

III. METODE PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu

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

B. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah beaker glass, erlenmeyer, gelas ukur, tabung reaksi dan raknya, corong, mortar dan penggerus, pipet volume, pipet tetes, cawan petri, pisau, spektrofotometer UV. Bahan yang digunakan adalah buah pisang ambon pada *stage* 1 (*all green*), reagen biuret, metilen blue dan albumin.

C. Rancangan Percobaan

Penelitian dilaksanakan dalam rancangan acak kelompok dengan masing-masing empat ulangan. Sebagai perlakuan adalah *stage* pematangan buah pisang dimulai dari *stage* 1 sampai dengan *stage* 7.

D. Parameter

Parameter dalam penelitian ini adalah kandungan protein, level triptofan dan aktivitas enzim dehidrogenase dari setiap *stage* pematangan buah pisang ambon.

E. Pelaksanaan

1. Menentukan tahap-tahap pematangan buah

Perubahan warna kulit buah pisang ambon diamati dan diambil fotonya setiap hari. Warna kulit buah pisang ambon dicocokkan dengan “*standard color chart*” by SH Pratt & Co Ltd.

Stage 1 : all green

Stage 2 : Green with trace of yellow

Stage 3 : More green than yellow

Stage 4 : More yellow than green

Stage 5 : Yellow with trace of green

Stage 6 : Full yellow

Stage 7 : Full yellow with brown spots

2. Penentuan Kandungan Protein

Penentuan kandungan protein didasarkan pada metode Biuret. 1 gr daging buah pisang ambon ditumbuk halus dalam mortar dan ditambahkan 30 ml aquades. Ekstrak disaring menggunakan kertas saring Whatman no. 1 ke dalam Erlenmeyer. 1 ml ekstrak dipipet ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 4 ml reagen biuret setelah itu, diinkubasi selama 30 menit sampai terbentuk warna

merah jambu (pink). Absorbansi diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm. Kandungan protein ditentukan berdasarkan kurva standar albumin (Witham *et.,al*, 1998).

3. Penentuan Level Triptofan

Penentuan level triptofan didasarkan pada metode *direct photometri*. 1 gr daging buah pisang ambon ditumbuk halus dalam mortar dan ditambahkan 30 ml aquades, ekstrak disaring kedalam Erlenmeyer menggunakan kertas saring Whatman no. 1. Setelah itu, 5 ml ekstrak dipipet kedalam tabung reaksi dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 280 nm (Witham *et.,al*, 1998).

4. Penentuan Aktifitas Enzim Dehidrogenase

Aktifitas enzim dehidrogenase diukur berdasarkan metode metilen blue (Witham *et.,al*, 1986). Daging buah pisang ambon dipotong dan ditimbang sebanyak 1 gram. Tabung reaksi ditutup rapat dengan plastic dan diikat menggunakan karet gelang, selanjutnya dilanjutkan dengan inkubasi selama 24 jam. Perubahan warna ditentukan berdasarkan transmisi larutan pada panjang gelombang 600 nm. Sebagai kontrol adalah daging buah pisang ambon yang telah dinonaktifkan enzim dehidrogenasenya dengan cara perendaman dalam air panas selama 20 menit. Aktifitas enzim dehidrogenase ditunjukkan oleh transmisi larutan metilen blue. Semakin besar transmisi dan semakin bening larutan maka, semakin tinggi aktivitas enzim dehidrogenase.

F. Analisis Data

Perbedaan kandungan protein, level triptofan dan aktivitas enzim dehidrogenase antar *stage* pematangan buah ditentukan berdasarkan analisis ragam pada taraf 5 % dan dilanjutkan dengan uji BNT pada taraf 5 %.