

## PERBANYAKAN BENIH RUMPUT LAUT *Gracilaria verrucosa* MELALUI TEKNIK KULTUR JARINGAN

Rifka Pasande dan Nurjanna

Balai Riset Perikanan Budidaya Air Payau, Maros

### ABSTRAK

Rumput laut jenis *Gracilaria verrucosa* telah dibudidayakan di Indonesia secara luas di tambak. Permasalahan yang dihadapi adalah sulitnya mendapatkan benih yang berkualitas akibat penggunaan benih yang berulang-ulang. Untuk itu, telah dilakukan penelitian mengenai perbanyak benih *G. verrucosa* melalui teknik kultur jaringan. Teknik kultur jaringan yang dilakukan menggunakan metode cair yaitu penggunaan media air laut yang diperkaya dengan pupuk PES ditambah campuran vitamin serta media kontrol (air laut steril salinitas 25 ppt). Hasil penelitian perbanyak benih menunjukkan bahwa media kultur dengan menggunakan PES memberikan hasil berupa jumlah dan panjang tunas yang lebih baik dibandingkan kontrol. Di mana, setelah 8 minggu pemeliharaan, diperoleh jumlah tunas 7,03 dan panjang tunas 2,42 mm.

**KATA KUNCI:** *Gracilaria verrucosa*, perbanyak benih, kultur jaringan

### PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara maritim terluas di dunia dengan potensi sumberdaya kelautan dan perikanan yang sangat menjanjikan. Salah satu hasil kekayaan kelautan di Indonesia adalah komunitas rumput laut, yang merupakan salah satu komunitas unggul nasional. Budidaya rumput laut memiliki peranan penting dalam usaha meningkatkan produksi perikanan untuk memenuhi kebutuhan. Hal ini mengingat 555 jenis rumput laut dapat tumbuh di perairan wilayah Indonesia selain sebagai sumber pendapatan nelayan/petani maupun sebagai sumber devisa negara rumput laut juga dapat digunakan sebagai bahan baku industri dan dapat diolah menjadi berbagai makanan siap saji seperti dodol, puding, tangkue, dan manisan (Anonim, 2006).

Beberapa rumput laut yang terdapat di Indonesia dan memiliki nilai ekonomi yang penting adalah rumput laut penghasil agar-agar (*Agarophyte*), yaitu *Gracilaria* (Gambar 1), *Gelidium*, *Gelidiopsis*, dan *Hypnea*, rumput laut penghasil karagenan (*Carragenophyte*) yaitu *Euचेuma spinosum*, *Euचेuma cottonii*, *Euचेuma striatum*, dan rumput laut penghasil algin, yaitu *Sargassum macrocysti*.

Budidaya rumput laut merupakan salah satu jenis budidaya di bidang perikanan yang mempunyai peluang untuk dikembangkan di wilayah perairan Indonesia. Budidaya rumput laut memiliki peranan penting dalam usaha meningkatkan produksi untuk memenuhi kebutuhan pangan dan gizi serta memenuhi kebutuhan pasar dalam dan luar negeri, memperluas kesempatan kerja, meningkatkan pendapatan kesejahteraan nelayan dan petani ikan serta menjaga kelestarian sumberdaya hayati perairan (Anggadiredja, 2008). Namun



Gambar 1. *Gracilaria verrucosa*

permasalahan yang dihadapi adalah rendahnya mutu benih rumput laut akibat benih yang digunakan secara berulang-ulang serta benih yang digunakan masih tergantung dari alam.

Salah satu alternatif yang dapat dilakukan untuk memperoleh bibit rumput laut yang berkesinambungan yang memiliki kualitas baik yaitu dengan melalui perbanyak benih dengan teknik kultur jaringan. Teknik kultur jaringan atau dikenal dengan kultur *in-vitro* yaitu suatu teknik yang dilakukan pada kondisi kultur yang aseptik yang menggunakan media kultur buatan dengan kandungan nutrisi yang lengkap, serta kondisi ruang kultur di mana suhu dan pencahayaan terkontrol (Yusnita, 2003).

Teknik kultur jaringan sampai saat ini belum bisa dilaksanakan oleh petani, dan baru beberapa kalangan saja yang mencoba melaksanakannya, karena kultur jaringan memerlukan keterampilan khusus dan harus dilatarbelakangi dengan ilmu pengetahuan dasar tentang fisiologi, anatomi, biologi, dan kimiawi. Di samping itu, juga memerlukan laboratorium khusus dan memerlukan peralatan yang memadai (Suryati *et al.*, 2005). Untuk itu, perbanyak benih rumput laut perlu dilakukan melalui teknik kultur jaringan dengan penggunaan media dan metode yang tepat sehingga dihasilkan benih yang berkualitas serta berkesinambungan.

## BAHAN DAN METODE

### BAHAN

Bahan yang digunakan adalah rumput laut jenis *Gracilaria verrucosa* yang dikumpulkan dari Kabupaten Luwu, Sulawesi Selatan. Media cair yang digunakan adalah media air laut dengan salinitas 25 ppt yang diperkaya dengan pupuk PES.

### METODE

Teknik kultur jaringan rumput laut dilakukan melalui beberapa tahapan kerja sebagai berikut:

#### Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi dilakukan dengan dua cara yaitu: (1) sterilisasi basah dengan menggunakan autoclaf seperti botol kultur, pinset, selang, dan batu aerasi. Sterilisasi basah juga dilakukan terhadap media air laut yang akan digunakan; (2) sterilisasi kering dilakukan

terhadap alat-alat seperti; erlenmeyer, gelas ukur, dan lain-lain dengan menggunakan oven.

Sterilisasi alat dimulai dengan pencucian menggunakan sabun, kemudian dibilas dengan air mengalir. Setelah itu, dibilas dengan menggunakan HCl 10%. Pembilasan dengan HCl hanya digunakan pada peralatan yang terbuat dari kaca dan plastik. Setelah alat-alat tersebut dibilas dengan HCl, dibilas kembali dengan air tawar sampai bersih dan tidak ada lagi sisa HCl. Pembilasan terakhir menggunakan *aquadest*, lalu dikeringkan. Botol-botol kultur masing-masing ditutup dengan aluminium foil lalu diikat dengan karet gelang, ini dilakukan agar tidak terkontaminasi dengan udara luar.

Botol-botol kultur dan peralatan-peralatan lain, disterilkan dengan autoclaf pada tekanan 1,5 kg/cm<sup>2</sup> selama ± 15 menit pada suhu 121°C. Autoclaf diisi dengan *aquadest* sampai tanda batas, kemudian botol-botol kultur, peralatan atau media yang akan disterilkan dimasukkan ke dalamnya, ditutup rapat, dan autoclaf siap dihidupkan (*power "On"*) sesuai dengan waktu dan tekanan yang diprogramkan. Setelah proses sterilisasi selesai, autoclaf dimatikan dan katup tekanan dibuka perlahan-lahan untuk menurunkan tekanan. Setelah dingin, autoclaf dibuka (Suryati *et al.*, 2005). Setelah itu, botol-botol kultur dan peralatan tersebut dikeluarkan dari *autoclave*, didinginkan kemudian dimasukkan ke dalam tempat penyimpanan barang-barang steril.

Air laut yang digunakan terlebih dahulu diperiksa salinitasnya, untuk jenis *Gracilaria verrucosa* digunakan air laut dengan salinitas 25 ppt melalui pengenceran air laut yang bersalinitas tinggi dengan penambahan *aquadest*. Air laut kemudian disaring dengan saringan membran filter 0,2 mikron, dimasukkan ke dalam erlenmeyer, volume 1 L maupun 5 L. Erlenmeyer ditutup dengan aluminium foil kemudian diikat. Selanjutnya erlenmeyer tersebut dimasukkan ke dalam autoclaf pada suhu dan tekanan yang telah diprogramkan. Setelah itu, diangkat dan dimasukkan ke dalam ruang kultur, didinginkan lalu dituang ke dalam kontainer steril untuk penggunaannya selanjutnya.

#### Penanganan Sampel

Rumput laut yang baru dipanen dari tambak di Kabupaten Luwu, dibawa ke Laboratorium Kultur Jaringan Balai Riset Perikanan Budidaya

Air Payau, Maros untuk selanjutnya dibersihkan. Pembersihan rumput laut dari pasir, lumut, dan epifit lainnya yang menempel dilakukan menggunakan air laut salinitas 25 ppt. Rumput laut yang sudah bersih dipilih talus yang sehat untuk selanjutnya disterilkan dengan larutan betadin 1%, dibilas air laut dan dilanjutkan dengan sterilisasi menggunakan campuran antibiotik 0,1%. Pembilasan terakhir dilakukan menggunakan air laut yang sudah disaring. Talus kemudian dipotong-potong sepanjang 1 cm yang disebut eksplan, dikumpulkan sesuai dengan kebutuhan untuk selanjutnya dilakukan proses sterilisasi sebelum dikultur.

### Sterilisasi Eksplan

Eksplan disterilkan secara kimiawi dengan cara merendam ke dalam larutan betadin 1% sambil digoyang-goyangkan selama 1-3 menit. Eksplan selanjutnya dibilas menggunakan air laut steril salinitas 25 ppt, dilanjutkan dengan sterilisasi menggunakan campuran antibiotik 0,1% dengan metode yang sama. Eksplan siap dikultur.

### Persiapan Media

Media kultur yang digunakan untuk kultur jaringan rumput laut adalah media air laut steril salinitas 25 ppt yang diperkaya dengan pupuk PES dan air laut steril 25 ppt sebagai kontrol. Sebelum membuat media, komposisi harus disiapkan terlebih dahulu, seperti yang terlihat pada Tabel 1.

Pembuatan media dilakukan dengan cara menimbang semua bahan dengan timbangan analitik sesuai dengan komposisi yang sudah ditentukan. Bahan-bahan tersebut dilarutkan

Tabel 1. Komposisi media PES yang digunakan

#### Pembuatan P11 metal

Komponen kimia	Dosis	Satuan
H <sub>2</sub> EDTA (Titrplex II)	250	mg
FeCl <sub>3</sub>	2,5	mg
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	50	mg
MnCl <sub>2</sub>	10	mg
ZnCl <sub>2</sub>	1.250	µg
CoCl <sub>2</sub>	250	µg
Aquadest steril	250	mL

#### Pembuatan Fe (sebagai EDTA 1 : 1 mol)

Komponen kimia	Dosis	Satuan
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> Fe(SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	175,5	mg
EDTA.Na <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	165	mg
Aquadest steril	250	mL

#### Pembuatan Stok PES

Komponen kimia	Dosis	Satuan
NaNO <sub>3</sub>	3,5	g
β-Glycerophosphat	0,5	g
Fe (sebagai EDTA 1:1 mol)	25	mL
P11 Metal	250	mL
Vitamin B12	100	µg
Thiamin (B1)	5	mg
Biotin (B6)	5	µg
Tris	5	g
Aquadest steril	1.000	mL

dengan menggunakan aquades dan siap digunakan.

### Kultur Eksplan

Kultur eksplan menggunakan media air laut yang diperkaya dengan pupuk PES 20 mL/L dan air laut steril 25 ppt sebagai kontrol. Setiap botol kultur diisi media 200 mL dan 50 eksplan. Percobaan dirancang secara acak lengkap dengan sepuluh kali ulangan. Setelah botol diisi eksplan, botol tersebut ditutup dengan plastik, diikat dengan karet gelang agar plastiknya tidak terlepas dan ditempatkan di atas *shaker* dengan kecepatan 70-75 putaran/menit. Rumput laut dikultur pada suhu antara 20°C-25°C dengan intensitas cahaya sekitar 1.500 lux dengan lama penyimpanan 12 jam terang dan 12 jam gelap.

### Penggantian Media

Penggantian media kultur jaringan rumput laut dilakukan seminggu sekali, tapi itu dilakukan jika eksplan rumput laut sudah tumbuh dan tidak ada tanda-tanda akan mati. Akan tetapi eksplan rumput laut yang memiliki ciri-ciri akan mati, dengan tingkat kekeruhan yang terjadi pada media dan pada eksplan tersebut sudah terlihat putih-putih pada ujungnya, maka dilakukan penggantian media.

Kegiatan ini dilakukan dengan cara mengganti wadah kultur jaringan yang baru serta membuang media lama dan menggantinya dengan media baru. Selain itu, juga dilakukan penyeleksian kembali terhadap eksplan yang masih baik atau masih layak dikultur.

Sebelum mengganti media, ruangan disemprot terlebih dahulu dengan alkohol 70% kemudian dikeringkan. Di samping itu, disiapkan media dan alat yang persiapannya sama dengan persediaan pada waktu penanaman eksplan. Kemudian dipilih eksplan yang akan diganti, setelah itu botol kultur yang lama dibuka. Pemindahan dilakukan dengan menggunakan pinset, kemudian ditutup dengan plastik dan diikat dengan karet gelang. Selanjutnya botol-botol diletakkan kembali di atas *shaker* dengan kecepatan seperti sebelumnya. Pengamatan jumlah dan panjang tunas dilakukan setelah 8 minggu pemeliharaan.

## HASIL DAN BAHASAN

### Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi alat dan bahan yang dilakukan melalui 3 cara yaitu; sterilisasi secara mekanisasi, kimiawi, dan pemanasan. Sterilisasi secara mekanisasi yang dilakukan menggunakan disinfektan atau sabun pada alat-alat yang akan digunakan dalam kultur jaringan, bertujuan untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada alat. Sterilisasi secara kimiawi dilakukan dengan menggunakan HCl 10% bertujuan untuk melarutkan kotoran yang tidak bisa dihilangkan jika menggunakan sabun serta membunuh mikroba dan bakteri yang menempel pada dinding kaca sehingga peralatan yang digunakan steril. Sterilisasi dengan menggunakan HCl 10% khusus dilakukan untuk alat-alat yang terbuat dari gelas seperti botol kultur. Sterilisasi basah dilakukan dengan menggunakan *autoclaf* dengan suhu 121°C, selama 15 menit dengan tekanan 1,5 atm bertujuan untuk membunuh bakteri dan mikroba dengan suhu yang tinggi, sedangkan sterilisasi kering menggunakan *oven* pada suhu 100°C selama 30 menit.

Sterilisasi dimaksudkan untuk mensucikan hamakan tempat, alat, media, dan eksplan rumput laut yang akan digunakan karena menentukan keberhasilan dalam kegiatan kultur jaringan rumput laut. Kegiatan ini harus dilakukan secara aseptik untuk menghasilkan

rumpun laut yang cepat tumbuh dan memiliki kualitas dan kuantitas yang bagus.

Sterilisasi air laut dilakukan dengan cara penyaringan dan pemanasan. Penyaringan air laut menggunakan ultraviltrasi, bertujuan agar bakteri dan mikroba tidak lolos pada saat penyaringan, sehingga air laut bersih dari benda-benda padat yang dapat mengganggu pertumbuhan tunas baru eksplan rumput laut yang sedang dikultur, penyaringan air menggunakan ultraviltrasi (membran filter) dengan porositas 0,2-0,4  $\mu\text{m}$  (Amini *et al.*, 1995).

### Penanganan Sampel

Penanganan sampel harus diperhatikan yaitu dengan memperhatikan sterilisasi sampel dan pemilihan talus yang mempunyai harapan untuk hidup. Talus yang sehat memiliki ciri-ciri seperti memiliki warna yang cerah dan pekat dan usahakan bagian ujung dibuang.

### Seleksi Eksplan

Anggadiredja (2006), memaparkan bahwa bibit yang akan ditanam harus berkualitas baik agar rumput laut dapat tumbuh sehat. Oleh karena itu, seleksi eksplan untuk kegiatan kultur jaringan merupakan suatu hal penting karena bibit yang akan dipilih akan dijadikan eksplan dan ditumbuhkan dalam media kultur di laboratorium (Gambar 2).

Pemeliharaan bibit rumput laut merupakan salah satu upaya untuk menghasilkan rumput laut yang berkualitas sesuai dengan induknya, yang diharapkan dapat tumbuh dengan baik, oleh karena itu dipilih harus yang baru, masih



Gambar 2. Eksplan rumput laut yang siap dikultur

muda, memiliki percabangan banyak, rimbun, dan berujung runcing. Hal ini dimaksudkan untuk mendapatkan eksplan yang tumbuh sesuai dengan morfologi dan fisiologi induknya dengan kualitas baik dan sehat. Pemotongan bibit untuk dijadikan eksplan diusahakan pada jaringan yang masih muda dengan ukuran  $\pm 1$  cm yang disesuaikan dengan diameter botol kultur yang digunakan.

### Sterilisasi Eksplan

Sterilisasi eksplan dalam kegiatan kultur jaringan rumput laut bertujuan untuk menghilangkan mikroba/epifit yang menempel pada eksplan rumput laut yang dapat mengganggu pertumbuhan tunas baru pada eksplan rumput laut dan pertumbuhan eksplan pada tahap pemeliharaan selanjutnya. Karena hal ini mempengaruhi pertumbuhan eksplan pada tahap selanjutnya.

Sterilisasi eksplan dilakukan secara kimiawi karena rumput laut mempunyai jaringan lunak (Suryati *et al.*, 2005). Sterilisasi eksplan dilakukan dengan menggunakan larutan betadine 1% secukupnya, dikocok selama 1 menit, kemudian dibilas dengan air laut steril. Setelah itu, dilanjutkan dengan menggunakan campuran antibiotik 0,1%, kemudian dibilas dengan air laut steril sebanyak 3 atau sampai dipastikan bersih. Pembilasan dengan air laut steril setelah pengkocokan dengan desinfektan dan antibiotik dapat mempengaruhi sintasan eksplan karena pembilasan tersebut mampu menghilangkan kontaminasi yang tertinggal pada permukaan eksplan. Selanjutnya setelah dibilas dengan air laut steril, eksplan siap dikultur.

### Pembuatan Media

Salah satu faktor yang menentukan keberhasilan dari teknik kultur adalah media yang digunakan. Media kultur merupakan sumber nutrisi bagi rumput laut dalam proses pertumbuhan tunas baru pada eksplan rumput laut. Dalam hal ini maka media kultur yang digunakan untuk kultur jaringan rumput laut adalah pupuk PES. Menurut Hendaryono & Wijayani (1994), setiap tanaman membutuhkan paling sedikit 16 unsur untuk pertumbuhannya yang normal. Pada perbanyakan tanaman dengan kultur jaringan, unsur-unsur tersebut diberikan melalui media kulturnya. Selanjutnya dikatakan bahwa eksplan akan tumbuh dengan subur apabila segala elemen yang dibutuhkan

cukup tersedia dalam bentuk yang sesuai untuk diserap.

### Kultur Jaringan Rumput Laut *Gracilaria* sp

Pemeliharaan eksplan *Gracilaria* sp. di laboratorium dilakukan selama 8 minggu (Gambar 3), hal ini dimaksudkan untuk menghasilkan bibit rumput laut sudah cukup stabil dalam arti penyerapan nutrisi sudah cukup. Pemeliharaan rumput laut dilakukan untuk mendukung keluarnya tunas-tunas baru yang nantinya menjadi calon tunas bila dipelihara. Media cair yang digunakan pada kultur jaringan rumput laut *Gracilaria* sp. adalah air laut steril yang diperkaya pupuk PES. Selama pemeliharaan eksplan dilakukan pengontrolan setiap hari. Pemeliharaan dilakukan untuk mengamati dan mengetahui proses pertumbuhan dari eksplan yang akan ditanam setelah disterilkan (Santoso & Nursadi, 2001). Suhu ruangan yang ideal untuk pemeliharaan rumput laut yaitu kurang dari 20°C dan intensitas cahaya 1.500 lux dan ditempatkan di atas *shaker* (Suryati *et al.*, 2000). Hal ini bertujuan agar eksplan yang berada dalam botol kultur dapat melakukan proses fotosintesis.

*Shaker* adalah pengocok yang putarannya dapat diatur sesuai kecepatan yang dikehendaki. Kecepatan putaran yang biasa digunakan adalah  $\pm 80$  rpm. Pengocok ini dapat digunakan untuk menumbuhkan talus dari eksplan yang kita tanam. Pengocok yang sering digunakan dalam kultur jaringan rumput laut adalah pengocok yang berputar dengan sumbu vertikal (Suryati *et al.*, 2005).



Gambar 3. Kultur *in-vitro* eksplan rumput laut *Gracilaria* sp.

## Pergantian Media

Pergantian media dilakukan seminggu sekali tetapi pergantian media dapat dilakukan jika terdapat tanda-tanda kematian pada eksplan yaitu ujung eksplan berwarna putih dan air media terlihat keruh. Oleh karena itu, perlu dilakukan pergantian media.

Pergantian media bertujuan untuk menambah kandungan nutrisi yang telah berkurang dan media kultur agar eksplan tidak kehabisan nutrisi dan mati, serta harus dilakukan secara aseptik dengan menggunakan alat-alat steril agar tidak terjadi kontaminasi pada eksplan rumput laut yang ditumbuhkan. Media kultur yang digunakan pada pergantian media yaitu media PES berpengaruh terhadap induksi talus pada rumput laut (Suryati *et al.*, 2008).

## Perhitungan Jumlah dan Panjang Tunas

Jumlah dan panjang tunas rata-rata yang diperoleh pada akhir penelitian yaitu selama 8 (delapan) minggu pemeliharaan diperoleh hasil seperti yang ditunjukkan pada Tabel 2.

Media	Jumlah tunas	Panjang tunas (mm)
PES	7,03	2,42
Kontrol	5,1	1,5

## KESIMPULAN

Keberhasilan perbanyak benih rumput laut *Gracilaria verrucosa* melalui teknik kultur jaringan sangat dipengaruhi oleh proses sterilisasi alat, eksplan, dan media kultur yang digunakan. Media cair yang diperkaya dengan pupuk PES dapat meningkatkan jumlah dan panjang tunas rata-rata sebesar 7,03 dan 2,42 mm sedangkan kontrol 5,10 dan 1,50 mm.

## SARAN

Adapun saran dari penulis adalah:

1. Sebaiknya pencucian alat dilakukan dengan baik agar tidak terjadi kontaminasi pada rumput laut yang dikultur.
2. Sebaiknya menjaga kondisi ruangan dan media kultur agar tetap steril.

## DAFTAR ACUAN

- Amini, S. & Parenrengi, A. 1995. Penelitian kultur jaringan rumput laut *Eucheuma* sp. secara vegetatif. Laporan Hasil Penelitian ARMP Balitkandita. Maros.
- Anggadireja, J.T., Achmad, Z., Heri, P., & Sri, A. 2006. *Rumput Laut*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Anggadireja, J.T. 2008. Harvesting Income Out Of Seaweed. [Http // Gexi.co.id](http://Gexi.co.id) (5 Januari 2009).
- Anonim. 2006. Jaringan Diakses Pada Tanggal 4 Juli 2008.
- Hendrayono, S.D. & Wijayani, A. 1994. Teknik Kultur Jaringan. Kanisius. Yogyakarta.
- Santoso, U. & Nursidi, F. 2001. Kultur Jaringan Tanaman. UMM-PRESS. Malang.
- Suryati, E., Sulaeman, Dalfiah, A., & Pasande, R. 2000. Teknik Kultur Jaringan *Gracilaria* sp. Dalam Rangka Persediaan Benih Pada Budidaya. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian Perikanan*. Jakarta.
- Suryati, E., Sulaeman, Parenrengi, A., & Rosmiati. 2005. Teknik Perbanyak Rumput Laut *Gracilaria verrucosa* Melalui Teknik Kultur Jaringan. Balai Riset Perikanan Budidaya Air Payau (BRPBAP) Maros, Sulawesi Selatan.
- Suryati, E. & Redjeki, S. 2008. Pengaruh Pemberian Hormon Tumbuhan pada Pembentukan dan Perkembangan Embrio Rumput Laut *K. alvarezii* secara In Vitro. *Makalah Pada Seminar Nasional Hasil Riset Kelautan dan Perikanan*. Malang.
- Yusnita. 2003. Kultur Jaringan: Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien. Agromedia Pustaka. Jakarta.