

## **BAB III**

### **MATERI DAN METODE**

Penelitian dilaksanakan pada bulan September hingga November 2019 di Laboratorium Terpadu dan Laboratorium Kimia Gizi Pangan, Universitas Diponegoro, Semarang, Jawa Tengah.

#### **3.1. Materi**

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah Pisang ambon yang diperoleh dari pasar Rasamala, Semarang, Jawa Tengah. Lobak putih yang diperoleh dari Supermarket di Tembalang, Semarang, Indonesia. Senyawa H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, KI, akuades, *Buffer Phosphate* pH 7 dan pH 4 diperoleh dari Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro.

Alat-alat yang digunakan adalah aluminium foil, blender, gelas beaker, kapas, kertas saring, gelas ukur, pisau, *plastic wrap*, mikro pipet, milimeter *tube*, *L\*a\*b color meter* (AMT501, US), pH meter (Teckoplus, Taiwan), TPT meter (Teckoplus, Taiwan), *texture analyzer* (Brookfield, German), dan sentrifugasi (Scilogex DM0412).

#### **3.2. Metode**

Metode penelitian terdiri dari persiapan rancangan penelitian, persiapan buah pisang, pembuatan enzim peroksidase dan larutan HIO, aplikasi HIO pada

buah pisang, pengujian warna, nilai pH, total padatan terlarut, tekstur, dan analisis data hasil pengujian parameter.

### **3.2.1. Rancangan Percobaan**

Rancangan percobaan yang digunakan yaitu menggunakan perlakuan pengelompokan buah pisang berdasarkan jenis perlakuan, yaitu kelompok pertama buah pisang yang diberi akuades melalui media kapas sebagai perlakuan kontrol sedangkan kelompok kedua yaitu buah pisang yang diberi 20 mM HIO melalui media kapas. Tiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali dan disajikan dalam bentuk rata-rata  $\pm$  standar deviasi.

### **3.2.2. Persiapan Buah Pisang**

Persiapan buah pisang yang digunakan dalam penelitian ini mengacu pada metode Pongprasert *et al.* (2011). Buah pisang dengan umur panen 4 bulan dibeli dari pasar kemudian dibawa ke laboratorium dengan mobil, dimana selama pengangkutan, dipastikan buah terlindungi dari sinar matahari dan benda tajam. Buah dibersihkan dengan kain lalu dilakukan sortasi buah yang layak dan segera digunakan dalam penelitian. Digunakan 3 tandan pisang bagian atas untuk 3 ulangan, dimana satu tandan pisang terdiri dari 10 sisir dengan setiap sisir mengandung 12-15 buah. Satu sisir pisang dipisahkan menjadi beberapa bagian hingga didapatkan 1 sisir yang terdiri dari 2 buah pisang sebagai 1 ulangan sehingga total buah pisang yang digunakan dalam penelitian ini adalah 96 buah pisang.

### 3.2.3. Pembuatan Enzim Peroksidase dan Larutan HIO

Pembuatan enzim peroksidase mengacu pada metode Lavery *et al.* (2010) yang dimodifikasi. Proses ekstraksi menggunakan teknik ekstrak kasar enzim peroksidase dengan cara lobak putih dikupas kulitnya kemudian bagian daging dipotong dengan menggunakan pisau plastik. Lobak dihaluskan dengan cara diblender dengan menambahkan *phosphate buffer* pH 7 dengan perbandingan 1:4. Campuran tersebut disaring dengan kertas saring kemudian dipisahkan endapannya menggunakan sentrifugasi dengan kecepatan 10000 rpm selama 5 menit. Larutan disaring kembali menggunakan *syringe* untuk menjernihkan larutan sehingga tidak ada endapan yang tersisa.

Prosedur pembuatan larutan asam *hypoiodous* dilakukan mengacu pada metode Al-Baarri *et al.* (2019) dengan cara membuat larutan enzimatik yang terdiri dari H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, KI, dan enzim peroksidase. Konsentrasi substrat yang digunakan dalam pembuatan HIO yaitu H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan KI masing-masing sebesar 20 mM. Larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan KI masing-masing 4,5 ml dicampurkan dengan enzim peroksidase sebanyak 1 ml. Campuran larutan ditutup dengan plastik *wrap* kemudian ditunggu selama 6 menit dan larutan siap digunakan. Larutan pembanding yang digunakan dalam penelitian ini adalah akuades steril.

### 3.2.4. Aplikasi HIO pada Buah Pisang

Aplikasi HIO pada buah pisang mengacu pada metode yang dilakukan oleh Krauss and Johanson (2000) dengan modifikasi. Buah pisang diletakkan di atas permukaan yang telah dibersihkan menggunakan alkohol. Bagian bonggol buah

dihadapkan ke bawah selama 2 menit untuk memberi akses getah keluar. Aplikasi HIO sebagai perlakuan dan akuades sebagai kontrol dihitung berdasarkan berat buah pisang tiap satu sisir yang terdiri dari dua buah pisang. Perbandingan yang digunakan yaitu 1:60 (v/w) yang artinya setiap 60 gram berat buah pisang pada 1 sisir diberikan 1 ml HIO. Larutan HIO diteteskan pada kapas yang berukuran 6x5 cm kemudian diletakkan pada bagian bonggol pisang. Kapas diletakkan hingga menutupi seluruh bagian bonggol pisang kemudian dilapisi dengan *plastic wrap* jenis *polyethylen* untuk mencegah evaporasi. Buah pisang kelompok HIO dan kontrol diletakkan dalam wadah terpisah dan ditutupi dengan kain kasa untuk mencegah kontaminasi.

### 3.2.5. Pengujian Parameter

Pengujian parameter yang dilakukan pada penelitian ini yaitu warna, total padatan terlarut, nilai pH, dan tekstur.

#### a) Pengujian Warna

Pengujian warna mengacu pada penelitian Al-Baarri *et al.* (2019) dengan modifikasi. Analisis perubahan warna dilakukan pada kulit pisang dengan menggunakan alat *digital colorimeter* yang diarahkan pada tiga titik sampel yaitu pangkal, tengah, dan ujung. Analisis warna yang dilakukan adalah  $L^*$ ,  $a^*$ , dan  $b^*$ . Penghitungan *browning index* (BI) dilakukan dengan menggunakan rumus berikut (Ding and Ling, 2014):

$$X = \frac{a+1,75L}{5,646L+a-3,012b}$$

$$BI = \frac{100 (X-0,31)}{0,17}$$

#### **b) Pengujian Total Padatan Terlarut**

Pengujian total padatan terlarut (TPT) diperlukan 3 tetes cairan ekstrak pisang sehingga diperlukan proses ekstraksi cairan dari daging pisang. Proses pemerasan langsung dari daging buah pisang sangat sulit sehingga dilakukan proses pengenceran yang mengacu pada metode yang dilakukan oleh Blankenship *et al.* (2018). Sebanyak 7 gram daging pisang dihaluskan kemudian dimasukkan ke dalam tube dan ditambah akuades sebanyak 7 ml. Campuran tersebut dihomogenisasi selama 1 menit dengan homogenizer hingga tercampur rata kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 4500 rpm selama 5 menit. Endapan dibuang dan cairan yang didapat akan digunakan dalam pengujian TPT dan pH. Pengujian total padatan terlarut mengacu pada penelitian Adi *et al.* (2019). Sebanyak 3 tetes cairan diletakkan pada alat refraktometer untuk membaca hasil total padatan terlarut dengan satuan °Brix.

#### **c) Pengujian Nilai pH**

Pengujian pH pisang dilakukan mengacu pada metode yang dilakukan oleh Abid *et al.* (2013). Daging pisang diuji menggunakan digital pH meter yang telah dikalibrasi menggunakan pH buffer 7. Proses ekstraksi cairan dari daging pisang mengacu pada metode Blankenship *et al.* (2018). Pisang ditimbang sebanyak 7 gram lalu dihaluskan dan diencerkan

menggunakan akuades sebanyak 7 ml. Campuran tersebut dihomogenisasi selama 1 menit lalu disentrifugasi dengan kecepatan 4500 rpm selama 5 menit untuk mendapatkan cairan supernatan yang digunakan dalam pengujian pH.

#### **d) Pengujian Tekstur**

Pengujian tekstur pisang meliputi *springiness* dan *adhesion* yang mengacu pada metode Su *et al.* (2011) dengan modifikasi. Kulit buah pisang dikupas dan pengujian menggunakan bagian tengah buah pisang. Daging buah dipotong dengan ketebalan  $2\pm 0,3$  cm kemudian diletakkan pada landasan alat *texture analyzer*. *Probe* yang digunakan berdiameter 2 mm dan panjang 20 mm. Pengaturan TPA *test* menggunakan *trigger* 4,5 g, *deformation* 5 mm dan *speed* 1 mm/s.

#### **3.2.6. Analisis Data**

Data hasil pengujian akan ditabulasi menggunakan Microsoft Excel 2010 dengan dihitung rata-rata, standar deviasi kemudian disajikan dalam bentuk grafik *scatter with straight lines and markers* untuk kemudian dijelaskan secara deskriptif.