BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental yang dilakukan dengan menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) disusun secara faktorial dengan 3 kali ulangan. Faktor perlakuan meliputi kosentrasi dan lama perendaman, perlakuanya adalah sebagai berikut:

Faktor I : Konsentrasi kalsium klorida ($CaCl_2$) (K) yang terdiri dari :

K_0 =Perendaman dalam larutan $CaCl_2$ dengan kosentrasi 0 %

K_1 = Perendaman dalam larutan $CaCl_2$ dengan kosentrasi 4 %

K_2 = Perendaman dalam larutan $CaCl_2$ dengan kosentrasi 8 %

Faktor II : Lama Perendaman buah pisang ambon kuning (P) yang terdiri dari:

L_1 = Direndam selama 60 menit

L_2 = Direndam selama 90 menit

L_3 = Direndam selama 120 menit

3.2. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari – Maret 2014. Tempat penelitian dilakukan di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan Jurusan Biologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, Laboratorium Biokimia Jurusan Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, dan Laboratorium Kimia Universitas Muhammadiyah Malang.

3.3.Variabel Penelitian

Variabel penelitian meliputi:

1. Variabel bebas

Variabel bebas meliputi: buah pisang ambon kuning, perlakuan kontrol (tanpa perlakuan), konsentrasi larutan $CaCl_2$ 4 % serta larutan $CaCl_2$ dengan konsentrasi 8% dan lama perendaman (60 menit, 90 menit, 120 menit)

2. Variabel terikat

Variabel terikat adalah variabel yang diukur berupa, Kematangan buah pisang (warna dan kelunakan buah), kadar air, gula reduksi, dan kadar Ca dalam daging buah

3.4. Alat dan Bahan Penelitian

3.4.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi,timbangan digital (untuk menimbang berat bahan), jarum precision penetrometer untuk (mengukur tekstur buah), SAA (Spektrofotometri Serapan Atom) untuk mengukur kadar Ca dalam daging buah, tabung reaksi, pengocok tabung digestion, bak rendam, rak penyimpanan, oven untuk mengukur kadar air buah, desikator, cawan petri, mortal, waterbath, tabung digestion, digestion blok, spektrofotometer untuk mengukur gula reduksi

3.4.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi, pisang ambon kuning, serbuk garam kalsium klorida ($CaCl_2$), aquadest, air, reagen nelson somogyi, reagen arsenomolibdat, HNO_3 , $HCLO_4^-$, larutan la.

3.5. Prosedur Penelitian

Cara kerja dari penelitian ini yakni :

1. Dipilih 150 buah pisang ambon kuning yang seragam baik dalam ukuran maupun tingkat ketuaanya
2. Buah pisang dicuci dengan air mengalir agar getah, kotoran dan debu yang menempel pada kulit buah hilang, kemudian dikeringanginkan
3. 150 buah pisang yang dipilih dibagi menjadi 9 unit, masing-masing terdiri dari 21 buah
4. Dibuat konsentrasi larutan $CaCl_2$ sebanyak 0%, 4%, dan 8%
5. Untuk larutan $CaCl_2$ 0% diperlakukan tanpa perendaman kalsium klorida ($CaCl_2$)
6. Untuk larutan $CaCl_2$ 4 % didapat dari campuran 400 gram serbuk $CaCl_2$ dengan 10 liter aquadest, sedangkan untuk larutan $CaCl_2$ 8% didapat dari campuran 800 gram serbuk $CaCl_2$ dengan 10 liter aquadest
7. 3 unit kedua direndam dalam larutan $CaCl_2$ 4% (K_1) dengan lama perendaman berbeda, K_1L_1 direndam selama 60 menit, K_1L_2 direndam selama 90 menit, dan K_1L_3 direndam selama 120 menit.

8. 3 unit ketiga direndam dalam larutan $CaCl_2$ 8% (K_2) dengan lama perendaman berbeda, K_2L_1 direndam selama 60 menit, K_2L_2 direndam selama 90 menit, dan K_2L_3 direndam selama 120 menit.
9. Setelah perendaman buah dikeringanginkan, kemudian disimpan didalam suhu ruang sampai buah matang optimal
10. Setiap 3 hari sekali dimulai dari hari ke-3 setelah perlakuan dilakukan pengujian terhadap pengaruh pemberian kalsium klorida ($CaCl_2$) terhadap proses kematangan buah. Pengamatan dilakukan terhadap waktu yang diperlukan buah pisang ambon *(Musa paradisiaca)* sampai matang optimum, dengan ketentuan :

3.5.1 Warna Kulit Buah

Pengamatan terhadap warna daging buah dilakukan secara visual dan hasilnya disajikan dalam bentuk nilai atau skor (*score*), dengan menggunakan 15 orang panelis. Diastari (2013), menyatakan bahwa jumlah minimum dalam melakukan uji organoleptik melibatkan 10 orang panelis dengan kriteria tidak cacat fisik maupun psikis yang dapat mengganggu penilaian visualnya. Dalam uji organoleptik buah pisang ambon kuning (*Musa paradisiaca* Var Sapientum) nilai pematangan ditentukan sebagai berikut : 1=seluruh permukaan buah bewarna hijau dan buah masih keras, 2= permukaan buah bewarna hijau dengan semburat atau sedikit warna kuning, 3= warna hijau lebih dominan dari pada kuning 4= kulit buah dengan warna kuning lebih banyak dari pada warna hijau, 5= seluruh permukaan kulit buah bewarna kuning bagian ujung masih hijau, 6=

seluruh jari buah pisang bewarna kuning, 7= buah pisang bewarna kuning dengan banyak bercak coklat.

3.5.2 Penentuan Tingkat Kekerasan Buah

Kelunakan daging buah diamati setiap 3 hari sekali menggunakan precision penetrometer. Pengukuran kelunakan didasarkan pada kedalaman jarum precision penetrometer yang masuk ke dalam daging buah, semakin dalam jarum penetrometer menusuk daging buah, semakin besar angka yang ditunjukkan pada skala penetrometer, menunjukkan bahwa buah semakin lunak (Eka,2004), dengan cara :

1. Disiapkan jarum penetrometer dan letakkan pada tempat datar dan setting kedataranya dengan menggunakan waterpasss pada alat
2. Dipasang jarum tes pada bagian bawah penetrometer kemudian dipasang beban
3. Sampel buah diletakkan dibagian bawah jarum
4. Disiapkan stopwatch dan tekan pelatuk pelepas jarum, bersamaan dengan itu dinyalakan stopwatch, dihentikan gerak jarum dengan melepas pelatuk pada saat waktu 5 detik
5. Ditekan penggerak jarum dan lihat angka yang ditunjukkan pada alat, catatan : angka yang tertera adalah dalam satuan mm
6. Satuan tingkat kekerasan (N)

3.5.3 Penentuan Kadar Air (Metode AOAC)

Pengujian kadar air dilakukan setiap 3 hari sekali dimulai dari hari ke-3 pengamatan, yakni dicari dengan mencari rasio antara bobot air bahan, yaitu setelah bahan dikeringkan (sehingga tidak ada pengurangan berat) dengan bobot bahan sebelum dikeringkan (Mikasari,2004) :

1. Analisis kadar air dilakukan terhadap pisang ambon kuning yang telah diberi perlakuan
2. Cawan kosong dikeringkan dalam oven pada suhu 100^0 C-105^0C selama 15 menit
3. Didinginkan cawan kosong yang telah di oven dalam desikator selama 10 menit lalu ditimbang (A)g
4. Pisang yang telah dihomogenkan dimasukkan ke dalam cawan dan ditimbang sebanyak 10 g B (g)
5. Dipanaskan dalam oven pada suhu 100^0C-105^0C sampai beratnya konstan
6. Pisang yang telah di oven didinginkan dalam desikator dan ditimbang (C) g. kadar air dihitung dengan rumus :

$$\text{Kadar air } \% = \frac{\mathrm{B} - \mathrm{C}}{B - \mathrm{A}}\, x\, 100\%$$

Keterangan :

a. A adalah berat cawan
b. B adalah berat cawan + bahan sebelum dikeringkan (gr)
c. C adalah berat cawan + bahan setelah dikeringkan (gr)

3.5.4 Penentuan kadar Gula Reduksi

Penentuan kadar gula reduksi pada pisang ambon kuning dilakukan dengan metode *Nelson Somogyi*, dilakukan setiap 3 hari sekali dimulai dari hari ke-3 dengan cara (Rahman,2012) :

a. Penyiapan kurva standar :

1. Kurva standar dibuat dengan mengukur absorbans larutan glukosa standar pada panjang gelombang maksimum
2. Panjang gelombang maksimum ditentukan dengan mengukur serapan larutan standar 60 ppm pada panjang gelombang 500-800 nm
3. Larutan glukosa standar dibuat dengan cara melarutkan 110 mg glukosa monohidrat dalam 100 ml aquadest
4. Hasil larutan tersebut diencerkan sehingga diperoleh larutan glukosa dengan kosentrasi : 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 ppm
5. Masing-masing kosentrasi larutan diambil sebanyak 1 ml dan dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 ml pereaksi Nelson
6. Semua tabung dipanaskan pada penangas air mendidh selama 20 menit
7. Tabung didinginkan bersama-sama dengan gelas piala yang berisi air dingin, setelah dingin ditambahkan 1 ml pereaksi Arsenomolybdat
8. Hasil campuran dikocok sampai semua endapan Cu_2O yang ada larut kembali, setelah larut ditambahkan 7 ml aquadest

9. Absorbans masing-masing larutan diukur pada panjang gelombang maksimum
10. Blanko yang digunakan diperlakukan seperti sampel tetapi penambahan 0,5 ml larutan baku glukosa diganti dengan 0,5 ml akuades

b. Penetuan kadar gula reduksi :

1. Sampel pisang ambon kuning di haluskan terlebih dahulu dengan mortal
2. Di timbang bahan padat yang telah dihaluskan dengan massa 2 g
3. Dilarutkan bahan dengan aquades secukupnya, saring bahan kemudian pindahkan filtrat ke dalam labu takar ukuran 10 ml
4. Ambil 1 ml larutan filtrat atau standar masukkan kedalam tabung reaksi, kemudian tambahkan 1 ml reagen Nelson Somogyi, lalu panaskan ke dalam waterbath hingga mendidih dan tunggu 20 menit dari mendidih
5. Ambil semua tabung dan dinginkan dengan segera setelah dingin, tambahkan 1 ml reagen arsenomolibdat, dikocok sampai semua endapan Cu_2O yang ada larut kembali
6. Setelah semua endapan Cu_2O larut, tambahkan 7 ml aquadest, dkocok hingga homogen, jika larutan bewarna pekat dapat diencerkan hingga warna larutan menjadi lebih terang dengan catatan faktor pengenceran dmasukkan dalam rumus

7. Diamati absorbansi pada gelombang maksimum dengan menggunakan spektrofotometer
8. digunakan persamaan regresi untuk penentuan kadar gula reduksi
9. Persamaan regresi standar y=absorbansi dan x= kosentrasi gula reduksi
10. Gula reduksi (%) = $\frac{(\text{Absorbansi+y})}{\text{x x massa sampel x 1000}}\ x\ 100\ x\ Fp$

3.5.5 Kadar Ca dalam Daging Buah

Analisis kadar Ca dalam daging buah dilakukan pada akhir pengamatan, yakni pada hari ke-12 dengan cara (Jannah,2008) :

1. Buah dilumatkan dan ditimbang sebanyak 0,5 g
2. Dimasukkan kedalam tabung digestion sampai 0,5 mm
3. Ditambahkan 5 ml HNO_3 dan 0,5 ml $HclO_4$.
4. Dibiarkan 1 malam, kemudian dipanaskan dalam digestion blok dengan suhu 100^0C selama 1 jam, lalu suhu ditingkatkan menjadi 150^0C
5. Setelah uap kuning habis suhu digestion blok ditingkatkan menjadi 200^0C
6. Destruksi selesai setelah keluar asap putih dan sisa ekstrak kurang lebih 0,5 ml
7. Diangkat tabung dan dibiarkan dngin
8. Ekstrak diencerkan dengan air bebas ion hingga volume tepat 50 ml
9. Dikocok dengan pengocok tabung hingga homogen sampai menjadi ekstrak

10. Pipet 1 ml ekstrak dan deret standart masing-masing kedalam tabung kimia
11. Ditambahkan 9 ml larutan La 0,23%
12. Dikocok dengan menggunakan pengocok tabung sampai homogen
13. Ca diukur degan SSA (Spektrofotromeptri Serapan Atom)

3.6. Analisis Data

Pengambilan data dilakukan setiap 3 hari sekali sampai hari ke-12 pengamatan. Analisa buah pisang ambon kuning (*Musa paradisiaca* Var Sapientum.) untuk parameter warna kulit buah, kelunakan buah, kadar air, kadar gula reduksi dilakukan pada hari ke- 3,6,9, dan 12 dan untuk analisa kandungan kalsium dalam daging buah pisang ambon kuning (*Musa paradisiaca* Var Sapientum.) dilakukan sebelum perlakuan dan hari ke-12. Data yang diperoleh dianalisis dengan *Analisis of Varian* (ANOVA) *two way* dengan taraf kepercayaan 0,05 (5%). Apabila didapatkan perbedaan nyata maka dilanjutkan dengan uji jarak Duncan.