

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April 2012 di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan dan di Laboratorium Molukuler Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

B. Alat dan bahan

Alat yang digunakan adalah tabung reaksi dan raknya, mortar dan penumbuk, beaker gelas, gelas ukur, cawan petri, erlemeyer, tissue, kertas label, plastik, corong, pisau, pipet volume, neraca analitik, dan spektrofotometer.

Bahan yang digunakan adalah buah jeruk nipis yang belum matang, aseton (80%, v/v) metilen blue (0,25% w/v), dan aquadest.

C. Rancangan Percobaan

Penelitian dilaksanakan dalam percobaan factorial 2x2. Faktor A adalah waktu pengukuran dengan 2 taraf yaitu 4 dan 8 hari setelah pelukaan. Faktor B adalah pelukaan dengan 2 taraf yaitu tidak dilukai (kontrol) dan dilukai. Setiap kombinasi perlakuan diulang 8 kali. Kombinasi kedua faktor dapat dilihat pada tabel 1:

Tabel.1. Notasi kombinasi perlakuan dan ulangan

$a_1 = 4\text{HSP}$		$a_2 = 8\text{HSP}$	
$a_1b_1 = \text{dilukai}$	$a_1b_2 = \text{tidak dilukai}$	$a_2b_1 = \text{dilukai}$	$a_2b_2 = \text{tidak dilukai}$
u_1	u_1	u_1	u_1
u_2	u_2	u_2	u_2
u_3	u_3	u_3	u_3
u_4	u_4	u_4	u_4
u_5	u_5	u_5	u_5
u_6	u_6	u_6	u_6
u_7	u_7	u_7	u_7
u_8	u_8	u_8	u_8

Keterangan: HSP = Hari Setelah Pelukaan
u = Ulangan

D. Variabel dan Parameter

Variabel dalam penelitian ini adalah kandungan klorofil a, b dan total serta aktivitas enzim dehidrogenase. Parameter dalam penelitian ini adalah nilai tengah kandungan klorofil a, b dan total serta aktivitas enzim dehidrogenase dari setiap kombinasi perlakuan 4 dan 8 hari setelah pelukaan.

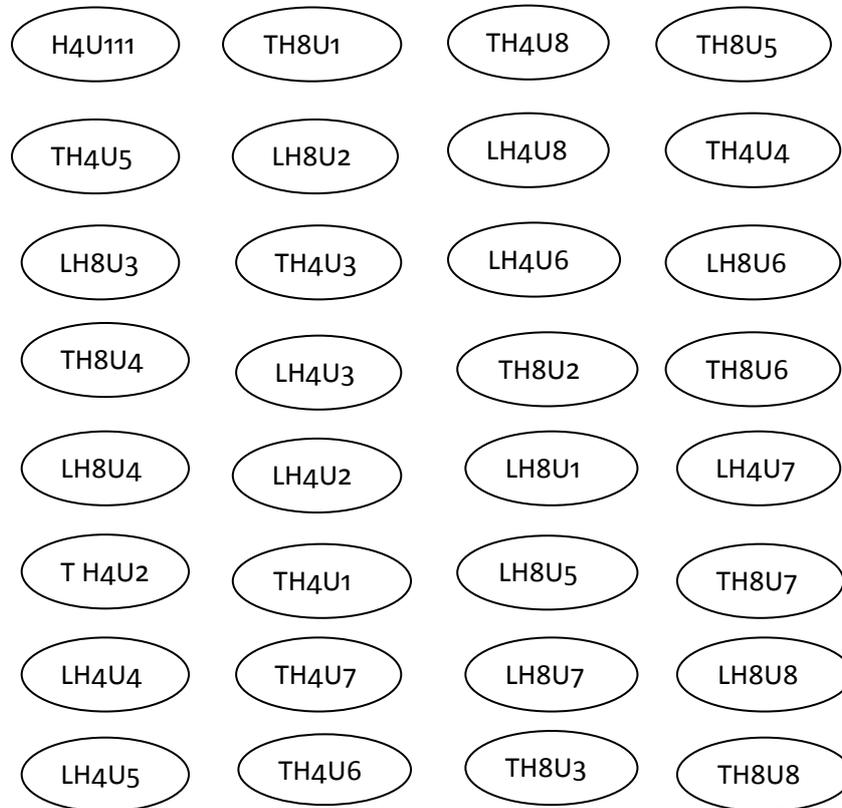
E. Cara Kerja

1. Penyiapan Cawan Petri

Cawan petri sebanyak 32 buah dicuci bersih dengan sabun cuci dan dilap kering, cawan petri dilabel dengan kombinasi perlakuan dan ulangan. Cawan petri digunakan sebagai wadah buah jeruk nipis baik yang telah diberi

perlakuan dan kontrol. Tata letak satuan percobaan dapat dilihat pada gambar

2:



Keterangan : L: Dilukai
T : Tidak dilukai

2. Pemberian Perlakuan

Pemberian luka pada jeruk nipis dilakukan dengan membuat goresan sepanjang 3 cm secara vertikal pada kulit buah. Pada setiap buah dibuat 4 goresan dengan jarak masing-masing 1cm.

3. Penentuan Kandungan Klorofil

Penentuan kandungan klorofil dilakukan menurut Witham *et al* (1986). 1 gram kulit buah jeruk nipis digerus sampai halus di dalam mortar, dan

kemudian ditambahkan 30ml aseton, cairan disaring kedalam erlemeyer, sisa gerusan yang masih melekat dikertas saring digerus kembali kemudian disaring kembali kedalam erlemeyer. 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:

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

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

4. Analisis Data

Untuk mengetahui pengaruh pelukaan terhadap kandungan klorofil dan aktivitas enzim dehidrogenase pada buah jeruk nipis maka data dianalisis ragam dengan taraf nyata 5% serta diuji lanjut dengan uji BNT pada taraf nyata 5%. Hubungan antara kandungan klorofil dengan aktivitas enzim dehidrogenase ditentukan melalui regresi.

5. Diagram Alir

Prosedur penelitian yang dilakukan dapat disajikan ke dalam bentuk diagram alir kerja berikut ini :

