

**ANALISIS RENDEMEN KARAGENAN DAN PROFIL DNA RUMPUT LAUT
(*KAPPAPHYCUS ALVAREZII*) HIJAU DAN COKLAT HASIL BUDIDAYA DI PANTAI
AMAL TARAKAN**

**CARRAGEENAN ANALYSIS AND SEAWEED DNA PROFILE (*KAPPAPHYCUS
ALVAREZII*) CULTIVATION OF GREEN AND BROWN VARIETIES IN
AMAL BEACH TARAKAN**

Gloria Ika Satriani, Dian Permatasari Soekarno Putri, Jimmy Cahyadi ¹⁾

¹⁾Jurusan Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Borneo Tarakan

email: gloria.ubt@gmail.com

ABSTRAK

Budidaya rumput laut di Kota Tarakan merupakan salah satu sektor penting *non* migas yang mampu menunjang perekonomian masyarakat pesisir, khususnya masyarakat Pantai Amal karena memenuhi *triple track* kriteria usaha yakni *pro job*, *pro poor*, dan *pro growth*. Selain itu, peluang usaha budidaya rumput laut *Kappaphycus* sp. dalam memenuhi jumlah permintaan pasar dunia untuk industri pengolahan berbahan baku rumput laut (karaginan) masih sangat tinggi. Karaginan adalah komponen utama hasil ekstraksi algae merah (Rhodophyceae) yang terdiri dari campuran kompleks beberapa polisakarida namun dengan jumlah yang berbeda-beda untuk setiap spesies. Beragamnya varietas budidaya rumput laut yang ada di Perairan Pantai Amal saat ini belum didukung oleh kajian identifikasi spesies melalui pendekatan kadar rendemen karagenan yang dihasilkan dan profil DNA terhadap *Kappaphycus alvarezii* varietas hijau dan coklat. Sehingga, perlu dilakukan analisis kandungan rendemen karagenan dan profil DNA (*Deoxyribo Nukleat Acid*) rumput laut hijau dan coklat sebagai informasi awal untuk mendukung keragaman sumberdaya hayati (plasma nutfah) rumput laut *K. alvarezii* yang dibudidayakan di Pantai Amal agar potensi ekonomi dan manfaatnya dapat terus ditingkatkan. Penelitian dilaksanakan selama tiga bulandari bulan November 2015 sampai Februari 2016, dalam tiga tahapan, yaitu survei pengambilan sampel rumput *K. alvarezii* varietas hijau dan coklat secara acak di kawasan Pantai Amal, analisis kadar rendemen karagenan di Laboratorium Nutrisi dan Pakan Ikan FPIK Universitas Borneo Tarakan, dan pemeriksaan profil DNA dengan metode PCR (*Polymerase Chain Reactions*) di LAB TIAP (Laboratorium Pengembangan Teknologi Industri Agro dan Biomedika) BPPT-PUSPITEK Serpong, Tangerang. Hasil analisis kadar rendemen karagenan (%) untuk *K. alvarezii* varietas hijau dihasilkan nilai rata-rata 66,13% sedangkan pada varietas coklat dihasilkan 56,47%. Hasil analisis profil DNA terdapat band DNA berukuran 357 bp pada produk PCR sampel rumput laut *K. alvarezii* varietas coklat yang di-*annealing* pada suhu 51,5°C sedangkan pada varietas hijau tidak ditemukan band DNA.

Kata Kunci: *Kappaphycus alvarezii*, varietas hijau, varietas coklat, karagenan, PCR

ABSTRACT

Seaweed cultivation in Tarakan is one of the important non oil sector that is able to support the economy of coastal communities, especially communities in Amal Beach. It fulfills triple track business criteria: pro-job, pro-poor, and pro-growth. Moreover, opportunities of Kappaphycus sp. seaweed farming is still very high for world market demand of raw material processing industry using seaweed (carrageenan). Carrageenan is the main component of red algae extraction results (Rhodophyceae), consisting of a complex mixture of

several polysaccharides but with a different number for each species. The diversity of cultivated seaweed in Amal Beach is not currently supported by species identification study through produced carrageenan yield and DNA profiles for *Kappaphycus alvarezii* of green and brown varieties. Thus, it is needed to analyze the content of the carrageenan yield and DNA profile of green and brown seaweed as an initial information to support the diversity of biological resources (germplasm) of seaweed *K. alvarezii* cultivated in Amal Beach for increasing the economic potential and benefit. The study was conducted from November 2015 until February 2016; in three stages: random sampling of green and brown varieties of *K. alvarezii* in Amal Beach, carrageenan analysis at the Laboratory of Nutrition and Fish Feed FPIK Universitas Borneo Tarakan and examination of DNA profile by PCR in LABTIAP (Laboratory of Agro Industrial Technology Development and Biomedical) BPPT-PUSPITEK Serpong, Tangerang. Average level of the carrageenan yield (%) for *K. alvarezii* green and brown varieties were 66,13% and 56,47% respectively. DNA profiles analysis showed DNA band size of brown variety of *K. alvarezii* at 357 bp, while DNA band was not found on the green variety.

Keywords: *Kappaphycus alvarezii*, green variety, brown variety, carrageenan, PCR

PENDAHULUAN

Budidaya rumput laut di Kota Tarakan merupakan salah satu sektor penting *non* migas yang mampu menunjang perekonomian masyarakat pesisir, khususnya masyarakat Pantai Amal. Berdasarkan data statistik perikanan tahun 2014, diketahui jumlah produksi rumput laut kering jenis *Kappaphycus* sp. atau yang lebih dikenal masyarakat dengan sebutan *Eucheuma cottonii* memiliki nilai produksi sebesar 8-10 ton per tahun (BPS Tarakan, 2016) serta masih berpotensi untuk lebih ditingkatkan lagi produksinya. Rumput laut merupakan salah satu komoditas revitalisasi perikanan yang diharapkan berperan penting dalam peningkatan kesejahteraan masyarakat pesisir karena memenuhi *triple track* kriteria usaha yakni *pro job*, *pro poor*, dan *pro growth*. Selain itu, peluang usaha untuk memenuhi jumlah permintaan industri dan pasar dunia terhadap industri pengolahan berbahan baku rumput laut (karagenan) masih sangat tinggi (Anggadiredja *et al*, 2006).

Karagenan adalah komponen utama hasil ekstraksi algae merah (Rhodophyceae) yang terdiri dari campuran kompleks beberapa polisakarida namun dengan jumlah yang berbeda-beda untuk setiap spesies. Rumput laut *Eucheuma cottonii* yang selama ini dikenal oleh pembudidaya rumput laut adalah sinonim dari *Kappaphycus alvarezii* yang secara taksonomis telah menggantikan penamaan sebelumnya atas dasar tipe kandungan karagenan yang dihasilkan yakni kappa-karagenan (Ask dan Azanza, 2002). Asal usul *K. alvarezii* didapatkan dari perairan Kalimantan kemudian dikembangkan ke berbagai negara sebagai komoditas budidaya unggulan (Doty, 1985). Budidaya *K. alvarezii* secara komersil di Indonesia pertama kali dikembangkan di Bali menggunakan bibit seleksi dari Tambalang-Filipina yang merupakan negara yang pertama kali mengeksport rumput laut jenis ini, kemudian berkembang ke berbagai negara lainnya termasuk Indonesia. Budidaya rumput laut tersebut secara komersil baru dilakukan di Indonesia pada tahun 1985 jauh tertinggal dari Filipina yang memulai sejak tahun 1971 (Parenrengi, 2004). Sedangkan di Kota Tarakan sendiri budidaya rumput laut jenis ini mulai berkembang tahun 2008 dimana pertama kali bibit yang didatangkan berasal dari daerah Sulawesi.

Pada umumnya pembudidaya rumput laut Pantai Amal mengenal dua kelompok warna *K. alvarezii* yaitu warna hijau dan coklat. Perbedaan warna rumput laut tersebut juga dapat dijumpai pada beberapa lokasi budidaya antara lain di Pinrang dan Mamuju (Sulawesi

Selatan), Madura (Jawa Timur), dan Gerubuk (Lombok). Beragamnya varietas budidaya rumput laut yang ada, khususnya di Perairan Pantai Amal saat ini belum didukung oleh kajian identifikasi spesies melalui pendekatan kadar rendemen karagenan yang dihasilkan dan profil *Deoxyribo Nukleat Acid* (DNA) terhadap *K.alvarezii* varietas hijau dan coklat. Sehingga, perlu dilakukan analisis kandungan rendemen karagenan dan profil DNA terhadap rumput laut hijau dan coklat sebagai informasi awal dalam mendukung keragaman sumberdaya hayati (plasma nutfah) rumput laut *Kappaphycus* sp. yang dibudidayakan di Pantai Amal agar potensi ekonomi dan manfaatnya dapat terus ditingkatkan.

Tujuan

Tujuan dari penelitian ini ialah untuk mengetahui kandungan rendemen karagenan dan profil DNA rumput laut *K.alvarezii* varietas hijau dan coklat yang dibudidayakan di kawasan Pantai Amal Kota Tarakan.

Manfaat

Informasi penting ini dapat digunakan untuk merumuskan kebijakan dalam kegiatan pengelolaan seleksi induk unggul (pemuliaan) melalui penyediaan kebun bibit (koleksi sentra budidaya) yang bertujuan memperbaiki mutu genetik rumput laut dimasa depan dan konservasi guna menghasilkan bibit berkualitas unggul serta mem-back-up varietas yang ada saat ini yang dibudidayakan oleh masyarakat Pantai Amal Kota Tarakan.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama tiga bulan dari bulan November 2015 sampai Februari 2016. Penelitian dilakukan dalam tiga tahapan, yaitu: survei pengambilan sampel rumput *K.alvarezii* varietas hijau dan coklat secara acak di kawasan Pantai Amal, analisis kadar rendemen karagenan di Laboratorium Nutrisi dan Pakan Ikan FPIK Universitas Borneo Tarakan, serta pengiriman sampel untuk pemeriksaan profil *Deoxyribo Nukleat Acid* (DNA) dengan metode *Polymerase Chain Reactions* (PCR) di LAB TIAP (Laboratorium Pengembangan Teknologi Industri Agro dan Biomedika) BPPT-PUSPITEK Serpong, Tangerang.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam ekstraksi Karagenan meliputi timbangan analitik, oven, hot plate dan magnetic stirrer, petri disk, stop watch, beaker glass, dan gelas piala. Alat yang digunakan dalam pengujian profil DNA ialah spektrofotometer (nanodrop) dengan absorbansi 260/280, micro tube, micro pipette, tube eppendorf, mini pistil, *thermocycle*-PCR, elektroforesis agarose dan UV-Vis. Bahan yang digunakan ialah sampel rumput laut *K.alvarezii* varietas hijau dan coklat yang berasal dari pembudidaya Pantai Amal Kota Tarakan, aquades, NaOH 1%, kertas lakmus, kain kassa, ethanol (pro analisis), DNA mini kit plant (GeneAid), DNA ladder 1 kb, dan sepasang primer *Maturase K* 357 bp (F Wis 1 dan R Wis 1).

Prosedur Penelitian

Ekstraksi karagenan berdasarkan SNI 03-70-1990 yang telah dimodifikasi (Samsuar, 2006) kemudian dihitung nilai rendemen karagenan yang dihasilkan berdasarkan rumus berikut ini:

$$\text{Analisis Rendemen} = \frac{\text{Berat karaginan yang diperoleh (gr)}}{\text{Berat sampel rumput laut (gr)}} \times 100\%$$

Selanjutnya pada pengujian DNA, hasil pemeriksaan profil DNA menggunakan PCR dianalisis secara deskriptif terhadap visualisasi band DNA hasil elektroforesis agarose sebagai berikut:

1. Ekstraksi Genom DNA Rumput Laut dengan *mini kit plant* (GeneAid):

Ditimbang 25 mg sampel rumput laut kering atau 100 mg sampel rumput laut basah dan dihaluskan menggunakan nitrogen cair, kemudian dipindahkan ke dalam tube 1.5 ml. Ditambahkan 400 µl GP1 buffer dan 5 µl RNase A, vortex hingga tercampur sempurna. Selanjutnya, diinkubasikan pada suhu 65 °C selama 10 menit, setiap 5 menit dibolak-balik. Ditambahkan 100 µl GP 2 buffer dan di*mix* dengan vortex. Diinkubasi di dalam es selama 3 menit. Dipindahkan larutan ke dalam *Filter Column* dan disentrifus selama 1 menit *full speed*. Supernatan dipindahkan ke tube 1.5 ml dan ditambah 1.5x volume GP3 buffer, vortex selama 5 menit. Dipindahkan larutan ke dalam *GD Column* dan sentrifus *full speed* selama 2 menit, dibuang supernatan dan ditambahkan 400 µl *W1 Buffer* di *GD column*. Disentrifus *full speed* selama 30 detik. Supernatan dibuang dan ditambahkan 600 µl Wash Buffer yang telah dicampur dengan ethanol. Sentrifus *full speed* selama 30 menit. Buang supernatan dan disentrifus kembali *GD Column full speed* selama 3 menit untuk mengeringkan matriks *column*. Ditambahkan *elution buffer* 40 µl dan dibiarkan selama 3 menit agar larutan terserap pada matriks. Sentrifus *full speed* selama 3 menit untuk mengeringkan matriks. Supernatan yang diperoleh merupakan genom DNA rumput laut.

2. Pengukuran Konsentrasi Genom DNA

Pengukuran konsentrasi dan kemurnian genom DNA rumput laut dilakukan menggunakan spektrofotometer (nanodrop) dengan absorbansi 260/280.

3. Amplifikasi PCR

Target band Maturase K adalah 357 bp. Primer yang digunakan adalah Forward (F Wis 1) dan Reverse (R Wis 1), dengan prosedur PCR *reaction* dan program PCR *cycle* yakni denaturasi pada suhu 95°C selama 30 detik sebanyak 35 kali, annealing pada suhu 46,7-51.5 °C (menyesuaikan) selama 30 detik sebanyak 35 kali, dan extension pada suhu 72°C selama 1 menit sebanyak 35 kali siklus.

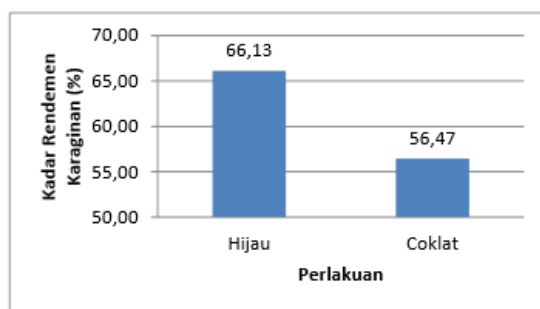
HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen karagenan sebagai hasil ekstraksi dihitung berdasarkan rasio antara berat karagenan yang dihasilkan dengan berat rumput laut kering yang digunakan. Grafik nilai rata-rata kadar rendemen karagenan rumput laut dapat dilihat pada Gambar 1.

Berdasarkan data yang diperoleh, nilai rata-rata rendemen karagenan yang dihasilkan pada rumput laut *K. alvarezii* hijau 66,13% dan coklat 56,47%. Nilai rata-rata rendemen karagenan ini berada di atas nilai standar minimum rendemen karagenan yang diperoleh Diskanlut Sulteng (2009) dalam Mappiratu (2009) yakni sebesar 50%. Berdasarkan Luwu (2015), diduga tinggi rendahnya nilai karagenan dipengaruhi jumlah kadar air bahan baku rumput laut terhadap hasil karagenan. Hal ini didukung Anggadredja *et al.*, (2006) bahwa kandungan air dalam jaringan rumput laut memungkinkan terjadinya reaksi enzimatik yang dapat mempengaruhi kuantitas dan kualitas karagenan yang dihasilkan. Disisi lain, yang mempengaruhi tinggi rendahnya kadar karagenan tidak lepas dari cara penanganan

saat panen, penjemuran juga dapat pula mengurangi kadar karagenan dalam rumput laut, proses pengolahan, metode ekstraksi, maupun kesuburan/kualitas perairan.

Berdasarkan hasil elektroforesis agarose (horizontal) dapat diketahui bahwa baik strain hijau maupun coklat setelah diuji PCR menggunakan primer *MaturaseK* hanya strain coklat pada suhu annealing 51,5⁰C yang menunjukkan adanya pita DNA/band 357 *basepairs* sedangkan pada strain hijau (suhu annealing yang sama) tidak menunjukkan adanya band DNA, dan hasil uji *nannodrop* pada kadar kemurnian DNA genom (A 260/280), menghasilkan pengukuran kuantitatif yakni rumput laut coklat memiliki konsentrasi 107,9 (ng/μl) dengan kemurnian DNA genom 1,88 sedangkan rumput laut hijau memiliki konsentrasi 166,7 (ng/μl) dengan kemurnian DNA genom 1,97. Kemurnian hasil ekstraksi DNA genom untuk semua sampel rumput laut yang digunakan dalam penelitian ini masih sesuai, dan tidak terdapat kontaminasi protein yakni kemurnian DNA berkisar antara 1.8-2.0 (Sambrook *et al.*, 2012).



Gambar 1. Analisis Kadar Rendemen Karagenan (%)

Hal tersebut diduga bahwa primer *Maturase K* merupakan primer universal untuk semua tumbuhan angiosperma khususnya tanaman darat (Hillu, *et al* 2003), dan dibutuhkan analisis lebih lanjut menggunakan elektroforesis vertikal dengan SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Polyacrilamide Gel Elektroforesis*) untuk melihat band DNA hasil PCR. Namun, apabila hanya band DNA pada varietas coklat yang muncul maka primer *Maturase K* (F Wis 1 dan R Wis 1) dapat menjadi kandidat penanda khusus/ marker genetik untuk *K.alvarezii* khususnya varietas coklat.

Eucheuma sp. Atau *Kappaphycus* sp. di alam bersifat adaptif kromatik yaitu memiliki penyesuaian antara proporsi pigmen dengan berbagai kualitas pencahayaan dan dapat menimbulkan berbagai warna thalli seperti pirang, violet, merah tua, merah muda, coklat kuning, dan hijau. Disebut algae merah karena mengandung pigmen fotosintetik yaitu karoten, xantofil, dan fikobilin terutama *red-phycoerythrin* (penyebab warna merah), *blue-phyocyanin* (penyebab warna ungu) dan mengandung khlorofiladand, serta thallusnya akan berwarna ungu atau merah kecoklatan apabila terkena cahaya matahari langsung ketika diamati.

Menurut Aslan (1998), *Eucheuma* sp. Disamping Chondrus, Gigartina dan Hypnea bila diekstrak, dinding selnya akan menghasilkan selulosa dan produk fotosintetik berupa polisakarida karagenan. Karagenan merupakan senyawa polisakarida sulfat berbentuk garam apabila bereaksi dengan Sodium (Na), Calcium (Ca), dan Potassium (K). Karagenan terbagi atas dua fraksi yaitu kappa karagenan (terdapat pada *E.edule*, *E. striatum*, *E. speciosum* dan *E. cottonii*) yakni bahan kappa karagenan ini larut dalam air panas. Sedangkan, hasil ekstraksi lainnya untuk iota karagenan hanya dapat larut dalam air dingin (dihasilkan dari jenis *E. spinosum*, *E. isiforme* dan *E. uncinatum*). Selain mengandung karagenan,

Kappaphycus sp. juga mengandung protein, lemak, serbuk kasar, abu dan air serta unsur-unsur kimiawi seperti Chlor (Cl), Potassium(K), Sodium(Na), Magnesium(Mg), Belerang(S), Silikon (Si), Fosfor(P), Calcium(Ca), Besi(Fe), Yodium(I), dan Brom(Br).

KESIMPULAN

Pada analisis kadar rendemen karagenan (%) untuk rumput laut *K. alvarezii* varietas hijau dihasilkan nilai rata-rata 66,13% sedangkan pada varietas coklat dihasilkan 56,47% rendemen karagenan. Pada analisis profil DNA hasil elektroforesis agarose menggunakan sepasang primer *Maturase K* (F Wis 1 dan R Wis 1) terdapat pita/band DNA berukuran 357 bp pada produk PCR sampel rumput laut *K. alvarezii* varietas coklat yang di *annealing* pada suhu 51,5°C sedangkan pada varietas hijau tidak ditemukan band DNA. Pada pengukuran kuantitatif menggunakan spektrofotometer (*nannodrop*) dihasilkan kemurnian (A 260/280) DNA genom rumput laut *K. alvarezii* varietas hijau sebesar 1,88 dan varietas coklat 1,97.

Saran

Selain dilakukan analisis kadar rendemen karagenan dan profil DNA pada rumput laut (*K. alvarezii*), juga perlu dilanjutkan dengan analisis histologi sel jaringan tanaman dan pengujian proksimat. Pada pengujian profil DNA perlu ditambahkan penggunaan pasangan primer yang lebih banyak (lebih dari tiga) dan spesifik untuk tanaman thallus serta dilanjutkan dengan pengujian microsatellite DNA menggunakan elektroforesis vertikal (SDS PAGE) untuk mendapatkan hasil yang lebih akurat.

DAFTAR PUSTAKA

- Badan Pusat Statistik. 2016. Kota Tarakan Dalam Angka. Tarakan City in Figures Tarakan.
- Anggadiredja, J.T., Zalnika, A., Purwoto, H dan Istini, S. 2006. Rumput Laut. Penebar Swadaya. Jakarta. 147 hlm.
- Ask, E.I and R. V. Azanza. 2002. Advances in cultivation technology of commercial eucheumatoid species: a review with suggestion for future research. *Aquaculture* 206:257-277.
- Aslan, L.M 1998. Budidaya Rumput Laut. Kanisius. Yogyakarta.
- Doty, M. S. 1985. Eucheuma species (Solieriaceae, Rhodophyta) that are major sources of carrageenan. In Abbott. I.A., J.N. Norris (*Eds*). Taxonomy of economic seaweeds: with reference to some Pacific and Caribbean Species, California Sea Grant College Program. California pp 47-61.
- Hilu KW., Borsch T., Muller K., 2003. Angiosperm phylogeny based on matK sequence information. *Am J Bot.* 90:1758-1776.
- Mappiratu, 2009. Kajian Teknologi Pengolahan Karaginan Dari Rumput Laut *Eucheuma cotoirii* Skala Rumah Tangga. Media Litbang Sumsel 2 (1):01-06. Sulawesi Tenggara.
- Parenrengi, A dan Sulaeman. 2004. Mengenal Rumput Laut, *Kappaphycus alvarezii*. Makalah BRPBAP Maros. Sulawesi Selatan. 11 Hal.

- Luwu, A.P. 2015. Analisis Kandungan Ekstraksi Rendemen Kappa Karagenan (*Kappaphycus alvarezii*) Perendaman Chitossan Dengan Dosis Yang Berbeda. Skripsi. UBT. Tarakan
- Sambrook; Russel. 2012. Moluculer Clonning. AVI Published. USA
- Samsuar. 2006. Karakteristik Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii* pada Berbagai Umur Panen, Kosentrasi KOH dan Lama Ekstraksi. Tesis. IPB. Bogor.
- SNI. 2008. Rumput Laut Kering. Direktorat Jendral Perikanan dan Kelautan. Jakarta. 7 hlm.