasi yang digunakan terdiri dari asam klorida (HCL), natrium hidroksida (NaOH) aquades (H<sub>2</sub>O), gliserol dan kertas saring Whatman.

##### **C. Rancangan Percobaan**

Penelitian “Pengaruh *Edible Coating* Limbah Ikan Gurame Terhadap Kualitas Dan Daya Simpan Buah Tomat (*Lycopersicon Esculentum*)” dilakukan secara eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang tersusun dari dua faktor. Faktor pertama, Konsentrasi Kitosan dan Gelatin (P) yang terdiri dari enam taraf dan faktor kedua, lama penyelupan (L) terdiri dari tiga taraf. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak tiga kali.

Faktor Pertama : Perbandingan Kitosan dan Gelatin pada enam taraf

P0: Tanpa Penggunaan perlakuan (Kontrol)

P1: Kitosan dan Gelatin 100%:0%

P2: Kitosan dan Gelatin 25%:75%

P3: Kitosan dan Gelatin 50%:50%

P4: Kitosan dan Gelatin 75%:25%

P5: Kitosan dan Gelatin 0%:100%

Faktor Kedua : Lama pencelupan dengan tiga taraf

L1: Lama pencelupan selama 5 menit

L2 : Lama Pencelupan selama 10 menit

L3: Lama pencelupan selama 15 menit

#### **D. Pelaksanaan Percobaan**

Pada pelaksanaan kajian terdapat beberapa tahapan yang harus dilakukan agar pada kegiatan kajian terstruktur:

##### **a) Persiapan Sampel**

Tahapan awal yang dilakukan yaitu dengan mensortasi buah tomat terlebih dahulu dengan cara memilih buah tomat dengan ciri-ciri

keseluruhan kulit berwarna orange kemerahan, selain itu juga menyiapkan bahan bahan seperti limbah sisik ikan gurami dan bahan lainnya yang dibutuhkan.

**b) Ekstraksi Kitosan Menurut Rosida, *et.al.* (2018)**

Tahapan pembuatan kitosan terdiri tahapan persiapan, deproteinisasi, demineralisasi, dan transformasi kitin menjadi kitosan.

1. Tahap persiapan

Sisik ikan gurami tersebut dicuci dengan air mengalir kemudian direndam dengan air mendidih selama 5-10 menit, ulangi kembali perendaman dengan air mendidih sampai sisik yang dihasilkan tidak berlendir. kemudian ditiriskan airnya. Setelah itu dikeringkan di dalam oven dengan suhu 100°C selama 24 jam, lalu dihaluskan menggunakan blender kemudian disaring dengan ayakan.

2. Tahap Deproteinasi.

Menimbang sisik ikan sebanyak 100gram masukkan kedalam beaker glass tambahkan larutan NaOH 0.1 N sebanyak 1000 ml dengan perbandingan (1:10), kemudian dipanaskan pada suhu 65°C selama 2 jam sembari diaduk. Setelah itu larutan didiamkan terlebih dahulu sampai dingin, kemudian di saring menggunakan kertas saring dan dicuci dengan aquadest samapai netral. Setelah netral residu yang diperoleh dikeringkan di dalam oven pada suhu 60°C selama 8 jam.

3. Tahap Demineralisasi

Residu yang dihasilkan pada tahap deproteinasi ditambahkan dengan larutan HCl 0,5 N dengan perbandingan (1:10 (w/v)) dan dibiarkan selama 30 menit dalam suhu kamar sambari diaduk. Kemudian campuran disaring dengan menggunakan kertas saring dan dicuci dengan aquades sampai netral. Setelah kondisi netral tercapai, residu yang diperoleh kemudian dikeringkan pada suhu 60°C selama 8 jam hingga kering.

#### 4. Tahap Transformasi kitin menjadi kitosan

Residu hasil demineralisasi ditambahkan NaOH 40% dengan perbandingan (1:15) dalam wadah sambil diaduk dan dipanaskan pada suhu 100°C selama 30 menit. Setelah itu campuran didiamkan terlebih dahulu sampai dingin. Kemudian campuran yang sudah dingin disaring dan dicuci dengan aquades sampai netral, setelah kondisi netral tercapai residu yang diperoleh kemudian dikeringkan pada suhu 60°C selama 8 jam hingga kering. Produk deasitilasi inilah yang dinamakan kitosan.

#### c) **Ekstraksi Gelatin**

Ekstraksi gelatin menurut penelitian Bhernama et.al. (2020) terdiri dari empat proses, tahapannya yaitu degreasing, demineralisasi, ekstraksi dan yang terakhir adalah proses pengeringan.

##### 1) Tahap Degreasing

Proses diawali dengan cara sisik ikan gurami dibersihkan terlebih dahulu yang bertujuan untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada sisik tersebut. Sisik ikan gurami dicuci dengan air mengalir kemudian direndam dengan air mendidih selama 5-10 menit, ulangi kembali

perendaman dengan air mendidih sampai sisik yang dihasilkan tidak berlendir. Selanjutnya sisik ikan gurami dikeringkan didalam oven dengan suhu 100°C selama 24 jam dan dihaluskan.

## 2) Tahap Demineralisasi

Menimbang sisik ikan gurami sebanyak 100 gram, kemudian direndam dalam larutan asam klorida (HCl) 3% dengan waktu perendaman selama 48 jam (sampai terbentuk sisik lunak (ossein)), setelah itu disaring. Kemudian sisik lunak (ossein) tersebut dicuci dengan akuades hingga pH 6-7 (netral) kemudian disaring.

## 3) Tahap Ekstraksi

Proses ekstraksi sisik menggunakan water bath pada suhu 70°C selama 3 jam. Kemudian filtrat disaring.

## 4) Tahap Pengeringan

Filtrat hasil ekstraksi dikeringkan dalam oven pada suhu 60°C selama 24 jam (hingga terbentuk gelatin)

### **d) Pembuatan Larutan *Edible Coating* Kitosan dan Gelatin (Erizal,*et al.*,2013)**

Pembuatan *coating* gelatin-kitosan dibuat dengan teknik *casting*. Menyiapkan larutan gelatin 4% dalam aquadest dengan komposisi 40 g gelatin dalam 1000 ml aquadest, dengan cara aquadestnya dipanaskan terlebih dahulu sampai suhu 80°C. kemudian serbuk gelatin dilarutkan terlebih dahulu dengan sedikit aquadest yang telah dipanaskan di wadah kecil sebelum dicampurkan kedalam total larutan aquadest. Kemudian serbuk gelatin yang telah dilarutkan dalam wadah kecil dimasukkan kedalam larutan aquadest pada suhu 80°C dalam

waktu 10 menit. Selanjutnya yaitu menyiapkan larutan kitosan 0.75% dengan komposisi 7.5 g kitosan dalam 1000 ml asam asetat 1%, dengan cara larutan asam asetat 1% dipanaskan terlebih dahulu sampai suhu 60°C. kemudian serbuk kitosan dilarutkan terlebih dahulu dengan sedikit larutan asam asetat 1% yang telah dipanaskan di wadah kecil sebelum dicampurkan kedalam total larutan asam asetat 1%. Kemudian serbuk kitosan yang telah dilarutkan dalam wadah kecil dimasukkan kedalam larutan asam asetat 1% pada suhu 60°C dalam waktu 10 menit. Kemudian kedua larutan tersebut dicampurkan dengan rasio perbandingan persen volume (mL/mL) kitosan terhadap gelatin yaitu 0%:100%, 25%:75%, 50%:50%, 75%:25% dan 0%:100%.

**e) Aplikasi *Edible Coating* pada Buah Tomat**

Pengaplikasian *edible coating* pada buah tomat dengan cara, mencuci buah tomat dengan air mengalir setelah itu dikeringanginkan. Setelah buah tomat kering dicelupkan pada larutan *edible coating* sesuai dengan perlakuannya selama 5, 10 dan 15 menit, kemudian buah tomat tersebut diangkat dan ditiriskan selama kurang lebih 45 menit. Tomat yang sudah dikeringkan kemudian ditempatkan di rak dengan terlebih dahulu memberi label pada unit pemrosesan setiap rak dan sampel disimpan pada suhu penyimpanan 22-28°C dan kelembapan 70-78 selama 0, 3, 6, dan 9 hari dan dianalisis susut bobot, uji pH, kadar vitamin C, uji total padatan terlarut, dan total mikroba. Menganalisis kualitas tomat dan tes sensorik. Tomat yang tidak dilapisi dengan larutan *edible coating* juga disiapkan dan disimpan sebagai kontrol. Setelah itu, kami mengamati penyusutan tomat dan kondisi fisiknya.

## E. Variabel Pengamatan

Parameter pengamatan yang digunakan meliputi analisis fisikokimia seperti susut bobot, pH, uji kadar vitamin c, uji total soluble solid, uji total mikroba dan analisis sensoris seperti, tekstur, warna, aroma, tekstur dan kesegaran, pengamatan dilakukan selama 0, 3, 6 dan 9 hari.

### Analisis Fisikokimia

#### a) Susut Bobot (Cahyono, 2017)

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

$$\text{Susut Bobot} = \frac{Ba - Bb}{Ba} \times 100\%$$

Keterangan :

Ba : Bobot awal buah

Bb : Bobot buah setelah penyimpanan

#### b) Uji pH (Fitriani *et al.*, 2020).

Uji pH ini dilakukan dengan cara menimbang sampel tomat, kemudian dihaluskan dan dilarutkan dengan aquadest dengan perbandingan 1:1. Kemudian melakukan pengukuran menggunakan alat pH meter.

#### c) Uji Kadar Vitamin C (Yudiana, 2013)

Uji kadar vitamin C ini dilakukan dengan cara menimbang 10 g sampel yang kemudian dihaluskan menggunakan mortal. Setelah itu dimasukkan ke dalam erlenmeyer kemudian menambahkan aquades sampai volumenya 30 ml. Setelah itu, disaring menggunakan kertas saring dalam beaker glass sebanyak 25 ml dan

menambahkan indikator amilum 1% 2-3 tetes, kemudian titrasi dengan menggunakan larutan standar Iodium 0,01 N hingga warnanya berubah menjadi violet. Uji vitamin C dapat dihitung dengan rumus :

$$\text{Kadar Vitamin C} = \frac{\text{ml Iod} \times 0,88 \times \text{FP}}{\text{Berat Sampel (mg)}} \times 100\%$$

Keterangan :

ml Iod : Volume Iodium (ml)

0,88 : Berat equivalen

FP : Faktor pengencer

Barat Bahan : Massa bahan (mg)

**d) Uji Total Soluble Solid (TSS) (Rozana, 2021)**

TSS atau total padatan terlarut dapat dilakukan menggunakan alat Refraktometer dan dinyatakan dalam satuan ( $^{\circ}$ Brix). Pada refraktometer diletakkan cairan daging buah. Hasil yang tertera menunjukkan kadar total padatan terlarut ( $^{\circ}$ Brix) yang mewakili tingkat kemanisan.

**e) Uji Total Mikroba**

Uji total mikroba mengacu pada Hartanto (2017) dengan sedikit modifikasi pada proses pengencerannya yaitu menyiapkan sampel yang diencerkan  $10^{-1}$  sampai  $10^{-5}$ . Sampel yang telah dihancurkan ditimbang sebanyak 1 g kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml garam fisiologis dan diaduk hingga homogen. Kemudian seri pengenceran dibuat dengan kelipatan  $10^{-1}$  hingga  $10^{-5}$ . Cawan petri yang berisi media nutrien agar (NA) disiapkan sebanyak 12 ml dan masing-masing cawan petri diberi label untuk pengenceran  $10^{-4}$ , dan  $10^{-5}$ . Masing-masing suspensi hasil pengenceran diinokulasikan sebanyak 0,1 ml pada cawan

petri yang berisi media NA dengan menggunakan metode spread plate atau metode sebar, setelah itu diratakan dengan hocky stick steril. Inkubasi dilakukan selama 24 jam pada suhu 37°C kemudian dihitung jumlah mikroba yang tumbuh pada media NA dengan menggunakan coloni counter. Rumus perhitungan TPC (*Total Plate Count*) sebagai berikut:

$$\text{Koloni/ml} = \text{Jumlah koloni percawan} \times 1/\text{fp}$$

Keterangan Faktor pengenceran di hitung dari pengenceran x jumlah yang di tumbuhkan

#### f) Analisis Sensoris

Uji sensorik atau uji organoleptik adalah suatu metode pengujian yang menggunakan indera manusia sebagai alat utama untuk mengukur keberterimaan produk. Uji sensori yang dilakukan adalah uji kesegaran, warna, aroma, dan tekstur (uji hedonik). Panelis yang digunakan yaitu sebanyak 30 orang. Tingkat kesukaan dinyatakan dalam skala hedonik yang terdiri dari tujuh skala numerik yang tertera pada lampiran 13. (Setyaningsih, *et al.*, 2010).

##### 1. Kesegaran

Memberi arahan tentang penelitian pada borang penelitian ke fanelis, mengambil sampel uji dan meletakkan dalam wadah yang bersih dan kering, kemudian melihat sampel untuk mengetahui kesegarannya.

##### 2. Warna

Memberi arahan tentang penelitian pada borang penelitian ke fanelis, mengambil sampel uji dan meletakkan dalam wadah yang bersih dan kering, kemudian melihat sampel untuk mengetahui warnanya.

### 3. Aroma

Memberi arahan tentang penelitian pada borang penelitian ke fanelis, mengambil sampel uji dan meletakkan dalam wadah yang bersih dan kering, kemudian mencium sampel untuk mengetahui aromanya.

### 4. Tekstur

Memberi arahan tentang penelitian pada borang penelitian ke fanelis, mengambil sampel uji dan meletakkan dalam wadah yang bersih dan kering, kemudian meraba sampel untuk mengetahui teksturnya.

## **F. Analisis Data**

Data yang telah terkumpul dari hasil uji analisis buah tomat disajikan dalam nilai rata-rata dan standar deviasi. Untuk menentukan adanya rata-rata perbedaan antar perlakuan maka dilakukan ANOVA pada taraf nyata 5%. Jika hasil uji menunjukkan signifikansi maka dilanjutkan dengan DMRI (Duncan's Multiple Range Test) pada taraf nyata 5%. Semua uji statistika yang dilakukan dalam tahapan analisis data ini dibantu dengan perangkat lunak SPSS versi 25.