

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Rumah Kaca, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, Kampus Gedung Meneng, Bandar Lampung pada bulan Desember 2013 sampai Maret 2014.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah planlet *N. ampullaria* dan *N. mirabilis* berumur 1 tahun yang berasal dari perbanyakan tanaman secara kultur jaringan di Pusat Konservasi Tumbuhan (PKT) Kebun Raya Bogor yang kemudian diperbanyak di laboratorium Ilmu Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Lampung (Gambar 3), fungisida 2g/l (Mankoze 80%), ZPT golongan auksin (IBA 1000 ppm) untuk memacu pertumbuhan akar, arang sekam, *cocopeat*, kompos, *Sphagnum moss*, tanah rawa, dan 1 set bahan kimia untuk uji kandungan NPK media.



Gambar 3. Planlet kantong semar yang siap untuk diaklimatisasi.

Media arang sekam dan *cocopeat* didapat dari penjual media tanam di Gunung Terang, Bandar Lampung, sedangkan *Sphagnum moss* diperoleh dari penjual media tanam di Bogor, Jawa Barat dalam bentuk jaringan *Sphagnum moss* kering. Kompos diperoleh dari mahasiswa Ilmu Tanah, Universitas Lampung yang melakukan dekomposisi daun-daun kering di sekitar Fakultas Pertanian Universitas Lampung dengan merek dagang “Seruning” (Serasah daun kering) dengan ukuran partikel media hampir mendekati tanah. Tanah rawa yang digunakan berasal dari lahan rawa di samping lapangan sepak bola Universitas Lampung. Media aklimatisasi dapat dilihat pada Gambar 4.

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah ember, pinset, penggaris, pH meter, termometer ruang, gunting, *hand sprayer*, gelas ukur, cawan petri, timbangan, pot plastik 12 cm, plastik klip berukuran 30 x 40, paranet 70%, *marker*, oven, benang, 1 set alat uji analisis NPK media, dan logbook penelitian.



Gambar 4. Media aklimatisasi yang siap digunakan.

Keterangan: A= media arang sekam + *cocopeat*, B= media *cocopeat*, C= media kompos, D= media *Sphagnum moss*, E= media tanah rawa, F= media Arang sekam + kompos.

3.3 Metode Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak kelompok (RAK) dengan 12 kombinasi perlakuan yang merupakan kombinasi dari dua faktor utama. Faktor pertama adalah spesies planlet kantong semar yakni *Nepenthes ampullaria* dan *Nepenthes mirabilis*. Faktor kedua adalah media aklimatisasi yakni kombinasi arang sekam + *cocopeat* (1:1), *cocopeat*, kompos, *Sphagnum moss*, tanah rawa, serta kombinasi arang sekam + kompos (1:1). Setiap perlakuan diulang 3 kali dan setiap ulangan terdiri dari tiga planlet sehingga terdapat 108 satuan percobaan (Tabel 1).

Tabel 1. Kombinasi perlakuan spesies planlet *Nepenthes* dan media aklimatisasi.

Kombinasi Perlakuan	Spesies Planlet <i>Nepenthes</i>	Media Aklimatisasi
A1	<i>N.ampullaria</i>	Arang sekam + <i>cocopeat</i> (1:1)
A2		<i>Cocopeat</i>
A3		Kompos
A4		<i>Sphagnum moss</i>
A5		Tanah rawa
A6		Arang sekam + kompos (1:1)
B1	<i>N. mirabilis</i>	Arang sekam + <i>cocopeat</i> (1:1)
B2		<i>Cocopeat</i>
B3		Kompos
B4		<i>Sphagnum moss</i>
B5		Tanah rawa
B6		Arang sekam + kompos (1:1)

Rancangan Acak Kelompok digunakan karena bahan tanam yang digunakan tidak seragam sehingga dianggap perlu untuk melakukan pengelompokan.

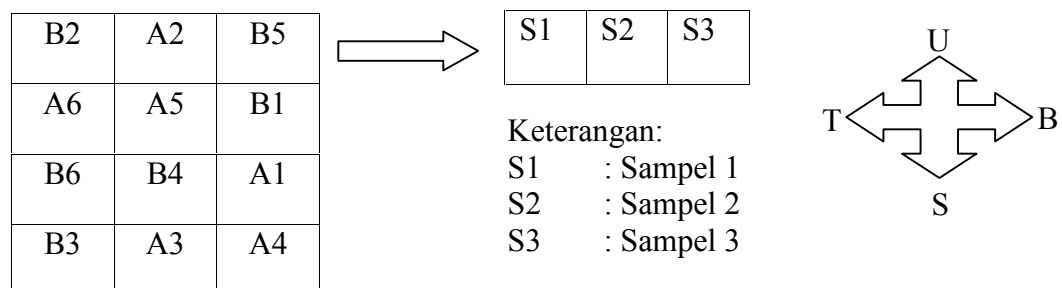
Pengelompokan dilakukan berdasarkan jumlah akar. Jumlah akar diamati secara kuantitatif dan kemudian dibagi menjadi 3 kelompok yakni kelompok I (>15), II (5-15), dan III (< 5) (Gambar 26). Homogenitas ragam diuji dengan Uji Bartlett, dan aditivitas data diuji dengan Uji Tukey. Perbedaan nilai tengah perlakuan diuji dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf 5%.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Penyusunan Tata Letak Percobaan

Untuk masing-masing ulangan disusun tata letak percobaan sesuai dengan jumlah perlakuan yaitu 12 perlakuan. Setiap perlakuan terdiri dari 3 sampel (Gambar 5).

Ulangan 1



Ulangan 2

B6	B1	A3
A4	A5	B5
B3	B4	A6
A1	A2	B2

Ulangan 3

A3	A1	B4
A2	B1	A5
B3	B2	B5
A6	B6	A3

Gambar 5. Denah tata letak percobaan pada aklimatisasi planlet kantong semar.

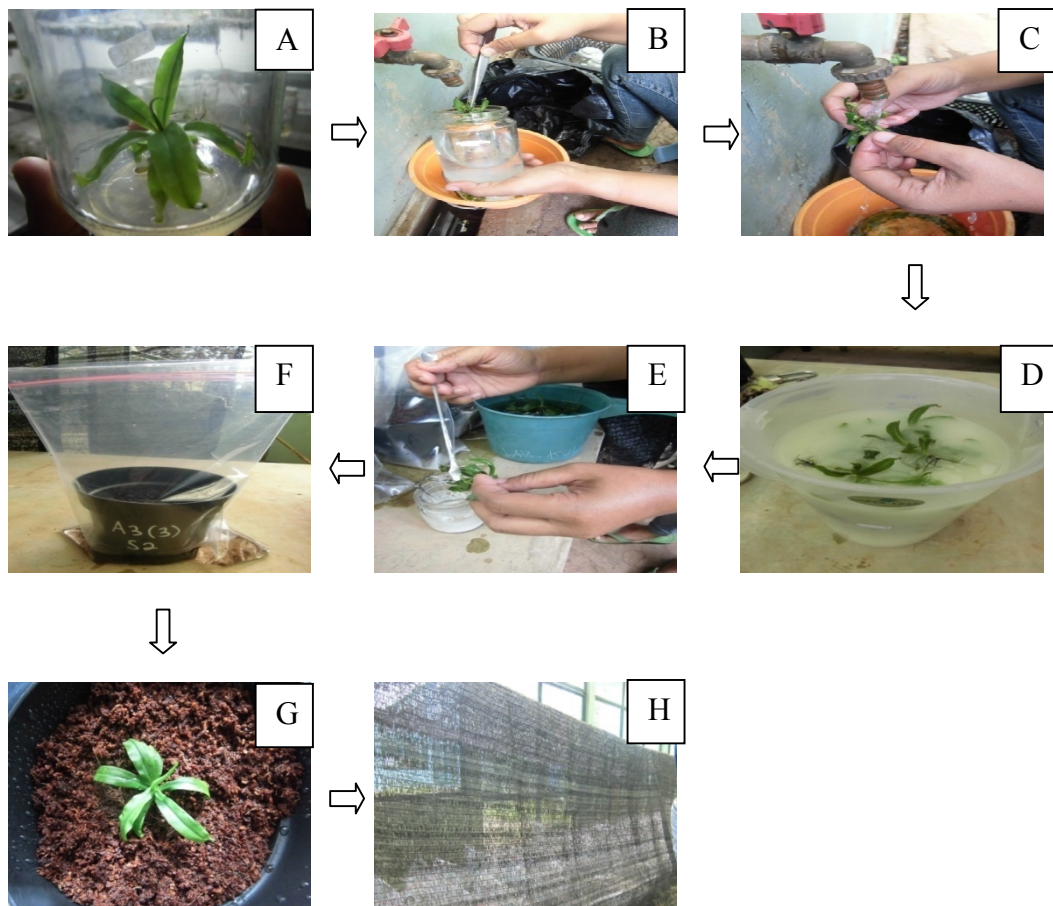
3.4.2 Persiapan Media

Sebelum melakukan penanaman planlet kantong semar, terlebih dahulu mempersiapkan media aklimatisasi yang akan digunakan yaitu kombinasi arang sekam + *cocopeat* (1:1), *cocopeat*, kompos, *Sphagnum moss*, tanah rawa, serta

kombinasi arang sekam + kompos (1:1). Arang sekam, *cocopeat*, kompos, dan *Sphagnum moss* terlebih dahulu disterilisasi dengan air panas 100°C agar patogen yang terdapat pada media menjadi mati dan kemudian direndam selama 24 jam agar air meresap dengan baik pada media. Setelah selesai, media dimasukkan ke dalam pot aklimatisasi dan setiap media tanam langsung diberi lubang tanam.

3.4.3 Penanaman Planlet Kantong Semar

Kantong semar hasil perbanyakan secara *in vitro* dikeluarkan dari botol kultur menggunakan pinset (Gambar 6B) dan dicuci terlebih dahulu pada air mengalir untuk menghilangkan media kultur yang masih menempel pada bagian akar planlet (Gambar 6C). Daun yang layu atau mati dipotong kemudian planlet direndam dengan larutan fungisida 2g/l (Mankoze 80%) selama 5 menit (Gambar 6D). Pada bagian pangkal batang planlet kantong semar yang telah bersih diberi Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) golongan auksin yakni *Indol Butyric Acid* (IBA) 1000 ppm dalam bentuk pasta untuk merangsang pertumbuhan akar (Gambar 6E). IBA 1000 ppm digunakan mengacu pada penelitian yang telah dilakukan oleh Wazir (2014) yang mendapatkan hasil panjang akar, jumlah akar, dan jumlah daun maksimum stek *Camellia japonica* pada beberapa jenis bahan stek (lunak, semi kayu, dan berkayu) dengan menggunakan dua jenis ZPT golongan auksin yakni NAA (250 ppm dan 500 ppm) dan IBA (500 ppm dan 1000 ppm). Planlet kantong semar tergolong bahan tanam semi berkayu.

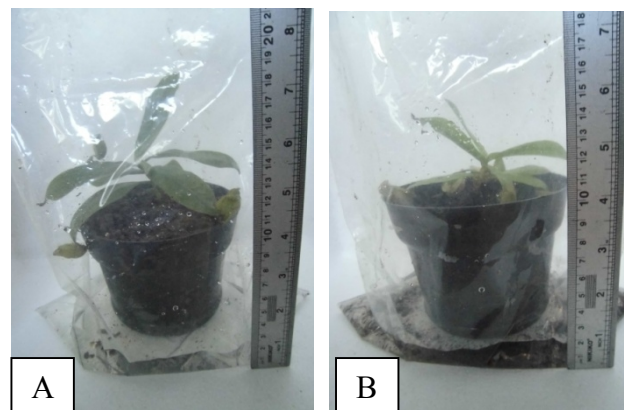


Gambar 6. Tahap persiapan dan penanaman planlet kantong semar.

Keterangan : A= menyiapkan planlet kantong semar, B= mengeluarkan planlet dari dalam botol kultur, C= mencuci planlet dari sisa-sisa media *in vitro* yang masih menempel, D= merendam planlet ke dalam larutan fungisida, E= mengaplikasikan IBA pada bagian pangkal batang planlet, F= menyiapkan media dan sungkup aklimatisasi, G= menanam planlet, dan H= meletakkan planlet di bawah paranet di dalam rumah kaca.

Planlet yang telah diolesi IBA, ditanam pada pot yang telah diisi media perlakuan dan dimasukkan ke dalam plastik klip berukuran 30 x 40 cm yang telah diisi air dan ditutup. Menurut Trubus Infokit (2006), bibit kantong semar sangat sensitif dan mudah mati, sehingga perlu memperhatikan suhu dan kelembaban. Suhu yang ideal berkisar 22°C- 27°C dengan kelembaban 90-100% (melakukan penyungkupan dengan plastik adalah cara mudah memperoleh kelembaban

tinggi). Pengisian air di dalam plastik bertujuan agar media selalu lembab. Media untuk kantong semar tidak hanya membutuhkan kelembaban yang tinggi namun menginginkan media yang selalu basah tidak tergenang.



Gambar 7. Pengisian air pada plastik untuk media tanah rawa (A) dan media selain tanah rawa (B).

Volume air yang dimasukkan ke dalam plastik klip sama untuk semua media kecuali media tanah rawa. Standar yang digunakan dalam menentukan banyaknya air yang dimasukkan ke dalam plastik klip berkaitan dengan kemampuan media dalam menyerap dan mempertahankan air. Volume air yang diberikan untuk tanah rawa lebih banyak dibandingkan media lainnya. Hal ini dilakukan agar tercipta kondisi macak-macak pada tanah rawa. Volume air yang dimasukkan adalah 400 ml dengan ketinggian 3 cm untuk tanah rawa (Gambar 7A), dan 250 ml untuk media lainnya dengan ketinggian 2 cm (Gambar 7B). Planlet yang telah ditanam, disimpan di rumah kaca yang telah diberi paranet sebagai modifikasi iklim mikro.

3.4.4 Pemeliharaan

Kegiatan perawatan yang dilakukan selama aklimatisasi kantong semar adalah penyiraman, dan penyiangan gulma. Penyiraman dilakukan apabila air yang berada di dalam plastik klip mulai berkurang. Penyiraman ini dilakukan secara perlahan dengan menggunakan *hand sprayer* disertai dengan pengisian air pada plastik untuk menjaga kelembaban media. Penyiangan gulma dilakukan secara manual saat media aklimatisasi ditumbuhi oleh gulma.

3.5 Variabel yang diamati

Pengamatan dilakukan pada awal aklimatisasi dan setiap dua minggu hingga akhir penelitian dengan total enam kali pengamatan. Variabel yang diamati adalah tinggi tanaman, jumlah daun, jumlah daun mati, lebar daun, panjang daun, jumlah kantong, panjang kantong, lingkaran kantong, persentase daun yang menghasilkan kantong, warna kantong, persentase tanaman hidup, jumlah tunas, dan jumlah cabang.

3.5.1 Tinggi Tanaman

Tinggi tanaman diukur pada awal aklimatisasi dan setiap dua minggu selama penelitian menggunakan penggaris. Satuan tinggi tanaman dinyatakan dalam centimeter (cm). Metode pengukuran tinggi tanaman dilakukan dari pangkal batang hingga ujung daun terpanjang.

3.5.2 *Jumlah Daun*

Jumlah daun dihitung pada awal aklimatisasi dan setiap dua minggu selama penelitian. Daun yang dihitung adalah seluruh daun yang masih menyatu dengan tanaman baik daun muda (daun yang sudah membuka sempurna), daun tua, dan daun mati (potensi jumlah seluruh daun).

3.5.3 *Jumlah Daun Mati*

Daun yang dihitung adalah daun yang mulai berwarna kuning dan layu, serta daun yang rusak atau mati akibat *sun burn* maupun karena serangan hama dan penyakit. Pengamatan ini dilakukan setiap dua minggu selama penelitian.

3.5.4 *Lebar Daun*

Lebar daun diukur pada umur 12 MSA. Daun yang diukur merupakan daun ke-3, ke-4, dan ke-5 dari pucuk. Titik pengukuran lebar daun adalah pada bagian tengah daun.

3.5.5 *Panjang Daun*

Panjang daun diukur pada umur 12 MSA. Daun diukur menggunakan penggaris (cm) dari ketiak daun hingga ujung daun (pangkal pertemuan daun dan kantong). Daun yang diukur adalah daun ke-3, ke-4, dan ke-5 dari pucuk. Ketiga daun ini dipilih untuk diukur karena diperkirakan pada daun ke-3, ke-4, dan ke-5 dari pucuk, pertumbuhan daunnya sudah maksimal.

3.5.6 Jumlah Kantong

Jumlah kantong dihitung pada umur awal aklimatisasi dan setiap dua minggu selama penelitian. Kantong yang dihitung adalah kantong lama dan kantong baru (kantong yang sudah terbentuk sempurna yakni kantong yang sudah memiliki penutup di bagian atas). Kantong lama adalah kantong yang terbentuk pada media *in vitro*, sedangkan kantong baru adalah kantong yang terbentuk setelah dilakukannya aklimatisasi.

3.5.7 Panjang Kantong

Panjang kantong diukur setiap dua minggu sejak umur 8 MSA hingga akhir penelitian. Pengukuran panjang kantong dimulai dari pangkal pertumbuhan kantong sampai penutup kantong. Kantong yang diukur adalah dua kantong lama dan dua kantong baru terbesar pada saat pengamatan umur 8 minggu setelah aklimatisasi (MSA). Empat kantong ini yang tingginya diukur sejak umur 8 MSA hingga akhir penelitian.

3.5.8 Lingkar Kantong

Lingkar kantong diukur pada umur 12 MSA. Kantong yang diukur adalah dua kantong lama dan dua kantong baru yang sama dengan kantong yang digunakan untuk pengukuran panjang kantong. Lingkar kantong yang diukur adalah pada bagian kantong yang paling buncit (perut kantong).

3.5.9 Persentase Daun yang Menghasilkan Kantong

Persentase daun yang menghasilkan kantong dihitung berdasarkan jumlah daun yang membentuk kantong. Pengamatan dilakukan setiap 2 minggu selama penelitian. Penghitungan persentase daun yang menghasilkan kantong bertujuan untuk mengetahui pengaruh spesies dan media aklimatisasi dalam membentuk kantong. Rumus yang digunakan adalah sebagai berikut:

$$\text{Persentase daun yang menghasilkan kantong} = \frac{\sum \square \text{kantong}}{\sum \square \text{daun}} \times 100\%$$

3.5.10 Warna Kantong

Warna kantong diamati secara kualitatif pada awal aklimatisasi dan setiap 2 minggu selama penelitian dengan kriteria warna yakni hijau muda, hijau tua, kuning, dan coklat. Apabila terdapat perubahan warna diluar kriteria tersebut, akan dicatat sebagai informasi tambahan. Panduan yang digunakan dalam menentukan warna kantong adalah dengan menggunakan *Globe Plant Colour Guide* (Gambar 8).



Gambar 8. *Globe Plant Colour Guide*, sumber: (www.visualcoloursystem.com).
 3.5.11 *Persentase Tanaman Hidup*

Jumlah tanaman hidup dihitung di awal dan di akhir penelitian. Penghitungan jumlah tanaman hidup ini dilakukan untuk mengetahui persentase jumlah tanaman hidup. Untuk mendapatkan persentase jumlah tanaman hidup, maka digunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Persentase tanaman hidup} = \frac{\sum \text{tanaman awal}}{\sum \text{tanaman akhir}} \times 100\%$$

3.5.12 *Jumlah Tunas*

Jumlah tunas dihitung saat awal aklimatisasi dan setiap 2 minggu selama penelitian. Jumlah anakan yang dihitung adalah tanaman baru yang muncul dari pangkal batang (minimal sudah memiliki 1-2 helai daun).

3.5.13 *Jumlah Cabang*

Jumlah cabang dihitung sebelum aklimatisasi dan setiap 2 minggu selama penelitian. Cabang yang dihitung adalah cabang yang minimal sudah memiliki 1-2 helai daun.

Pengamatan lain yang dilakukan adalah pengamatan lingkungan yakni suhu rumah kaca. Pengamatan ini dilakukan selama penelitian pada pukul 12.00 dan 17.00 WIB untuk mengetahui perubahan suhu yang terjadi selama penelitian. Selain itu juga dilakukan analisis media secara fisika dan kimia. Analisis media secara fisika dilakukan dengan menimbang masing-masing 100 gram media dalam kapasitas lapang dan kemudian dioven selama dua hari dengan suhu 105°C.

Setelah dua hari, media kembali ditimbang untuk mengetahui kadar air masing-masing media. Analisis kimia yang dilakukan meliputi derajat keasaman (pH) dan kandungan N,P, K media di laboratorium Ilmu Tanah Fakultas Pertanian Universitas Lampung.