

III. METODE PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung dari bulan September sampai November 2011.

B. Alat dan Bahan

Alat gelas yang digunakan dalam penelitian ini adalah Beaker glass, Erlenmeyer, corong, gelas ukur, tabung reaksi, pipet volume, pengaduk, pipet tetes, dan cawan petri. Alat penggerus adalah mortar dan penumbuknya. Alat analisis yang digunakan adalah neraca analitik dan spektrofotometer. Alat lainnya adalah gunting, bor gabus dan pisau.

Bahan yang digunakan adalah buah tomat yang masih hijau (belum matang), aquadest, aseton 80% v/v, dan larutan asam salisilat 0 μM , 3 μM , 6 μM , 9 μM dan 12 μM . Bahan lainnya adalah kertas saring dan tissue.

C. Rancangan Percobaan

Percobaan ini disusun dalam Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan pola faktorial. Faktor A yaitu konsentrasi asam salisilat dan faktor B yaitu waktu pengamatan. Ada 5 perlakuan asam salisilat yang diaplikasi yaitu dengan konsentrasi 0 μ M, 3 μ M, 6 μ M, 9 μ M dan 12 μ M. Setiap perlakuan diulang sebanyak 5 kali. Parameter adalah kandungan klorofil a, b, dan total.

D. Parameter

Parameter dalam penelitian ini adalah kandungan klorofil a, b dan total pericarp buah tomat 4, 8, dan 12 hari setelah perlakuan asam salisilat. Sebagai pembanding kandungan klorofil a, b dan total pericarp buah tomat juga ditentukan sebelum perlakuan. Tata letak percobaan yaitu sebagai berikut:

Pengamatan hari ke 4

K0H4U4	K1H4U2	K2H4U4	K3H4U1	K4H4U3
K0H4U3	K1H4U1	K2H4U2	K3H4U3	K4U4H1
K0H4U1	K1H4U3	K2H4U1	K3H4U2	K4U4H2
K0H4U2	K1H4U5	K2H4U5	K3H4U5	K4U4H4
K0H4U5	K1H4U4	K2H4U3	K3H4U4	K4U4H5

Pengamatan hari ke 8

K0H8U5	K1H8U1	K2H8U2	K3H8U1	K4H8U3
K0H8U4	K1H8U2	K2H8U4	K3H8U3	K4U8H4
K0H8U3	K1H8U3	K2H8U1	K3H8U5	K4U8H1
K0H8U2	K1H8U4	K2H8U5	K3H8U2	K4U8H2
K0H8U1	K1H8U5	K2H8U3	K3H8U4	K4U8H5\

Pengamatan hari ke 12

K0H12U4	K1H12U2	K2H12U4	K3H12U1	K4H12U3
K0H12U3	K1H12U1	K2H12U2	K3H12U3	K4U12H1
K0H12U1	K1H12U3	K2H12U1	K3H12U2	K4U12H2
K0H12U2	K1H12U5	K2H12U5	K3H12U5	K4U12H4
K0H12U5	K1H12U4	K2H12U3	K3H12U4	K4U12H5

Keterangan: K0= kontrol; H= hari; U= ulangan; K1= 3 μ M; K2=6 μ M; K3= 9 μ M; K4= 12 μ M.

Gambar 7. Tata letak percobaan

E. Pelaksanaan Penelitian

1. Penyiapan Wadah Pericarp Buah Tomat

Cawan petri sebanyak 75 buah dicuci bersih dengan sabun cuci dan dilap kering. Cawan petri dilabel sesuai perlakuan, hari pengamatan, dan

ulangan. Cawan-cawan petri digunakan sebagai wadah buah tomat yang sudah diberi perlakuan dan kontrol.

2. Pembuatan Larutan Asam Salisilat

Larutan 3 μM asam salisilat dibuat dengan melarutkan 0,3 mg asam salisilat dalam 100 ml aquadest. Larutan 6 μM asam salisilat dibuat dengan melarutkan 0,6 mg asam salisilat dalam 100 ml aquadest. Larutan 9 μM asam salisilat dibuat dengan 0,9 mg asam salisilat dalam 100 ml aquadest. Larutan 12 μM asam salisilat dibuat dengan 1,2 mg asam salisilat dalam 100 ml aquadest.

3. Pembuatan Pericarp Disc buah tomat

Untuk mendapatkan pericarp, buah tomat dibelah dua secara longitudinal dan dikeluarkan isinya. Kemudian pericarp disc dibuat dengan menggunakan bor gabus berukuran 2 cm. Pericarp disc yang diperoleh direndam dalam larutan asam salisilat selama 15 menit. Pericarp dikeluarkan dari larutan asam salisilat dan dibungkus dengan tissue kemudian ditaruh kedalam cawan petri.

4. Penentuan Kandungan Klorofil Pericarp disc buah tomat

0,4 gram pericarp disc digerus sampai halus didalam mortar, dan kemudian ditambahkan 30 ml aseton. Cairan disaring kedalam Erlenmeyer, sisa gerusan yang masih melekat dikertas saring digerus kembali kemudian disaring kembali kedalam Erlenmeyer. Volume akhir disesuaikan menjadi 40 ml dengan menambahkan aseton. Ekstrak siap ditentukan kandungan klorofil a, b dan totalnya.

Ekstrak klorofil ini diukur absorbansinya masing-masing pada panjang gelombang 645 dan 663 nm. Kandungan klorofil dinyatakan dengan mg klorofil per gram jaringan pericarp yang diekstraksi, mg tomat yang terdapat dalam jaringan dapat dihitung berdasarkan persamaan berikut:

$$\text{mg klorofil a/g jaringan} = [12.7(D_{663}) - 2.69 (D_{645})] \times \frac{V}{1000 \times W}$$

$$\text{mg klorofil b/g jaringan} = [22.9(D_{643}) - 4.68 (D_{663})] \times \frac{V}{1000 \times W}$$

5. Analisis Data

Untuk mengetahui pengaruh asam salisilat terhadap kandungan klorofil a, b dan total pericarp buah tomat maka data dianalisis ragam dengan taraf nyata 5% serta diuji lanjut dengan uji BNT pada taraf nyata 5%. Hubungan antara kandungan klorofil dengan konsentrasi asam salisilat ditentukan melalui regresi.