

## ANALISIS KLOROFIL PADA LAMINA DAN KANTONG *Nepenthes gracilis* [Analysis of Chlorophyll in Lamina and Pitcher of *Nepenthes gracilis*]

Rahmat Albar<sup>1,\*</sup>, Yuliana Diyah Novitasari<sup>2,\*</sup>, Yashanti Berlinda Paradisa<sup>3,\*</sup>, Des M<sup>1</sup>, Dwi Hilda Putri<sup>1</sup>, Moralita Chatri<sup>1</sup>, Solichatun<sup>2</sup> dan Wahyuni<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Jalan Prof. Dr. Hamka, Air Tawar Barat, Padang Utara, Sumatra Barat, 25171, Universitas Negeri Padang, Indonesia

<sup>2</sup>Jalan Ir. Sutami, No 36, Kentingan, Kecamatan Jebres, Surakarta, 57126, Universitas Sebelas Maret, Indonesia

<sup>3</sup>Jalan Raya Bogor Jakarta KM 46, Kabupaten Cibinong Bogor, Jawa Barat, 16911, Pusat Riset Rekayasa Genetika, BRIN

Email: rahmatalbar45@gmail.com

### ABSTRACT

*Nepenthes gracilis* is a pitcher plant (*Nepenthes* spp.) with a unique shape. *N. gracilis* has leaves consisting of the lamina, which plays an active role in photosynthesis and the pitcher, which plays an active role in the carnivory mechanism. Photosynthesis and carnivorous mechanisms in pitcher plants are very complex. One way to find out the mechanism of photosynthesis is to measure the pigment content of plants. This study aims to determine the content of chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll and carotenoids in fresh and dry samples from the lamina and pitcher of *N. gracilis*. The research also aims to determine the sample type and solvent suitable for measuring pigment content. The sample was extracted using acetone, ethanol and DMSO. Lamina and pitcher samples were taken directly from *N. gracilis* plants with 7–8 laminae. Samples with dry treatment were stored in silica gel for one day and for fresh samples, the plant pigment content was immediately tested according to the treatment. Absorbance was measured using a UV-VIS spectrophotometer at wavelengths according to the type of solvent used, namely at 663.2, 646.8 and 470 nm for samples with acetone solvent, at 664, 649 and 470 nm for samples with ethanol solvent, and 665.1 nm, 649.1 nm and 480 nm for samples with DMSO solvent. The results showed that the lamina had higher chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll and carotenoid contents than the bag samples at 57.39, 51.03, 51.53 and 55.64 %, respectively. The sample condition only affected chlorophyll b content but did not affect the content of chlorophyll a, carotenoids and total chlorophyll. Extraction using DMSO, acetone and ethanol did not significantly affect the content of chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll and carotenoids in the lamina and pitchers of *N. gracilis* plants.

**Keywords:** Carnivorous plant, *Nepenthes gracilis*, Pigment Content, Extracted solvents

### ABSTRAK

*Nepenthes gracilis* merupakan salah satu jenis kantong semar (*Nepenthes* spp.) yang memiliki bentuk yang unik. *N. gracilis* memiliki daun yang terdiri dari lamina yang berperan aktif dalam fotosintesis dan kantong berperan aktif dalam mekanisme carnivory. Fotosintesis dan mekanisme carnivory pada kantong semar sangat kompleks. Salah satu cara untuk mengetahui mekanisme fotosintesis adalah dengan mengukur kandungan pigmen tumbuhan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan klorofil a, klorofil b, klorofil total dan karotenoid pada sampel segar dan kering dari lamina dan kantong *N. gracilis*. Penelitian juga bertujuan untuk mengetahui jenis sampel dan pelarut yang sesuai untuk pengukuran kandungan pigmen. yang diekstraksi menggunakan 3 jenis pelarut, yaitu aseton, metanol dan DMSO. Sampel lamina dan kantong diambil secara langsung dari tumbuhan *N. gracilis* yang memiliki 7–8 lamina. Sampel dengan perlakuan kering disimpan dalam silica gel selama 1 hari dan sedangkan pada sampel segar, kandungan pigmen tanaman langsung diuji sesuai dengan perlakuan. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang sesuai dengan jenis pelarut yang digunakan yakni pada 663.2, 646.8 dan 470 nm untuk sampel dengan pelarut aseton, pada 664, 649 dan 470 nm untuk sampel dengan pelarut etanol, dan pada 665.1, 649.1 dan 480 nm untuk sampel dengan pelarut DMSO. Hasil penelitian menunjukkan bahwa lamina memiliki kandungan klorofil a, klorofil b, klorofil total dan karotenoid yang lebih tinggi dibandingkan sampel kantong masing-masing sebesar 57,39 51,03 51,53 dan 55,64%. Kondisi sampel berpengaruh terhadap kandungan klorofil b namun tidak berpengaruh pada klorofil a, karotenoid dan total klorofil. Ekstraksi menggunakan pelarut DMSO, aseton dan etanol tidak berpengaruh signifikan terhadap kandungan klorofil a, klorofil b, klorofil total dan karotenoid pada daun dan kantong tumbuhan *N. gracilis*.

**Kata Kunci:** Tumbuhan karnivora, *Nepenthes gracilis*, Kandungan pigmen, Pelarut ekstraksi

### PENDAHULUAN

Kantong semar (*Nepenthes* spp.) adalah tumbuhan karnivora yang berasal dari ordo Nepenthales dan famili Nepenthaceae. Tumbuhan ini merupakan spesies tumbuhan karnivora yang berkembang biak di daerah terbuka, lembab dan rendah unsur hara. Menurut Mansur *et al.* (2013), terdapat 139 jenis kantong semar yang tersebar di beberapa pulau di Indonesia seperti Sumatera, Kalimantan, Jawa, Sulawesi, Maluku dan Papua. Kelestarian *Nepenthes* di Indonesia mulai terancam dikarenakan peralihan alih fungsi lahan hutan

menjadi area pertanian dan pertambangan. Tumbuhan kantong semar dikategorikan langka oleh *International Union for the Conservation of Nature and Natural Resource* (IUCN) dan *World Conservation Monitoring Center* (WCMC). Selain *Nepenthes khasiana* dan *Nepenthes rajah*, semua spesies *Nepenthes* spp. termasuk didalam CITES appendix II. Salah satu spesies yang masuk dalam data IUCN adalah *Nepenthes gracilis* dengan kriteria resiko rendah (Clarke, 2001).

*N. gracilis* merupakan salah satu jenis kantong semar yang memiliki tipe tubuh merambat, tinggi

\*Kontributor Utama

Diterima: 5 Agustus 2023 - Diperbaiki: 23 Agustus 2023 - Ditetujui: 19 Oktober 2023

mencapai 2 m, batang segitiga, halus dan kuat, dengan ruas yang jelas (Handayani, 2018). Batang *N. gracilis* berwarna merah kecokelatan atau hijau kekuningan serta memiliki sulur berwarna hijau kekuningan atau merah coklat dengan panjang berkisar 44–723 cm dan diameter berkisar 7,02–8,12 mm (Armanda *et al.*, 2020). Daun pada batang roset tidak memiliki tangkai, dan berbentuk lanset atau pita serta panjang sulur bisa mencapai 10 cm. Bagian bawah Kantong dekat daun roset membesar seperti mangkuk dan ke arah atas menyempit dan mengembang. Tinggi kendi bisa mencapai 10 cm (Handayani, 2018). Keberadaan kantong semar dapat diamati berdasarkan ketinggian, jenis tanah, suhu dan kelembaban pada setiap lokasi habitat (Nainggolan *et al.*, 2020). Distribusi *N. gracilis* dapat ditemukan hidup di dataran rendah (< 1000m).

Daun kantong semar terdiri dari lamina dan kantong dimana lamina berperan aktif dalam fotosintesis, sedangkan kantong berperan aktif dalam menarik, menjebak dan mencerna mangsa (Pavlović *et al.*, 2009). Kantong merupakan bentuk diferensiasi dari daun (Ginting dan Lubis, 2017). Lamina dan kantong dihubungkan oleh sulur. Bentuk, ukuran dan warna organ kantong *Nepenthes* memiliki fungsi yang berkaitan dengan menarik mangsa (Gaume *et al.*, 2016). Warna Kantong biasanya digunakan sebagai penanda adanya nektar di dalam kantong. Meskipun kaitan antara warna dan produksi nektar pada kantong semar masih belum diketahui, namun dapat disimpulkan bahwa bagian kantong yang tinggi produksi nektarnya, seperti peristome dan tutup kantong, biasanya berwarna terang (Clarke *et al.*, 2002; Bauer *et al.*, 2009). Meskipun demikian, kantong juga diketahui berperan dalam fotosintesis (He dan Zain, 2012). Fotosintesis pada kantong semar bertujuan untuk memperoleh sumber karbon yang lebih banyak untuk pertumbuhan dan perkembangannya meskipun sumber karbon telah diperoleh dari hasil mencerna mangsa di kantong (Ubaidillah *et al.*, 2020). Mekanisme *carnivory* (pemangsa serangga) dan fotosintesis pada tumbuhan karnivora diketahui dapat menyebabkan peningkatan kandungan nitrogen pada daun setelah terjadinya mekanisme *carnivory* (Givnish *et al.*, 1984). Namun penelitian yang dilakukan oleh Adamec (1997) menunjukkan bahwa mekanisme *carnivory* tidak meningkatkan kandungan N pada jaringan. Hal ini diduga terdapat mekanisme kompleks dalam mekanisme *carnivory* dan fotosintesis pada tanaman *Nepenthes*. Sehingga informasi fotosintesis pada lamina dan kantong dari kantong semar sangat diperlukan.

Fotosintesis merupakan proses biokimia pada tumbuhan yang diawali dengan penangkapan cahaya oleh pigmen tumbuhan dan menggunakan

energinya untuk menyintesis karbohidrat dari CO<sub>2</sub> dan H<sub>2</sub>O (Singh *et al.*, 2020). Secara umum, peranan pigmen dalam tumbuhan sebagai pemberi zat warna memiliki 3 kelas pigmen yakni pigmen klorofil, karoten dan antosianin (Schaefer dan Rolshausen, 2005). Klorofil merupakan pigmen warna hijau (Croft dan Chen, 2018), karoten merupakan pigmen warna kuning, oranye dan merah (Hashimoto *et al.*, 2016), sedangkan antosianin merupakan pigmen warna merah, biru, dan ungu (Khoo *et al.*, 2017). Dari seluruh pigmen tersebut, klorofil merupakan pigmen utama dalam proses fotosintesis tumbuhan. Terdapat 5 tipe klorofil pada tumbuhan yakni klorofil a, b, c, d dan f, namun yang berperan dalam fotosintesis hanya klorofil a dan klorofil b (Croft dan Chen, 2018). Selain klorofil, karotenoid juga membantu menangkap energi dari cahaya matahari. Karotenoid juga berperan melindungi klorofil dari cahaya yang berlebih (Maoka, 2020). Informasi mengenai kandungan pigmen klorofil dan karotenoid dapat menggambarkan bagaimana respon tumbuhan terhadap kondisi di habitatnya (Zielewicz *et al.*, 2020).

Penelitian yang mempelajari mekanisme fotosintesis pada tumbuhan kantong semar masih sangat sedikit (Ubaidillah *et al.*, 2020). Mekanisme fotosintesis dapat dilihat dengan berbagai cara dan salah satunya adalah dengan melihat kandungan pigmen tanaman yang berperan dalam menyerap energi dari cahaya matahari. Pengujian kandungan pigmen tanaman seperti klorofil dan karotenoid dapat dilakukan dengan mengekstraksi pigmen menggunakan pelarut organik seperti dimetilsulfoksida (DMSO), aseton, dan etanol (Sumanta *et al.*, 2014). Kandungan pigmen kemudian diukur dengan menggunakan spektrofotometer sehingga memungkinkan pengukuran kandungan berdasarkan serapan cahaya pada panjang gelombang tertentu. Pada umumnya, pengukuran kandungan pigmen pada tanaman dilakukan dengan menggunakan sampel segar (Lichtenthaler dan Buschmann, 2001; Sun *et al.*, 2021). Hal ini dikarenakan pigmen tumbuhan baik klorofil maupun karotenoid rentan terhadap oksidasi dan mudah terdegradasi (Hsiao *et al.*, 2020; Singh *et al.*, 2020; Ghosh *et al.*, 2022). Pengujian kandungan pigmen pada tanaman kantong semar menjadi tantangan dikarenakan habitat asli kantong semar adalah hutan dan terletak jauh dari laboratorium uji. Sehingga sampel rentan mengalami kerusakan pada saat koleksi sampel. Pengukuran kandungan pigmen tanaman dapat dilakukan menggunakan klorofil meter seperti SPAD (*Soil Plant Analysis Development*). Namun, penggunaan alat ini hanya dapat mengetahui kandungan total klorofil. Oleh karena itu, penggunaan sampel kering diharapkan dapat

menjadi alternatif untuk mengukur kandungan pigmen pada kantong semar.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan pigmen tanaman pada lamina dan kantong *N. gracilis* menggunakan sampel kering dan segar. Penelitian juga bertujuan untuk mengetahui jenis pelarut yang dapat digunakan untuk pengujian kandungan klorofil pada kantong semar. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan pemahaman yang lebih baik mengenai kandungan klorofil pada lamina dan kantong semar *Nepenthes gracilis*. Informasi tersebut dapat berguna untuk memahami kapasitas fotosintesis dan adaptasi tumbuhan ini terhadap lingkungan sekitarnya. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan pemahaman yang lebih baik mengenai kandungan klorofil pada lamina dan kantong semar *Nepenthes gracilis*. Informasi tersebut dapat berguna untuk memahami kapasitas fotosintesis dan adaptasi tumbuhan ini terhadap lingkungan sekitarnya.

#### **BAHAN DAN CARA KERJA**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari hingga Agustus 2022 di laboratorium Genomik, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) yang berlokasi di Kecamatan Cibinong, Kabupaten Bogor. Desain percobaan dilakukan dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) menggunakan tiga faktor, yakni jenis sampel (lamina dan kantong *N. gracilis*), kondisi sampel (segar dan kering) dan pelarut untuk ekstraksi (DMSO, aseton 80 % dan etanol 96 %). Percobaan dilakukan dengan menggunakan tiga ulangan yang berasal dari tanaman yang berbeda.

#### **Preparasi Sampel Lamina dan Kantong *Nepenthes gracilis***

Tanaman kantong semar yang digunakan dalam pengujian diperoleh dari kolektor tanaman dan dipilih tanaman yang memiliki 7–8 lamina. Pemilihan tanaman dilakukan berdasarkan jumlah lamina dikarenakan umur tanaman tidak diketahui. Pada perlakuan sampel kering, sebanyak 100 mg lamina dan kantong dimasukkan ke dalam kertas buram dan diberikan label. Kertas yang berisikan

sampel daun, dimasukkan ke dalam toples berisi 250 gram silika gel selama 1 hari pada suhu ruang. Daun kering ditandai dengan mengecilnya ukuran daun dan tidak basah saat dipegang menggunakan kertas atau tissue. Selanjutnya daun dimasukkan ke dalam tube 2 ml. Sedangkan untuk sampel yang segar, lamina dan kantong masing-masing sebanyak 100 mg diambil langsung dari kantong semar dan dimasukkan ke dalam tube 2 ml. Sampel segar langsung dihaluskan dan ditambahkan pelarut sesuai dengan perlakuan. Penggerusan daun segar dan kering dilakukan menggunakan mini pastle dan dibantu dengan nitrogen cair. Penggunaan nitrogen cair bertujuan untuk menjaga kondisi sampel agar tidak teroksidasi dan rusak, serta membantu pada saat menghaluskan sampel.

#### **Ekstraksi sampel**

Analisis kandungan klorofil dilakukan dengan mengacu pada metode Sumanta *et al.* (2014) dengan modifikasi. Setiap sampel ditambahkan 2 ml pelarut sesuai dengan perlakuan yakni aseton 80 %, etanol 95 % dan DMSO. Larutan tersebut diinkubasi selama satu malam pada suhu kamar. Setelah inkubasi, sampel disentrifugasi pada 10.000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C. Selanjutnya, sebanyak 0,5 ml supernatan dari setiap sampel ditambahkan 4,5 ml pelarut sesuai dengan perlakuan. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-1800 (Shimadzu, Jepang) dengan panjang gelombang sesuai dengan jenis pelarut yang digunakan (Tabel 1) yakni 663.2 nm, 646.8 nm dan 470 nm untuk sampel dengan pelarut aseton. Sampel dengan pelarut etanol diukur pada panjang gelombang 664 nm, 649 nm dan 470 nm. Sedangkan sampel dengan pelarut DMSO diukur pada panjang gelombang 665.1 nm 649.1 nm dan 480 nm. Kandungan klorofil a, b, dan karotenoid ditentukan dengan mengikuti persamaan yang digunakan oleh Sumantra *et al.* (2014) (Tabel 1). Total klorofil dihitung dengan rumus sebagai berikut :

Total chlorophyll = Chlorophyll a + Chlorophyll b (Arnon, 1949; Lichtenthaler, 1987; Rahimi *et al.*, 2017).

**Tabel 1.** Persamaan untuk menentukan konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ ) klorofil a (Ch-a), klorofil b (Ch-b) dan karotenoid (C x+c) dengan berbagai jenis pelarut dalam spektrofotometer menurut Sumanta *et al.* (2014) (Equation for determining the concentration ( $\mu\text{g/ml}$ ) of chlorophyll a (Ch-a), chlorophyll b (Ch-b) and carotenoids (C x+c) with various types of solvents in a spectrophotometer according to Sumanta *et al.* (2014)).

No. (No)	Pelarut (Solvent)	Persamaan/Rumus (Equation)
1.	Aceton 80 %	Ch - a = $12.25 A_{663.2} - 2.79 A_{646.8}$ Ch - b = $21.5 A_{646.8} - 5.1 A_{663.2}$ C x + c = $(1000 A_{470} - 1.82 Ca - 85.02 Cb)/198$
2.	Etanol 95 %	Ch - a = $13.36 A_{664} - 5.19 A_{649}$ Ch - b = $27.43 A_{649} - 8.12 A_{664}$ C x + c = $(1000 A_{470} - 2.13 Ca - 97.63 Cb)/209$
3.	Dimetil-sulfoksida (DMSO)	Ch - a = $12.47 A_{665.1} - 3.62 A_{649.1}$ Ch - b = $25.06 A_{649.1} - 6.5 A_{665.1}$ C x + c = $(1000 A_{480} - 1.29 Ca - 53.78 Cb)/220$

Keterangan: A = Absorbansi pada panjang gelombang

### Interpretasi statistik

Data dianalisis dengan menggunakan uji ANOVA dan jika beda nyata dilanjutkan dengan uji Duncan pada taraf signifikansi 95 %. Analisis statistik dilakukan dengan menggunakan program R- package doebioresearch v. 0.1.0.

### HASIL

*Nepenthes gracilis* merupakan salah satu spesies tanaman kantong semar dari genus *Nepenthes*. Tanaman ini memiliki dua struktur utama yakni lamina dan kantong. Lamina mengacu pada helaian daun atau bagian daun yang rata dan melebar, sedangkan kantong adalah struktur daun yang dimodifikasi yang membentuk organ perangkap khusus. Dalam perkembangan tanaman, kantong semar akan membentuk lamina kemudian membentuk sulur. Dari ujung sulur tersebut akan terbentuk kantong (Gambar 1). Berdasarkan hasil

percobaan, hasil analisis varian menunjukkan bahwa tidak ada interaksi yang signifikan antara ketiga faktor yakni jenis sampel, kondisi pelarut, dan jenis pelarut terhadap semua parameter pengamatan (tabel 2). Jenis sampel berpengaruh secara signifikan pada  $p < 0,001$  terhadap pigmen yang diamati (klorofil a, klorofil b, total karotenoid dan total klorofil). Sedangkan kondisi sampel hanya berpengaruh signifikan ( $p < 0,05$ ) terhadap kandungan klorofil b. Hasil uji lanjut pada faktor jenis sampel dengan menggunakan uji Duncan menunjukkan terdapat pengaruh yang signifikan pada kandungan pigmen yang terdapat di lamina dan kantong (tabel 3). Kandungan klorofil a, klorofil b, total klorofil dan karotenoid pada lamina secara signifikan lebih tinggi dibandingkan dengan bagian kantong masing-masing sebesar 57,39 %, 51,03 %, 51,53 % dan 55,64 %.



**Gambar 1.** Penampakan lamina dan kantong *Nepenthes gracilis*. (Appearance of lamina and pitcher of *Nepenthes gracilis*).

Berdasarkan uji Duncan pada perlakuan kondisi sampel terdapat beda nyata pada kandungan klorofil b pada yang diuji pada kondisi segar dibandingkan kondisi sampel kering (Tabel 4). Sedangkan kandungan klorofil a, total klorofil dan karotenoid tidak berbeda pada sampel segar dan sampel kering. Meskipun demikian, kandungan pigmen tanaman lebih tinggi pada sampel segar dibandingkan sampel kering. Hal ini menunjukkan apabila perlakuan pengeringan menggunakan silica gel selama 1 hari dapat menyebabkan penurunan

kandungan pigmen pada tanaman. Penggunaan pelarut organik seperti aseton, etanol dan DMSO tidak berpengaruh signifikan terhadap kandungan pigmen tanaman. Hal ini menunjukkan bahwa semua pelarut organik dapat digunakan dalam pengujian kandungan pigmen *Nepenthes gracilis*. Namun, meskipun tidak berbeda secara significant, diketahui bahwa penggunaan DMSO menghasilkan kandungan pigmen yang lebih tinggi dibandingkan jika menggunakan pelarut lainnya (Tabel 5).

**Tabel 2.** Hasil analisis varians klorofil a, klorofil b, karotenoid dan total klorofil *Nepenthes gracilis*. (Results of analysis of variance of chlorophyll a, chlorophyll b, carotenoids and total chlorophyll of *Nepenthes gracilis*).

Perlakuan (Treatment)	Klorofil a (Chlorophyll a)		Klorofil b (Chlorophyll b)		Karotenoid (Carotenoid)		Total Klorofil (Total Chlorophyll)	
	Nilai F (F value)	Pr(> F) (Pr(> F))	Nilai F (F value)	Pr(> F) (Pr(> F))	Nilai F (F value)	Pr(> F) (Pr(> F))	Nilai F (F value)	Pr(> F) (Pr(> F))
Jenis Sampel (A)	41,449	1,172e-06 ***	29,9469	1,263e-05 ***	32,7541	6,756e-06 ***	38,8057	1,944e-06 ***
Kondisi sampel (B)	1,821	0,190 <sup>tn</sup>	5,5206	0,02736 *	2,7732	0,10885 <sup>tn</sup>	2,7309	0,1115 <sup>tn</sup>
Pelarut (C)	0,561	0,578 <sup>tn</sup>	0,6891	0,5117 <sup>tn</sup>	1,3722	0,27274 <sup>tn</sup>	0,6009	0,5564 <sup>tn</sup>
A x B	3,174	0,087 <sup>tn</sup>	2,9035	0,10131 <sup>tn</sup>	4,0711	0,05494 <sup>tn</sup>	3,163	0,088 <sup>tn</sup>
A x C	0,763	0,477 <sup>tn</sup>	0,3817	0,68678 <sup>tn</sup>	0,442	0,64789 <sup>tn</sup>	0,6532	0,5294 <sup>tn</sup>
B x C	2,459	0,107 <sup>tn</sup>	0,105	0,90072 <sup>tn</sup>	1,5343	0,23602 <sup>tn</sup>	1,4768	0,2484 <sup>tn</sup>
A x B x C	0,560	0,579 <sup>tn</sup>	0,6308	0,54077 <sup>tn</sup>	0,1953	0,82388 <sup>tn</sup>	0,5774	0,569 <sup>tn</sup>
Coefficient of Variation (CV)		37,52%		37,55%		36,45%		37,12%
Saphiro-wilk p-value		0,1333		0,09813		0,5268		0,1917

Keterangan:

\* Signifikan dengan p < 0.05

\*\* Signifikan dengan p < 0.01

\*\*\* signifikan dengan p < 0.001

<sup>tn</sup> tidak nyata

Menurut uji normalitas Shapiro-Wilk pada signifikansi 5 %, residual dapat dianggap normal.

**Tabel 3.** Kandungan klorofil a, klorofil b, klorofil total dan karotenoid lamina dan kantong tumbuhan *Nepenthes gracilis* (µg/ml) (*Chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll and carotenoids content of Nepenthes gracilis lamina and pitcher (µg/ml)*).

No. (No)	Jenis Sampel (Sample type)	Klorofil a (Chlorophyll a)	Klorofil b (Chlorophyll b)	Karotenoid (Carotenoid)	Total Klorofil (Total Chlorophyll)
1.	Lamina	3,434 ± 1,154 <sup>a</sup>	1,311 ± 0,464 <sup>a</sup>	0,918 ± 0,320 <sup>a</sup>	4,745 ± 1,591 <sup>a</sup>
2.	Kantong	1,63 ± 0,734 <sup>b</sup>	0,642 ± 0,264 <sup>b</sup>	0,445 ± 0,187 <sup>b</sup>	2,105 ± 0,970 <sup>b</sup>

Keterangan: a-b superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berpengaruh signifikan (P < 0.001) berdasarkan uji Duncan. Rerata ± SD

**Tabel 4.** Pengaruh kondisi sampel terhadap kandungan pigmen *Nepenthes gracilis* ( $\mu\text{g/ml}$ ). (*Effect of sample condition on Nepenthes gracilis pigment content ( $\mu\text{g/ml}$ )*).

No. (No)	Kondisi Sampel (Sample condition)	Klorofil a (Chlorophyll a)	Klorofil b (Chlorophyll b)	Karotenoid (Carotenoid)	Total Klorofil (Total Chlorophyll)
1.	Sampel Segar	2,655 $\pm$ 1,513 <sup>a</sup>	1,120 $\pm$ 0,550 <sup>a</sup>	0,750 $\pm$ 0,378 <sup>a</sup>	3,775 $\pm$ 2,048 <sup>a</sup>
2.	Sampel Kering	2,242 $\pm$ 1,242 <sup>a</sup>	0,833 $\pm$ 0,419 <sup>b</sup>	0,613 $\pm$ 0,311 <sup>a</sup>	3,074 $\pm$ 1,646 <sup>a</sup>

Keterangan: a-b superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berpengaruh signifikan ( $P < 0.001$ ) berdasarkan uji Duncan. Rerata  $\pm$  SD

**Tabel 5.** Kandungan klorofil a, klorofil b, klorofil total, dan karotenoid tumbuhan *Nepenthes gracilis* yang diekstraksi dengan pelarut DMSO, aseton dan etanol ( $\mu\text{g/ml}$ ). (*Chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll and carotenoids content of Nepenthes gracilis plants extracted with DMSO, acetone, and ethanol solvents ( $\mu\text{g/ml}$ )*)

No. (No)	Jenis Solvent (Solvent type)	Klorofil a (Chlorophyll a)	Klorofil b (Chlorophyll b)	Karotenoid (Carotenoid)	Total Klorofil (Total Chlorophyll)
1.	DMSO	2.658 $\pm$ 1,211	1.077 $\pm$ 0,489	0.764 $\pm$ 0,332	3.735 $\pm$ 1,645
2.	Aseton 80 %	2.424 $\pm$ 1,704	0.940 $\pm$ 0,596	0.684 $\pm$ 0,432	3.364 $\pm$ 2,297
3.	Etanol 95 %	2.263 $\pm$ 1,270	0.913 $\pm$ 0,0442	0.596 $\pm$ 0,289	3.176 $\pm$ 1,796

Keterangan: a-b superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berpengaruh signifikan ( $P < 0.001$ ) berdasarkan uji Duncan. Rerata  $\pm$  SD

## PEMBAHASAN

*N. Gracilis* Memiliki daun yang tidak bertangkai, melekat erat pada batang dengan ujung atas dan pangkal runcing, lanset, mengkilap pada permukaan daun dan tepi daun rata (Gambar 1). Pada permukaan daun dan tulang daun, umumnya berwarna kuning kehijauan (Armanda *et al.*, 2020). *N. gracilis* memiliki kantong berbentuk kendi silinder dengan pinggang dan peristom menyempit kemudian sedikit membesar di sepertiga bagian bawah (Rizqiani *et al.*, 2018). Kantong atas berwarna hijau muda dan polos, kantong bawah berwarna hijau kekuningan dengan bintik-bintik merah yang cukup banyak (Nainggolan *et al.*, 2020). *N. gracilis* merupakan tumbuhan berklorofil dan mampu memfiksasi  $\text{CO}_2$  melalui proses fotosintesis. Meskipun sumber karbon telah diperoleh dari hasil mekanisme carnivory, organisme ini tetap melakukan fotosintesis. Fotosintesis merupakan mekanisme yang kompleks pada tumbuhan dimana terjadi perubahan energi cahaya menjadi energi kimia. Mekanisme tersebut melibatkan penyerapan cahaya oleh pigmen tanaman, pembentukan ATP dan NADPH melalui reaksi yang bergantung pada cahaya, fiksasi karbon dioksida dan produksi senyawa organik lainnya melalui siklus calvin. Fotosintesis menjadi reaksi yang paling penting dikarenakan senyawa organik yang dihasilkan dapat dimanfaatkan oleh tumbuhan untuk tumbuh dan berkembang. Reaksi fotosintesis diawali dengan penangkapan cahaya oleh molekul pigmen yang terletak di membran tilakoid

(Johnson, 2016).

Klorofil dan karotenoid merupakan pigmen yang paling berperan dalam fotosintesis. Klorofil merupakan pigmen tumbuhan yang berperan dalam warna hijau pada tumbuhan (Aramrueang *et al.*, 2019). Pigmen ini memiliki struktur tetrapirrol siklik yang membawa cincin beranggota lima isosiklik yang khas dan memiliki gugus fungsi berbeda dengan atom magnesium yang berada di tengah (Aramrueang *et al.*, 2019; Antonio dan Viera, 2020). Pengamatan kandungan pigmen tanaman khususnya klorofil hanya dilakukan pada klorofil a dan klorofil b. Hal ini dikarenakan hanya klorofil a dan klorofil b yang terdapat pada tanaman, meskipun terdapat 5 tipe klorofil yang sudah diketahui (Singh *et al.*, 2020). Karotenoid adalah pigmen yang larut dalam lemak dan banyak ditemukan pada buah dan sayuran berwarna kuning, oranye, dan merah (Aramrueang *et al.*, 2019). Karotenoid menyerap cahaya hanya pada warna biru dan tampak kuning atau merah (Johnson, 2016). Tumbuhan mengandung sejumlah jenis karotenoid yang berbeda, yang termasuk ke dalam subkelompok yakni karoten atau xanthophylls (Croft dan Chen, 2018).

Berdasarkan hasil pengamatan diketahui bahwa kandungan klorofil a pada semua sampel dan perlakuan lebih tinggi dibandingkan dengan Klorofil b dan karotenoid. Hal ini dikarenakan klorofil a merupakan bentuk klorofil yang paling melimpah dan terdapat baik di pusat reaksi maupun di kompleks pemanenan cahaya (Croce dan van

Amerongen, 2014). Klorofil b pada tumbuhan berfungsi sebagai pigmen aksesori pemanen cahaya, namun tidak dapat bertindak sebagai donor utama dalam pusat reaksi (Croft dan Chen, 2018). Karotenoid juga merupakan pigmen aksesori dalam kompleks fotosistem pemanen cahaya sama seperti halnya klorofil b. Energi cahaya yang diterima oleh karotenoid ditransfer ke klorofil a sehingga meningkatkan efisiensi fotosintesis (Ghosh *et al.*, 2017). Komposisi dan kandungan pigmen tanaman khususnya klorofil pada tanaman dapat berbeda-beda tergantung dari berbagai faktor, antara lain intensitas cahaya, ketersediaan unsur hara, dan kondisi lingkungan (Li *et al.*, 2018). Intensitas cahaya yang tinggi dapat menyebabkan peningkatan kandungan klorofil, karena tanaman memproduksi lebih banyak klorofil untuk menangkap dan memanfaatkan kelebihan energi cahaya (Y. Li *et al.*, 2018). Kekurangan unsur hara, khususnya nitrogen, fosfor, dan magnesium, dapat mengakibatkan penurunan kandungan klorofil sehingga menyebabkan klorosis atau daun menguning (Y. Li *et al.*, 2018).

Daun kantong semar terbagi menjadi dua bagian yang berbeda yakni lamina dan kantong, dimana kantong merupakan modifikasi dari daun (Baby *et al.*, 2017). Menurut Lam *et al.*, (2018), lamina berperan dalam fotosintesis sedangkan kantong atau kendi berperan dalam menangkap mangsa. Meskipun berperan sebagai penangkap mangsa, kantong juga diketahui melakukan fotosintesis (He dan Zain, 2012; Pavlović *et al.*, 2011). Hasil pengamatan menunjukkan bahwa pada lamina *N. gracilis* memiliki kandungan pigmen tanaman baik pada klorofil a, klorofil b, karotenoid, dan total klorofil dimana lebih tinggi dibandingkan dengan kantong. Hal ini tidak jauh berbeda seperti pada tanaman *Nepenthes* lainnya seperti *N. ampullaria*, *N. mirabilis*, *N. alata*, *N. talangensis* dimana kandungan total klorofil dan karotenoid lebih tinggi pada lamina dibandingkan pada kantong (Pavlović *et al.*, 2009; Pavlović *et al.*, 2011; He dan Zain, 2012; Ritchie *et al.*, 2022). Kandungan klorofil yang rendah pada kantong menyebabkan aktivitas fotosintesis juga rendah (Baby *et al.*, 2017; Ritchie *et al.*, 2022). Hal ini mungkin terjadi pada tanaman *Nepenthes* dimana aktivitas fotosintesis pada kantong rendah dikarenakan kantong lebih banyak melakukan mekanisme karnivori. Selain itu, modifikasi daun menjadi kantong mengakibatkan defisiensi fotosintesis dikarenakan kantong kurang efisien dalam menangkap cahaya dikarenakan adanya karakteristik saturasi cahaya yang berbeda dibandingkan dengan lamina (Thorogood dan Bauer, 2020; Ritchie *et al.*, 2022). Laju fotosintesis pada kantong *Nepenthes* yang rendah juga dapat disebabkan oleh berbagai faktor seperti penggantian

sel yang mengandung klorofil dengan kelenjar pencernaan, kandungan nitrogen yang rendah, dan kerapatan stomata yang rendah dibandingkan pada lamina (Baby *et al.*, 2017).

Salah satu penyebab degradasi klorofil a dan b adalah munculnya reaksi stress oksidatif (Kasajima, 2017). ROS (*Reactive Oxygen Species*) merupakan salah satu bentuk respon tumbuhan akibat stress oksidatif yang salah satunya dapat disebabkan oleh adanya cekaman kekeringan. Penurunan kandungan pigmen tanaman pada sampel kering diduga berkaitan dengan berkurangnya kandungan air pada daun. Penurunan kadar air pada daun menyebabkan penurunan laju fotosintesis dan penurunan volume stroma akibat penyesuaian tekanan osmotik (Gupta dan Berkowitz, 1988; Pirezad *et al.*, 2011). Cekaman kekeringan akan menyebabkan terjadinya penurunan kandungan air secara bertahap sehingga berdampak terhadap penurunan proses fotosintesis dan meningkatnya akumulasi ROS (Hamim *et al.*, 2017). Kandungan klorofil b pada sampel yang disimpan pada kondisi kering dan kondisi segar signifikan berbeda. Sedangkan klorofil a dan katenoid tidak signifikan berbeda. Hal ini diduga klorofil b lebih mudah rusak dibandingkan dengan pigmen tanaman yang lain. Penelitian yang dilakukan oleh (Li *et al.*, 2023) menunjukkan bahwa Antena klorofil b lebih mudah rusak dibandingkan antena klorofil a pada perlakuan NaClO. Sehingga diduga perlakuan pengeringan daun dengan silica gel merusak menyebabkan antena klorofil b menjadi mudah lebih rusak. Namun hal ini masih perlu dilakukan kajian yang lebih mendalam.

Pengukuran kandungan klorofil biasanya dilakukan dengan menggunakan tiga teknik yakni spektrofotometer, fluorometry, dan *high performance liquid chromatography* (HPLC) (He dan Zain, 2012; Singh *et al.*, 2020). Namun spektrofotometer merupakan pengujian yang paling sering digunakan. Menurut Lichtenthaler dan Buschmann, (2001), metode pengujian ini sangat bergantung pada jenis sampel, jenis solvent dan spektrofotometer yang digunakan. Pada pengujian menggunakan spektrofotometer, pelarut memegang peranan penting dalam proses ekstraksi klorofil (Sun *et al.*, 2021). Terdapat beberapa pelarut organik yang umumnya digunakan dalam ekstraksi pigmen pada sampel daun, yaitu aseton, metanol, etanol, kloroform, dietil eter, dimetilformamida (DMF) dan dimetilsulfoksida (DMSO) karena kelarutannya yang lebih rendah dalam air dan mudah larut dalam pelarut organik. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa pelarut organik seperti DMSO, aseton dan etanol dapat digunakan sebagai pelarut ekstraksi dalam uji klorofil dan karotenoid pada *N. Gracilis* dengan hasil yang relatif sama. Meskipun tidak berbeda secara

signifikan, hasil dari pemberian DMSO untuk pengujian kandungan pigmen sedikit tinggi dibandingkan dengan pelarut lainnya. Menurut Ritchie *et al.* (2021), DMSO merupakan pelarut yang efektif untuk pengujian kandungan klorofil. DMSO juga memiliki keunggulan yakni volatilitas rendah, toksisitas rendah, mudah terbakar rendah, biodegradabilitas dan kemudahan transportasi (Ritchie *et al.*, 2021). Pelarut organik selanjutnya adalah aseton yang merupakan pelarut yang paling sering digunakan dalam pengujian klorofil pada kantong semar (Pavlovič *et al.*, 2009; Pavlovič *et al.*, 2011). Sedangkan etanol juga umum digunakan dalam pengujian kandungan pigmen tumbuhan lainnya (Ritchie, 2006; Sun *et al.*, 2021).

Pemahaman mengenai mekanisme fotosintesis dan faktor-faktor yang mempengaruhinya akan membantu dalam memahami peran tumbuhan di ekosistem. Mekanisme fotosintesis dapat diamati dengan berbagai cara dan salah satunya adalah dengan melihat kandungan pigmen tanaman. Menurut (Y. Li *et al.*, 2018), salah satu yang mempengaruhi kandungan pigmen adalah ketersediaan unsur hara. Pada kantong semar, salah satu penyedia unsur hara yang diperlukan adalah kantong. Mekanisme carnivory pada kantong diketahui dapat mempengaruhi konsentrasi klorofil pada daun. Hal ini dapat dilihat dari meningkatnya kandungan klorofil pada lamina *N. talangensis* dan *Nepenthes × ventrata*, yang diberi pakan berupa serangga (Pavlovič *et al.*, 2011; Capó-Bauçà *et al.*, 2020). Pemberian serangga pada kantong menyebabkan peningkatan kandungan N yang kemudian digunakan untuk sintesis klorofil dan protein pengikatnya (Capó-Bauçà *et al.*, 2020).

## KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa kandungan klorofil dan karotenoid pada lamina lebih tinggi dibandingkan dengan kantong. Selain itu, sampel segar memiliki kandungan pigmen yang lebih tinggi dibandingkan sampel kering. Kondisi sampel berpengaruh terhadap kondisi klorofil b namun tidak pada klorofil a, karotenoid dan total klorofil pada *N. gracilis*. Pelarut organik seperti DMSO, aseton dan etanol dapat digunakan sebagai pelarut ekstraksi dalam uji klorofil dan karotenoid pada *N. gracilis* dengan hasil yang relatif sama.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan hasil dari kegiatan Program Merdeka Belajar Kampus Merdeka di Badan Riset dan Inovasi Nasional Tahun 2022. Kami mengucapkan terima kasih kepada Organisasi Riset Hayati dan Lingkungan, BRIN di bawah Rumah Program Konservasi Tumbuhan Terancam Kepunahan, WBS 3 Eksperimental Botani tahun anggaran 2022 atas pendanaan penelitian.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adamec, L., 1997. Mineral Nutrition of Carnivorous Plants: A Review. *Botanical Review*, 63(3), 273–299. <https://doi.org/10.1007/BF02857953>
- Antonio, P and Viera, I., 2020. *Carotenoids and Chlorophylls as Antioxidants*.
- Aramrueang, N., Asavasanti, S and Khanunthong, A. 2019. Leafy Vegetables. In Z. Pan, R. Zhang, and S. Zicari (Eds.), *Integrated Processing Technologies for Food and Agricultural By-Products* (pp. 245–272). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814138-0.00010-1>
- Armanda, A., Anggraeni, A dan Wahyuni, T., 2020. Populasi dan karakterisasi fenotip kantong semar (*Nepenthes* spp.) di Taman Keanekaragaman Hayati Hutan Pelawan Kabupaten Bangka Tengah, Provinsi Kepulauan Bangka Belitung. *Media Konservasi*, 25(1), 89–97. <https://doi.org/10.29244/medkon.25.1.89-97>
- Arnon, D.I., 1949. Copper Enzymes in Isolated Chloroplasts. Polyphenoloxidase in Beta Vulgaris. *Plant Physiology*, 24(1), 549–557. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409548-9.11130-3>
- Baby, S., Johnson, A.J., Zachariah, E.J and Hussain, A.A., 2017. *Nepenthes* pitchers are CO<sub>2</sub>-enriched cavities, emit CO<sub>2</sub> to attract preys. *Scientific Reports*, 7(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-11414-7>
- Bauer, U., Willmes, C and Federle, W., 2009. Effect of pitcher age on trapping efficiency and natural prey capture in carnivorous *Nepenthes rafflesiana* plants. *Annals of Botany*, 103(8), 1219–1226. <https://doi.org/10.1093/aob/mcp065>
- Capó-Bauçà, S., Font-Carrascosa, M., Ribas-Carbó, M., Pavlovič, A and Galmés, J., 2020. Biochemical and mesophyll diffusional limits to photosynthesis are determined by prey and root nutrient uptake in the carnivorous pitcher plant *Nepenthes × ventrata*. *Annals of Botany*, 126(1), 25–37. <https://doi.org/10.1093/aob/mcaa041>
- Clarke, C., 2001. *Nepenthes of Sumatra and Peninsular Malaysia*. Natural History Publications (Borneo).
- Clarke, C., Cheek, M and Jebb, M., 2002. Flora Malesiana Series I: Seed Plants. Volume 15 Nepenthaceae. In *Kew Bulletin*, 57(1). <https://doi.org/10.2307/4110829>
- Croce, R and van Amerongen, H., 2014. Natural strategies for photosynthetic light harvesting. *Nature Chemical Biology*, 10(7), 492–501. <https://doi.org/10.1038/nchembio.1555>
- Croft, H and Chen, J.M., 2018. Leaf Pigment



- Content. In S. Liang (Ed.), *Comprehensive Remote Sensing*, 3, pp. 117–142. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409548-9.10547-0>
- Gaume, L., Bazile, V., Huguin, M and Bonhomme, V., 2016. Different pitcher shapes and trapping syndromes explain resource partitioning in *Nepenthes* species. *Ecology and Evolution*, 6 (5), 1378–1392. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/ece3.1920>
- Ghosh, S., Bishop, M.M., Roscioli, J.D., LaFountain, A.M., Frank, H.A and Beck, W.F., 2017. Excitation Energy Transfer by Coherent and Incoherent Mechanisms in the Peridinin–Chlorophylla Protein. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, 8(2), 319–546. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcclett.6b02881>
- Ghosh, S., Sarkar, T., Das, A and Chakraborty, R., 2022. Natural colorants from plant pigments and their encapsulation: An emerging window for the food industry. *Lwt*, 153(September 2021). <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112527>
- Ginting, N and Lubis, J.A., 2017. Inventarisasi *Nepenthes* Di Tapanuli Selatan. *BIOLINK (Jurnal Biologi Lingkungan Industri Kesehatan)*, 3(2), 186–196. <https://doi.org/10.31289/biolink.v3i2.1076>
- Givnish, T.J., Burkhardt, E.L., Happel, R.E and Weintraub, J.D., 1984. Carnivory in the bromeliad *Brocchinia reducta*, with a cost/benefit model for the general restriction of carnivorous plants to sunny, moist, nutrient-poor habitats. *American Naturalist*, 124(4), 479–497. <https://doi.org/10.1086/284289>
- Gupta, A. Sen and Berkowitz, G.A., 1988. Chloroplast Osmotic Adjustment and Water Stress Effects on Photosynthesis. *Plant Physiology*, 88(1), 200–206. <https://doi.org/10.1104/pp.88.1.200>
- Hamim, H., Violita, V., Triadiati, T and Miftahudin, D., 2017. Oxidative Stress and Photosynthesis Reduction of Cultivated (*Glycine max* L.) and Wild Soybean (*G. tomentella* L.) Exposed to Drought and Paraquat. *Asian Journal of Plant Sciences*, 16, 65–77. <https://doi.org/10.3923/ajps.2017.65.77>
- Handayani, T., 2018. *Nepenthes Gracilis* Korth: Kantong Semar Kecil Yang Menarik dan Mekanisme Dalam Menjebak Mangsa. *Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya LIPI*, 16(5), 37–46.
- Hashimoto, H., Uragami, C and Cogdell, R.J., 2016. Carotenoids in Nature. In C. Stange (Ed.), *Carotenoids in nature: biosynthesis, regulation and function*. *Subcellular Biochemistry*, 79, pp. 111–139. Springer, Cham. [https://doi.org/doi.org/10.1007/978-3-319-39126-7\\_4](https://doi.org/doi.org/10.1007/978-3-319-39126-7_4)
- He, J. and Zain, A., 2012. Photosynthesis and Nitrogen Metabolism of *Nepenthes alata* in Response to Inorganic. No 3 - and Organic Prey N in the Greenhouse. *ISRN Botany*, 2012, 1–8. <https://doi.org/10.5402/2012/263270>
- Hsiao, C.J., Lin, J.F., Wen, H.Y., Lin, Y.M., Yang, C.H., Huang, K.S and Shaw, J.F., 2020. Enhancement of the stability of chlorophyll using chlorophyll-encapsulated polycaprolactone microparticles based on droplet microfluidics. *Food Chemistry*, 306 (July 2019). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125300>
- Johnson, M.P., 2016. Photosynthesis. *Essays in Biochemistry*, 60, 255–273. <https://doi.org/10.1042/EBC20160016>
- Kasajima, I., 2017. Difference in oxidative stress tolerance between rice cultivars estimated with chlorophyll fluorescence analysis. *BMC Research Notes*, 10, 1–12. <https://doi.org/10.1186/s13104-017-2489-9>
- Khoo, H.E., Azlan, A., Tang, S.T and Lim, S.M., 2017. Anthocyanidins and anthocyanins: Colored pigments as food, pharmaceutical ingredients and the potential health benefits. *Food and Nutrition Research*, 61(1), 0–21. <https://doi.org/10.1080/16546628.2017.1361779>
- Lam, W.N., Lai, H.R., Lee, C.C and Tan, H.T.W., 2018. Evidence for pitcher trait-mediated coexistence between sympatric *Nepenthes* pitcher plant species across geographical scales. *Plant Ecology and Diversity*, 11(3), 283–294. <https://doi.org/10.1080/17550874.2018.1517831>
- Li, N., Chen, S., Yang, J., Song, J and Song, Y., 2023. Impacts of Chlorine on the Change of Chlorophyll Fluorescence Spectrum to *Phaeodactylum tricornutum*. *Analytica*, 4(2), 102–112. <https://doi.org/10.3390/analytica4020009>
- Li, Y., He, N., Hou, J., Xu, L., Liu, C., Zhang, J., Wang, Q., Zhang, X and Wu, X., 2018. Factors influencing leaf chlorophyll content in natural forests at the biome scale. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 6(JUN), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fevo.2018.00064>
- Lichtenthaler, H.K., 1987. Chlorophylls and Carotenoids: Pigments of Photosynthetic Biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148, 350–382. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1)
- Lichtenthaler, H.K and Buschmann, C., 2001. Chlorophylls and Carotenoids: Measurement and Characterization by UV-VIS Spectroscopy.

- Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 1(1), F4.3.1-F4.3.8. <https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0403s01>
- Mansur, M., Botani, B., Penelitian, P., Jln, B.L dan Jakarta-Bogor, R., 2013. Tinjauan tentang *Nepenthes* (Nepenthaceae) di Indonesia. *Berita Biologi*, 12(1), 1–7.
- Maoka, T., 2020. Carotenoids as natural functional pigments. *Journal of Natural Medicines*, 74(1), 1–16. <https://doi.org/10.1007/s11418-019-01364-x>
- Nainggolan, L., Gultom, T and Silitonga, M., 2020. Inventory of pitcher plant (*nepenthes* sp.) and its existence in north sumatra indonesia. *Journal of Physics: Conference Series*, 1485 (1). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1485/1/012013>
- Pavlovič, A., Singerová, L., Demko, V and Hudák, J., 2009. Feeding enhances photosynthetic efficiency in the carnivorous pitcher plant *Nepenthes talangensis*. *Annals of Botany*, 104 (2), 307–314. <https://doi.org/10.1093/aob/mcp121>
- Pavlovič, A., Slováková, Ľ and Šantrůček, J., 2011. Nutritional benefit from leaf litter utilization in the pitcher plant *Nepenthes ampullaria*. *Plant, Cell and Environment*, 34(11), 1865–1873. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2011.02382.x>
- Pirzad, A., Shakiba, M.R., Zehtab-Salmasi, S., Mohammadi, S.A., Darvishzadeh, R and Samadi, A., 2011. Effect of water stress on leaf relative water content, chlorophyll, proline and soluble carbohydrates in *Matricaria chamomilla* L. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(12), 2483–2488.
- Rahimi, A., Jahanbin, S., Salehi, A and Farajee, H., 2017. Changes in content of chlorophyll, carotenoids, phosphorus and relative water content of medicinal plant of borage (*Borago officinalis* L.) under the influence of mycorrhizal fungi and water stress. *Journal of Biological Sciences*, 17(1), 28–34. <https://doi.org/10.3923/jbs.2017.28.34>
- Ritchie, R.J., 2006. Consistent sets of spectrophotometric chlorophyll equations for acetone, methanol and ethanol solvents. *Photosynthesis Research*, 89(1), 27–41. <https://doi.org/10.1007/s11120-006-9065-9>
- Ritchie, R.J., Air, S.S., Kongkawn, C and Sawattawee, J., 2022. Photosynthetic electron transport in pitcher plants (*Nepenthes mirabilis*). *Photosynthesis Research*, 0123456789. <https://doi.org/10.1007/s11120-022-00987-8>
- Ritchie, R.J., Sma-Air, S and Phongphattarawat, S., 2021. Using DMSO for chlorophyll spectroscopy. *Journal of Applied Phycology*, 33 (4), 2047–2055. <https://doi.org/10.1007/s10811-021-02438-8>
- Rizqiani, S., Ariyanti, N.S and Sulistijorini., 2018. Diversity of Lowland *Nepenthes* (Pitcher Plants) in Bangka Belitung Islands. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 197(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/197/1/012021>
- Schaefer, H.M and Rolshausen, G., 2005. Plants on red alert : do insects pay attention ? *BioEssays*, 28, 65–71. <https://doi.org/10.1002/bies.20340>
- Singh, A.K., Rana, H.K and Pandey, A.K., 2020. Analysis of chlorophylls. In *Recent Advances in Natural Products Analysis*. pp. 635–650. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816455-6.00019-6>
- Sumanta, N., Haque, C.I., Nishika, J and Suprakash, R., 2014. Spectrophotometric Analysis of Chlorophylls and Carotenoids from Commonly Grown Fern Species by Using Various Extracting Solvents. *Research Journal of Chemical Sciences Res. J. Chem. Sci*, 4(9), 2231–2606.
- Sun, H., Liu, S., Chen, K and Li, G., 2021. Spectrophotometric determination of chlorophylls in different solvents related to the leaf traits of the main tree species in Northeast China. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 836(1), 1–10. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/836/1/012008>
- Thorogood, C and Bauer, U., 2020. Shedding light on photosynthesis in carnivorous plants. A commentary on: 'Nepenthesventrata photosynthesis under different nutrient applications. *Annals of Botany*, 126(1), iv–v. <https://doi.org/10.1093/aob/mcaa092>
- Ubaidillah, S., Mukarrahan, L., Perwitasari, D.A.G., Rohimah, S., Wardani, F.E dan Su'udi, M., 2020. Keseimbangan mekanisme fotosintesis dan carnivory pada tumbuhan kantong semar: suatu kajian pustaka. *Jurnal Biologi Udayana*, 24(2), 63–71. <https://doi.org/10.24843/jbiounud.2020.v24.i02.p02>
- Zielewicz, W., Wróbel, B and Niedbała, G., 2020. Quantification of chlorophyll and carotene pigments content in mountain melick (*Melica nutans* L.) in relation to edaphic variables. *Forests*, 11(11), 1–16. <https://doi.org/10.3390/f11111197>