

## BAB II METODE PENELITIAN

### A. Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada September 2022 – Januari 2023 di Pusat Riset Teknologi Proses Radiasi, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) Jakarta Selatan, dan Laboratorium Mikrobiologi dan Genetika Universitas Nasional, Jakarta Selatan.

### B. Instrumen penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu cabai rawit dari pasar Induk Kramat Jati Jakarta Timur, bubuk Nutrien Agar (NA), akudes, alkohol, Natrium Metabisulfit ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ ), Natrium Chlorida (NaCl), air, plastik *Poly Ethylen (PE)*, kapas, aluminium foil, koran, plastik tahan panas dan plastik *wrapping (Best Cling)*.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian yaitu nampan, autoklaf, gelas ukur, kompor listrik (Maspion S-301), batang pengaduk, pH meter, kain lap, Iradiator Panorama Serba Guna (IRPASENA), cawan Petri, timbangan analitik (*Denver Instrument*), oven (Qoalca), labu erlenmayer, *vortex*, inkubator, bunsen spiritus, korek api, *counter*, blender (Philips HR-2116), *micropipet*, *bluetip (Onemed)*, oven, baskom *stainless steel*, *vacuum sealer*, *laminar air flow*, autoklaf (GEA LS-35HD), *moisture balance (OHAUS MB 200)*, *rubber bulb*, dan sarung tangan karet (*Safe Glove Latex*).

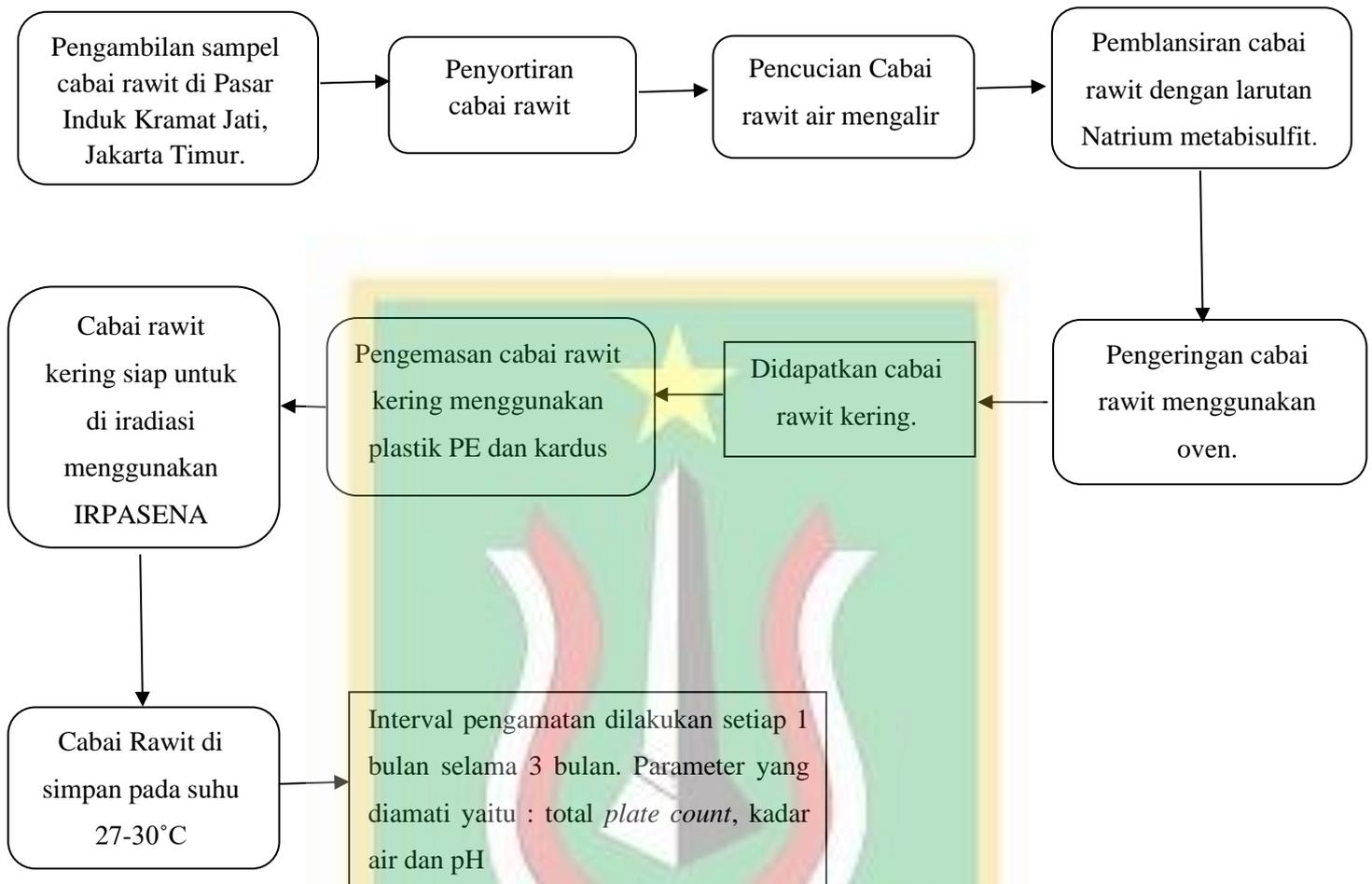
Variabel yang digunakan untuk penelitian ini terdiri dari variabel bebas (independen) dan variabel terikat (dependen). Variabel independen meliputi lama penyimpanan produk (0 bulan, 1 bulan, 2 bulan dan 3 bulan) dan dosis iradiasi (3 kGy dan 6 kGy). Sedangkan variabel dependent dalam penelitian ini meliputi kadar air, pH, dan jumlah total bakteri. Definisi Operasional Variabel (DOV) dalam penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1. Definisi Operasional Variabel**

| No | Variabel                              | Definisi Operasional<br>Variabel (DOV)   | Sumber   | Satuan |
|----|---------------------------------------|--|--|--------|
| 1  | Bahan pangan kondisi kering.          | Cabai rawit kering yang di dapatkan hasil dari pengeringan menggunakan oven dengan suhu 50-55°C selama 26 jam                | Hasil pemeriksaan di Laboratorium Mikrobiologi dan Genetika Universitas Nasional | -      |
| 2  | Bahan pangan kering yang di Iradiasi  | Cabai rawit kering yang di iradiasi didapatkan dari proses iradiasi menggunakan alat Iradiasi Panorama Serba Guna (IRPASENA) | Hasil pemeriksaan di Laboratorium Pusat Riset Teknologi Proses Radiasi.          | kGy    |
| 3  | Dosis Iradiasi                        | Hasil pengukuran dosis 3 kGy dan 6 kGy menggunakan dosimetri.  | Hasil pemeriksaan di Laboratorium Pusat Riset Teknologi Proses Radiasi.          | kGy    |
| 4  | Lama simpan                           | Jangka waktu ketahanan pangan untuk melihat apakah ada perubahan parameter kimia dan biologi                                 | Cabai rawit kering yang sudah di iradiasi diamati setiap 1 bulan selama 3 bulan  | Bulan  |
| 5  | Parameter kimia secara kuantitatif.   | Pengujian senyawa kimia terhadap kadar air dan pH  | Hasil pemeriksaan di Laboratorium Pusat Riset Teknologi Proses Radiasi.          | %      |
| 6  | Parameter biologi secara kuantitatif. | Pengujian Total <i>Plate Count</i> metode <i>pour plate</i>  | Hasil pemeriksaan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Nasional              | CFU/ml |

### C. Cara Kerja

Penelitian ini dilakukan beberapa tahap sesuai alur penelitian (Gambar 1).



Gambar 1. Skema Alur Penelitian

#### 1. Penyortiran

Cabai rawit segar diperoleh dari Pasar Induk Kramat Jati, Jakarta Timur (Gambar lampiran 1). Tahap awal pada proses pengolahan cabai rawit kering yaitu tahap penyortiran (Gambar lampiran. 2). Pada tahap ini merupakan tahap kritis dan selektif dalam aspek keamanan pangan yang berguna untuk menghilangkan kontaminan seperti kotoran dan bagian yang rusak. Adanya kontaminan bisa menjadi tempat berkembangnya bakteri yang dapat membahayakan dan merusak kualitas produk (Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Jambi, 2010).

Tahap penyortiran perlu dilakukan agar mendapatkan produk olahan cabai rawit yang seragam seperti keseragaman warna yang berwarna oranye kemerahan, bentuknya yang utuh, tekstur keras, dalam kondisi yang segar, tidak busuk, tidak terinfeksi dari serangga hama dan penyakit tanaman serta dilakukan pemisahan tangkai cabai rawit. Pemilihan warna cabai rawit yang cukup masak agar nantinya dihasilkan cabai kering berwarna orange kemerahan yang mengkilap.

## **2. Pencucian**

Setelah itu cabai rawit harus segera dilakukan tahap pencucian hingga bersih (Gambar lampiran 3). Tahap pencucian ini merupakan tahap yang terakhir untuk membuang kontaminan yang berbahaya pada cabai rawit seperti kotoran, fungi, bahan kimia seperti pestisida yang masih menempel dan berpotensi dapat menurunkan kualitas produk (Parfiyanti *et al.*, 2016). Proses pencucian ini menjadi bentuk upaya dalam menjaga keamanan pangan dan mempertahankan kualitas cabai rawit segar (Departemen Pertanian, 2009). Pada tahap ini cabai rawit segar dicuci hingga bersih dengan air mengalir, kemudian cabai rawit segar ditiriskan hingga kering.

## **3. Pemplansiran**

Tahap selanjutnya yaitu proses pemplansiran. Blansir merupakan perendaman atau pencucian dengan bahan kimia tertentu sebelum cabai rawit dikeringkan. Bahan kimia yang digunakan dalam proses pemplansiran adalah natrium metabisulfite (Gambar lampiran 4). Pada cabai rawit proses pemplansiran bertujuan untuk mempercepat waktu pengeringan, menonaktifkan enzim proteolitik, memperpanjang umur simpan, mencegah keriput, warna tidak kusam (Asni dan Suheti, 2017).

Tahap pemplansiran diawali dengan menyiapkan larutan sulfite panas (0,2%) dengan cara untuk 1 kg cabai rawit dimasukkan natrium metabisulfite sebanyak 4 gram yang dilarutkan ke dalam 2 liter air bersih. Setiap 1 kg cabai rawit memerlukan 2 liter larutan sulfite. Setelah itu cabai rawit diangkat dan ditiriskan sampai kering. Kemudian larutan ini dipanaskan hingga mendidih. Setelah mendidih, api dkecilkan untuk tetap menjaga larutan tetap panas. Pertahankan suhu disekitar 90°C (Departemen Pertanian, 2009).

Setelah itu dilakukan proses perendaman ke dalam larutan sulfit panas. Direndam cabai rawit segar ke dalam larutan sulfit panas selama 6 menit sambil diaduk secara konstan. Larutan sulfit panas ini dapat dipakai berulang-ulang (Jamilah *et al.*, 2019). Perendaman ini bertujuan untuk tetap mempertahankan warna cabai rawit kering. Cabai rawit yang telah direndam kemudian diangkat dan dimasukkan ke dalam air dingin, sehingga proses pemanasan terhenti. Cabai rawit ditiriskan dan selanjutnya siap dikeringkan (Ramdani, 2008).

#### **4. Pengeringan**

Tahap terakhir untuk mendapatkan cabai rawit kering yaitu proses pengeringan. Pada tahap pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air cabai rawit sehingga perkembangan bakteri yang menyebabkan pembusukan terhambat. Pengeringan cabai rawit berguna untuk memperpanjang umur simpan (Erlina, 2009). Pengeringan dilakukan dengan pengering buatan yaitu oven. Penggunaan oven dilakukan untuk mempercepat waktu pengeringan serta meningkatkan kualitas cabai rawit (Departemen, 2009).

Pada tahap ini dimasukkan cabai rawit ke dalam rak wadah, lalu dimasukkan ke dalam oven pada suhu 50°C selama 26 jam. Cabai rawit dibolak balik saat pengeringan setiap 3-4 jam agar keringnya merata. Pengeringan dapat diakhiri apabila kadar air telah mencapai 8 – 11 % atau cabai rawit kering jika diremas dengan tangan mudah untuk dipatahkan (Gambar lampiran 5 dan 6).

#### **5. Pengemasan**

Setelah cabai rawit dikeringkan lalu dimasukkan ke dalam kemasan plastik PE (*Poly Ethylen*) 0,3 mm ukuran 1 kg dengan dimensi 15 cm x 20 cm masing-masing kemasan berisi 15 buah cabai rawit kering. Selanjutnya plastik ditutup hingga rapat menggunakan *vacum sealer*. agar tidak terjadi kontaminasi dari luar (Gambar lampiran 7,8 dan 9).

## **6. Perlakuan iradiasi**

Alat iradiasi yang digunakan pada penelitian ini yaitu Iradiator Panorama Serbaguna (IRPASENA) dengan sumber radiasi gamma  $^{60}\text{Co}$  yang ada di Laboratorium Pusat Riset Teknologi Proses Radiasi BRIN. Diiradiasi cabai rawit pada variasi dosis yaitu : 0 kGy (kontrol), 3 kGy dan 6 kGy. Untuk sampel cabai rawit kering (kontrol) tidak dilakukan pemaparan sinar iradiasi. Lama pemaparan sinar iradiasi dosis 3 kGy selama 3 jam dan dosis 6 kGy selama 6 jam. Sampel yang telah diiradiasi, selanjutnya disimpan di suhu ruang. Penyimpanan sampel dilakukan dengan cara meletakkan masing-masing sampel secara berurutan sesuai dengan dosis iradiasi didalam ruangan dan dilakukan pengamatan secara berkala selama 3 bulan dengan interval 1 bulan sekali.

## **7. Sterilisasi alat dan bahan**

Sterilisasi merupakan hal terpenting untuk dilakukan sebelum pengujian mikrobiologi belangsung. Sterilisasi bertujuan untuk memusnahkan bakteri pada peralatan laboratorium untuk menjaga agar tetap dalam kondisi steril dan tidak terjadi kontaminasi (Nurminah, 2002). Sterilisasi menjadi langkah untuk menghindari terjadinya hasil positif palsu sehingga bisa membantu identifikasi yang akurat terhadap pengujian mikrobiologi (Suharman, 2020). Penggunaan autoklaf digunakan untuk mengeluarkan tekanan udara untuk mencapai suhu  $121^{\circ}\text{C}$  dengan tekanan uap 15 psi selama 15 menit (Maulana, 2021).

Pastikan peralatan yang akan di sterilisasi menggunakan autoklaf termasuk alat yang tahan panas. Peralatan tersebut dibungkus menggunakan koran yang dimasukkan ke dalam plastik tahan panas dan diikat dengan karet. Dilakukan pembungkusan menggunakan koran pada saat sterilisasi bertujuan sebagai pencegahan terjadinya uap air yang masuk agar tidak membuat peralatan tersebut menjadi basah. Selain itu, untuk mencegah kerusakan, melindungi alat dan bahan yang ada di dalamnya dari pencemaran serta gangguan fisik seperti gesekan, benturan dan getaran (Istini, 2020). Medium yang digunakan harus disterilisasikan terlebih dahulu menggunakan autoklaf untuk memastikan semuanya sudah dalam kondisi yang steril.

## 8. Pembuatan Media Natrium Agar (NA)

Media yang digunakan pada penelitian ini yaitu media Nutrient Agar (NA) yang bertujuan untuk pertumbuhan bakteri. Pembuatan medium Natrium Agar (NA) dilakukan dengan cara ditimbang bubuk NA sebanyak 28 gram menggunakan timbangan analitik. Kemudian dilarutkan dalam 1000 mL akuadestilata di dalam *beaker glass*. Medium dilarutkan hingga homogen dengan cara dipanaskan diatas kompor listrik hingga mendidih. Setelah itu, dipindahkan ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 18 mL. Lalu mulut tabung menggunakan kapas lalu dimasukkan ke dalam plastik tahan panas untuk selanjutnya disterilkan.

## 9. Parameter biologi

Parameter biologi dilakukan pengamatan Total Plate Count (TPC) menggunakan metode tuang (Pour Plate). Kelebihan dari metode tuang adalah pertumbuhan koloni akan mudah di amati karena bakteri hidup di permukaan dan ditengah media sehingga mudah untuk di hitung. Namun kekurangan dari metode ini adalah memungkinkan terjadinya koloni yang berasal lebih dari satu sel bakteri (Fararen, 2021).

Ditimbang cabai rawit kering sebanyak 1 buah. Kemudian cabai rawit kering yang sudah ditimbang dimasukkan ke plastik. Lalu ditumbuk menggunakan mortar. Setelah itu, dibuat pengenceran secara aseptik di dalam *Laminar Air Flow* (LAF) yang sudah di sterilkan menggunakan alkohol 70%. Penyemprotan alkohol 70% bertujuan untuk menjaga kondisi *Laminar Air Flow* tetap dalam keadaan aseptik.

Dilakukan pengenceran  $10^{-1}$  dengan cara dimasukkan cabai rawit yang ada diplastik ke mL larutan NaCl steril yang jumlahnya menyesuaikan. Selanjutnya dihomogenkan menggunakan vortex agar homogen. Dibuat seri pengenceran sampel  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  dan  $10^{-5}$  dengan menggunakan larutan NaCl fisiologis steril sebagai pengencer.

- Pengenceran  $10^{-2}$  : dipipet 1 mL sampel pengenceran  $10^{-1}$  dan dimasukkan ke dalam 9 mL larutan fisiologis lalu dikocok hingga homogen dengan menggunakan vortex.
- Pengenceran  $10^{-3}$  : dipipet 1 mL sampel pengenceran  $10^{-2}$  dan dimasukkan ke dalam 9 mL larutan fisiologis lalu dikocok hingga homogen dengan menggunakan vortex.
- Dilakukan pengenceran hingga  $10^{-5}$ .

- Selanjutnya, diambil 1 mL sampel dari setiap pengenceran dan dimasukkan ke dalam cawan Petri steril.
- Dituang medium nutrient agar (NA) cair (suhu  $\pm 45^{\circ}\text{C}$ ) sebanyak 18 mL pada setiap cawan Petri dan sampel di aduk secara merata membentuk angka 8 selama 30 detik.
- Setelah media memadat, cawan Petri dibungkus dengan plastik *wrapping* dan dibungkus koran agar tidak terjadi kontaminasi. Kemudian, diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  menggunakan inkubator selama 24 jam.
- Diamati pertumbuhan koloni bakteri.
- Dilakukan penghitungan koloni bakteri dengan counter.
- Dihitung pengukuran Total *Plate Count* menggunakan rumus :

$$\text{Jumlah koloni per mL} = \Sigma \text{ koloni} \times \frac{1}{\text{Faktor pengenceran}}$$

## 10. Parameter Kimia

Analisis kimia dilakukan sebagai parameter penunjang untuk penetapan mutu berdasarkan SNI terhadap cabai rawit setelah iradiasi.

### a. Kadar air (%)

Metode yang digunakan untuk menentukan kadar air adalah gravimetri dengan menggunakan alat *Moisture balance*. Metode gravimetri merupakan penguapan yang ada dalam bahan dan ditimbang hingga berat nya konstan. Setiap bahan bila disimpan dalam keadaan terbuka kadar airnya akan mencapai keseimbangan dengan menghasilkan kelembaban udara disekitarnya. Ditimbang cabai rawit kering pada alat moisture balance dalam pinggan alumunium sebanyak 2 gr, kemudian diatur suhu  $105^{\circ}\text{C}$  dan waktu selama 1 jam. Setelah itu, dicatat hasil yang diperoleh (Nielse, 2010) (Gambar lampiran 10).

### b. Derajat keasaman (pH)

Derajat keasaman cabai rawit diukur dengan menggunakan pH meter, dan dikalibrasi dengan larutan buffer dengan nilai pH 4, 7 dan 9. Dihaluskan cabai rawit menggunakan blender. Kemudian ditimbang cabai rawit kering yang telah dihaluskan sebanyak 3 gr (Gambar lampiran 11). Lalu bubuk cabai rawit dipindahkan ke dalam labu erlenmayer dan ditambahkan 30 mL akuadestilata dan dihomogenkan selama 1 menit (Gambar lampiran 12). Selanjutnya dicelupkan pH meter ke dalam sampel Gambar

lampiran 13). Dicatat nilai pH dengan melihat stabilitas pengukuran pada layar pH meter (AOAC, 2006).

#### **D. Rancangan penelitian**

Penelitian ini disusun menggunakan metode eksperimental pada percobaan laboratorium menggunakan perencanaan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial  $4 \times 3$ . Variasi lama penyimpanan ada 4 yaitu (0 bulan, 1 bulan, 2 bulan dan 3 bulan) dan variasi dosis ada 3 yaitu (0 kGy, 3 kGy dan 6 kGy). Masing - masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Penelitian ini menggunakan 36 kemasan cabai rawit kering per parameter pengujian. Parameter yang di uji ada 3 yang terdiri dari: kadar air, pH dan total *plate count* (TPC). Jadi, keseluruhan penelitian ini memerlukan kemasan sampel cabai rawit sebanyak 108 kemasan yang setiap kemasan berisi 15 cabai rawit kering.

#### **E. Analisis Data**

Uji hipotesis dalam penelitian ini menggunakan sidik ragam (*Analisis of Variance*) dengan tingkat  $\alpha$  1% yaitu uji dua arah yang membandingkan perbedaan rata-rata kelompok yang dibagi pada dua variabel bebas. Kedua variabel bebas dalam penelitian ini adalah Lama simpan dan Dosis. Sedangkan variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar air, pH, dan total bakteri. Dasar pengambilan keputusan pada uji two-way ANOVA adalah jika nilai sig.  $< 0,01$  artinya terdapat perbedaan yang sangat nyata.

Apabila ada beda nyata antar perlakuan maka dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) dengan  $\alpha$  1%. yang bertujuan untuk mengetahui perbedaan nyata antara tiap lama simpan atau dosis dalam penelitian ini. Uji duncan dengan melihat pada subset, jika tiap lama simpan atau dosis berada pada subset yang sama artinya tidak terdapat perbedaan yang nyata. Data hasil pengamatan periodik yang diperoleh pada penelitian ini dari analisis kuantitatif meliputi pH, kadar air, dan total *plate count* (TPC) disajikan dalam bentuk tabel kemudian hasilnya dijelaskan secara deskriptif.

