III. METODE PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu

Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung pada bulan Oktober 2013.

B. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah beaker glass, erlenmeyer, gelas ukur, tabung reaksi dan raknya, corong, mortar dan penggerus, kertas saring Whatman no 1, pipet tetes, cawan petri, pisau, spektrofotometer, dan neraca analitik. Bahan yang digunakan adalah buah tomat yang masih hijau atau *stage 1= all green* yang diperoleh dari Desa Berenung , Kecamatan Gedong Tataan, Kabupaten Pesawaran, aquades, albumin, dan reagen Biuret.

C. Rancangan Percobaan

Penelitian dilaksanakan dalam rancangan acak lengkap dengan perlakuan adalah *stage* kematangan buah yaitu *stage* 1 = *all green*, *stage* 2 =

breakers, *stage* 3= *turning*, *stage* 4= *pink*, *stage* 5 = *light red*, *stage* 6 = *red*. Masing-masing perlakuan terdiri dari enam ulangan.

D. Variabel dan Parameter

Variabel dalam penelitian ini adalah kandungan protein *columella*, *locular cavity*, dan *pericarp wall* buah tomat dari keenam *stage* kematangan buah tomat. Parameter dalam penelitian ini adalah nilai tengah kandungan protein *columella*, *locular cavity*, dan *pericarp wall* buah tomat dari keenam *stage* kematangan buah tomat.

E. Pelaksanaan

1. Penentuan *Stage* kematangan buah

Perubahan warna kulit buah tomat diamati dan diambil fotonya setiap hari. Warna kulit buah tomat dicocokan dengan *United States Standars for Grades of Fresh Tomatoes* sebagai berikut :

stage 1 = *all green*

stage 2 = *breakers*

stage 3= *turning*

stage 4= *pink*

stage 5 = *light red*

stage 6 = *red*

2. Penentuan kandungan protein

1 gr *columella* buah tomat ditumbuk dalam mortar sampai halus. 10 ml aquades ditambahkan dan ekstrak disaring ke dalam erlenmeyer. 1 ml ekstrak *Columella* tersebut dipipet kedalam tabung reaksi. Selanjutnya, 4 ml Reagen Biuret ditambahkan ke dalam tabung reaksi dan diinkubasi selama 45 menit pada temperatur kamar hingga terbentuk warna biru terang (*light* blue) sampai violet. Absorbansi diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm (Witham, et. al. 1986). Metode yang sama digunakan untuk mengukur kandungan protein *locular cavity* dan *pericarp wall* buah tomat.

3. Pembuatan Kurva Standar

100 mg albumin dilarutkan kedalam 10 ml aquades. Selanjutnya, 0; 0,1; 0,2 ; 0,3; 0,6 dan 1 ml larutan albumin dipipet kedalam 6 tabung reaksi yang sudah dilabel konsentrasi albumin. Volume disesuaikan menjadi 1 ml dengan menambahkan aquades. 4 ml Reagen Biuret ditambahkan ke setiap tabung reaksi, diaduk rata dan diinkubasi selama 45 menit pada temperatur kamar hingga terbentuk warna biru terang (*light blue*) sampai violet. Absorbansi diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm. Kurva standar diplot dengan sumbu x sebagai konsentrasi protein dan sumbu y sebagai absorbansi. Kandungan protein ditentukan berdasarkan kurva standar albumin dan dinyatakan dalam mg/gram jaringan.

F. Analisis Data

Homogenitas ragam ditentukan berdasarkan uji Bartlett. Data kandungan protein *columella, locular cavity,* dan *pericarp wall* dianalisis ragam pada taraf nyata 5%. Jika *stage* kematangan buah berpengaruh nyata terhadap kandungan protein buah tomat maka dilanjutkan dengan uji BNT pada taraf 5 % untuk mengetahui perbedaan kandungan protein antar *stage* kematangan buah. Hubungan antara kandungan protein *columella, locular cavity* dan *pericarp wall* dengan *stage* kematangan buah ditentukan berdasarkan regresi.