

III. METODE PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan dan Laboratorium Biologi Molekuler, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung dari bulan April sampai dengan Mei 2012.

B. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah beaker glass, tabung reaksi dan raknya, mortar dan penumbuk, cawan petri, gelas ukur, Erlenmeyer, tissue, kertas label, kapas, plastic, pisau, corong, pipet volume, neraca analitik, dan spektrofotometer.

Bahan-bahan yang digunakan adalah buah pisang muli (*Musa paradisiaca*) mentah, aseton (80%, v/v), H₂SO₄ pekat, larutan fenol (2%, w/v), dan aquadest.

C. Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap dalam pola faktorial 2x2, dengan faktor A adalah waktu pengukuran dengan 2 taraf, yaitu 4HSP dan 8HSP, dan faktor B adalah cahaya dengan 2 taraf, yaitu kontrol dengan cahaya dan perlakuan tanpa cahaya. Setiap perlakuan diulang 8 kali.

D. Parameter

Parameter dalam penelitian ini adalah nilai tengah kandungan klorofil a, b dan total serta kandungan karbohidrat terlarut total buah pisang muli pada 4 dan 8 hari setelah perlakuan dari 8 buah sampel buah pisang muli.

E. Cara kerja

1. Penyiapan cawan petri

Cawan petri 32 buah dicuci bersih dengan sabun dan dilap kering. Cawan petri dilabel dengan perlakuan, hari pengamatan, dan ulangan. Cawan petri digunakan sebagai wadah buah pisang muli yang sudah diberi perlakuan dan kontrol. Tata letak satuan percobaan dapat dilihat pada gambar 2.

KH4U1	PH8U1	PH4U8	PH8U5
PH4U5	KH8U2	KH4U8	PH4U4
KH8U3	PH4U3	KH4U6	KH8U6
PH8U4	KH4U3	PH8U2	PH8U6
KH8U4	KH4U2	KH8U1	KH4U7
PH4U2	PH4U1	KH8U5	PH8U7
KH4U4	PH4U7	KH8U7	KH8U8
KH4U5	PH4U6	PH8U3	PH8U8

K = Tanpa cahaya ; H = Hari ; U = Ulangan ; P = Cahaya

Tabel 2. Skema tata letak percobaan.

2. Pemberian perlakuan

Perlakuan tanpa cahaya dilakukan dengan cara memasukkan setiap buah pisang muli kedalam kantong polybag berukuran ½ kilogram, kemudian diikat dengan karet gelang. Untuk menjaga respirasi buah tetap berlangsung maka udara tetap dipertahankan ada dengan cara memberi lubang pada kantong polybag. Buah pisang yang telah dibungkus ini masing-masing ditaruh diatas cawan petri. Perlakuan cahaya dilakukan dengan cara meletakkan setiap buah pisang muli diatas cawan petri tanpa dibungkus dengan polybag.

3. Penentuan kandungan klorofil

Penentuan kandungan klorofil dilakukan menurut Witham *et al* (1986).

1 gram kulit buah pisang muli digerus sampai halus didalam mortar, dan kemudian ditambahkan 30ml aseton, cairan disaring kedalam erlenmeyer, sisa digerusan yang masih melekat dikertas saring digerus kembali kemudian disaring kembali kedalam erlenmeyer. Volume akhir disesuaikan menjadi 100ml dengan menambahkan aseton.

Ekstrak siap ditentukan kandungan klorofil a, b dan totalnya.

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

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

$$\text{mg klorofil b/g jaringan} = [22.9 (D_{643}) - 4.68 (D_{663})] \times \frac{V}{1 \times W}$$

4 Penentuan karbohidrat terlarut total

1 gram daging buah pisang muli digerus sampai halus didalam mortar, dan kemudian ditambahkan 30ml aquades. Cairan disaring kedalam erlenmeyer, sisa digerus yang masih melekat dikertas saring digerus kembali kemudian disaring kembali kedalam erlenmeyer. Ekstrak buah pisang muli kemudian diambil 2ml dan dimasukkan kedalam tabung reaksi dan tambahkan 2ml H₂SO₄ pekat dan 1ml larutan fenol pada ekstrak daging buah pisang tersebut. Biarkan beberapa saat, warna coklat kemerahan menunjukkan adanya kandungan karbohidrat terlarut. Selanjutnya ekstrak diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 600nm, nilai absorbansi setiap ekstrak buah pisang dicatat. Kandungan karbohidrat ditentukan berdasarkan kurva standart glukosa dan dinyatakan dalam satuan mg/g jaringan (Witham *et al.*, 1986).

F. Analisis data

Untuk mengetahui pengaruh perlakuan dan waktu pengukuran serta interaksinya terhadap kandungan klorofil dan kandungan karbohidrat terlarut total buah pisang muli maka data yang diperoleh dianalisis ragam dengan taraf nyata 5% dan diuji lanjut dengan uji F pada taraf 5%, hubungan antara kandungan klorofil dengan kandungan karbohidrat terlarut total ditentukan berdasarkan regresi.