

III. MATERI DAN METODE

1.1. Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Genetik dan Pemuliaan Tanaman Fakultas Pertanian dan Peternakan, Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau. Penelitian ini berlangsung mulai bulan Mei hingga Agustus 2013.

1.2. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bahan tanaman *Nepenthes mirabilis*, yaitu eksplan tunas dan nodul yang merupakan hasil induksi berbagai taraf BAP dan NAA hasil penelitian Irawati (2013). Bahan kimia yang digunakan terdiri dari NaOH dan HCL (0,1%), medium $\frac{1}{2}$ *Murashige & Skoog* ($\frac{1}{2}$ MS), aquades, alkohol 70%, agar, dan sukrosa.

Alat yang digunakan antara lain botol kultur, pipet, cawan petri, labu takar, alat ukur gelas, gunting, pinset, scalpel, mata pisau, timbangan analitik, pH meter, *hand sprayer*, bunsen, autoklaf, *laminar air flow cabinet* atau enkarkas. Rak penyimpanan kultur dilengkapi dengan *fluorescence* yang mempunyai intensitas cahaya 1500-2000 lux sebagai sumber penyinaran dengan suhu ruang 20-22°C.

1.3. Metode Penelitian

Penelitian ini terdiri dari dua percobaan yaitu: 1) eksplan yang berasal dari tunas, 2) eksplan yang berasal dari nodul hasil induksi beberapa perlakuan pada media yang mengandung BAP dan NAA. Masing-masing percobaan dilihat pengaruhnya pada media $\frac{1}{2}$ MS tanpa zat pengatur tumbuh. Adapun perlakuan sebelumnya yang digunakan yaitu: 1) kontrol (tanpa perlakuan), 2) 0,1 ppm

NAA, 3) 0,3 ppm NAA, 4) 0,4 ppm NAA, 5) 1 ppm BAP + 0,1 ppm NAA, 6) 1 ppm BAP + 0,2 ppm NAA, 7) 1 ppm BAP + 0,3 ppm NAA, 8) 1 ppm BAP + 0,4 ppm NAA, 9) 2 ppm BAP, 10) 2 ppm BAP + 0,2 ppm NAA, 11) 2 ppm BAP + 0,3 ppm NAA, 12) 2 ppm BAP + 0,4 ppm NAA, 13) 3 ppm BAP + 0,1 ppm NAA, 14) 4 ppm BAP, 15) 4 ppm BAP + 0,2 ppm NAA, dan 16) 4 ppm BAP + 0,4 ppm NAA. Total ulangan dari kedua percobaan pada setiap perlakuan adalah 5 ulangan sehingga total unit percobaan terdapat 80 unit (Lampiran 3.).

1.4. Pelaksanaan Penelitian

1.4.1. Sterilisasi Peralatan

Alat-alat yang digunakan untuk penanaman dicuci dengan detergen hingga bersih kemudian disterilkan di dalam autoklaf dengan tekanan 17,5 psi dan suhu 121°C selama satu jam. Alat-alat yang perlu disterilkan yaitu botol kultur, alat tanam, dan cawan petri.

1.4.2. Pembuatan Media

Media yang diperlukan dalam penelitian ini yaitu media $\frac{1}{2}$ MS tanpa zat pengatur tumbuh (Lampiran 1.). Pembuatan media dapat dilihat pada Lampiran 2.

1.4.3. Penanaman

a. Penanaman pertama

Penanaman eksplan dilakukan dengan memisahkan sumber eksplan yang berasal dari tunas dan eksplan yang berasal dari nodul.

1. Penanaman eksplan yang berasal dari tunas.

Tunas dikeluarkan dari botol kultur, selanjutnya tunas dipotong dari pangkal batang tanpa akar dan tunas apikal, tiap potongan masing-masing terdiri dari 2

– 3 buku. Kemudian eksplan ditanam pada media ½ MS 0. Setiap botol kultur terdiri dari satu eksplan. Botol kultur diletakkan di rak kultur di bawah cahaya penuh selama 16 jam.

2. Penanaman eksplan yang berasal dari nodul.

Nodul dikeluarkan dari botol kultur. Selanjutnya nodul dipecah-pecah sehingga dalam satu botol kultur hanya terdiri dari satu nodul. kemudian eksplan nodul ditanam pada media ½ MS 0.

b. Penanaman kedua

Tunas yang telah terbentuk dari eksplan tunas dan nodul pada penanaman pertama dikeluarkan dari botol kultur, selanjutnya tunas tersebut ditanam pada media ½ MS 0. Tunas yang ditanam tanpa dilakukan pemotongan tunas seperti pada penanaman pertama. Kemudian botol kultur diletakkan di rak kultur di bawah cahaya penuh selama 16 jam.

1.5. Pengamatan

Pengamatan dilakukan selama 8 minggu pada penanaman pertama dan 4 minggu pada penanaman kedua. Parameter yang diamati adalah:

- a. Persentase kontaminasi bakteri dan jamur, diamati setiap minggu mulai 1 MST (Minggu Setelah Tanam) sampai 8 MST pada penanaman pertama dan 4 MST pada penanaman kedua dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{ Kontaminasi} = \frac{\text{eksplan terkontaminasi}}{\text{jumlah total eksplan yang ditanam}} \times 100\%$$

- b. Persentase *browning* (pencoklatan), diamati setiap minggu mulai dari 1 MST sampai 8 MST pada penanaman pertama dan 4 MST pada penanaman kedua dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{ pencoklatan} = \frac{\text{eksplan mengalami pencoklatan}}{\text{jumlah total eksplan yang ditanam}} \times 100\%$$

- c. Jumlah tunas, dihitung dengan mencatat banyaknya tunas yang terbentuk pada setiap planlet dan diamati setiap minggu dari 1 MST sampai 8 MST pada penanaman pertama dan 4 MST pada penanaman kedua.
- d. Jumlah daun, dihitung banyaknya jumlah daun yang terbentuk pada setiap planlet dan diamati setiap minggu dari 1 MST sampai 8 MST pada penanaman pertama dan 4 MST pada penanaman kedua.
- e. Jumlah buku, dihitung banyaknya jumlah buku pada setiap planlet dan diamati setiap minggu dari 1 MST sampai 8 MST pada penanaman pertama dan 4 MST pada penanaman kedua.
- f. Jumlah kantong, dihitung banyaknya jumlah kantong pada setiap planlet dan diamati setiap minggu dari 1 MST sampai 8 MST pada penanaman pertama dan 4 MST pada penanaman kedua.
- g. Jumlah akar, dihitung banyaknya jumlah akar pada setiap planlet dan diamati setiap minggu dari 1 MST sampai 8 MST pada penanaman pertama dan 4 MST pada penanaman kedua.

1.6. Analisis Data

Pengolahan data dilakukan secara deskripsi. Nilai yang dicari berupa analisis statistik deskriptif yaitu rata-rata dari setiap perlakuan.