

III. METODE PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan dan Laboratorium Molekuler Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung pada bulan Maret – April 2011.

B. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah beaker glass, gelas ukur, tabung reaksi, cawan petri, gelas ukur, erlenmeyer, tissue, kertas label, kapas, plastik, pisau, pipet volum, cawan petri, neraca analitik, respirometer dan spektrofotometer.

Bahan-bahan yang digunakan adalah buah pisang muli (*Musa acuminata*) mentah, kalsium klorida (CaCl_2), KOH dan aquades.

C. Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan adalah faktorial, dengan faktor pertama adalah perendaman buah pisang muli dengan kalsium klorida (CaCl_2) 0% dan 2% dan faktor kedua adalah hari pengamatan.

Setiap perlakuan diulang 8 kali. Untuk mengetahui pengaruh CaCl_2 terhadap laju respirasi dan enzim dehidrogenase data dianalisis ragam dengan taraf nyata 5 %. Hubungan antara laju respirasi dengan aktivitas enzim dehidrogenase ditentukan melalui regresi dan dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji F.

D. Parameter

Parameter yang diukur dalam penelitian ini adalah laju respirasi dan aktivitas enzim dehidrogenase buah pisang muli 4 dan 8 hari setelah perendaman dengan kalsium klorida.

E. Cara Kerja

1. Penyiapan Cawan Petri

Cawan petri sebanyak 32 buah dicuci bersih dengan sabun cuci dan dilap kering. Cawan petri dilabel dengan perlakuan, hari pengamatan, dan ulangan. Cawan-cawan petri digunakan sebagai wadah buah pisang muli yang sudah diberi perlakuan dan kontrol.

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

Keterangan : K= Kontrol ; H= Hari ; U= Ulangan ; P= Perlakuan

Tabel 1. Tata Letak Percobaan Faktorial 2 x 2

2. Pembuatan Larutan Kalsium Klorida (CaCl_2)

Larutan CaCl_2 dengan konsentrasi 2 % dibuat dengan melarutkan 1 gram CaCl_2 dalam 100 ml aquades. Sebagai kontrol adalah aquades 100 ml.

3. Perendaman Buah Pisang Muli

Pisang muli sebanyak 16 buah direndam dalam larutan CaCl_2 selama 15 menit. Sisanya 16 buah lagi direndam dalam aquades juga selama 15 menit (kontrol). Dalam waktu 15 menit larutan CaCl_2 sudah dapat mempengaruhi aktivitas enzim (Ryu dan Carrasco, 1993). Buah yang telah direndam ditaruh di cawan petri yang sudah disiapkan.

4. Penentuan Laju respirasi

Buah pisang muli dipotong-potong dan ditimbang seberat 1 gram dengan menggunakan neraca analitik. Kertas yang telah dibasahi dengan larutan KOH (1 % w/v) dimasukkan ke dalam tabung respirometer. Satu tetes metilen blue sebagai penanda (marker) dimasukkan ke dalam pipa berskala. Potongan buah pisang muli dimasukkan ke dalam tabung respirometer. Laju pergerakan metilen blue dalam pipa berskala diamati selama 5 menit. Tabung respirometer disegel dengan menggunakan isolasi. Laju respirasi dinyatakan dengan ml O₂/ menit/ gram jaringan.



Gambar 4. Respirometer

5. Penentuan Aktivitas Enzim Dehidrogenase

Buah pisang muli dipotong-potong dan ditimbang sebanyak 1 gram. Tabung reaksi diisi penuh dengan aquades kemudian teteskan 5 tetes metilen blue (0.025 % w/v). Potongan buah pisang muli tersebut dimasukkan ke dalam

tabung reaksi. Tabung reaksi ditutup rapat dengan plastik dan diikat dengan karet gelang. Pengukuran absorbansi larutan metilen blue dilakukan setelah 24 jam dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm (Whitam et al., 1986). Absorbansi enzim dehidrogenase ditunjukkan oleh absorbansi larutan metilen blue.



Gambar 5. Spektrofotometer