

**REKAYASA PERTUMBUHAN
PROPAGUL RUMPUT LAUT *Kappaphycus alvarezii*
MELALUI TEKNIK KULTUR JARINGAN**

DISERTASI

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Doktor**



Oleh :

**SALNIDA YUNIARTI LUMBESSY
NIM. 147080100111002**

**PROGRAM DOKTOR ILMU PERIKANAN DAN KELAUTAN
MINAT TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN**

**PROGRAM PASCASARJANA
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN**

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2019

**REKAYASA PERTUMBUHAN
PROPAGUL RUMPUT LAUT *Kappaphycus alvarezii*
MELALUI TEKNIK KULTUR JARINGAN**

DISERTASI

Bagian dari Disertasi ini Telah Dipublikasikan pada :

EurAsian Journal of BioSciences

Russian Journal of Agricultural and Socio-Economic Sciences



Oleh :

**SALNIDA YUNIARTI LUMBESSY
NIM. 147080100111002**

**PROGRAM DOKTOR ILMU PERIKANAN DAN KELAUTAN
MINAT TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN**

**PROGRAM PASCASARJANA
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

LEMBAR PENGESAHAN

Judul Disertasi : Rekayasa Pertumbuhan Popagul Rumput Laut
Kappaphycus alvarezii Melalui Teknik Kultur
Jaingan
Nama Mahasiswa : Salnida Yuniarti Lumbessy
NIM : 147080100111002
Program Studi : Program Doktor Perikanan dan Ilmu Kelautan
Minat : Teknologi Hasil Perikanan

Menyetujui :

Komisi Pembimbing
Promotor

Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS

NIP. 19611106 198602 2 001

Ko-Promotor 1

Ko-Promotor 2

Prof. Dr. Ir. Happy Nursyam, MS

NIP. 19600322 198601 1 001

Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MP

NIP. 19680919 200501 1 001

Mengetahui,

Dekan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya

Prof. Dr. Ir. Happy Nursyam, MS

NIP. 19600322 198601 1 001

IDENTITAS PENGUJI DISERTASI

Judul Disertasi : Rekayasa Pertumbuhan Popagul Rumput Laut
Kappaphycus alvarezii Melalui Teknik Kultur
 Jaingan

Nama Mahasiswa : Salnida Yuniarti Lumbessy

NIM : 147080100111002

Program Studi : Program Doktor Perikanan dan Ilmu Kelautan

Minat : Teknologi Hasil Perikanan

Komisi Pembimbing

Promotor : Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS

Ko-Promotor 1 : Prof. Dr. Ir. Happy Nursyam, MS

Ko-Promotor 2 : Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MP

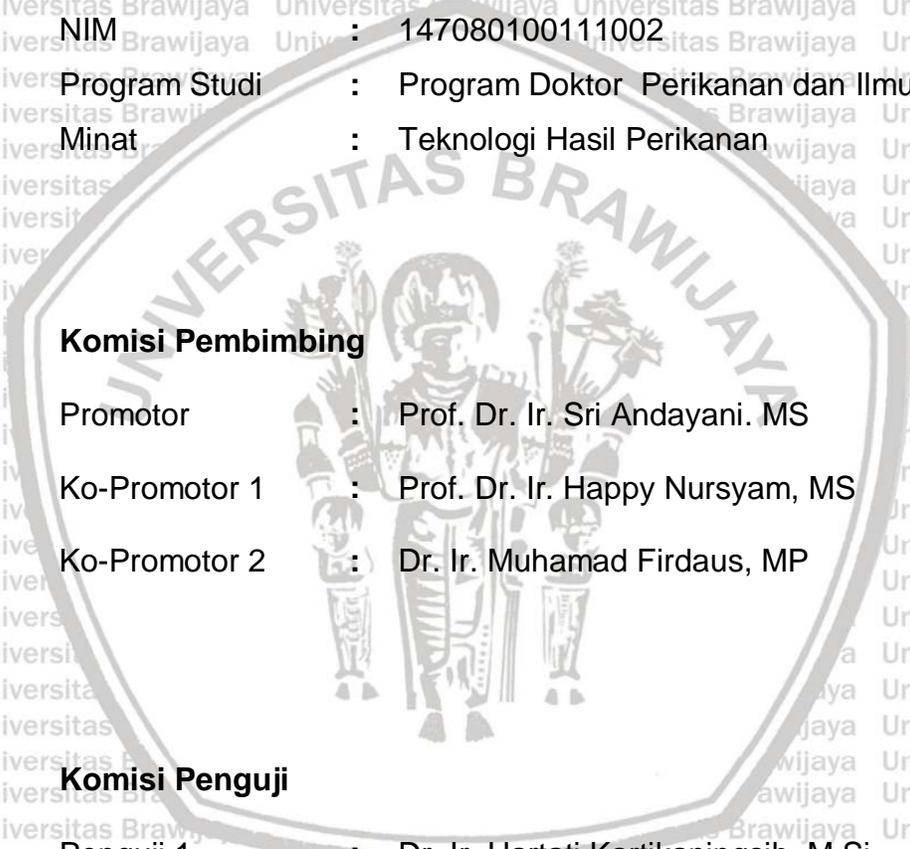
Komisi Penguji

Penguji 1 : Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, M.Si

Penguji 2 : Dr. Yuni Kilawati, S.Pi, M.Si

Penguji 3 : Prof. Dr. Agr. Muh. Amin, S.Pd, M.Si

Penguji 4 : Dr. Apri Arisandi, S.Pi, M.Si



IDENTITAS TAHAPAN UJIAN DISERTASI

Judul Disertasi : Rekayasa Pertumbuhan Popagul Rumput Laut

Kappaphycus alvarezii Melalui Teknik Kultur Jaingan

Nama Mahasiswa : Salnida Yuniarti Lumbessy

NIM : 147080100111002

Program Studi : Program Doktor Perikanan dan Ilmu Kelautan

Minat : Teknologi Hasil Perikanan

Komisi Pembimbing

Promotor : Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS

Ko-Promotor 1 : Prof. Dr. Ir. Happy Nursyam, MS

Ko-Promotor 2 : Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MP

Tahapan Ujian

1. Ujian Kualifikasi : 3 November 2015
2. Sidang Komisi I Proposal Disertasi : 21 Desember 2015
3. Evaluasi Kelayakan Proposal Disertasi : 21 Juni 2016
4. Sidang Komisi II Proposal Disertasi : 27 Juli 2016
5. Ujian Proposal Disertasi : 18 Agustus 2016
6. Sidang Komisi I Hasil Disertasi : 31 Oktober 2018
7. Evaluasi Kelayakan Disertasi : 18 Februari 2019
8. Seminar Hasil Disertasi : 14 Maret 2019
9. Ujian Akhir Disertasi : 3 Mei 2019
10. Yudisium : 24 Mei 2019

PERNYATAAN ORIGINALITAS DISERTASI

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, di dalam naskah DISERTASI ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu Perguruan Tinggi, dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata dalam naskah DISERTASI ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur plagiasi, saya bersedia DISERTASI ini digugurkan dan gelar akademik yang telah saya peroleh (DOKTOR) dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku (UU No. 20 tahun 2003, Pasal 25 ayat 2 dan Pasal 70).

Malang, Mei 2019



Mahasiswa,

Salinda Yuniarti Lumbessy
Salinda Yuniarti Lumbessy

NIM. 147080100111002

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Ambon, Maluku pada tanggal 22 Juni 1977, sebagai anak kedua dari pasangan Drs. Abdul Salam Lumbessy (alm.) dan Yurnida Nadarlis, BA (alm.). Penulis lulus dari SD Negeri 1 Rumahtiga tahun 1988, SMP Negeri 7 Ambon tahun 1991, SMA Negeri 3 Ambon tahun 1994. Pada tahun 1994 Penulis melanjutkan pendidikan pada Jurusan Pengolahan Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan, Universitas Pattimura Ambon dan lulus pada tahun 1999. Selanjutnya pada tahun 2000 Penulis melanjutkan pendidikan Pascasarjana (S2) pada Jurusan Teknologi Pasca Panen, Institut Pertanian Bogor (IPB) Bogor dan lulus pada tahun 2003. Pada tahun 2006, penulis diterima sebagai Dosen Program Studi Budidaya Perairan, Universitas Mataram. Selanjutnya pada tahun 2014, dengan beasiswa BPPDN DIKTI maka Penulis melanjutkan pendidikan program doktor (S3) pada Program Studi Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya.

Sebagai staf dosen, maka penulis telah mempublikasikan beberapa artikel ilmiah dan mengikuti kegiatan seminar nasional dan internasional serta memberikan pelatihan kepada masyarakat terkait bidang ilmu yang dimiliki. Dalam pengelolaan institusi, Penulis pernah menjadi ketua Gugus Penjaminan Mutu Program Studi Budidaya Perairan pada tahun 2011, sebagai anggota Satuan Tugas Pelaksana Penyusunan Borang Akreditasi Program Studi Budidaya Perairan pada tahun 2011 serta anggota Senat Fakultas Pertanian UNRAM periode 2011 – 2013. Penulis menikah dengan Heri Sabri Akbar, S.Pi, MM pada tahun 2001 dan dikaruniai tiga orang anak, yaitu Fiyna Alyatun Afifah, Ahmad Abzari Maskuri dan Ahmad Nabiel Akbar.



Kupersembahkan Disertasiku Kepada :

Suamiku tercinta :

Heri Sabri Akbar, S.Pi, MM

Anak-anaku Tersayang :

Fiyna 'Alyatun Afifah, Ahmad Abzari Maskuri dan Ahmad Nabel Akbar

Orang Tuaku :

Drs. H. Abdul Salam Lumbessy (Alm.)

Ny. Yurnida Nadarlis, BA (Alm.)

Ny. Maani Lumbessy

Serta Mertua :

H. Maskuri dan Hj. Wardhatul Jannah (Alm.)

Kakak dan Adikku tercinta :

Salnida Yulianti Lumbessy, S. P., Fitrullah Lumbessy S. AP

dan Siti Fatimah Lumbessy

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah rabbil 'alamin disampaikan kehadirat Allah SWT. karena atas ridho-NYA sehingga penulisan disertasi dengan judul "**Rekayasa Pertumbuhan Propagul Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii* Melalui Teknik Kultur Jaringan**" telah diselesaikan. Dalam kajian penyempurnaan disertasi ini tidak terlepas dari bantuan dan bimbingan para komisi pembimbing, komisi penguji, teman-teman serta berbagai pihak yang ikut serta dalam proses kegiatan penelitian hingga penulisan disertasi ini.

Pada kesempatan ini Penulis menghaturkan terima kasih kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Happy Nursyam, MS selaku Dekan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya
2. Ibu Dr. Ir. Anik M. Hariati, M.Sc selaku Ketua Program Pascasarjana Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya
3. Ibu Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS, Bapak Prof. Dr. Ir. Happy Nursyam, MS dan Bapak Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MP selaku dosen pembimbing Disertasi S3
4. Bapak Prof. Dr. Agr. Muh. Amin, S.Pd, M.Si, Ibu Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, M.Si dan Ibu Dr. Yuni Kilawati, S.Pi, M.Si selaku dosen penguji sejak tahap proposal .
5. Bapak dan Ibu Dosen penguji kelayakan proposal dan hasil disertasi
6. Kedua orang tuaku, Bapak. Drs. H. Abdul Salam Lumbessy (Alm.) dan Ibu Yurnida Nadarlis, B.A. (Alm.) serta Ibu Maani Lumbessy.
7. Suami tercinta, Bapak Heri Sabri Akbar, S.Pi., MM serta anak-anakku tersayang, Fiyina 'Alyatun Afifah, Ahmad Abzari Maskuri dan Ahmad Nabel Akbar atas segala ridho, doa dan dukungannya.
8. Kakak dan adik-adikku tercinta, Salnida Yulianti Lumbessy, S.P., Fitrullah Lumbessy, S. AP dan Siti Fatimah Lumbessy
9. Bapak Rektor Universitas Brawijaya
10. Bapak dan Ibu Dosen pengasuh mata kuliah pada Program Pascasarjana, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya
11. Civitas Akademika Universitas Brawijaya umumnya dan khususnya kepada Civitas Akademika Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Program Studi Doktor Ilmu Perikanan dan Kelautan

12. Bapak Prof. Dr. Lalu Husni, SH, M.Hum selaku Rektor Universitas Mataram dan Bapak Dr. Ir. Muhammad Junaidi, M.Si selaku ketua Jurusan Budidaya Perairan yang telah memberikan izin untuk melanjutkan studi pada Program Pascasarjana, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya.
13. Kepala Balai Perikanan Budidaya Laut (BPBL) Lombok di Dsn Giligenting, Sekotong Barat, Lombok Barat, NTB yang telah memberikan izin untuk pelaksanaan penelitian disertasi ini.
14. Ibu Luluk Widiyanti, S. Pi, MP selaku kepala Laboratorium Kultur Jaringan Rumput Laut, BPBL Lombok beserta staf yang telah memfasilitasi penulis untuk pelaksanaan penelitian disertasi.
15. Ibu Ir. Erina Sulistyani, M. Si selaku peniliti di SEAMEO BIOTROP Bogor yang membantu dalam penyediaan sampel propagul rumput laut *K. alvarezii* untuk kebutuhan penelitian ini.
16. Keluarga besar H. Abdul Salam Lumbessy, Keluarga besar H. Maskuri, dan Keluarga besar Nadar dan Saliana atas segala doa dan supportnya.
17. Teman-teman program Doktor FPIK UB angkatan 2014 serta semua pihak yang telah memberikan support dan doa sehingga Penulis dapat menyelesaikan studinya pada pendidikan program doktor (S3), Program Studi Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya.

Semoga kebaikan dan ketulusan hati Bapak/ibu serta sdr/i sekalian dalam membimbing dan mendukung penyusunan disertasi ini menjadi amal kebajikan untuk meraih pahala dan keridhoan Allah SWT. *Amiin ya Rabbal 'alamin*.

Pada akhirnya Penulis sangat mengharapkan saran dan masukan dari semua pihak dalam penyempurnaan rangkuman kajian disertasi ini. Atas semua saran yang diberikan dalam penyempurnaan penyusunan disertasi ini, diucapkan terima kasih.

Akhir kata, semoga disertasi ini dapat memberikan kemanfaatan bagi ilmu pengetahuan dan referensi dalam pengembangan kultur jaringan rumput laut *K. alvarezii* dalam menghasilkan bibit yang produktif baik secara kualitas maupun kuantitas.

Malang, Mei 2019

Salnida Yuniarti Lumbessy

RINGKASAN

SALNIDA YUNIARTI LUMBESSY, NIM. 147080100111002. Program Doktor Ilmu Perikanan dan Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. Rekayasa Pertumbuhan Propagul Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii* Melalui Teknik Kultur Jaringan. Dibimbing oleh Promotor Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS, Ko-Promotor Prof. Dr. Ir. Happy Nursyam, MS dan Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MP.

Penelitian kultur jaringan rumput laut pada spesies *Kappaphycus alvarezii* secara in vitro pada beberapa dekade terakhir banyak memberikan penemuan baru dalam kegiatan budidaya rumput laut, seperti penemuan varietas unggul sebagai bibit dan produksi karaginan yang lebih baik. Pertumbuhan dan perkembangan rumput laut *K. alvarezii* pada kegiatan kultur jaringan membutuhkan kualitas cahaya serta nutrisi yang cukup seperti nitrat dan fosfat. Nitrat dan fosfat diperlukan sebagai bahan dasar penyusun protein dan pembentukan klorofil a dalam proses fotosintesis. Nitrat dan fosfat dapat berasal dari media kultur. Sementara cahaya sangat dibutuhkan dalam proses fotosintesis dengan bantuan klorofil a. Proses fotosintesis pada rumput laut *K. alvarezii* tidak hanya menggunakan klorofil a tetapi terdapat pigmen aksesoris atau pelengkap fikobiliprotein, salah satunya adalah fikoeitrin. Dalam kultur jaringan manipulasi cahaya dapat dilakukan dengan menggunakan lampu *fluorescent (FL)* sebagai pengganti cahaya sinar matahari. Tujuan penelitian ini adalah untuk menjelaskan kandungan klorofil a dan fikoeitrin serta pertumbuhan propagul *K. alvarezii* berdasarkan perlakuan interaksi media PES cair, intensitas cahaya dan fotoperiode dengan waktu pemeliharaan berbeda melalui teknik kultur jaringan. Penelitian ini diharapkan dapat menghasilkan propagul rumput laut *K. alvarezii* melalui kultur jaringan untuk meningkatkan produksi bibit *K. alvarezii* pada perbanyakan di laut.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen di laboratorium yang mencakup uji perlakuan interaksi media PES cair dengan waktu pemeliharaan berbeda terhadap kandungan klorofil a dan fikoeitrin serta pertumbuhan propagul *K. alvarezii*. Selanjutnya perlakuan terbaik pada tahap sebelumnya digunakan untuk uji perlakuan interaksi intensitas cahaya dengan waktu pemeliharaan berbeda terhadap kandungan klorofil a dan fikoeitrin serta pertumbuhan propagul *K. alvarezii*. Perlakuan terbaik pada kedua tahap sebelumnya ini digunakan untuk uji perlakuan interaksi fotoperiode dengan waktu pemeliharaan berbeda terhadap kandungan klorofil a dan fikoeitrin serta pertumbuhan propagul *K. alvarezii*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa interaksi media PES cair 20 mL/L dengan waktu pemeliharaan delapan minggu memberikan kandungan klorofil a dan fikoeitrin tertinggi, berturut-turut 57,89 µg/ml dan 66,30 µg/ml serta penambahan berat dan panjang tertinggi, yaitu sebesar 2,59 g dan 2,73 cm. Perlakuan media PES cair 20 mL/L memberikan hubungan korelasi yang kuat antara pertumbuhan propagul dan kandungan klorofil a ($R^2 = 0,891$). Sementara itu, interaksi intensitas cahaya 1900 lux dengan waktu pemeliharaan delapan minggu memberikan kandungan klorofil a tertinggi, yaitu 57,89 µg/mL, penambahan berat dan panjang tertinggi, yaitu sebesar 2,59 g dan 2,73 cm serta laju pertumbuhan harian berat dan panjang yang tertinggi, yaitu sebesar 3,58 %/hari dan 1,84 %/hari. Untuk kandungan fikoeitrin tertinggi diperoleh pada interaksi konsentrasi intensitas cahaya 1300 lux dengan waktu pemeliharaan

delapan minggu, yaitu 89,47 $\mu\text{g/mL}$. Perlakuan intensitas cahaya 1900 lux juga memberikan hubungan korelasi yang kuat antara pertumbuhan propagul dan kandungan klorofil a ($R^2 = 0,891$).

Interaksi fotoperiod B (12L : 12D) dengan waktu pemeliharaan delapan minggu memberikan kandungan klorofil a yang paling tinggi, yaitu 89,53 $\mu\text{g/mL}$, penambahan berat dan Laju Pertumbuhan Harian (LPH) berat yang paling tinggi, yaitu berturut-turut 2,72 g dan 4,06%/hari. Sementara perlakuan interaksi fotoperiod A (18L : 6D) dengan waktu pemeliharaan dua minggu memberikan laju pertumbuhan harian (LPH) panjang yang paling tinggi, yaitu 3,76%/hari. Interaksi perlakuan D(18L : 6D) dengan waktu pemeliharaan delapan minggu memberikan kandungan fikokieritrin yang paling tinggi, yaitu 116,44 $\mu\text{g/ml}$ dan tidak berbeda nyata dengan perlakuan interaksi fotoperiod B (12L : 12D) dengan waktu pemeliharaan delapan minggu. Terdapat korelasi yang kuat antara pertumbuhan dengan kandungan klorofil a propagul *K. alvarezii* ditunjukkan pada fotoperiod B(12L : 12D) ($R^2 = 0,786$) dan fotoperiod D (18L : 6D) ($R^2 = 0,842$). Secara keseluruhan perlakuan fotoperiode 12L : 12D memberikan hubungan korelasi yang kuat terhadap pertumbuhan propagul ($R^2 = 0,804$), kandungan klorofil a ($R^2 = 0,929$) dan kandungan fikokieritrin ($R^2 = 0,903$).

Identifikasi klorofil a dengan TLC memiliki nilai R_f 0,55. Pola spektra memiliki serapan maksimal gelombang biru pada panjang gelombang 430 nm dan serapan maksimal gelombang merah pada panjang gelombang 662 nm dengan pelarut metanol. Pada metode LCMS, ditunjukkan bahwa bobot molekul klorofil a sebesar 893,98 m/z.

Hasil kajian ini dapat disimpulkan bahwa dalam kegiatan kultur jaringan *K. alvarezii* pada tahap regenerasi mikropropagul menjadi propagul (plantlet) dapat dilakukan rekayasa pertumbuhan propagul dengan menggunakan media PES cair 20 mL/L, intensitas cahaya 1900 lux dan fotoperiode (lama penyinaran) 12L : 12D dengan lama pemeliharaan delapan minggu untuk mendapatkan propagul yang lebih baik dalam meningkatkan produksi bibit rumput laut *K. alvarezii* pada perbanyakan di laut.



SUMMARY

SALNIDA YUNIARTI LUMBESSY, NIM. 147080100111002. Doctoral Program in Fisheries and Marine Sciences, Faculty of Fisheries and Marine Sciences, Universitas Brawijaya. Growth Engineering of Propagul Seaweed *K. alvarezii* Through Tissue Culture Techniques. Board of advisors Promotor, Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS, Co-Promoter Prof. Dr. Ir. Happy Nursyam, MS and Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MP.

Research on seaweed tissue culture in *Kappaphycus alvarezii* species in vitro in the last few editions provided new findings in seaweed cultivation, such as the discovery of superior varieties as seeds and better production of carrageenan. Related and development of *K alvarezii* seaweed in tissue culture activities requires light quality and adequate nutrients such as nitrate and phosphate. Nitrate and phosphate are needed as basic ingredients of constituent proteins and chlorophyll formation in photosynthesis. Nitrate and phosphate can be obtained from culture media. While light is needed in photosynthesis with the help of chlorophyll a. Photosynthesis in *K. alvarezii* seaweed does not only use chlorophyll but contains pigment accessories or complementary ficarprotein, one of which is fikoeritrin. In tissue culture, light manipulation can be done using fluorescent lamps (FL) as the use of sunlight. The purpose of this study was to explain the content of chlorophyll and fikoeritrin and the growth of *K. alvarezii* propagules based on the competency of liquid PES media, light intensity and photoperiod with the time of improvement through tissue culture techniques. This study is expected to produce *K. alvarezii* seaweed propagules through tissue culture to increase *K. alvarezii* seed production in marine propagation.

The method used in this study is an experimental method in the laboratory that complements the interaction test of liquid PES media with different maintenance times for the chlorophyll content and growth and growth of *K. alvarezii* propagules. Furthermore, better than before, use a light interaction test with different maintenance times for chlorophyll and ficoerythrin content and *K. alvarezii* propagule growth. The best treatment in the previous two glasses was used for photoperiod interaction tests with different maintenance times for the content of chlorophyll and ficoerythrin and growth of *K. alvarezii* propagules.

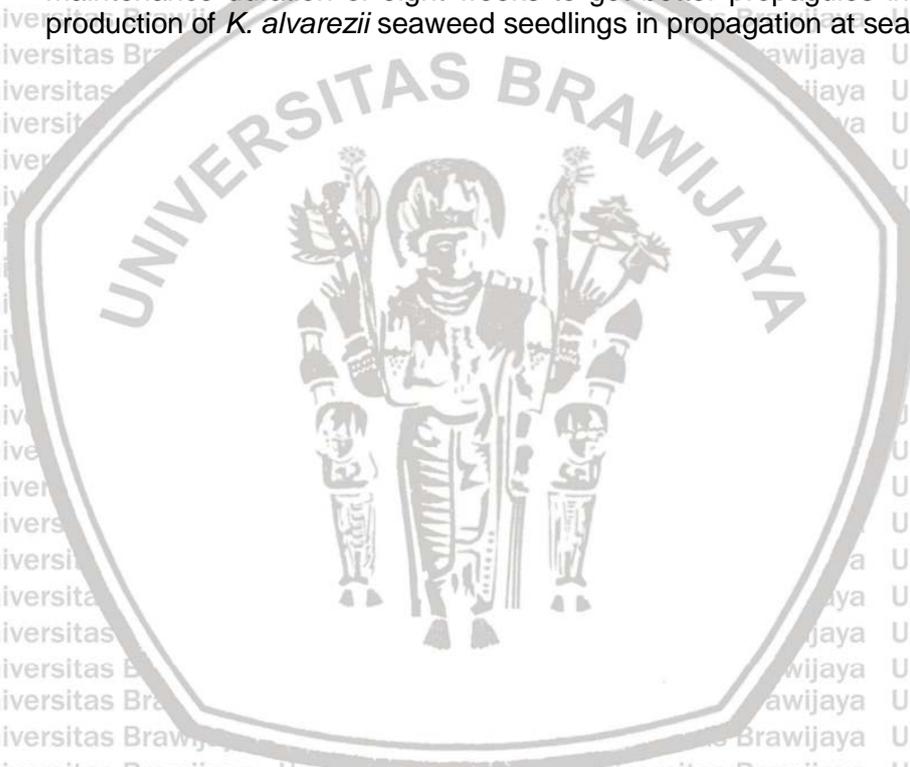
The results of the study showed that the interaction of liquid PES media 20 mL / L with the loading time last week provided the highest chlorophyll and ficoerythrin content, collected at 57.89 $\mu\text{g} / \text{ml}$ and 66.30 $\mu\text{g} / \text{ml}$ and added weight and height, according to number 2, 59 g and 2.73 cm. The treatment of 20 mL / L liquid PES media produced a strong relationship between propagul growth and chlorophyll a content ($R^2 = 0.891$). Meanwhile, the interaction of the light intensity of 1900 lux with the week maintenance time of freedom provided the highest chlorophyll reserve, which was 57.89 $\mu\text{g} / \text{mL}$, the highest weight gain and height, which was 2.59 g and 2.73 cm and increased daily weight and length the highest, which is 3.58% / day and 1.84% / day. The highest ficoerythrin content was obtained at a concentration of 1300 lux light concentration with a week maintenance time of freedom, which was 89.47 $\mu\text{g} / \text{mL}$. The treatment of light intensity of 1900 lux also provided a strong relationship between propagul growth and chlorophyll content a ($R^2 = 0.891$).

Interaction of photoperiod B (12L: 12D) with free time, week to week, contained 89.53 $\mu\text{g} / \text{mL}$, Weight gain and daily rate, (LPH) the highest weight, ie those who helped 2, 72 g and 4, 06% / day. While training in photoperiod A (18L: 6D) interaction with a two-week maintenance time provides the highest daily

growth rate (LPH), i.e. 3.76% / day. Maintenance D interaction (18L: 6D) with a week-long maintenance time, provided 116.44 $\mu\text{g} / \text{ml}$ and was not significantly different from photoperiod B (12L: 12D) conversation complaints with a week-long maintenance time. It is estimated that between growth with chlorophyll content, a *K. alvarezii* propagul was approved in photoperiod B (12L: 12D) ($R^2 = 0.786$) and photoperiod D (18L: 6D) ($R^2 = 0.842$). Photoperiod 12L: 12D: Overall provides a strong level of participation in propagul growth ($R^2 = 0.804$), chlorophyll a content ($R^2 = 0.929$) and ficoerythrin content ($R^2 = 0.903$).

Identification of chlorophyll a with TLC has a value of R_f 0.55. The spectra pattern has the maximum wave on the blue wave 430 nm and the maximum wave at the long wave 662 nm with the methanol solvent. In the LCMS method, it is shown that the molecular weight of chlorophyll a is 893.98 m / z.

The results of this study can be concluded that in the activity of culture of *K. alvarezii* at the stage of regeneration of micropropagules into propagules (plantlets) propagul growth can be engineered using liquid PES media 20 mL / L, light intensity 1900 lux and photoperiod (long irradiation) 12L: 12D with a maintenance duration of eight weeks to get better propagules in increasing the production of *K. alvarezii* seaweed seedlings in propagation at sea.



KATA PENGANTAR

Kultur jaringan rumput laut jenis Kottoni (*Kappaphycus alvarezii*) telah banyak digunakan untuk penyediaan bibit unggul secara berkesinambungan dalam jumlah banyak dan tidak terkendala oleh musim atau iklim di perairan pantai karena perbanyakannya dilakukan di laboratorium. Selain itu, teknik ini juga sangat diperlukan untuk pemuliaan rumput laut dimana bibit unggul hasil seleksi maupun rekayasa genetika hanya dapat diperbanyak dalam skala besar melalui kultur jaringan. Kualitas dan kuantitas bibit *K. alvarezii* yang dihasilkan melalui kultur jaringan tergantung pada berbagai macam faktor, salah satunya adalah teknik/metode kultur yang meliputi media kultur dan pencahayaan. Secara umum pertumbuhan rumput laut sangat berhubungan dengan kandungan pigmen fotosintesis, yaitu klorofil a. Sementara proses fotosintesis pada rumput laut tidak hanya menggunakan pigmen klorofil a tetapi terdapat pigmen asesoris atau pelengkap, salah satunya adalah Fikoeritrin (PE). Pembentukan klorofil a dan fikoeritin ini sangat dipengaruhi oleh nutrisi dan cahaya.

Disertasi ini mengkaji secara komprehensif melalui eksperimen tentang **REKAYASA PERTUMBUHAN PROPAGUL RUMPUT LAUT *Kappaphycus alvarezii* MELALUI KULTUR JARINGAN** di laboratorium. Aspek yang diamati dalam penelitian ini adalah (1) Kultur Jaringan Propagul *K. alvarezii* dengan Konsentrasi Media PES Cair Berbeda, (2) Kultur Jaringan Propagul *K. alvarezii* dengan Intensitas Cahaya Berbeda, dan (3) Kultur Jaringan Propagul *K. alvarezii* dengan Fotoperiod Berbeda. Hasil penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan penyediaan bibit rumput laut *K. alvarezii* baik secara kuantitas maupun kualitas melalui teknik kultur jaringan dengan merekayasa pertumbuhan propagul *K. alvarezii* melalui manipulasi nutrisi dan cahaya yang dapat meningkatkan kandungan klorofil a dan fikoeritrin.

Akhirnya penulis sangat mengharapkan saran dan masukan dari semua pihak Dosen Promotor dan Ko-Promotor maupun tim penguji di luar para pembimbing dalam penyempurnaan rangkuman kajian disertasi ini. Atas semua saran dan masukan yang diberikan dalam penyempurnaan penulisan disertasi ini, diucapkan terima kasih.

Malang, Mei 2019

Salnida Yuniarti Lumbessy

DAFTAR ISTILAH

1. Kultur Jaringan adalah suatu metode untuk mengisolasi bagian tanaman seperti sel atau jaringan yang ditumbuhkan dengan kondisi aseptik sehingga bagian tanaman tersebut dapat beregenerasi dan tumbuh serupa dengan tanaman induknya.
2. Propagul adalah bagian dari tanaman yang digunakan untuk membuat atau menjadi tanaman baru.
3. Klorofil a adalah salah satu bentuk klorofil yang terdapat pada semua tumbuhan autotrof dengan rumus kimia $C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$
4. Fikoeritrin adalah pigmen biliprotein yang memberikan warna merah pada alga merah (*Rhodophyta*)
5. Pertumbuhan adalah perubahan ukuran suatu organisme yang dapat berupa berat atau panjang dalam waktu tertentu
6. Laju Pertumbuhan Harian (LPH) adalah perubahan dalam berat, ukuran maupun volume seiring dengan perubahan waktu
7. Media PES (Provasoli Enriched Seawater) adalah salah satu media yang sesuai untuk regenerasi kalus *K. alvarezii*
8. Intensitas Cahaya adalah kuat cahaya yang dikeluarkan oleh sebuah sumber cahaya ke arah tertentu dan diukur menggunakan *luxmeter*
9. Fotoperiode adalah lama fase terang yang umumnya mendukung pertumbuhan optimum makhluk hidup seperti tumbuhan
10. Siklus terang adalah reaksi fotosintesis yang berlangsung pada tilakoid dan merupakan tahap pertama yang terjadi pada proses fotosintesis serta sangat bergantung pada ketersediaan cahaya matahari
11. Siklus gelap adalah reaksi lanjutan dalam reaksi fotosintesis yang terjadi pada stroma dan tidak tergantung atau memerlukan cahaya secara langsung
12. Difusi adalah peristiwa mengalirnya atau berpindahnya suatu zat dalam pelarut dari bagian berkonsentrasi tinggi ke bagian yang berkonsentrasi rendah.
13. Osmosis adalah peristiwa berpindahnya air dalam sel dari keadaan yang hipotonis zat terlarut menuju ke daerah yang hipertonis zat terlarut melalui membran semi permeabel
14. Foton adalah cahaya
15. ATP (Adenosin trifosfat) adalah unit molekuler yang berfungsi sebagai sumber energi universal untuk reaksi seluler

16. NADPH (Nicotinamide Adenine Dinucleotida Phospate) adalah molekul energy tinggi dalam bentuk tereduksi dari NADP+ yang memainkan peran kunci dalam mendorong siklus calvin
17. Enzim NR (Nitrat Reduktase) adalah enzim yang mengkatalisis reduksi NAD(P)H dari nitrat menjadi nitrit.
18. Siklus Calvin adalah jalur metabolic yang ditemukan dalam stroma dari kloroplas dimana karbon masuk dalam bentuk CO₂ dan keluar dalam bentuk gula
19. Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan suatu zat berdasarkan perbedaan kelarutannya terhadap dua cairan tidak saling larut yang berbeda.
20. Isolasi adalah suatu usaha untuk memisahkan senyawa yang bercampur sehingga diperoleh senyawa tunggal yang murni.



DAFTAR ISI

SUMMARY.....	i
RINGKASAN	iii
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISTILAH.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Perumusan Masalah.....	6
1.3. Tujuan Penelitian.....	6
1.4. Manfaat Penelitian.....	7
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1. Rumput Laut <i>Kapphycus alvarezii</i>	8
2.2. Fotosintesis.....	10
2.3. Klorofil a.....	12
2.4. Fikoeritrin.....	21
2.5. Kultur Jaringan Rumput Laut.....	24
BAB 3. KERANGKA KONSEP PENELITIAN.....	31
3.1. Kerangka Konsep.....	33
3.2. Hipotesis.....	36
BAB 4. METODE PENELITIAN.....	36
4.1. Tempat dan Waktu	36
4.2. Bahan dan Alat.....	36
4.3. Pelaksanaan Penelitian.....	37
4.4. Analisa data.....	53
BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	54
5.1. Penelitian Tahap I (Konsentrasi Media PES Cair).....	54
5.2. Penelitian Tahap II (Intensitas Cahaya).....	75
5.3. Penelitian Tahap III (Fotoperiod/Lama Penyinaran).....	98
5.4. Kebaharuan (Novelty).....	141
BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN.....	144





6.1. Kesimpulan.....	144
6.2. Kebaharuan (Novelty).....	145
6.3. Saran.....	145
DAFTAR PUSTAKA.....	147
LAMPIRAN-LAMPIRAN.....	163



DAFTAR TABEL

Tabel	Judul	Hal.
1.	Perbandingan Komposisi Medium Conway dan PES.....	27
2.	Rerata pertambahan Berat dan Panjang propagul <i>K. alvarezii</i> pada berbagai konsentrasi media PES cair.....	56
3.	Parameter Kualitas Air.....	65
4.	Rerata Kandungan Klorofil a dan Fikoeritrin propagul <i>K. alvarezii</i> pada berbagai konsentrasi media PES cair	68
5.	Penyerapan nitrat, nitrit, amoniak dan total fosfat oleh propagul <i>K. alvarezii</i> pada berbagai konsentrasi media PES cair.....	71
6.	Rerata pertambahan Berat dan Panjang propagul <i>K. alvarezii</i> pada berbagai perlakuan intensitas cahaya	77
7.	Parameter Kualitas Air	84
8.	Rerata Kandungan Pigmen Fotosintesis propagul <i>K. alvarezii</i> pada berbagai perlakuan intensitas cahaya	86
9.	Penyerapan nitrat, nitrit, amoniak dan total fosfat oleh propagul <i>K. alvarezii</i> pada berbagai perlakuan intensitas cahaya.....	94
10.	Rerata pertambahan Berat dan Panjang propagul <i>K. alvarezii</i> pada berbagai perlakuan fotoperiod.....	100
11.	Uji Beda Nyata Jujur (BNJ) Pertambahan Berat Propagul <i>K. alvarezii</i> pada Berbagai Perlakuan Fotoperiod.....	102
12.	Uji Beda Nyata Jujur (BNJ) Laju Pertumbuhan Harian (LPH) Berat Propagul <i>K. alvarezii</i> pada Berbagai Perlakuan Fotoperiod.....	107
13.	Uji Beda Nyata Jujur (BNJ) Laju Pertumbuhan Harian (LPH) Panjang Propagul <i>K. alvarezii</i> pada Berbagai Perlakuan Fotoperiod.....	108
14.	Pengaruh Berbagai Fotoperiode terhadap Siklus Terang dan Gelap.....	113
15.	Penampang Melintang Sel Propagul <i>K. Alavarezii</i> Pada Berbagai Perlakuan Fotoperiod (M = medulla , K = korteks).....	115
16.	Rerata Kandungan Klorofil a dan Fikoeritrin propagul <i>K. alvarezii</i> pada berbagai perlakuan fotoperiod.....	119

17.	Uji Beda Nyata Jujur (BNJ) Kandungan Klorofil a Propagul <i>K. alvarezii</i> pada Berbagai Perlakuan Fotoperiod.....	121
18.	Hasil Analisis Asam Glutamat dan Total N propagul <i>K. alvarezii</i> pada berbagai perlakuan fotoperiode.....	125
19.	Uji Beda Nyata Jujur (BNJ) Kandungan Fikoeritrin Propagul <i>K. alvarezii</i> pada Berbagai Perlakuan Fotoperiod.....	129
20.	Perbandingan eluen yang digunakan untuk memisahkan pigmen klorofil a propagul <i>K. alvarezii</i> pada kromatografi kolom.....	135
21.	Hasil analisa gugus fungsional sampel Klorofil a propagul <i>K. alvarezii</i> menggunakan <i>Fourier Transform Infra Red (FTIR) Spectrometer</i>	138
22.	Pecahan ion molekul senyawa korofil ayang terkandung dalam propagul <i>K. alvarezii</i>	139
40.	Matriks Perbandingan Penelitian Disertasi Program Doktor dan Hasil Penelitian Jurnal Global dan Lokal serta Penulisan Lainnya.....	142



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Judul	Hal.
1.	Rumput Laut <i>Kappaphycus alvarezii</i> / <i>Euचेuma cottonii</i>	9
2.	Struktur Molekul Klorofil.....	11
3.	Mekanisme Pembentukan Klorofil.....	13
4.	Jalur Sintesis Glutamat dan Metabolisme Pada Tumbuhan...	14
5.	Spektrum Absorbansi Klorofil a dan Klorofil b.....	16
6.	Tipe Serapan spektrum fikoeritrin pada pH 6,8.....	22
7.	Spektrum absorbansi dan fluoresensi fikoeritrin pada pH buffer 7,5.....	23
8.	Struktur kimia fikoeritrobin.....	23
9.	Struktur kimia Fikoeritrin.....	24
10.	Tingkat Pertumbuhan Harian (%) <i>Euचेuma sp.</i> yang Dibudidayakan di Bawah Radiasi Cahaya yang Berbeda.....	30
11.	Kerangka Konsep Penelitian.....	34
12.	Tahapan Penelitian Disertasi.....	35
13.	Pengaruh Interaksi Konsentrasi Media PES Cair dan Waktu Pemeliharaan terhadap Pertambahan Berat Propagul <i>K. alvarezii</i> Selama delapan minggu pemeliharaan.....	55
14.	Pengaruh Interaksi Konsentrasi Media PES Cair dan Waktu Pemeliharaan terhadap Pertambahan Panjang Propagul <i>K. alvarezii</i> Selama delapan minggu pemeliharaan.....	55
15.	Ilustrasi Struktur Sel pada Kondisi Hipertonik dan Isotonik.....	60
16.	Skema Jalur Asimilasi Nitrat.....	61
17.	Pengaruh Konsentrasi Media PES Cair Terhadap Laju pertumbuhan harian berat propagul <i>K. alvarezii</i> selama delapan minggu pemeliharaan.....	62
18.	Pengaruh Konsentrasi Media PES Cair Terhadap Laju pertumbuhan harian panjang propagul <i>K. alvarezii</i> selama delapan minggu pemeliharaan.....	63

19.	Pengaruh Waktu Pemeliharaan Terhadap Laju pertumbuhan harian berat propagul <i>K. alvarezii</i> selama delapan minggu pemeliharaan.....	64
20.	Pengaruh Waktu Pemeliharaan Terhadap Laju pertumbuhan harian panjang propagul <i>K. alvarezii</i> selama delapan minggu pemeliharaan.....	64
21.	Pengaruh Interaksi Konsentrasi Media PES Cair dan Waktu Pemeliharaan terhadap Kandungan Klorofil a Propagul <i>K. alvarezii</i> Selama delapan minggu pemeliharaan.....	67
22.	Pengaruh Interaksi Konsentrasi Media PES Cair dan Waktu Pemeliharaan terhadap kandungan Fikoeritrin Propagul <i>K. alvarezii</i> Selama delapan minggu pemeliharaan.....	67
23.	Penyerapan nitrogen oleh propagul <i>K. alvarezii</i> pada perlakuan konsentrasi media PES cair 20 ml/L dan 40 ml/L selama delapan minggu pemeliharaan.....	72
24.	Penyerapan fosfor oleh propagul <i>K. alvarezii</i> pada perlakuan konsentrasi media PES cair 20 ml/L dan 40 ml/L selama delapan minggu pemeliharaan.....	73
25.	Persamaan hubungan kandungan klorofil a dan Pertumbuhan propagul <i>K. alvarezii</i> pada perlakuan interaksi konsentrasi media PES cair dan waktu Pemeliharaan (A = 20 ml/L dan B = 40 ml/L).....	74
26.	Pengaruh Interaksi Intensitas Cahaya dan Waktu Pemeliharaan terhadap Pertambahan Berat Propagul <i>K. alvarezii</i> Selama delapan minggu pemeliharaan.....	76
27.	Pengaruh Interaksi Intensitas Cahaya dan Waktu Pemeliharaan terhadap Pertambahan Panjang Propagul <i>K. alvarezii</i> Selama delapan minggu pemeliharaan.....	77
28.	Pengaruh Interaksi Intensitas Cahaya dan Waktu Pemeliharaan terhadap Pertumbuhan Harian (LPH) Berat Propagul <i>K. alvarezii</i> Selama delapan minggu pemeliharaan.....	79
29.	Pengaruh Intensitas Cahaya Terhadap Laju Pertumbuhan Harian (LPH) panjang propagul <i>K. alvarezii</i> selama delapan minggu pemeliharaan.....	80
30.	Pengaruh Waktu Pemeliharaan Terhadap Laju Pertumbuhan Harian (LPH) Panjang propagul <i>K. alvarezii</i> selama delapan minggu pemeliharaan.....	81
31.	Ilustrasi Pengaruh Intensitas Cahaya terhadap Proses Difusi Media PES cair.....	83

32.	Pengaruh Interaksi Intensitas Cahaya dan Waktu Pemeliharaan terhadap Kandungan Klorofil a Propagul <i>K. alvarezii</i> Selama delapan minggu pemeliharaan.....	85
33.	Pengaruh Interaksi Intensitas Cahaya dan Waktu Pemeliharaan terhadap Kandungan Fikoeritrin Propagul <i>K. alvarezii</i> Selama delapan minggu pemeliharaan.....	86
34.	Peranan Cahaya dalam Pembentukan Klorofil.....	89
35.	Persamaan hubungan kandungan klorofil a dan Pertumbuhan propagul <i>K. alvarezii</i> pada perlakuan interaksi intensitas cahaya dan waktu Pemeliharaan (A = 1300 lux dan B = 1900 lux).....	92
36.	Penyerapan nitrogen oleh propagul <i>K. alvarezii</i> pada berbagai perlakuan intensitas cahaya selama delapan minggu pemeliharaan.....	96
37.	Penyerapan fosfor oleh propagul <i>K. alvarezii</i> pada berbagai perlakuan intensitas cahaya selama delapan minggu pemeliharaan.....	97
38.	Pengaruh Interaksi Fotoperiod dan Waktu Pemeliharaan terhadap Pertambahan Berat Propagul <i>K. alvarezii</i> Selama delapan minggu pemeliharaan [A (6L : 18D), B (12L : 12D), C (24L : 0D), dan D (18L : 6D)].....	100
39.	Pengaruh Fotoperiod Terhadap Pertambahan panjang propagul <i>K. alvarezii</i> selama delapan minggu pemeliharaan.....	102
40.	Pengaruh Waktu Pemeliharaan Terhadap Pertambahan Panjang propagul <i>K. alvarezii</i> selama delapan minggu pemeliharaan.....	103
41.	Pengaruh Interaksi Fotoperiod dan Waktu Pemeliharaan terhadap Pertumbuhan Harian (LPH) Berat Propagul <i>K. alvarezii</i> Selama delapan minggu pemeliharaan.....	105
42.	Pengaruh Interaksi Fotoperiod dan Waktu Pemeliharaan terhadap Pertumbuhan Harian (LPH) Panjang Propagul <i>K. alvarezii</i> Selama delapan minggu pemeliharaan.....	105
43.	Korelasi antara Fotoperiod dengan Pertambahan Berat Propagul <i>K. alvarezii</i> Selama pemeliharaan delapan minggu.....	114
44.	Pengaruh Interaksi Fotoperiod dan Waktu Pemeliharaan terhadap Kandungan Klorofil a Propagul <i>K. alvarezii</i> Selama delapan minggu pemeliharaan [A (6L : 18D), B (12L : 12D), C (24L : 0D), dan D (18L : 6D)].....	118
45.	Korelasi antara Fotoperiod dengan Kandungan Klorofil a Propagul <i>K. alvarezii</i> Selama pemeliharaan delapan minggu.....	124

46.	Persamaan hubungan kandungan klorofil a dan Pertumbuhan propagul <i>K. alvarezii</i> pada perlakuan interaksi fotoperiode dan waktu Pemeliharaan [A (6L : 18D), B (12L : 12D), C (24L : 0D), dan D (18L : 6D)].....	127
47.	Pengaruh Interaksi Fotoperiod dan Waktu Pemeliharaan terhadap Kandungan Fikoeritrin Propagul <i>K. alvarezii</i> Selama delapan minggu pemeliharaan [A (6L : 18D), B (12L : 12D), C (24L : 0D), dan D (18L : 6D)].....	128
48.	Ratio fikoeritrin terhadap klorofil a (PE/Chl a) propagul <i>K. alvarezii</i> pada berbagai perlakuan fotoperiod [A (6L : 18D), B (12L : 12D), C (24L : 0D), dan D (18L : 6D)].....	131
49.	Korelasi antara Fotoperiod dengan Kandungan Klorofil a Propagul <i>K. alvarezii</i> Selama pemeliharaan delapan minggu	131
50.	Morfologi tallus <i>K. alvarezii</i> pada berbagai perlakuan fotoperiod [A (6L : 18D), B (12L : 12D), C (24L : 0D), dan D (18L : 6D)].....	132
51.	Hasil analisa klorofil a dengan TLC dari ekstrak kasar (X5 = ekstrak kasar, K = Standar) dengan fase gerak hexan : dietil eter : aseton (5 : 3 : 2, v/v).....	136
52.	Pola spektrum klorofil a pada panjang gelombang maksimum (A) Pola spektrum standar klorofil a, (B) Pola spektrum klorofil a hasil isolasi kromatografi kolom.....	137
53.	Kromatogram FTIR spektrometer klorofil a propagul <i>K. alvarezii</i> hasil isolasi dengan kromatografi kolom.....	138
54.	Kromatogram klorofil a hasil analisa dengan LCMS.....	139
55.	Bagan Alir hubungan antara media PES cair, Intensitas Cahaya dan Fotoperiode.....	141

DAFTAR LAMPIRAN

Lamp.	Judul	Hal.
1.	Hasil Analisis Pengaruh Konsentrasi Media PES Cair terhadap Pertambahan Berat Propagul <i>K. alvarezzi</i> Hasil Kultur Jaringan	163
2.	Hasil Analisis Pengaruh Konsentrasi Media PES Cair terhadap Pertambahan Panjang Propagul <i>K. alvarezzi</i> Hasil Kultur Jaringan	163
3.	<i>Analysis of Variance</i> (ANOVA) Pertambahan Berat Propagul <i>K. alvarezii</i> pada Berbagai Perlakuan Media PES cair	164
4.	<i>Analysis of Variance</i> (ANOVA) Pertambahan Panjang Propagul <i>K. alvarezii</i> pada Berbagai Perlakuan Media PES cair	164
5.	Hasil Analisis Pengaruh Konsentrasi Media PES Cair terhadap Laju Pertumbuhan Harian Berat Propagul <i>K. alvarezzi</i> Hasil Kultur Jaringan	165
6.	Hasil Analisis Pengaruh Konsentrasi Media PES Cair terhadap Laju Pertumbuhan Harian Panjang Propagul <i>K. alvarezzi</i> Hasil Kultur Jaringan	165
7.	<i>Analysis of Variance</i> (ANOVA) Laju Pertumbuhan Harian (LPH) Berat Propagul <i>K. alvarezii</i> pada Berbagai Perlakuan Media PES cair	166
8.	<i>Analysis of Variance</i> (ANOVA) Laju Pertumbuhan Harian (LPH) Panjang Propagul <i>K. alvarezii</i> pada Berbagai Perlakuan Media PES cair	166
9.	Hasil Analisis Pengaruh Konsentrasi Media PES Cair terhadap Kandungan Klorofil a Propagul <i>K. alvarezzi</i> Hasil Kultur Jaringan	167
10.	Hasil Analisis Pengaruh Konsentrasi Media PES Cair terhadap Kandungan Fikoeritrin Propagul <i>K. alvarezzi</i> Hasil Kultur Jaringan	167
11.	<i>Analysis of Variance</i> (ANOVA) Kandungan Klorofil a Propagul <i>K. alvarezii</i> pada Berbagai Perlakuan Media PES cair	168
12.	<i>Analysis of Variance</i> (ANOVA) Kandungan Fikoeritrin Propagul <i>K. alvarezii</i> pada Berbagai Perlakuan Media PES cair	168
13.	Hasil Analisis Pengaruh Intensitas Cahaya terhadap Pertambahan Berat Propagul <i>K. alvarezzi</i> Hasil Kultur Jaringan	169

14.	Hasil Analisis Pengaruh Intensitas Cahaya terhadap Pertambahan Panjang Propagul <i>K. alvarezii</i> Hasil Kultur Jaringan.....	169
15.	<i>Analysis of Variance</i> (ANOVA) Pertambahan Berat Propagul <i>K. alvarezii</i> pada Berbagai Perlakuan Intensitas Cahaya	170
16.	<i>Analysis of Variance</i> (ANOVA) Pertambahan Panjang Propagul <i>K. alvarezii</i> pada Berbagai Perlakuan Intensitas Cahaya	170
17.	Hasil Analisis Pengaruh Intensitas Cahaya terhadap Laju Pertumbuhan Harian Berat Propagul <i>K. alvarezii</i> Hasil Kultur Jaringan.....	171
18.	Hasil Analisis Pengaruh Intensitas Cahaya terhadap Laju Pertumbuhan Harian Panjang Propagul <i>K. alvarezii</i> Hasil Kultur Jaringan.....	171
19.	<i>Analysis of Variance</i> (ANOVA) Laju Pertumbuhan Harian (LPH) Berat Propagul <i>K. alvarezii</i> pada Berbagai Perlakuan Intensitas Cahaya	172
20.	<i>Analysis of Variance</i> (ANOVA) Laju Pertumbuhan Harian (LPH) Panjang Propagul <i>K. alvarezii</i> pada Berbagai Perlakuan Intensitas Cahaya.....	172
21.	Hasil Analisis Pengaruh Intensitas Cahaya terhadap Kandungan Klorofil a Propagul <i>K. alvarezii</i> Hasil Kultur Jaringan.....	173
22.	Hasil Analisis Pengaruh Intensitas Cahaya terhadap Kandungan Fikoeritrin Propagul <i>K. alvarezii</i> Hasil Kultur Jaringan.....	173
23.	<i>Analysis of Variance</i> (ANOVA) Kandungan Klorofil a Propagul <i>K. alvarezii</i> pada Berbagai Perlakuan Intensitas Cahaya.....	174
24.	<i>Analysis of Variance</i> (ANOVA) Kandungan Fikoeritrin Propagul <i>K. alvarezii</i> pada Berbagai Perlakuan Intensitas Cahaya.....	174
25.	Hasil Analisis Pengaruh Fotoperiod terhadap Pertambahan Berat Propagul <i>K. alvarezii</i> Hasil Kultur Jaringan.....	175
26.	Hasil Analisis Pengaruh Fotoperiod terhadap Pertambahan Panjang Propagul <i>K. Alvarezii</i> Hasil Kultur Jaringan.....	176
27.	<i>Analysis of Variance</i> (ANOVA) Pertambahan Berat Propagul <i>K. alvarezii</i> pada Berbagai Perlakuan Fotoperiod.....	177
28.	<i>Analysis of Variance</i> (ANOVA) Pertambahan Panjang Propagul <i>K. alvarezii</i> pada Berbagai Perlakuan Fotoperiod.....	177



29.	Hasil Analisis Pengaruh Fotoperiod terhadap Laju Pertumbuhan Harian Berat Propagul <i>K. alvarezzi</i> Hasil Kultur Jaringan.....	178
30.	Hasil Analisis Pengaruh Fotoperiod terhadap Laju Pertumbuhan Harian Panjang Propagul <i>K. alvarezzi</i> Hasil Kultur Jaringan.....	179
31.	<i>Analysis of Variance</i> (ANOVA) Laju Pertumbuhan Harian (LPH) Berat Propagul <i>K. alvarezii</i> pada Berbagai Perlakuan Fotoperiod.....	180
32.	<i>Analysis of Variance</i> (ANOVA) Laju Pertumbuhan Harian (LPH) Panjang Propagul <i>K. alvarezii</i> pada Berbagai Perlakuan Fotoperiod.....	180
33.	Hasil Analisis Pengaruh Fotoperiod terhadap Kandungan Klorofil a Propagul <i>K. alvarezzi</i> Hasil Kultur Jaringan.....	181
34.	Hasil Analisis Pengaruh Fotoperiod terhadap Kandungan Fikoeritrin Propagul <i>K. alvarezzi</i> Hasil Kultur Jaringan.....	182
35.	<i>Analysis of Variance</i> (ANOVA) Kandungan Klorofil a Propagul <i>K. alvarezii</i> pada Berbagai Perlakuan Fotoperiod.....	183
36.	<i>Analysis of Variance</i> (ANOVA) Kandungan Fikoeritrin Propagul <i>K. alvarezii</i> pada Berbagai Perlakuan Fotoperiod.....	183
37.	Diagram alir Preparasi Sampel <i>K. avarezii</i>	184
38.	Diagram Alir Analisa Kadar Air Sampel <i>K. alvarezii</i>	185
39.	Diagram Alir Pembuatan Saturasi Garam.....	186
40.	Diagram Alir Proses Ekstraksi Pigmen.....	187
41.	Diagram Alir Isolasi Pigmen Klorofil a.....	188
42.	Diagram Alir analisa Pigmen Klorofil a dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	189
43.	Diagram Alir analisa Pigmen Klorofil a dengan Spektrofotometer UV-Vis.....	190
44.	Perhitungan hasil Analisa Asam Glutamat dengan menggunakan HPLC.....	191
45.	Perhitungan Hasil Analisa Kadar Air.....	193
46.	Perhitungan Nilai Randemen Ekstrak Pigmen Klorofil a.....	194
47.	Standar pengukuran nitrogen pada rumput laut <i>Kappaphycus alvarezii</i> (Kjeldahl Method).....	196



48.	Prosedur analisa asam glutamat dengan HPLC.....	195
49.	Retention Time Hasil Analisis Ekstrak Klorofil a Propagul K. <i>alvarezzi</i> Hasil Kultur Jaringan dengan LCMS.....	197
50.	Dokumentasi Kegiatan Penelitian.....	198



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Rumput laut yang dikenal dengan nama ganggang atau *algae* (*seaweed*) merupakan salah satu komoditas strategis dalam program revitalisasi perikanan yang dicanangkan Kementerian Kelautan dan Perikanan. Luas areal budidaya rumput laut Indonesia mencapai 1.110.900 Ha dimana hidup sekitar 782 jenis rumput laut yang terdiri dari 196 *algae* hijau, 134 *algae* coklat, dan 452 *algae* merah (Biro Pusat Statistik, 2014). Rumput laut atau *algae* merupakan salah satu komoditas ekspor Indonesia yang diandalkan untuk pemasukkan devisa negara. Komoditas ini memiliki nilai ekonomis yang tinggi sebagai bahan makanan dan keperluan industri.

Produksi rumput laut untuk kebutuhan ekspor umumnya berasal dari *algae* merah (*Rhodophyceae*). Salah satu jenis rumput laut yang mempunyai potensi untuk dibudidayakan di Indonesia adalah *Kappaphycus alvarezii* yang dulu dikenal sebagai *Euचेuma cottonii*. Rumput laut *K. alvarezii* dewasa ini sedang giat dikembangkan oleh pemerintah melalui usaha budidaya karena selain dapat meningkatkan pendapatan nelayan juga menjadi sumber devisa negara. Peningkatan produksi rumput laut *K. alvarezii* ini memerlukan ketersediaan bibit secara berkesinambungan. Umumnya penyediaan bibit yang dilakukan oleh pembudidaya di Indonesia dengan cara seleksi rumpun yang mempunyai laju pertumbuhan harian tinggi pada beberapa generasi penanaman.

Selanjutnya bibit hasil seleksi diperbanyak dengan metode stek kemudian disebar ke pembudidaya rumput laut (Masak *et al.*, 2011).

Metode penyediaan bibit secara konvensional ini memiliki beberapa kelemahan diantaranya ketersediaan bibit yang sangat tergantung dari kondisi alam, adanya potensi penurunan kualitas rumput laut karena pemakaian bibit

yang berulang-ulang dalam beberapa kali siklus budidaya, umur bibit yang memenuhi standar dan tidak ada perbaikan kualitas bibit. Penggunaan bibit dari alam juga memiliki permasalahan pada variasi fisiologisnya seperti pertumbuhan dan kandungan agar. Budidaya rumput laut menggunakan bibit yang diproduksi secara vegetatif dari sisa hasil budidaya memungkinkan epifit, parasit atau patogen dari rumput laut hasil panen sebelumnya terbawa kembali pada siklus budidaya selanjutnya dan dapat mengakibatkan penurunan produksi. Salah satu solusi untuk mengatasi permasalahan dalam meningkatkan penyediaan bibit rumput laut *K. alvarezii* baik secara kualitas maupun kuantitas adalah dengan melakukan perbanyakan bibit melalui teknik kultur jaringan.

Kultur jaringan adalah salah satu teknik perbanyakan tanaman dengan cara mengisolasi bagian dari suatu tanaman (dalam rumput laut adalah *thallus*) serta menumbuhkan bagian-bagian tersebut dalam media buatan secara aseptik dalam wadah tertutup sehingga bagian tanaman dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman lengkap seperti induknya. Yokoya and Valentin (2011) mendefinisikan kultur jaringan atau kultur *in vitro* sebagai suatu metode kultur dalam kondisi aseptik dari suatu bagian organisme (eksplan) pada kondisi terkontrol dalam media kultur.

Penelitian kultur jaringan rumput laut pada spesies *E. cottonii* atau *K. alvarezii* secara *in vitro* selama beberapa dekade terakhir banyak memberikan penemuan baru dalam kegiatan budidaya rumput laut, seperti penemuan varietas unggul sebagai bibit dan produksi karaginan yang lebih baik (Hurtado *et al.*, 2014 ; Yong *et al.*, 2014 ; Yong *et al.*, 2015). Budidaya rumput laut melalui kultur jaringan banyak diadopsi dari tumbuhan tingkat tinggi (Reddy *et al.*, 2008 ; Baweja *et al.*, 2009 ; Yokoya and Valentin, 2011). Perbanyakan bibit melalui teknik kultur jaringan memiliki keunggulan dibandingkan melalui teknik stek pada umumnya, seperti tidak bergantung pada pengaruh musim, sifat bibit dari hasil

kultur jaringan identik dengan induknya, bisa diproduksi dalam jumlah yang banyak meskipun tempat terbatas, kualitas yang baik, dan relatif tersedia setiap saat. Selain itu menurut Reddy *et al.* (2003) rumput laut hasil kultur jaringan dapat tumbuh 1,5 sampai 1,8 kali lebih cepat dibandingkan rumput laut dari hasil penanaman di laut.

Kegiatan kultur jaringan terdiri atas beberapa tahapan, salah satunya adalah regenerasi mikropropagul menjadi propagul (plantlet). Tujuan dari tahap ini adalah untuk menumbuhkan mikropropagul yang dihasilkan dari tahap sebelumnya menjadi propagul (plantlet) yang siap untuk diaklimatisasi secara *ex vitro* di akuarium sebelum penanaman di laut. Permasalahan yang banyak dihadapi pada tahap ini adalah resiko kematian mikropropagul selama pemeliharaan dan resiko kematian plantlet pada saat aklimatisasi di akuarium yang menyebabkan sehingga produksi bibit *K. alvarezii* untuk perbanyakan di laut menjadi menurun. Salah satu faktor yang mempengaruhi adalah pertumbuhan propagul, dimana propagul yang mengalami peningkatan berat/panjang biasanya memiliki tingkat ketahanan hidup yang tinggi sampai dengan tahap perbanyakan di laut. Sementara itu, pertumbuhan sangat dipengaruhi oleh nutrisi dan cahaya. Dalam kultur jaringan nutrisi dan cahaya berhubungan dengan teknik/metode kultur yang meliputi pencahayaan dan media kultur.

Cahaya sangat mempengaruhi pertumbuhan rumput laut dan distribusinya karena cahaya sangat diperlukan untuk proses fotosintesis. Proses fotosintesis akan terjadi tidak hanya dengan cahaya saja, tapi juga dengan bantuan klorofil.

Klorofil *a* merupakan pigmen utama yang terdapat pada hampir semua organisme fotosintetik oksigenik, terletak pada pusat reaksi dan bagian tengah antena, berfungsi sebagai penangkap cahaya yang utama dalam proses fotosintesis. Oleh karena itu, pigmen ini menjadi penting bagi pertahanan hidup

rumpun laut atau untuk berkompetisi dengan organisme lain dalam sebuah habitat tertentu (Ming-Li *et al.*, 2010). Keberadaan klorofil *a* pada rumput laut dilengkapi dengan pigmen pendukung (aksesori) yaitu klorofil *b*, *c*, atau *d* dan karotenoid yang berfungsi melindungi klorofil *a* dari fotooksidasi (Scholes., 2011). Adanya morfologi warna thallus *K. alvarezii*, yakni coklat, hijau dan merah akibat komposisi pigmen yang berbeda menyebabkan spektra absorpsi utama panjang gelombang cahaya yang diserap pun bervariasi sehingga mempengaruhi karakteristik fotosintesis, pertumbuhan dan kandungan karaginan (Parenrengi *et al.*, 2006 ; Hayashi *et al.*, 2008 ; Juneja *et al.*, 2013).

Proses fotosintesis pada *K. alvarezii* tidak hanya menggunakan pigmen klorofil saja tetapi terdapat pigmen pelengkap yang juga berperan penting dalam proses fotosintesis tersebut. Fikobiliprotein, merupakan pigmen yang mempunyai peran besar sebagai pigmen aksesori atau pelengkap selama proses fotosintesis *K. alvarezii* (Chakdar *et al.*, 2012). Struktur dan komposisinya sangat bermacam-macam yang terdapat pada *Cyanobacteria*, alga merah (*Rhodophyta*), *Cryptomonas* dan beberapa *Pyrrophyceae* (Niu *et al.*, 2006 ; Guan *et al.*, 2007). Fikoeritrin (PE) adalah salah satu fikobiliprotein yang merupakan pigmen paling dominan pada alga merah dibandingkan dengan pigmen lainnya. Fikoeritrin dapat menutupi warna hijau dari klorofil dan warna biru dari fikosianin sehingga menyebabkan warna thallus pada alga berwarna merah. Alga merah mempunyai kemampuan adaptasi kromatik, yaitu penyesuaian warna thallus berdasarkan kualitas pencahayaan yang diterima.

Penelitian tentang pigmen fotosintesis pada rumput laut merah telah dilakukan (Reeta and Kulandaivelu, 2000 ; Aguilera *et al.*, 2002 ; Gudrun and Wincke, 2005 ; Lee, 2008 ; Merdekawati, 2009 ; Naguit and Tisera, 2009 ; Sarojini and Narayanan, 2009 ; Schmidt *et al.*, 2010 ; Vanitha and Chandra, 2012) Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa warna thallus *K. alvarezii* yang

bervariasi disebabkan karena adanya komposisi pigmen yang terdiri dari klorofil a, klorofil d dan fikobiliprotein. Sementara presentase kandungan pigmen pada *K. alvarezii* adalah klorofil a (74,92%), turunan klorofil a (16,42%), karoten (0,95%), xantofil (0,73%) dan lutein (6,99%).

Faktor lain yang juga dibutuhkan dalam kultur jaringan adalah nutrisi. Harrison and Hurd (2001) menyatakan bahwa pertumbuhan dan perkembangan rumput laut membutuhkan kualitas cahaya serta nutrisi yang cukup seperti nitrat dan fosfat. Nitrat dan fosfat diperlukan sebagai bahan dasar penyusun protein dan pembentukan klorofil dalam proses fotosintesis. Nitrat dan fosfat dapat berasal dari media kultur. Kim *et al.* (2007) menyatakan bahwa sintesis klorofil a dan fikokieritrin memerlukan N.

Berdasarkan uraian di atas maka secara umum kandungan klorofil a dan fikokieritrin dapat mempengaruhi pertumbuhan propagul *K. alvarezii*. Jika penyerapan cahaya yang dilakukan klorofil a dan fikokieritrin mencukupi maka proses fotosintesis akan berlangsung optimal sehingga pertumbuhan rumput laut dapat meningkat. Sementara itu setiap proses pertumbuhan dan pembentukan klorofil a akan membutuhkan nutrisi.

Penelitian sebelumnya yang berfokus pada kultur jaringan rumput laut *K. alvarezii* cukup banyak yang sudah dikembangkan oleh peneliti, tetapi luaran yang dihasilkan masih terbatas pada pengaruh media kultur, intensitas cahaya, fotoperiode, hormon dan faktor lingkungan seperti salinitas, pH secara parsial terhadap pertumbuhan dan sintasan rumput laut *K. alvarezii* (Arisandi *et al* 2011 ; Yong *et al.*, 2011 ; Mulyaingrum *et al.*, 2012 ; Sulistiani *et al.*, 2012 ; Suryati *et al.*, 2015 dan Suryati *et al.*, 2016). Belum banyak yang mengkaji pertumbuhan propagul *K. alvarezii* dalam hubungannya dengan kandungan klorofil a dan fikokieritrin secara terintegrasi dengan media kultur, intensitas cahaya dan fotoperiode sehingga capaian hasil belum maksimal.

Oleh karena itu untuk memaksimalkan capaian hasil dalam kegiatan kultur jaringan rumput laut *K. alvarezii* secara keseluruhan maka penelitian “Rekayasa Pertumbuhan Propagul Rumput Laut *K. alvarezii* Melalui Teknik Kultur Jaringan” ini sangat perlu dilakukan sehingga diharapkan dapat memberikan solusi dalam penyediaan bibit rumput laut *K. alvarezii* yang berkualitas tinggi dan berkesinambungan dalam skala besar serta dapat mendukung peningkatan budidaya rumput laut dewasa ini.

1.2. Perumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas maka perumusan masalah dari penelitian adalah sebagai berikut :

1. Bagaimana pengaruh interaksi konsentrasi media PES cair dan waktu pemeliharaan berbeda terhadap kandungan klorofil a dan fikokieritrin serta pertumbuhan propagul *K. alvarezii* melalui kultur jaringan
2. Bagaimana pengaruh interaksi intensitas cahaya dan waktu pemeliharaan berbeda terhadap kandungan klorofil a dan fikokieritrin serta pertumbuhan propagul *K. alvarezii* melalui kultur jaringan
3. Bagaimana pengaruh interaksi fotoperiod (lama penyinaran) dan waktu pemeliharaan berbeda terhadap kandungan klorofil a dan fikokieritrin serta pertumbuhan propagul *K. alvarezii* melalui kultur jaringan

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian adalah :

1. Menjelaskan pengaruh interaksi konsentrasi media PES cair dan waktu pemeliharaan berbeda terhadap kandungan klorofil a dan fikokieritrin serta pertumbuhan propagul *K. alvarezii* melalui kultur jaringan
2. Menjelaskan pengaruh interaksi intensitas cahaya dan waktu pemeliharaan

berbeda terhadap kandungan klorofil a dan fikoeritrin serta pertumbuhan propagul *K. alvarezii* melalui kultur jaringan

3. Menjelaskan pengaruh interaksi fotoperiod (lama penyinaran) dan waktu pemeliharaan berbeda terhadap kandungan klorofil a dan fikoeritrin serta pertumbuhan propagul *K. alvarezii* melalui kultur jaringan

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi tambahan informasi untuk pengembangan ilmu pengetahuan yang sangat mendasar dalam budidaya rumput laut *K. alvarezii*.

1.4.2. Manfaat Praktis

Luaran hasil penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan produksi bibit rumput laut *K. alvarezii* baik secara kuantitas maupun kualitas melalui teknik kultur jaringan dengan merekayasa pertumbuhan propagul *K. alvarezii* menggunakan manipulasi media kultur, intensitas cahaya dan fotoperiod yang dapat meningkatkan kandungan klorofil a dan fikoeritrin.

BAB 2.
TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii*

Klasifikasi *Eucheuma cottonii* / *Kappaphycus alvarezii* menurut Anggadiredja et al. (2007) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Divisio : Rhodophyta

Clasis : Rhodophyceae

Ordo : Gigartinales

Familia : Solieraceae

Genus : *Eucheuma*

Species : *Kappaphycus alvarezii* (*Eucheuma cottonii*)

Eucheuma spinosum

Morfologi rumput laut *K. alvarezii* mempunyai permukaan licin, *cartilogeneus* (lunak seperti tulang rawan), thalli (kerangka tubuh) bulat silindris atau gepeng, warnanya merah, abu-abu, kuning dan hijau, bercabang berselang tidak teratur. *dichotomous* atau *trichotomous*, mempunyai benjolan (*blunt nodule*) dan duri-duri (*spnes*) serta substansi thalli lunak seperti tulang rawan (Aslan, 1998) (Gambar 1.).



Gambar 1. Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii* / *Eucheuma cottonii* (Dokumentasi Pribadi, 2018)

Pada umumnya *K. alvarezii* tumbuh dengan baik di daerah pantai terumbu (reef). Habitat khasnya adalah daerah yang memperoleh aliran air laut yang tetap, kebanyakan tumbuh di daerah pasang surut (intertidal) atau pada daerah yang selalu terendam (subtidal) kedalaman air pada waktu surut terendah adalah 10-30 cm, variasi suhu harian yang kecil dan substrat batu karang mati, karang hidup, batu gamping atau cangkang molusca. Pertumbuhan dan reproduksi dari *K. alvarezii* sangat dipengaruhi oleh kondisi perairan di sekitarnya. Faktor lingkungan yang berpengaruh adalah suhu, cahaya, salinitas, gerakan air, nutrisi (nitrat dan fosfat) serta kedalaman (Rasyid, 2005).

Jaringan rumput laut terdiri atas epidermis, lapisan pseudoparenkim (korteks luar dan korteks dalam) dan medulla. Epidermis berada pada lapisan paling luar dan berfungsi untuk melindungi jaringan yang berada di dalamnya. Terdiri atas selapis sel yang letaknya rapat sehingga tidak terdapat ruangan-ruangan antar sel di dalamnya. Lapisan pseudoparenkim pada rumput laut terdiri atas dua lapisan, yaitu korteks luar dan korteks dalam. Korteks terletak di bawah epidermis tersusun atas beberapa lapis sel yang tidak teratur dan banyak ruang antar sel yang berfungsi untuk pertukaran udara dan sebagai tempay cadangan makan. Medulla merupakan lapisan paling dalam yang merupakan pusat thallus, berukuran kecil dan bentuknya bulat (Lestari, 2007).

Dinding sel rumput laut terdiri dari selulosa dan polisakarida berupa agar, karagenan dan alginat. Thallus rumput laut menunjukkan keanekaragaman yang sangat besar, tetapi semua selnya selalu jelas mempunyai inti dan plastida. Pada plastid terdapat zat-zat warna derivat klorofil dan zat-zat warna lain yang justru terkadang lebih menonjol dan menyebabkan kelompok-kelompok alga diberi nama menurut warna. Plastida berbentuk seperti butiran, umumnya terdapat dalam sitoplasma di luar inti sel. Butiran-butiran plastida mempunyai bentuk

bervariasi tergantung tipe selnya. Inti sel berfungsi sebagai pusat segala proses yang berlangsung di dalam sel (Lobban and Harrison, 1994).

2.2. Fotosintesis

Proses fotosintesis memegang peranan kunci dalam siklus hidup tanaman.

Proses ini terdiri dari tiga bagian yang terpisah, yaitu : (1) reaksi terang, dimana energi radiasi diabsorpsi dan digunakan untuk menghasilkan senyawa berenergi tinggi ATP dan NADPH, (2) reaksi gelap, meliputi reduksi biokimia CO₂ menjadi gula menggunakan senyawa berenergi tinggi yang dihasilkan pada reaksi terang, dan (3) suplai CO₂ dari udara ke tempat reduksi di kloroplas (Malkin dan Niyogi, 2000).

Reaksi terang merupakan reaksi penangkapan energi cahaya. Energi cahaya yang diserap oleh membran tilakoid akan menaikkan elektron berenergi rendah yang berasal dari H₂O. Elektron-elektron bergerak dari klorofil a menuju sistem transpor elektron yang menghasilkan ATP (dari ADP + P). Elektron-elektron berenergi ini juga ditangkap oleh NADP⁺. Setelah menerima elektron, NADP⁺ segera berubah menjadi NADPH. Molekul-molekul ini (ATP dan NADPH) menyimpan energi untuk sementara waktu dalam bentuk elektron berenergi yang akan digunakan untuk mereduksi CO₂. Reaksi terang melibatkan dua jenis fotosistem, yaitu fotosistem I dan fotosistem II (Campbell, 2008).

Fotosistem I terdiri atas klorofil a dan pigmen tambahan yang menyerap kuat energi cahaya dengan panjang gelombang 700 nm sehingga sering disebut P700. Sementara itu, fotosistem II tersusun atas klorofil a yang menyerap kuat energi cahaya dengan panjang gelombang 680 nm sehingga sering disebut P680. Ketika suatu molekul pigmen menyerap energi cahaya, energi itu dilewatkan dari suatu molekul pigmen ke molekul pigmen lainnya hingga mencapai pusat reaksi. Setelah energi sampai di P700 atau di P680 pada pusat

reaksi, sebuah elektron kemudian dilepaskan menuju tingkat energi lebih tinggi.

Elektron berenergi ini akan disumbangkan ke akseptor elektron. Dalam reaksi terang, terdapat 2 jalur perjalanan elektron, yaitu jalur elektron siklik dan jalur elektron nonsiklik (Richmond, 2004).

Reaksi gelap adalah tahapan reaksi fotosintesis yang tidak bergantung pada cahaya matahari. Reaksi gelap disebut juga Siklus Calvin-Benson. Hal yang dibutuhkan dalam reaksi gelap adalah ATP dan NADPH yang berasal dari reaksi terang serta molekul CO₂. Tempat terjadinya reaksi gelap di stroma. Siklus

Calvin memiliki 5 reaksi yang terbagi dalam 3 fase yakni: *karboksilasi*, *reduksi*, dan *regenerasi*. Fase 1: Karboksilasi. Siklus ini memasukkan molekul CO₂ dengan menautkannya pada gula dengan 5 karbon yang disebut ribulosa bisfosfat (disingkat RuBP). Enzim yang mengkatalis adalah RuBP karboksilase (rubisko) Produk reaksi ini ialah molekul berkarbon enam (6-C) yang tidak stabil yang kemudian membentuk dua molekul 3-fosfoglisarat (PG). Fase 2: Reduksi.

Masing-masing molekul 3-fosfoglisarat menerima gugus fosfat baru yang berasal dari ATP. sehingga terbentuk 1,3-bisfosfoglisarat. Selanjutnya 1,3-bisfosfoglisarat mengalami reduksi dengan cara mendapatkan sumbangan sepasang elektron dari NADPH menjadi 12 molekul Fosfogliseraldehida (PGAL).

PGAL memiliki energi potensial dimana 10 molekul PGAL digunakan untuk reaksi di fase ketiga (regenasi) dan sisanya digunakan untuk bahan baku glukosa dan karbohidrat yang lain seperti amilum/pati, sukrosa, dll. Fase 3:

Regenerasi. 10 molekul PGAL disusun menjadi RuBP dengan penambahan fosfat dari ATP yang digunakan untuk siklus selanjutnya (Campbell, 2008).

2.3. Klorofil a

2.3.1. Sifat Fisikokimia Klorofil a

Klorofil merupakan pigmen utama yang berperan dalam proses fotosintesis dengan menyerap dan menggunakan energi cahaya matahari untuk mensintesis oksigen dan karbohidrat yang dibutuhkan sebagai nutrisi alga. Klorofil merupakan pigmen pembawa warna hijau. Struktur dasar klorofil adalah porfirin, dimana atom nitrogen pada keempat cincin pirol dalam makrosiklik membentuk ikatan kovalen dengan ion Mg^{2+} yang merupakan pusat dari molekul klorofil (Scheer, 2006).

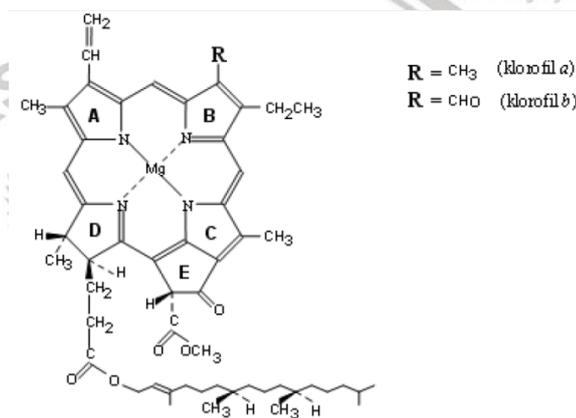
Klorofil bertindak untuk menarik elektron dari cahaya matahari agar terjadi fotosintesis. Struktur kimianya sama dengan heme, suatu senyawa cincin pada haemoglobin, dimana poros Fe pada heme digantikan oleh Mg. Klorofil bertindak sebagai pengabsorpsi energi dari sinar matahari sehingga ia berubah menjadi molekul yang berenergi tinggi, yang dapat melepaskan electron dari molekul air dan proton dari oksigen. Reaksi kimia fotosintesis adalah sebagai berikut :



Molekul klorofil terdiri dari sebuah porfirin sebagai kepala, yang bersifat polar (larut dalam air), yang terbentuk dari cincin tetrapirrol dengan sebuah atom Mg dan sebuah fitol sebagai ekor. Klorofil a merupakan klorofil dengan warna hijau kebiruan dengan susunan kimia $C_{55}H_{72}MgN_4O_5$. Pada susunan klorofil a, atom logam Mg akan diikat dengan N dari 2 cincin pirol dengan ikatan kovalen biasa serta oleh 2 atom N dari cincin pirol lainnya dengan ikatan kovalen koordinat di mana N dari pirol yang akan menyumbangkan pasangan elektronnya untuk dipakai bersama dengan Mg. Pada klorofil jenis ini terjadi substitusi metil pada posisi 1, 3, 5 dan 8, vinil pada posisi 2, etil pada posisi 4, propionat yang

diesterifikasi dengan fitil alkohol (fitol) pada posisi 7, keto pada posisi 9 dan karbometoksi pada posisi 10 (Gambar 2) (Hsu *et al.*, 2013)

Sedangkan klorofil b merupakan klorofil dengan warna hijau kekuningan dengan susunan kimia $C_{55}H_{70}MgN_4O_6$. Klorofil jenis ini memiliki struktur yang sama dengan klorofil-a, kecuali pada posisi 3 terdapat gugus formil, bukan gugus metil yang dimiliki klorofil a (Gambar 2) (Hsu *et al.*, 2013). Perbedaan kedua klorofil ini terletak pada jumlah atom H dan O. Klorofil a mengabsorpsi cahaya gelombang panjang dan sedikit gelombang pendek. Klorofil b hanya mengabsorpsi cahaya pada gelombang pendek (Riyono, 2007).

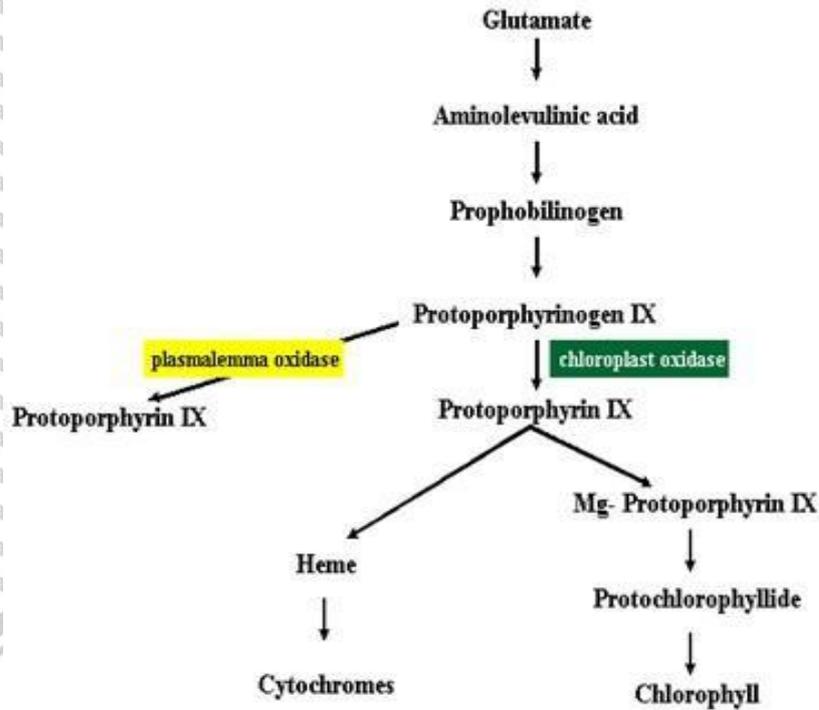


Gambar 2. Struktur Molekul Klorofil (Kusmita dan Limantara, 2009).

Klorofil a merupakan pigmen utama yang terdapat pada hampir semua organisme fotosintetik oksigenik terletak pada pusat reaksi dan bagian tengah antena. Klorofil a merupakan pigmen utama yang bertanggung jawab terhadap proses fotosintesis. Oleh karena itu, pigmen ini menjadi penting bagi pertahanan hidup rumput laut atau untuk berkompetisi dengan organisme lain dalam sebuah habitat tertentu (Pepe *et al.*, 2001). Keberadaan klorofil a pada rumput laut dilengkapi dengan pigmen pendukung (aksesori) yaitu klorofil b, c, atau d dan karotenoid yang berfungsi melindungi klorofil a dari fotooksidasi (Riyono, 2007).

2.3.2. Biosintesis Klorofil

Biosintesis klorofil merupakan salah satu jalur metabolit primer pada tumbuhan (Rudiger, 2002). Mekanisme pembentukan klorofil dapat dilihat pada Gambar 3. Sintesis klorofil diawali dengan pembentukan asam α aminolevulinat (ALA) (Galova *et al.*, 2008). Pembentukan ALA melalui jalur glutamat, yaitu melalui tahapan pembentukan glutamat t-RNA dari glutamat kemudian diubah menjadi semialdehid selanjutnya menjadi α ketoglutaldehyd untuk kemudian dengan enzim transaminase atau enzim amino transferasi terbentuklah ALA (Daood, 2003). Dari dua molekul ALA dengan melibatkan enzim ALA dehidrase akan terbentuk porfobilinogen (PBG) yang mengandung cincin pirol dari 4 molekul PBG dengan melibatkan enzim uroporfirinogen III. Setelah terbentuk porfobilinogen kemudian terbentuk hidroksimetilbilane. Pembentukan hidroksimetilbilane pada biosintesis klorofil dimana porfobilinogen akan berikatan dengan H_2O dengan bantuan enzim hidroksimetilbilan sintetase. Hidroksimetilbilan akan membentuk uroporfirinogen III dengan bantuan enzim uroporfirinogen III synthase. Uroporfirinogen III dekarboksilase dan H_2O mengubah uroporfirinogen III dibawah kondisi aerob membentuk caproporfirinogen III. Selanjutnya akan membentuk proporfirinogen IX. Oksidasi terhadap proporfirinogen IX akan menghasilkan protoporfirin IX yang belum memiliki Mg. Protoporfirin IX kemudian bergabung dengan Mg^{2+} dan H_2O akan membentuk Mg-protoporfirin IX dengan bantuan enzim Mg-chelatase. Penambahan gugus metil pada Mg-protoporfirin IX dengan bantuan Mg-protoporfirin IX metiltransferase akan membentuk Mg-protoporfirin IX monometil ester. Selanjutnya adalah perubahan Mg-protoporfirin IX monometil ester menjadi protoklorofilide (Baishnab and Pattanayak, 2012) (Gambar 3.)

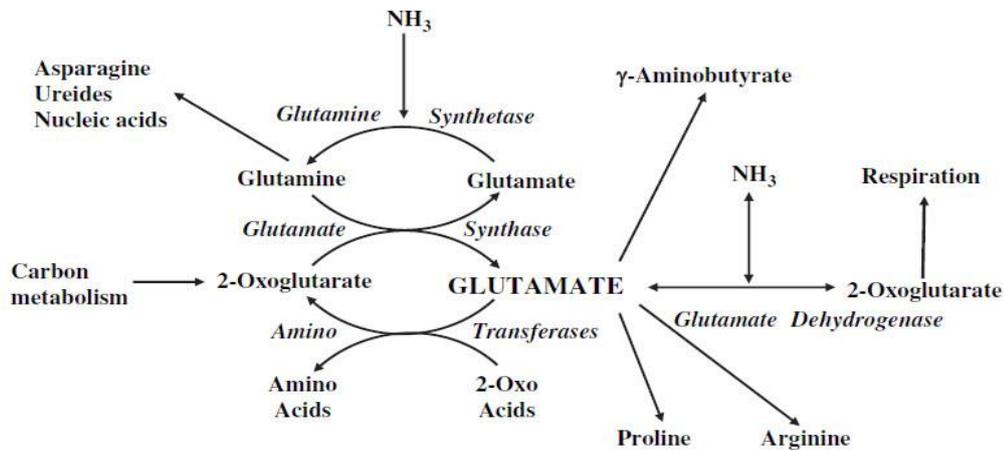


Gambar 3. Mekanisme Pembentukan Klorofil

Perubahan protoklorofilide menjadi korofil a terjadi melalui terbentuknya protoklorofilide holokrome yang berikatan dengan protein mengikat ion $2H^+$. Dua ion tersebut disumbangkan pada cincin keempat sehingga terbentuklah protoklorofili a holokrome, yang selanjutnya dapat berubah menjadi klorofil a dengan melepaskan holokrome bersama apoprotein (Daood, 2003). Dari klorofil a dengan bantuan enzim klorofilase yang mengkatalisis esterifikasi senyawa fitol akan terbentuk klorofil a. Pembentukan klorofil b dimungkinkan dari klorofil a yang mengalami oksidasi gugus metil pada cincin keduanya menjadi gugus aldehid ataupun dimungkinkan dari senyawa porfirin yang dapat diubah menjadi klorofil a maupun klorofil b (Rudiger, 2002).

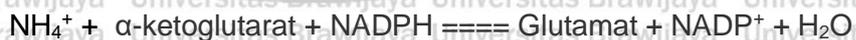
Glutamat merupakan salah satu prekursor dalam biosintesis asam amino yang berperan penting dalam reaksi pembentukan asam-asam amino lainnya (Mifflin *et al.*, 2001). (Gambar 4.). Glutamat juga merupakan precursor dari

sintesis klorofil pada perkembangan daun. Pada penelitian mengenai efek glutamat pada perkembangan akar dan cabang *Arabidopsis* dilaporkan bahwa ketika L-glutamat berada pada konsentrasi rendah di akar terjadi mekanisme inhibisi dari perkembangan akar utama dan kenaikan percabangan akar dekat apeks akar (Forde dan Lea, 2007).



Gambar 4. Jalur Sintesis Glutamat dan Metabolisme Pada Tumbuhan

Glutamat dibentuk dari ammonia dan α-ketoglutarat, suatu senyawa antara siklus asam sitrat, melalui kerja L-glutamat dehidrogenase (GDH). α-ketoglutarat dan ammonia membentuk glutamat dengan bantuan tenaga pereduksi, yaitu NADPH. Ini merupakan dasar penting dalam biosintesis asam amino karena glutamat merupakan donor gugus amino dalam biosintesis asam amino yang lain melalui reaksi transaminase (Bowsher *et al.*, 2007).



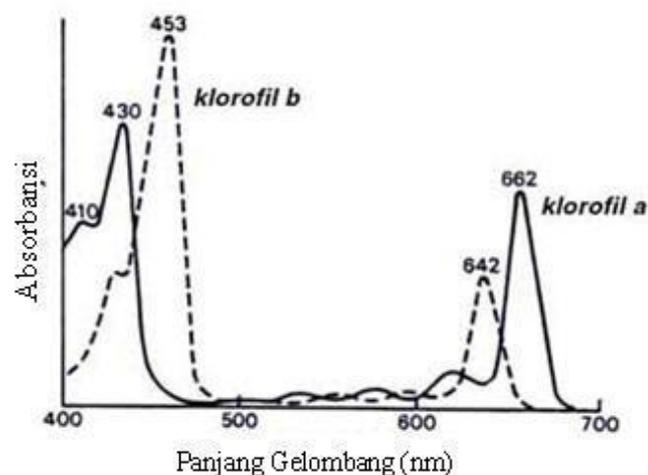
2.3.3. Interaksi Klorofil dengan Cahaya

Ketika cahaya mengenai materi, cahaya itu dapat dipantulkan, diteruskan (ditransmisi) atau diserap (diabsorpsi). Pigmen tertentu akan menyerap cahaya dengan panjang gelombang tertentu dan cahaya yang diserap akan hilang

dengan melepaskan panas. Jika suatu pigmen disinari dengan cahaya putih, warna yang terlihat adalah warna yang dipantulkan atau diteruskan oleh pigmen yang bersangkutan (Sumaryanti *et al.*, 2011).

Pigmen klorofil menyerap lebih banyak cahaya tampak pada warna biru (400 – 450 nm) dan merah (650 – 700 nm) dibandingkan hijau (500 – 600 nm).

Tumbuhan dapat memperoleh seluruh kebutuhan energy mereka dari spectrum merah dan biru di dalam wilayah spectrum cahaya tampak dan pada wilayah antara 500 – 600 nm sangat sedikit cahaya yang diserap. Jadi, warna hijau pada daun disebabkan karena klorofil menyerap cahaya merah dan biru serta meneruskan dan memantulkan cahaya hijau (Larkum and Kuhl, 2005)



Gambar 5. Spektum Absorbansi Klorofil a dan Klorofil b

Spektum absorpsi klorofil a dan b ditunjukkan pada Gambar 5. Spektum absorpsi untuk klorofil a menunjukkan keefektifan relative panjang gelombang yang berbeda dalam menggerakkan fotosintesis, karena cahaya dapat bekerja dalam kloroplas hanya jika ia diserap. Klorofil a yang dapat berperan serta secara langsung dalam reaksi terang, yang mengubah energi matahari menjadi energi kimiawi, tetapi pigmen lain dalam membrane tilakoid dapat menyerap

cahaya dan mentransfer energinya ke klorofil a pada reaksi terang. Salah satu pigmen aksesoris ini adalah bentuk klorofil yang lain, yaitu klorofil b.

Klorofil b hampir sama dengan klorofil a, hanya terdapat perbedaan struktur kimia diantara keduanya. Perbedaan struktur kimia inilah yang membuat kedua pigmen tersebut mempunyai spectra absorpsi yang berbeda sehingga warnanya juga berbeda. Klorofil a berwarna hijau biru sementara klorofil b berwarna kuning hijau. Ketika foton cahaya matahari diserap oleh klorofil b, energy disalurkan ke klorofil a sehingga seolah-olah klorofil inilah yang telah menyerap foton tersebut (Larkum and Kuhl, 2005).

Pigmen aksesoris lainnya adalah karotenoid, yakni hidrokarbon yang mempunyai warna campuran kuning dan jingga. Dalam menjalankan fungsinya, klorofil dibantu oleh karotenoid yang menyerap cahaya pada daerah yang tidak diserap oleh molekul klorofil, kemudian mentransfer energi cahaya tersebut melalui tahapan singlet-singlet kepada klorofil (Wang *et al.*, 2004). Disamping memanen cahaya, karotenoid juga memiliki peran ganda lain yakni melindungi klorofil dari energi cahaya berlebihan, serta memburu dan memadamkan oksigen singlet yang membahayakan molekul klorofil bahkan sel (Fiedor *et al.*, 2001; Wang *et al.*, 2004; Scheer 2006).

2.3.4. Pengaruh Spektrum Cahaya Terhadap Klorofil

Salah satu faktor utama pembentukan klorofil adalah cahaya, yang meliputi intensitas, kualitas spektrum dan fotoperiode. Intensitas cahaya berperan sangat penting, tetapi kebutuhan intensitasnya tergantung dari jenis alga yang dikultur dan kepadatan alga yang dikultur (Tsekos *et al.*, 2002). Warna cahaya juga memiliki peranan penting dalam proses fotosintesis, karena selama proses fotosintesis klorofil akan meneruskan warna cahaya yang spesifik yaitu sebagian besar spektrum biru 450-475 nm dan spektrum merah dengan panjang

gelombang 630-675 nm (Richmond, 2004). Menurut Marchetti *et al.* (2013) warna cahaya merah dan biru dapat meningkatkan klorofil a dan protein dari *Dunaliella* dan *Thalassiosira*. Cahaya biru juga dapat meningkatkan kandungan klorofil a dari *Nitzschia* sp. dibanding pemberian cahaya putih (Mecardo *et al.*, 2004).

Klorofil a sangat baik menyerap spektrum merah. Spektrum merah dengan panjang gelombang 630-675 nm ini nanti dimanfaatkan untuk menghasilkan energi dalam proses fotosistem I dan fotosistem II. Cahaya yang dapat dimanfaatkan untuk proses fotosintesis ini disebut dengan *Photosynthetically Active Radiation* (Alados *et al.*, 2003).

Spektrum merah dapat diserap maksimal untuk pembentukan klorofil a dan klorofil b *Spirulina* sp. karena tiap organisme memiliki spektrum absorpsi cahaya yang berbeda (Mercado *et al.*, 2004). Foton atau energi cahaya yang ditangkap oleh molekul klorofil akan menyebabkan perubahan kondisi molekul klorofil dari *ground state* ke *excitation state*. Selama perubahan kondisi tersebut molekul klorofil butuh energi yang seimbang dan diambil dari foton yang ditangkap oleh molekul klorofil.

Spektrum merah yang diserap maksimal akan menghasilkan energi yang juga optimal sehingga dapat mensintesis ATP. ATP hasil dari fotosistem I ini nanti akan dibantu dengan foton yang berasal dari panjang gelombang 700 nm (spektrum merah) menghasilkan NADPH (Richmond, 2004). NADPH yang terbentuk berperan dalam proses sintesis klorofil, diduga hal tersebut menyebabkan semakin meningkatkan kandungan klorofil.

2.3.5. Peranan Unsur Hara Terhadap Pembentukan Klorofil

Tumbuhan memerlukan sejumlah nutrisi untuk menopang hidup dan pertumbuhannya. Kebutuhan hara harus dapat dipenuhi baik dari segi kisan

kadar, macam dan keseimbangannya. Tumbuhan membutuhkan unsur makro dan mikro dalam jumlah tertentu yang bervariasi tergantung jenis dan tingkat kebutuhan aktivitasnya. Bila ketersediaan hara yang dibutuhkan kurang dari kisaran minimalnya maka akan menimbulkan defisiensi. Sebaliknya, berlebihan hara juga akan mengganggu aktivitas fisiologis tanaman. Pemenuhan berbagai hara harus ada keseimbangan sehingga mampu menopang hidup tumbuhan (Brady and Weill, 2002)

Unsur-unsur makro yang sangat dibutuhkan tumbuhan meliputi C, H, O, N, S, P, Mg, K dan Ca, sedangkan unsur mikronya meliputi Mn, Cu, Mo, Zn, dan Fe.

Unsur N sangat dibutuhkan untuk pertumbuhan vegetatif, karena N sebagai unsur pembentuk protein, enzim dan asam nukleat. Unsur fosfor (P) sangat dibutuhkan untuk pertumbuhan vegetatif dan memacu perbungaan. Fosfor dan kalium (K) sangat berperan dalam memacu perbungaan dan pemasakan buah.

Zat magnesium (Mg) dan besi (Fe) sangat dibutuhkan dalam pembentukan klorofil. Mg juga berperan sebagai kofaktor beberapa jenis enzim metabolisme.

Sulfur dan fosfor berperan dalam produksi energi ATP. Mangan (Mn) membantu dalam pembentukan klorofil dan penyerapan nitrogen. Boron (Bo) membantu pertumbuhan jaringan meristem. Zeng (Zn) juga dibutuhkan dalam biosintesis auxin. Sedang molibdenum (Mo) berperan membantu pengikatan nitrogen (N₂) oleh bakteri zat lemas (Mengel, 2001)

Berkaitan dengan unsur hara maka kegagalan sintesis klorofil dapat disebabkan oleh : 1) Kekurangan senyawa dasar sebagai prazatnya, 2)

Kekurangan N sebagai unsur utama pembentuk asam amino dan cincin pirol klorofil, 3) Kekurangan mineral tertentu sebagai pemacu / aktivator enzim yang mengkatalisis biosintesis klorofil seperti Fe dan Mn, atau 4) kekurangan Mg sebagai inti cincin pirol. Pengaruh faktor-faktor tersebut dapat bersifat langsung

maupun tidak langsung terhadap gagalnya pembentukan klorofil (Gogorcena *et al.*, 2001; Donnini *et al.*, 2003)

Terdapat kolerasi antara ketersediaan Fe dan kadar klorofil dalam tanaman. Hal ini terjadi karena Fe berfungsi sebagai penyusun klorofil, protein, enzim dan berperan dalam perkembangan kloroplas. Kekurangan Fe akan menghambat terbentuknya klorofil dan penyusunan protein menjadi tidak sempurna. Klorofil pada daun hijau sebanding dengan Fe yang aktif dan bukan total mineral yang disajikan (Chouliaras *et al.*, 2004)

Peranan Fe dalam sintesis klorofil diduga melalui keterlibatannya dalam kondensasi asam suksinik dan glisin untuk membentuk asam gama-aminolevulinik, dan kemudian terkondensasi membentuk gugus pirol dan terkondensasi kembali membentuk protoparifin. Penggabungan magnesium kedalam molekul untuk membentuk klorofil melalui aksi katalitik Fe (Suh *et al.*, 2002).

2.4. Fikoeritrin

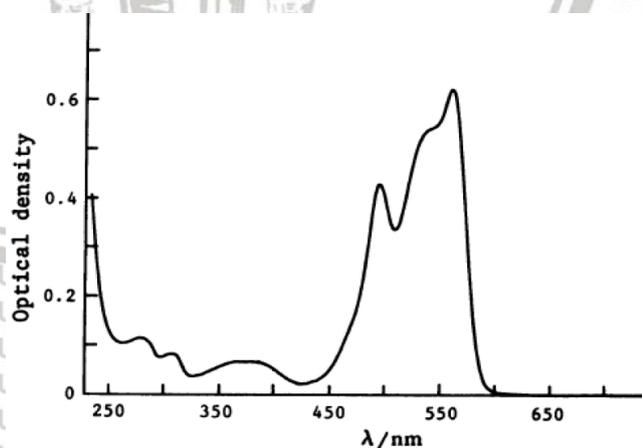
Fikoeritrin (PE) adalah fikobiliprotein, merupakan pigmen yang paling dominan pada algae merah dibandingkan dengan pigmen yang lain, pigmen yang dapat menutupi warna hijau dari klorofil dan warna biru dari fikosianin, hal tersebut yang menyebabkan warna thallus pada algae berwarna merah. Semakin bertambahnya kedalaman laut, kandungan pigmen fikoeritrin semakin bertambah. Hal tersebut karena rendahnya kandungan klorofil *a*, sehingga memicu pembentukan fikoeritrin yang lebih banyak untuk membantu penyerapan cahaya yang digunakan untuk fotosintesis (Indriatmoko *et al.*, 2015).

Fikoeritrin ini salah satu pigmen yang paling stabil dari semua yang termasuk dalam fikobiliprotein karena mempunyai sebuah subunit γ yang berada di pusat rongga molekul (Niu *et al.*, 2006). Struktur subunit fikoeritrin

adalah ($\alpha\beta$) γ dan mempunyai berat molekul 250×10^3 dengan nilai absorptansi maksimal sekitar 580 nm mempunyai dua tipe kromofor 's' (sensitizing) dan 'f' (fluorescing) (Tandeau, 2003).

Fikoeritrin merupakan sebuah protein globular dan larutannya merupakan larutan multikomponen. Fikoeritrin mempunyai kestabilan yang tinggi dibandingkan dengan pigmen yang lain, dengan rentang pH antara 5,4-6,8 (Indriatmoko et al., 2015), sedangkan menurut hasil penelitian Kawsar et al. (2011), R-PE dapat stabil pada pH antara 3,5 sampai 9,5. Fikoeritrin telah ditemukan di beberapa jenis rumput laut merah seperti *Gracillaria* sp., *Eucheuma* sp., *Porphyra yezoensis*.

Fikoeritrin merupakan protein yang bekerja sebagai pigmen pelengkap pada algae merah dan alga biru-hijau seperti halnya fikobilin, berfungsi dalam sel alga untuk membantu klorofil-a dalam menyerap cahaya pada proses fotosintesis. Cahaya yang diserap oleh fikoeritrin secara efisiensi dipindahkan ke fikosianin, kemudian ke allofikosianin, diteruskan ke allofikosianin B dan terakhir ke klorofil (Chakdar et al. 2012).

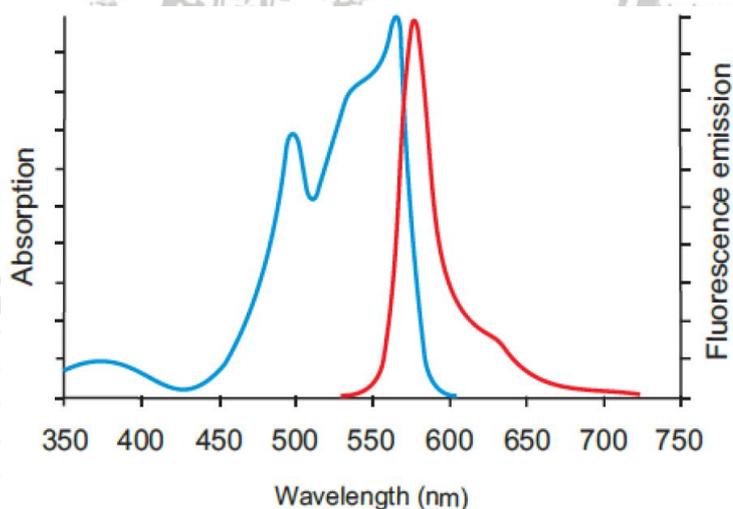


Gambar 6. Tipe serapan spektrum fikoeritrin pada pH 6,8. (Mizuno et al, 1986)

Berdasarkan serapan spektranya fikoeritrin dibagi menjadi : B-fikoeritrin (B-PE), R-fikoeritrin (R-PE) dan C-fikoeritrin (C-PE); R-PE jenis fikobiliprotein yang

mendominasi algae merah (Marsac, 2003). Pigmen tersebut merupakan jenis pigmen yang larut air dan protein stabil. R-PE bisa digunakan dalam produksi makanan dan kosmetik, dan berperan penting dalam beberapa teknik biokimia yang berkaitan dengan sifat fluoresensinya (Albertsson, 2003). R-PE biasanya dapat digunakan untuk pelabelan dalam imunologi, sel biologi dan flow cytometry, selain itu dapat digunakan sebagai bahan celup alami makanan dan sebagai penanda dalam gel elektroforesis dan isoelektrofocusing (Nyman and Hynninen, 2004).

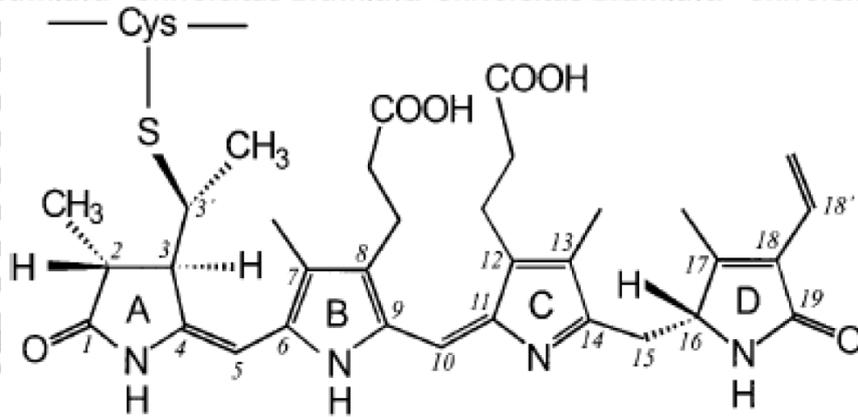
Fikoeritrin stabil pada pH antara 3,5 dan 9,5 (Kawsar *et al.* 2011), ketika pH melebihi nilai tersebut, pigmen fikoeritrin tidak menampilkan warna merahnya. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk eksplorasi kandungan fikoeritrin pada alga, antara lain oleh Kawsar *et al* (2011) yang melaporkan bahwa penggunaan kromatografi ion-exchange dengan Q-Sepharose dan filtrasi gel Sepharose kromatografi CL-6B dapat memurnikan R-Fikoeritrin dari alga merah *Amphiroa anceps* pada skala besar.



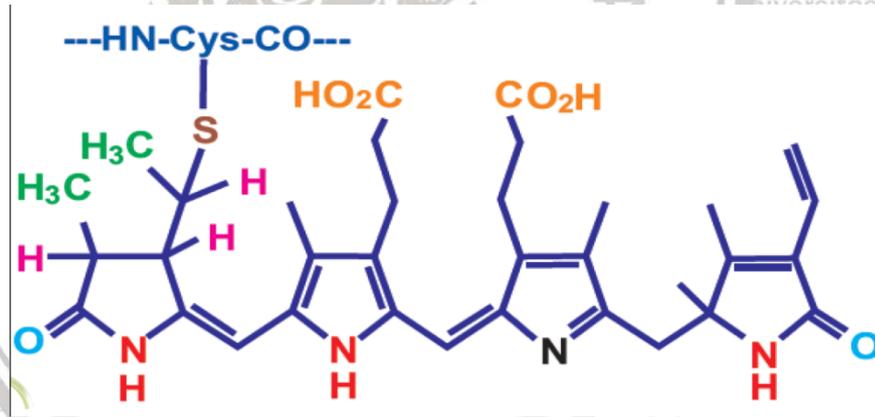
Gambar 7. Spektrum absorbansi dan fluoresensi fikoeritrin pada pH buffer 7,5

Xu dan Gao (2012) melaporkan bahwa radiasi sinar ultraviolet matahari dapat menghambat fotosintesis makroalga, sedangkan ketersediaan nitrogen

dapat merubah sensitifitas alga terhadap sinar ultraviolet matahari. Secara umum kandungan fikokseritrin akan meningkat dengan pengayaan amonia tanpa adanya sinar ultraviolet matahari (reaksi gelap) pada rumput laut *Gracilaria lemaneiformis* (Rhodophyta) yang dikultur.



Gambar 8. Struktur kimia fikokseritobilin



Gambar 9. Struktur kimia Fikokseritrin

2.5. Kultur Jaringan Rumput Laut

Kultur jaringan merupakan salah satu teknik untuk memperbanyak tanaman secara aseptik yang ditujukan kepada bagian sel atau jaringan suatu tanaman bagian sel atau jaringan dari suatu tanaman, dimaksudkan untuk bergenerasi

sendiri sehingga tanaman tersebut serupa dengan tanaman induknya (Marisca, 2013).

Ciri teknik kultur jaringan adalah kondisi kultur yang aseptis, penggunaan media kultur buatan dengan kandungan nutrisi lengkap dan kondisi lingkungan yang sesuai. Lingkungan yang sesuai dapat dipengaruhi dengan menentukan media tumbuh yang sesuai dan menempatkan pada kondisi yang terkendali berkaitan dengan intensitas dan periodisitas, cahaya, temperatur dan kelembaban serta keharusan sterilisasi (Reddy *et al.*, 2008).

2.4.1. Media Kultur

Salah satu faktor penentu keberhasilan pelaksanaan kerja kultur jaringan adalah pemberian nutrisi dalam jumlah dan perbandingan yang benar pada medium kultur. Medium yang dipergunakan pada kultur *in vitro* tumbuhan ada bermacam-macam. Pemilihan medium tergantung pada jenis tanaman yang digunakan, selera, tujuan serta perhitungan masing-masing peneliti. Isi dan komposisi dari medium kultur dirancang secara khusus untuk tujuan yang berbeda. Medium MS, singkatan dari nama penemunya, Murashige dan Skoog atau LS singkatan dari Linsmaier dan Skoog merupakan medium yang sangat banyak digunakan untuk kultur kalus dan regenerasi berbagai tanaman, medium ini mengandung garam-garam mineral dengan konsentrasi tinggi dan senyawa N dalam bentuk ammonium dan nitrat ; medium B5 (Gamborg) banyak digunakan untuk kultur suspensi sel tanaman leguminosae; Nitsch & Nitsch, N6 (Chu) banyak digunakan untuk serealia dan tanaman lain; medium WPM (Lloyd dan McCown) untuk kultur jaringan tanaman berkayu; Vacin dan Went (VW) dan Knudson C banyak digunakan untuk anggrek; medium Kao dan Michayluk digunakan untuk kultur protoplas Cruciferae, Gramineae dan Leguminosae.

Pada dasarnya tidak ada satu macam medium kultur yang dapat memberikan pertumbuhan optimal untuk semua sel, penggantian medium atau salah satu komponen medium seringkali diperlukan untuk merespon setiap type pertumbuhan dari satu macam eksplan. Studi literatur sangat diperlukan untuk mengembangkan atau memodifikasi medium kultur, modifikasi dari medium kultur yang telah ada umumnya didasarkan pada *trial and error*.

Penggunaan media kultur yang sesuai merupakan syarat yang harus terpenuhi pada kultur jaringan. Komposisi media sangat menentukan keberhasilan teknik kultur jaringan. Hasil penelitian Yong *et al.*, (2011) menunjukkan bahwa penggunaan media Provasoli's Enriched Seawater (PES) memberikan pertumbuhan yang optimal pada kultur jaringan rumput laut *Eucheuma*. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Sulistiani *et al.*, (2012) yang menunjukkan bahwa media PES dengan penambahan BA 1 mg/l lebih efektif untuk induksi kalus pada rumput laut *K. alvarezii*.

Hasil penelitian diatas berbeda dengan penelitian Suryati dan Mulyaningrum (2009) yang menunjukkan bahwa media conway memiliki tingkat induksi kalus yang lebih baik dari media PES pada kultur jaringan rumput laut *K. alvarezii*. Perbedaan ini bisa saja terjadi disebabkan karena perbedaan sumber eksplan rumput laut yang digunakan. Menurut Yong *et al.*, (2011) selain media kultur, ada beberapa faktor yang dapat mempengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis dalam kultur jaringan, yaitu genotip eksplan, lingkungan tempat kultur dan faktor-faktor jaringan.

Sementara itu hasil penelitian Reddy *et al.*, (2003) menunjukkan bahwa kelangsungan hidup embrio rumput laut *K. alvarezii* yang ditumbuhkan pada media padat yang diperkaya dengan beberapa macam pupuk memperlihatkan bahwa media padat yang diperkaya dengan pupuk PES 1/20 dan Conwy memberikan kelangsungan hidup berkisar 45-80%.

Medium PES tidak hanya merupakan salah satu media yang sesuai untuk regenerasi kalus *K. alvarezii* (Reddy *et al.*, 2003, Munoz *et al.*, 2006) tetapi juga dapat digunakan pada induksi dan regenerasi kalus pada beberapa spesies rumput laut seperti, *Gracilaria sp* (Collantes *et al.*, 2004, Kumar *et al.*, 2007) *Hypnea musciformis* dan *Turbinaria conoides* (Kumar *et al.*, 2007).

Salah satu komponen media yang sangat diperlukan bagi pertumbuhan dan regenerasi adalah zat pengatur tumbuh. Pertumbuhan kalus dan organ-organ ditentukan oleh penggunaan yang tepat dari zat pengatur tumbuh tersebut.

Tanpa penambahan zat pengatur tumbuh dalam media, pertumbuhan sangat terhambat bahkan mungkin tidak tumbuh sama sekali (Prakoeswa *et al.*, 2009).

Perbandingan komposisi medium Conway dan PES disajikan pada Tabel 1. (Anderson *et al.*, 2013). Pada induksi kalus dan pembentukan embrio pada rumput laut telah dilakukan oleh Reddy *et al.*, (2003) menggunakan NAA (Naphtalen acetic acid) dan BAP (Benzil amino purin) untuk memacu pembentukan embrio pada tallus rumput laut dapat berhasil dengan baik. Hasil penelitian Mulyaningrum *et al.*, (2012) menunjukkan perbandingan zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin yang tepat dapat meningkatkan morfogenesis filamen kalus rumput laut *K.alvarezii*. Regenerasi filament kalus rumput laut *K.alvarezii* optimum pada formula zat pengatur tumbuh IAA : zeatin dengan perbandingan 0,4 : 1.

Peranan zat pengatur tumbuh dalam induksi kalus pada tanaman alga, seperti rumput laut masih diperdebatkan dan belum menunjukkan suatu pola/trend yang jelas (Baweja *et al.*, 2009; Yokoya *et al.*, 2010). Respon yang tidak konsisten terhadap zat pengatur tumbuh pada rumput laut mungkin disebabkan karena kurangnya pemahaman tentang peran fisiologis zat ini dalam pertumbuhan dan diferensiasinya (Reddy *et al.*, 2008).

Tabel 1. Perbandingan Komposisi Medium Conway dan PES

Larutan	Medium Conway		Medium PES	
	Reagen	Lar. Stok (1 Liter)	Reagen	Lar. Stok (1 Liter)
1	Na ₂ EDTA	45.0 mg	H ₃ BO ₃	1.9 g
	NaNO ₃	100.0 mg	FeCl ₃	0.05 g
	H ₃ BO ₃	33.6 mg	MnSO ₄ (H ₂ O)	0.273 g
	Na ₂ HPO ₄	20.0 mg	ZnSO ₄ (7H ₂ O)	0.0367 g
	MnCl ₂ .4H ₂ O	0.36 mg	CoSO ₄ (7H ₂ O)	0.008 g
	FeCl ₃ .6H ₂ O	1.3 mg	0.5 M EDTA pH8	11.4 ml
2	ZnCl ₂	2.1 mg	Vitamin B12	3.35 mg
	CaCl ₂	2.0 mg	Vitamin B1	165 mg
	(NH ₄) ₆	0.9 mg	Biotin	1.65mg
	Mo7O ₂₄ .4H ₂ O	2.0 mg	TRIS = Trisma base	166.5 g
	CuSO ₄ .5H ₂ O	100 mg	C ₄ H ₁₁ NO ₃	
			(NH ₄) ₂ Fe(SO ₄) ₂ (6H ₂ O)	1.17 g
3	Vitamin B12	10 mg	0.5 M EDTA pH8	6.8 ml
	Vitamin B1	200 mg		
4	Air destilasi	1000 ml	NaNO ₃	23 g
			C ₃ H ₇ Na ₂ O ₆ P(5H ₂ O)	3.33 g
			Air Laut	1 L

Pada kultur jaringan, implan dapat beregenerasi menjadi embrio somatik setelah ditanam pada media tumbuh (agar). Embrio somatik dapat terbentuk melalui dua cara, yaitu secara langsung maupun tidak langsung melewati fase kalus. Embriogenesis somatik yaitu proses terbentuknya embrio somatik, embrio yang terbentuk bukan dari zigot tetapi dari sel biasa tubuh tanaman (Gaj, 2001).

Embriogenesis somatik merupakan suatu proses dimana sel somatik (baik haploid maupun diploid) berkembang membentuk tumbuhan baru melalui tahap perkembangan embrio yang spesifik tanpa melalui fusi gamet (Hamama *et al.*, 2001). Keunggulan teknik kultur jaringan adalah memperbanyak secara

berkesinambungan dan berkualitas tinggi, mempunyai sifat yang identik dengan induknya, dapat diperbanyak dalam jumlah yang besar dengan waktu yang singkat, memudahkan dalam transportasi ke suatu tempat, kesehatan dan mutu bibit lebih terjamin, serta bibit dapat tumbuh dengan cepat (Reddy *et al.*, 2008).

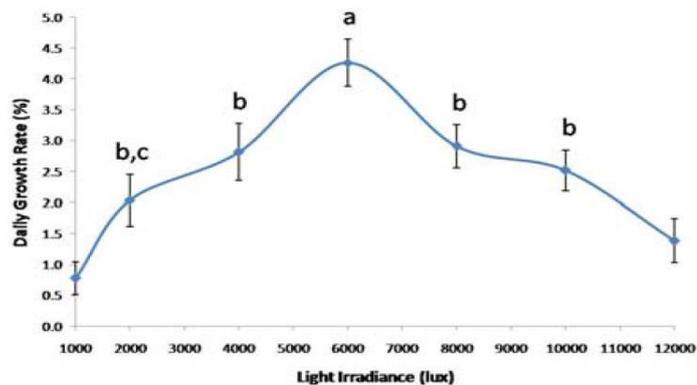
2.4.2. Pencahayaan

Cahaya mempunyai peranan yang sangat penting terhadap proses fotosintesis yang mempengaruhi intensitas dan panjang gelombang (Mercado *et al.*, 2004). Penetrasi cahaya merupakan salah satu faktor pembatas untuk pertumbuhan rumput laut, apabila cahaya yang diterima berada di bawah tingkat kebutuhan, maka energi yang dihasilkan melalui proses fotosintesa tidak seimbang atau tidak terpenuhi, apabila cahaya yang diterima terus menerus dapat menyebabkan tumbuhan makin lama makin mati (Chen and Lee, 2012).

Yong *et al.*, 2011 menyatakan bahwa salah satu faktor yang berperan penting dalam kegiatan kultur jaringan rumput laut adalah cahaya. Intensitas, panjang gelombang dan kualitas spektrum cahaya sangat mempengaruhi proses fotosintesis. intensitas cahaya yang lebih tinggi akan direspon oleh eksplan dengan dengan memproduksi lebih banyak tunas sehingga dapat meningkatkan biomassa. Intensitas cahaya yang optimum untuk rumput laut *Euचेuma* adalah sekitar 6.000 lux. Intensitas cahaya yang lebih besar dari ini dapat menghambat pertumbuhan rumput laut disebabkan karena adanya efek *photoinhibition*. (Gambar.10).

Sementara itu hasil penelitian Suryati *et al.*, (2009) menunjukkan bahwa dari hasil pengamatan intensitas cahaya mulai dari 500-2000 lux dengan interval 500 lux memperlihatkan pertumbuhan dan kelangsungan hidup yang paling baik adalah pada intensitas cahaya 1500 lux. Pada 500 dan 1000 lux, pertumbuhan dan induksi kalus tidak terjadi, tallus rumput laut berubah menjadi pucat dan

transparan kemudian berangsur-angsur mati. Sedangkan pada intensitas cahaya diatas 1500 lux memperlihatkan adanya penguapan pada media dan dehidrasi pada eksplan sehingga menjadi kering dan akhirnya mati.



Gambar 10. Tingkat Pertumbuhan Harian (%) *Eucheuma* sp. yang Dibudidayakan di Bawah Radiasi Cahaya yang Berbeda. (Yong et al., 2011)

Beberapa alga mempunyai toleransi tertentu terhadap intensitas cahaya, pertumbuhan *Gracilaria* sp memerlukan intensitas cahaya yang relatif tinggi, intensitas cahaya yang maksimum untuk pertumbuhan *Gracilaria* sp adalah 4750 lux. Menurut Aslan (2003), rumput laut *Gracilaria verrucosa* berkembang baik pada intensitas cahaya 4000 lux.

Dalam kegiatan kultur jaringan rumput laut pada dasarnya sangat memerlukan adanya pencahayaan untuk proses fotosintesis yang nantinya berpengaruh terhadap pertumbuhannya. Menurut Ayuningtiaz et al. (2010), lampu *fluorescent* (FL) dapat digunakan sebagai pengganti cahaya sinar matahari, untuk mengetahui lama penyinaran terbaik dari lama penyinaran yang berbeda-beda yang dapat mempengaruhi pertumbuhan dan jumlah klorofil a pada rumput laut.

BAB 3. KERANGKA KONSEP PENELITIAN

3.1. Kerangka Konsep

Secara umum pertumbuhan rumput laut sangat berhubungan dengan kandungan pigmen fotosintesis, yaitu klorofil a. Jika penyerapan cahaya yang dilakukan klorofil a mencukupi maka proses fotosintesis akan berlangsung optimal sehingga pertumbuhan rumput laut dapat meningkat. Oleh karena itu setiap proses pertumbuhan dan pembentukan pigmen akan membutuhkan nutrisi.

Proses fotosintesis pada rumput laut tidak hanya menggunakan pigmen klorofil a tetapi terdapat pigmen asesoris atau pelengkap, yaitu fikobiliprotein (R-fikosianin, allofikosianin serta fikoeritrin), (Aguirre *et al.*, 2001 ; Naguit and Tisera, 2009 ; Zhao and He, 2009 ; Chakdar and Pabbi, 2012 ; Pugalendren *et al.*, 2012).

Fikoeritrin (PE) adalah salah satu fikobiliprotein, merupakan protein yang bekerja sebagai pigmen pelengkap pada algae merah dan alga biru-hijau yang berfungsi untuk membantu klorofil-a dalam menyerap cahaya pada proses fotosintesis.

Cahaya yang diserap oleh fikoeritrin secara efisiensi dipindahkan ke fikosianin, kemudian ke allofikosianin, diteruskan ke allofikosianin B dan terakhir ke klorofil (Chakdar and Pabbi, 2012 ; Pugalendren *et al.*, 2012).

Cahaya dan nutrisi merupakan komponen yang sangat berperan dalam pembentukan klorofil a. Komponen utama penyusun klorofil adalah nitrogen (N).

Nitrogen yang diabsorpsi oleh propagul rumput laut *K. alvarezii* direduksi menjadi nitrit, kemudian nitrit dibawa ke kloroplas untuk direduksi menjadi ammonia.

Selanjutnya ammonia mengalami perubahan menjadi asam glutamat, dikatalisis oleh enzim glutamin sintetase. Asam glutamat akan membentuk asam α aminolevulinat (ALA) yang berperan sebagai prazat cincin porfirin pembentukan klorofil (Baishnab and Pattanayk, 2012).

Peranan cahaya dalam pembentukan klorofil terdapat pada dua proses, yaitu pada regulasi ekspresi gen untuk kompleks pamanen cahaya (gen *cab*) dan pada perubahan protoklorofilida (Pchl) menjadi klorofil. Dalam fotosintesis energi cahaya diserap oleh klorofil dan berbagai pigmen. Pada fotosintesis energi matahari digunakan untuk mereduksi CO₂ menjadi gula. Energi cahaya yang ditangkap digunakan untuk penggerak tranfer elektron dalam rangkaian energi sehingga terbentuk senyawa berenergi tinggi yaitu NADPH dan ATP.

Terbentuknya senyawa ATP dan NADPH ini menandai berakhirnya reaksi cahaya dalam fotosintesis, untuk berlanjut kepada reaksi gelap. Dalam reaksi gelap energi yang tersimpan dalam ATP dan NADPH digunakan untuk menambat dan mengubah CO₂ menjadi karbohidrat (Daood, 2003).

Faktor-faktor yang mempengaruhi produksi pigmen klorofil a dan fikoeritrin pada *K. alvarezii* di alam dapat dimanipulasi melalui kultur jaringan. Manipulasi dapat dilakukan melalui optimasi cahaya dan kandungan nutrisi pada media kultur yang digunakan. Cahaya dapat dilakukan dengan menggunakan lampu *fluorescent (FL)* sebagai pengganti cahaya sinar matahari. Menurut Ayuningtiaz *et al.*, (2010), lampu *fluorescent (FL)* dapat digunakan sebagai pengganti cahaya sinar matahari, untuk mengetahui lama penyinaran terbaik dari lama penyinaran yang berbeda-beda yang dapat mempengaruhi pertumbuhan dan jumlah klorofil a pada rumput laut *Gracilaria verrucosa*.

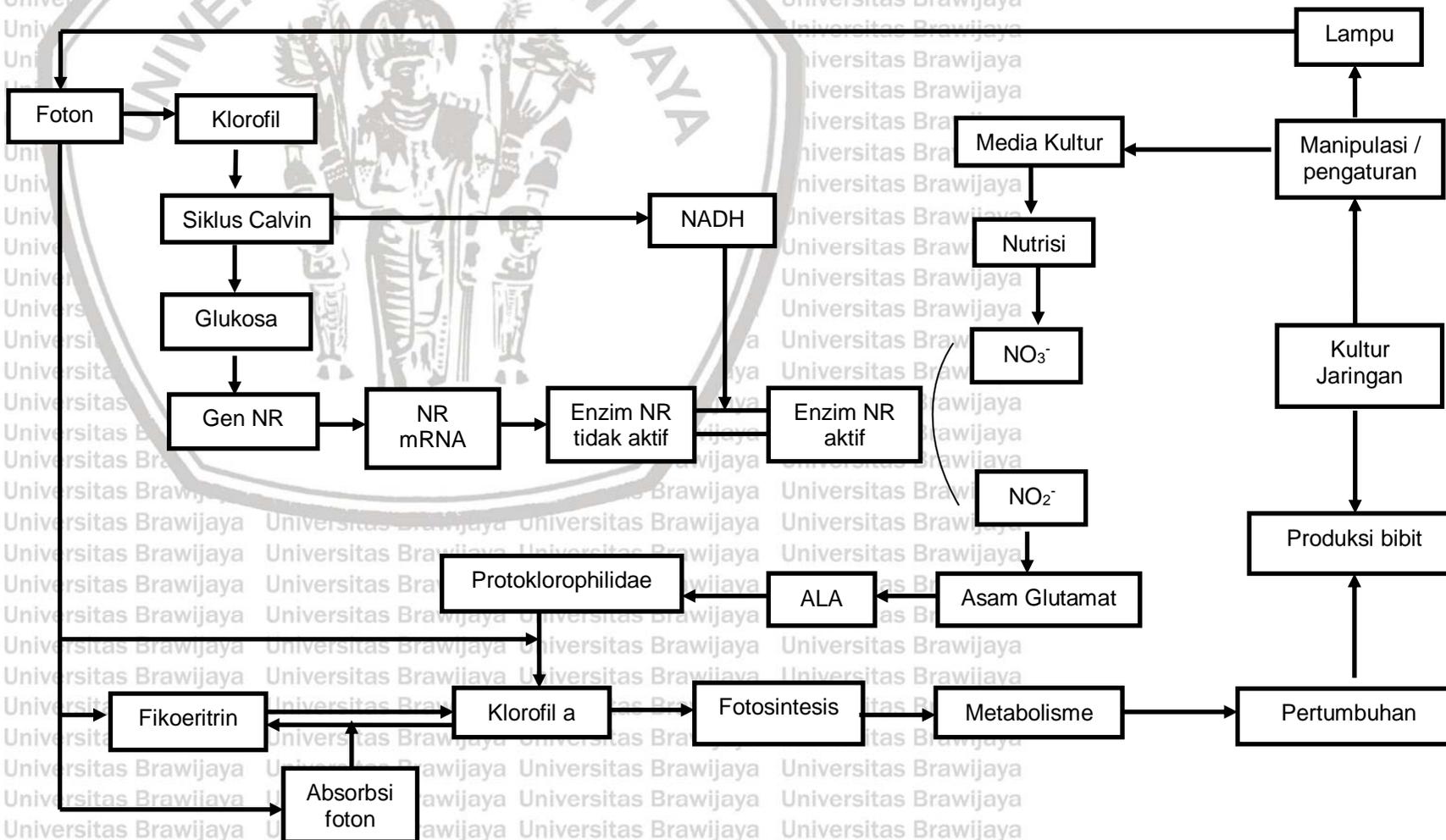
Sementara optimasi kandungan nutrisi dapat dilakukan melalui media kultur yang digunakan. Nutrisi yang cukup dan sesuai dapat meningkatkan pertumbuhan yang akan memicu peningkatan klorofil a. Nitrogen dan Phospor merupakan komponen dasar dalam pembentukan protein untuk pertumbuhan dan perkembangan *G. salicornia*, dan komponen yang mempengaruhi pembentukan klorofil terdiri dari N, P, Mg dan Fe. Kim *et al.*, (2007) menyatakan bahwa sintesis klorofil a dan *phycoerythrin* memerlukan N. Selain N dan P,

pembentukan klorofil a juga dipengaruhi oleh Magnesium (Mg). Mg merupakan unsur yang membentuk struktur klorofil dan berperan dalam penangkapan cahaya dalam proses fotosintesis (Chen and Lee, 2012) serta mengaktifkan banyak enzim yang diperlukan dalam fotosintesis (Mercado *et al.*, 2004).

3.2. Hipotesis

Hipotesis penelitian adalah sebagai berikut :

1. Interaksi konsentrasi media PES cair dan waktu pemeliharaan yang berbeda berpengaruh terhadap kandungan klorofil a dan fikoeritrin serta pertumbuhan propagul *K. alvarezii* melalui kultur jaringan
2. Interaksi intensitas cahaya dan waktu pemeliharaan yang berbeda berpengaruh terhadap kandungan klorofil a dan fikoeritrin serta pertumbuhan propagul *K. alvarezii* melalui kultur jaringan
3. Interaksi fotoperiod (lama penyinaran) dan waktu pemeliharaan yang berbeda berpengaruh terhadap kandungan klorofil a dan fikoeritrin serta pertumbuhan propagul *K. alvarezii* melalui kultur jaringan



Gambar 11 . Kerangka Konsep Penelitian

Tahap I

Media kultur (PES :
20 & 40 mL/L dalam
500 ml air laut steril)

1. Pertumbuhan propagul (berat, panjang & LPH)
2. Analisa klorofil a & fikoeritrin
3. Penyerapan N & P
4. Kualitas air

Tahap II

Intensitas cahaya (1300
& 1900 Lux)

Tahap III

Fotoperiod (lama Penyinaran /
Light : Dark : A (18L : 6D), B
(12L : 12D), C (24L : 0D), dan D
(6L : 18D).

Media kultur &
intensitas cahaya
terbaik

1. Pertumbuhan propagul (berat, panjang & LPH)
2. Analisa klorofil a & fikoeritrin
3. N & Asam glutamat

Media kultur, intensitas
cahaya dan fotoperiod
terbaik

Karakterisasi klorofil a
propagul *K. alvarezii* hasil
kultur jaringan terbaik

1. Ekstraksi, fraksinasi & isolasi
2. Identifikais dengan KLT dan Spektrofotometer
3. Identifikasi dengan FTIR dan LCMS

Gambar 12. Tahapan Penelitian Disertasi

BAB 4. METODE PENELITIAN

4.1. Tempat dan Waktu

Kegiatan penelitian kultur jaringan *K. alvarezii* dilakukan di Balai Budidaya Laut Lombok (BLL) Sekotong, Dusun Gili Genting Kecamatan Sekotong Barat Kabupaten Lombok Barat, NTB. Ekstraksi, isolasi dan identifikasi klorofil a propagul *K. alvarezii* dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang, Laboratorium Kimia POLINEMA Malang dan Laboratorium Kimia Organik, Universitas Mataram. Pelaksanaan seluruh rangkaian penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2016 - Januari 2018.

4.2. Bahan dan Alat

4.2.1. Bahan

Bahan penelitian meliputi bahan utama dan bahan kimia untuk ekstraksi pigmen. Bahan utama penelitian adalah kalus *K. alvarezii* berupa mikropropagul yang diperoleh dari SEAMEO-BIOTROP Bogor serta pupuk PES cair yang diperoleh dari laboratorium Kultur Jaringan di Balai Perikanan Budidaya Laut Lombok. Bahan kimia yang digunakan terdiri atas CaCO_3 , aseton, metanol, dietil eter, n-heksan, etil asetat, aquades pH 7, saturasi garam, *silica Gel* F-254 (60 mesh), gas nitrogen, pasir laut (*sea sand*), pelat KLT (Kromatografi Lapis Tipis).

Semua bahan kimia yang digunakan katagori PA (Pro-analisis). Standar klorofil a diperoleh di Laboratorium Preparasi dan Analisa *Ma Chung Research Center for Photosyntetic Pigment* (MRCPP), Universitas Ma Chung, Malang yang diproduksi dari *Chlorella regularis*. Bahan untuk kultur jaringan meliputi air laut steril, air tawar, akuades, alkohol, sabun sunlight, betadine 1 %, aluminium foil, kertas saring, tissue, dan kertas label.

4.2.2 Alat

Alat penelitian terdiri atas peralatan untuk analisa kultur jaringan dan budidaya serta peralatan untuk ekstraksi klorofil a (ekstrak kasar), pemurnian, isolasi. Peralatan kultur jaringan meliputi : ruang kultur jaringan, botol duran 1000 ml, lux meter, perlengkapan aerasi, akuarium, multiwel chamber, autoclave, thermometer, mikropipet, timbangan analitik, aerator, selang aerator, silet, pinset, sponge, keranjang, lap tangan, gayung, cawan petri, sikat pembersih, erlenmeyer, pipet ukur, karet gelang, pompa vacum, kamera, timer, Lampu TL, tripleks, kabel, toples, dan alat tulis.

Peralatan untuk ekstraksi antara lain cool box, keranjang plastic, kain bersih, gunting kipas, blender, sendok, timbangan analitik, loyang, oven, desikator, gelas ukur, beaker glass, spatula, Erlenmeyer, corong kaca, labu pemisah (corong pisah), *rotary vacuum evaporator*, freezer, statif, kromatografi kolom, *magnetic stirrer*, *hot plate*, tabung gas nitrogen, pipet tetes, pipet volume, bola hisap, pipa kapiler, penggaris, *cutter*, pensil, pinset, spidol, cuvet, botol sampel, tabung reaksi, rak tabung reaksi, mikro pipet, tabung centrifuge, centrifuge, spektrofotometer.

4.3. Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini terdiri atas 4 tahap, yaitu tahap I, II, III yang merupakan tahap kultur jaringan propagul *K. alvarezii* dan tahap IV yang merupakan tahap karakterisasi ekstrak klorofil a propagul *K. alvarezii* hasil kultur jaringan. Alat-alat yang digunakan untuk kegiatan Kultur Jaringan Rumpun Laut harus benar-benar dalam keadaan steril. Botol-botol duran yang digunakan untuk wadah hidup rumput laut harus disterilisasi terlebih dahulu menggunakan Autoklaf sebelum digunakan setiap minggunya pada pergantian media airnya, begitupun dengan air laut dan pupuk yang akan digunakan harus dsterilisasi terlebih dahulu.

Semua kegiatan kultur dan penggantian media cair setiap minggunya, dilakukan di dalam Laminar Air Flow agar udara yang dialirkan pada saat proses kultur maupun pergantian media cair tetap steril bagi mikropropagul yang dikultur.

Pada semua tahapan kultur jaringan (tahap I –III) dilakukan pergantian air setiap 1 minggu sekali dengan cara pergantian air 100%. Propagul *K. alvarezii* di pindahkan kedalam botol Duran yang sudah disteril sebelumnya dengan menggunakan autoklaf dan sudah diisi dengan air laut steril (ALS) 500 mL dan ditambahkan pupuk PES cair, namun sebelum dimasukkan ke botol Duran baru, propagul ditimbang terlebih dahulu untuk mengetahui pertambahan berat rumput laut setiap dua minggu selama masa pemeliharaan.

Pada saat pergantian air 100% dilakukan pembilasan propagul terlebih dulu dengan air laut steril agar sisa pupuk PES yang lama hilang. Kemudian propagul *K. alvarezii* yang sudah dibilas dengan air laut steril diletakkan di preparat untuk dikeringkan menggunakan tissue yang sebelumnya sudah disterilkan dengan autoklaf, selanjutnya propagul *K. alvarezii* dimasukkan ke media cair baru yang sudah ditambahkan pupuk PES kedalamnya. Pergantian air ini bertujuan untuk tetap menjaga agar media hidup propagul yang dikultur tetap optimal dan terhindar dari kontaminasi jamur dan bakteri.

4.3.1. Penelitian Tahap I : Kultur Jaringan Propagul *K. alvarezii* Hasil Kultur Jaringan dengan Konsentrasi Media PES Cair Berbeda

4.3.1.1. Tujuan Penelitian

Pada tahap I dilakukan kultur jaringan propagul *K. alvarezii* dengan dua perlakuan konsentrasi media PES cair yang berbeda, yaitu 20 mL/L dan 40 mL/L.

Pemilihan perlakuan ini didasarkan pada hasil penelitian Sulistiani *et al.*, (2012) yang menyatakan bahwa laju pertumbuhan harian (LPH) propagul pada konsentrasi PES 20 mL/L tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 10 mL/L tetapi

LPH kedua perlakuan tersebut lebih tinggi dan berbeda nyata dengan LPH pada perlakuan 5 mL/L. Pemeliharaan mikropropagul *K. alvarezii* dilakukan selama 8 minggu (2 bulan). Pergantian media air dilakukan setiap seminggu sekali. Pada saat pemeliharaan minggu ke-7 dan ke-8 dilakukan penambahan volume media PES yang 10 mL menjadi 20 mL dalam 1 L air laut steril dan 20 mL menjadi 40 mL dalam 1 L air laut steril.

Parameter yang diamati pada tahap I adalah pengukuran pertumbuhan propagul, pigmen fotosintesis, penyerapan Nitrogen (N) dan Fosfor (P) serta kualitas air. pengukuran pertumbuhan propagul meliputi penambahan berat dan panjang serta Laju Pertumbuhan harian yang diukur setiap dua minggu sekali selama dua bulan masa pemeliharaan. Pengukuran pigmen fotosintesis meliputi kandungan klorofil a dan fikoeritrin setiap empat minggu sekali selama delapan minggu masa pemeliharaan. Penyerapan nitrogen dan fosfor oleh rumput laut dapat dilihat dari hasil pengukuran kualitas air dan analisis proksimat. Pengukuran kualitas air dilakukan setiap empat minggu selama delapan minggu masa pemeliharaan. Pengukuran kualitas air dilakukan secara fisik meliputi salinitas, pH, DO dan Suhu.

4.3.1.2. Aklimatisasi Kalus

Mikropropagul yang diperoleh dari SEAMEO-BIOTROP terlebih dahulu ditempatkan pada *rotary shaker*, kemudian dishaker selama 1 minggu untuk mengadaptasikan kultur. *Rotary shaker* ditempatkan di ruang kultur dengan temperatur ruangan antara 22-25°C, diberi penyinaran lampu TL dengan intensitas cahaya ± 1500 lux, lama penyinaran diatur 12 jam menyala dan 12 jam padam.

4.3.1.3. Kultur *in vitro*

Setelah aklimatisasi mikropropagul yang ditempatkan pada *rotary shaker* disubkultur ke botol duran 1L yang berisi media PES cair dengan dua perlakuan konsentrasi yaitu 20 mL/L (10 mL PES cair dalam 500 mL air laut steril) dan 40 mL/L (20 mL PES cair dalam 500 mL air laut steril). Kultur diberikan aerasi dengan menggunakan aerator. Setelah satu minggu media diganti dengan media yang baru. Botol kultur disimpan di ruang kultur dengan temperatur ruangan antara 22-25°C, intensitas cahaya ± 1500 lux, lama penyinaran 12 jam menyala dan 12 jam padam. Setelah 6 minggu volume media PES ditambah menjadi 20 mL PES dalam 1 L air laut steril dan 40 mL PES dalam 1 L air laut steril. Pemeliharaan mikropropagul dilakukan selama 8 minggu (2 bulan).

4.3.1.4. Pengukuran Pertumbuhan Propagul

Pengukuran pertumbuhan propagul yang diukur meliputi pertambahan bobot dan Laju Pertumbuhan harian yang diukur setiap dua minggu sekali selama dua bulan masa pemeliharaan, dengan menggunakan rumus Dawes *et al.* (1994).

Pertambahan bobot dihitung berdasarkan rumus :

$$\Delta W = W_t - W_o$$

Keterangan:

W_t = Berat total propagul pada waktu t (g)

W_o = Berat total awal propagul (g)

Laju Pertumbuhan Harian (LPH) dihitung berdasarkan rumus :

$$\alpha = \frac{\ln W_t - \ln W_o}{t} \times 100\%$$

Keterangan :

W_t = Berat akhir (g), W_o = Berat awal (g), t = waktu pengamatan (hari)

4.3.1.5. Pengukuran Kandungan Klorofil a dan Fikoeritrin

Pengukuran kandungan klorofil a dan fikoeritrin dilakukan setiap empat minggu selama delapan minggu masa pemeliharaan. Sampel rumput laut dihaluskan dengan menggunakan blender kemudian ditimbang sebanyak 2 g dan digerus menggunakan mortar. Sampel ditambahkan 10 mL 100% aceton (untuk klorofil) dan 10 mL 0.1M buffer fosfat (untuk fikoeritrin). Sampel dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian disentrifus dan disaring (Naguit and Tisera, 2009). Sampel hasil sentrifus diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 660,6 nm dan 642,2 nm untuk klorofil a serta 592, 564 and 455 nm untuk fikoeritrin. Konsentrasi klorofil a dihitung berdasarkan persamaan (Lichtenthaler, 1987) sedangkan konsentrasi fikoeritrin dihitung berdasarkan persamaan Beer and Eshel (1985) sebagai berikut:

$$a) \text{ Klorofil-a } (\mu\text{g/g}) = 10,05 (A_{660,6}) - 0,97 (A_{642,2})$$

$$b) \text{ Phycoerythrin } (\text{mg/L}) = [(A_{564} - A_{592}) - (A_{455} - A_{592}) 0.20] * 0.12$$

Selanjutnya konsentrasi pigment per gram rumput laut dihitung berdasarkan persamaan Naguit and Tisera (2009) :

$$\frac{\text{Konsentrasi (mg} \cdot \text{L)} \times \text{Volume pelarut (ml)}}{\text{Berat talus (gr)}} \times \frac{1000 \mu\text{g}}{\text{mg}}$$

4.3.1.6. Penyerapan N dan P pada rumput laut

Penyerapan nitrogen dan fosfor oleh rumput laut dapat dilihat dari hasil pengukuran kualitas air dan analisis proksimat. Berikut merupakan rumus untuk menghitung nitrogen dan fosfor yang diserap berdasarkan pengukuran kualitas air Zhou *et. al* (2006) :

$$\text{N yang diserap (mg/g)} = \frac{|[N]_t - [N]_0| \times 1 \text{ kg}}{W (g)}$$

$$P \text{ yang diserap (mg/g)} = \frac{|[P]_t - [P]_0| \times 1 \text{ kg}}{W (g)}$$

Penyerapan nitrogen dan fosfor oleh talus rumput laut berdasarkan hasil analisis proksimat dengan metode Kjeldahl (Lampiran 18. dan 19.) dihitung berdasarkan persamaan Zhou *et. al* (2006) :

$$N_{uptake} (\mu\text{mol/g/hari}) = \frac{\text{LPH (\%/hari)} \times N \text{ tissue (g/100g)}}{100}$$

$$P_{uptake} (\mu\text{mol/g/hari}) = \frac{\text{LPH (\%/hari)} \times P \text{ tissue (g/100g)}}{100}$$

4.3.1.7. Pengukuran Kualitas Air secara Kimia dan Fisik

Pengukuran kualitas air dilakukan setiap empat minggu selama delapan minggu masa pemeliharaan. Pengukuran kualitas air dilakukan secara fisik meliputi salinitas, pH, DO dan Suhu.

4.3.2. Penelitian Tahap II : Kultur Jaringan Propagul *K. alvarezii* Hasil Kultur Jaringan dengan Intensitas Cahaya Berbeda

4.3.2.1. Tujuan Penelitian

Pada tahap II dilakukan kultur jaringan propagul *K. alvarezii* dengan konsentrasi media PES cair terbaik yang diperoleh pada tahap I. Pada tahap ini dilakukan kultur dengan menggunakan dua perlakuan intensitas cahaya, yaitu 1300 lux (1 Lampu TL) dan 1900 lux (2 Lampu TL). Pengukuran intensitas cahaya ini dilakukan dengan menggunakan fluxmeter, Pemilihan perlakuan ini didasarkan pada penelitian pendahuluan yang dilakukan dengan menggunakan perlakuan 1300 lux (1 Lampu TL), 1900 lux (2 Lampu TL). dan 2500 lux (3

Lampu TL). Hasil penelitian pendahuluan ini menunjukkan bahwa perlakuan 2500 lux (3 Lampu TL) menyebabkan kematian propagul *K. alvarezii* pada minggu pertama masa pemeliharaan, sehingga pada tahap ini hanya menggunakan perlakuan 1300 lux (1 Lampu TL) dan 1900 lux (2 Lampu TL).

Pemeliharaan mikropropagul *K. alvarezii* dilakukan selama 8 minggu (2 bulan). Pergantian media air dilakukan setiap seminggu sekali. Pada saat pemeliharaan minggu ke-7 dan ke-8 dilakukan penambahan volume media PES yang 10 mL menjadi 20 mL dalam 1 L dan 20 mL menjadi 40 mL dalam 1 L air laut steril.

Parameter yang diamati pada tahap II adalah pengukuran pertumbuhan propagul, kandungan klorofil a dan fikoeritrin, penyerapan Nitrogen (N) dan Fosfor (P) serta kualitas air. Pengukuran pertumbuhan propagul meliputi penambahan berat dan panjang serta Laju Pertumbuhan harian yang diukur setiap dua minggu sekali selama dua bulan masa pemeliharaan. Pengukuran kandungan klorofil a dan fikoeritrin dilakukan setiap empat minggu sekali selama delapan minggu masa pemeliharaan. Penyerapan nitrogen dan fosfor oleh rumput laut dapat dilihat dari hasil pengukuran kualitas air dan analisis proksimat. Pengukuran kualitas air dilakukan setiap empat minggu selama delapan minggu masa pemeliharaan. Pengukuran kualitas air dilakukan secara fisik meliputi salinitas, pH, DO dan Suhu.

4.3.2.2. Aklimatisasi Kalus

Mikropropagul yang diperoleh dari SEAMEO-BIOTROP terlebih dahulu ditempatkan pada *rotary shaker*, kemudian dishaker selama 1 minggu untuk mengadaptasikan kultur. *Rotary shaker* ditempatkan di ruang kultur dengan suhu ruangan antara 22-25°C, diberi penyinaran lampu TL dengan intensitas cahaya \pm 1500 lux, lama penyinaran diatur 12 jam menyala dan 12 jam padam.

4.3.2.3. Kultur *in vitro*

Setelah aklimatisasi mikropropagul yang ditempatkan pada *rotary shaker* disubkultur ke botol duran 1L yang berisi media PES cair 10 mL dengan dua perlakuan intensitas cahaya, yaitu 1300 lux (1 Lampu TL) dan 1900 lux (2 Lampu TL). Kultur diberikan aerasi dengan menggunakan aerator. Setelah satu minggu media diganti dengan media yang baru. Botol kultur disimpan di ruang kultur dengan temperatur ruangan antara 22-25°C, intensitas, lama penyinaran 12 jam menyala dan 12 jam padam. Setelah 6 minggu volume media PES ditambah menjadi 20 mL PES dalam 1 L dan 40 mL PES dalam 1 L air laut steril. Pemeliharaan mikropropagul dilakukan selama 8 minggu (2 bulan).

4.3.2.4. Parameter yang diukur

Pengukuran parameter pertumbuhan, pigmen fotosintesis, penyerapan N & P serta kualitas air dilakukan mengikuti metode pada tahap I.

4.3.3. Penelitian Tahap III : Kultur Jaringan Propagul *K. alvarezii* Hasil Kultur Jaringan dengan Fotoperiod Berbeda

4.3.3.1. Tujuan Penelitian

Pada tahap ini dilakukan kultur propagul rumput laut *K. alvarezii* dengan menggunakan empat perlakuan fotoperiod (lama penyinaran/ Light (L) : Dark (D)), yaitu Perlakuan A (6L : 18D), Perlakuan B (12 L : 12 D), Perlakuan C (24L : 0D), dan Perlakuan D (18L : 6D). Pemilihan perlakuan ini didasarkan pada penelitian Green and Neefus (2016) pada kultur rumput laut merah *Porphyra umbilicalis* dengan fotoperiode 8:16, 12:12, dan 16:8 light/dark untuk siklus LD (dark cycle) dan fotoperiode 24 : 0 untuk siklus LL (continuous light).

Pengaturan fotoperiod diatur dengan menggunakan timer yang diletakkan pada masing-masing ruang kultur. Media kultur dan intensitas cahaya yang

digunakan pada tahap ini berdasarkan hasil penelitian tahap I dan II yang terbaik, yaitu media PES cair 20 mL/L dan intensitas cahaya 1900 lux. Pemeliharaan mikropropagul *K. alvarezii* dilakukan selama 8 minggu (2 bulan). Pergantian media air dilakukan setiap seminggu sekali. Pada saat pemeliharaan minggu ke-7 dan ke-8 dilakukan penambahan volume media PES yang 10 mL menjadi 20 mL dalam 1 L dan 20 mL menjadi 40 mL dalam 1 L air laut steril.

Parameter yang diamati pada tahap III adalah pengukuran pertumbuhan propagul, kandungan klorofil a dan fikoeritrin, serta kandungan nitrogen (N) dan asam glutamat. Pengukuran pertumbuhan propagul meliputi penambahan berat dan panjang serta laju pertumbuhan harian yang diukur setiap dua minggu sekali selama dua bulan masa pemeliharaan. Pengukuran pigmen fotosintesis meliputi kandungan klorofil a dan fikoeritrin setiap empat minggu sekali selama delapan minggu masa pemeliharaan. Kandungan Nitrogen dan asam glutamat dilakukan pada akhir masa pemeliharaan.

Selanjutnya propagul *K. alvarezii* dari hasil kultur jaringan yang terbaik dilakukan ekstraksi, fraksinasi dan isolasi untuk mendapatkan ekstrak klorofil a.. Ekstrak ini kemudian diidentifikasi dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT), UV-Vis, FT-IR dan uji LC-MS untuk menganalisa karakterisasi senyawa klorofil a pada propagul *K. alvarezii* hasil kultur jaringan tersebut.

4.3.3.2. Aklimatisasi Kalus

Mikropropagul yang diperoleh dari SEAMEO-BIOTROP terlebih dahulu ditempatkan pada *rotary shaker*, kemudian dishaker selama 1 minggu untuk mengadaptasikan kultur. *Rotary shaker* ditempatkan di ruang kultur dengan temperatur ruangan antara 22-25°C, diberi penyinaran lampu TL dengan intensitas cahaya \pm 1500 lux, lama penyinaran diatur 12 jam menyala dan 12 jam padam.

4.3.3.3. Kultur *in vitro*

Setelah aklimatisasi mikropropagul yang ditempatkan pada *rotary shaker* disubkultur ke botol duran 1L yang berisi media PES cair terbaik pada tahap I dengan menggunakan empat perlakuan fotoperiod (lama penyinaran/ Light (L) : Dark (D)), yaitu Perlakuan A (6L : 18D), Perlakuan B (12L : 12D), Perlakuan C (24L : 0D), dan Perlakuan D (18L : 6D). Kultur diberikan aerasi dengan menggunakan aerator. Setelah satu minggu media diganti dengan media yang baru. Botol kultur disimpan di ruang kultur dengan intensitas cahaya 1900 lux (2 Lampu TL) temperatur ruangan antara 22-25°C, intensitas, lama penyinaran 12 jam menyala dan 12 jam padam. Setelah 6 minggu volume media PES ditambah menjadi 20 mL PES dalam 1 L dan 40 mL PES dalam 1 L air laut steril. Pemeliharaan mikropropagul dilakukan selama 8 minggu (2 bulan).

4.3.3.4. Parameter yang diukur

Pengukuran parameter pertumbuhan dan pigmen fotosintesis dilakukan mengikuti metode pada tahap I. Kandungan nitrogen dilakukan dengan metode kjeldhal (AOAC,1980) (Lampiran 45.). Asam glutamat dianalisa dengan menggunakan Kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC) (Lampiran 46.)

4.3.3.5. Karakterisasi Kandungan Klorofil a Ekstrak Propagul *K. alvarezii* Hasil Kultur Jaringan

1. Preparasi Sampel

Preparasi bahan baku sampel propagul *K. alvarezii* Hasil Kultur Jaringan dilakukan dengan cara membersihkan sampel, memperluas permukaan dan mengurangi kadar air. Pembersihan dilakukan dengan mencuci sampel menggunakan air bersih yang mengalir untuk menghilangkan sisa-sisa pupuk PES cair yang menempel pada dinding propagul yang dapat menghambat

proses ekstraksi. Perluasan permukaan sampel dilakukan dengan memotong sampel menjadi ukuran 0,5 – 1,0 cm sehingga kandungan air dalam bahan lebih mudah diuapkan. Kemudian sampel diangin-anginkan pada suhu ruang dan ruangan kedap cahaya untuk mengurangi kadar air sampel.

3. Analisa Kadar Air

Analisa kadar air dalam sampel Propagul *K. alvarezii* Hasil Kultur Jaringan dilakukan dengan menggunakan metode thermografimetri (Winarno, 2007).

Dalam metode ini, analisa kadar air bahan diukur dari penguapan kandungan air dalam bahan melalui pemanasan menggunakan oven pada suhu 105°C hingga mencapai berat konstan selama ± 3 jam. Analisa kadar air dilakukan berdasarkan reduksi massa atau berat sampel awal karena penguapan air.

Perhitungan analisa kadar air bahan dilakukan dengan rumus :

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{B - C}{B - A} \times 100\%$$

Keterangan :

A = berat botol timbang (g)

B = berat botol timbang + sampel awal (g)

C = berat botol timbang + sampel kering (g)

4. Pembuatan Saturasi Garam

Pembuatan saturasi garam dilakukan dengan menghomogenkan kristal garam (garam dapur) ke dalam air hingga garam jenuh. Kejenuhan larutan garam ditandai dengan sudah tidak larutnya lagi kristal garam dalam larutan garam. Selanjutnya larutan garam disaring (2 x penyaringan) dengan menggunakan lapisan kertas saring kasar, halus dan kapas untuk menyaring kotoran pada larutan garam. Bahan saturasi garam nantinya digunakan sebagai bahan saat partisi (fraksinasi) ekstrak saat proses ekstraksi pigmen pada bahan (De Junet *et al.*, 2009).

5. Ekstraksi Pigmen

Proses ekstraksi pigmen sampel propagul *K. alvarezii* segar hasil kultur jaringan dilakukan dengan metode da Costa *et al* (2009) yang dimodifikasi pada beberapa tahapan prosesnya untuk memaksimalkan proses ekstraksi (Lampiran 10.). Proses ekstraksi diawali dengan penimbangan sampel propagul *K. alvarezii* segar hasil kultur jaringan sebanyak 100 g dan ditambahkan CaCO_3 sebagai agen penetral saat ekstraksi. Selanjutnya dilakukan penumbukan sampel dengan tumbukan batu (lesung) untuk memperluas permukaan bahan dan memaksimalkan proses ekstraksi. Winarno *et al.*, (1980) menyatakan bahwa jika sel mengalami pukulan mekanik akan mengalami pemecahan sel sehingga senyawa pigmen akan keluar. Romiyanto (2014) menyatakan bahwa semakin kecil ukuran maka luas permukaan akan semakin besar sehingga besar dan laju pemindahan senyawa dari sel ke pelarut akan semakin tinggi karena jarak difusi zat terlarut semakin kecil.

Proses maserasi sampel dengan penambahan pelarut methanol : aseton (7:3 v/v) sebanyak 400 mL dan didiamkan selama 24 jam pada suhu ruang dan kedap cahaya. Torres *et al.*, (2014) menyatakan bahwa metanol adalah pelarut yang paling efisien untuk mengekstrak karotenoid dan chl a. Setelah didiamkan selama 24 jam kemudain dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring Whatman No. 42 untuk memisahkan filtrat dan residu sampel. Selanjutnya filtrat dipartisi (difraksinasi) dengan penambahan dietil eter : saturasi garam : air (100 mL : 50 mL : 120 mL : 10 mL) untuk memisahkan komponen pigmen dari komponen lain dengan membentuk dua fraksi/fase, yaitu fase atas dan fase bawah. Fase bawah tidak digunakan atau dibuang sementara fase atas dievaporasi menggunakan *rotary vacuum* pada suhu 32°C dengan kecepatan

100 rpm untuk menguapkan sebagian besar pelarut sehingga diperoleh ekstrak kasar pigmen berupa pasta berwarna hijau tua.

Ekstrak kasar pigmen berupa pasta ini diuapkan kembali menggunakan gas Nitrogen (N_2) untuk memaksimalkan penguapan pelarut dan diperoleh ekstrak kasar pigmen kering. Selanjutnya dilakukan penimbangan untuk menghitung nilai randemennya (Nuraini, 2007) sebagai berikut :

$$\% \text{ Randemen} = \frac{W}{W_0 \times (1 - \text{Kadar air})} \times 100\%$$

Keterangan : W = bobot ekstrak murni (g)

W_0 = bobot bahan yang diekstrak (g)

6. Isolasi Senyawa Klorofil a

Isolasi klorofil a dari ekstrak kasar propagul *K. alvarezii* hasil kultur jaringan menggunakan metode kromatografi kolom secara bertingkat dengan fase diam silika gel dan fase gerak heksan : etil asetat \pm 200 mL. Sebelum isolasi dilakukan preparasi kolom dengan memasukkan kapas pada ujung kolom, kemudian fase diam, yaitu silika gel-60 mesh dibuat bubuk terlebih dahulu dengan menghomogenkan 40 g silika ke dalam 200 mL fase gerak heksan : etil asetat (8 : 2 v/v) menggunakan *magnetic stirrer* dan distirrer selama \pm 1 jam. Setelah itu bubuk silika gel-60 dimasukkan ke dalam kolom kromatografi secara hati-hati dan terus menerus untuk mencegah terbentuknya lapisan.

Selanjutnya kolom kromatografi diketuk-ketuk perlahan untuk meratakan posisi silika gel dan didiamkan selama \pm 12 jam agar mengeras dengan ditutup pada bagian ujung dan pangkal kromatografi untuk menghindari penguapan pelarut. Setelah silika gel mengeras, selanjutnya dimasukkan *sea sand* (pasir laut halus) \pm 3 g.

Proses isolasi dimulai dengan melarutkan ekstrak kasar kering \pm 0,3 -0,4 g ke dalam \pm 3 mL fase gerak heksan : etil asetat (8 : 2 v/v). Selanjutnya seluruh

fase gerak dikeluarkan terlebih dahulu dari kolom kromatografi hingga batas *sea sand*. Kemudian larutan ekstrak dimasukkan secara perlahan-lahan dengan menggunakan pipet tetes, kran kromatografi dibuka dan ditunggu hingga seluruh larutan ekstrak melewati *sea sand* dan masuk ke dalam fase diam silika gel-60. Setelah itu ditambahkan fase gerak heksan : etil asetat (8 : 2 v/v) perlahan-lahan hingga seluruh tabung terisi penuh. Selanjutnya kran dibuka dan seluruh fraksi warna yang muncul ditampung ke dalam botol sampel (botol vial) yang telah dibungkus dengan aluminium foil untuk melindungi isolat dari degradasi karena pengaruh cahaya.

Fase gerak yang digunakan terus ditingkatkan kepolarannya dengan volume \pm 200 mL dari perbandingan heksan : etil asetat (8 : 2 v/v), heksan : etil asetat (7 : 3 v/v), heksan : etil asetat (6 : 4 v/v), hingga perbandingan heksan : etil asetat (5 : 5 v/v). Seluruh fraksi dengan pita-pita warna berbeda yang terbentuk ditampung pada tabung reaksi sesuai warna masing-masing sambil terus ditambah fase gerak sedikit demi sedikit agar silika gel tidak kering.

7. Identifikasi Senyawa Klorofil a

6.1. Analisis klorofil a dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Identifikasi kemurnian isolat klorofil a propagul *K. alvarezii* hasil kromatografi kolom dilakukan dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Total warna yang terbentuk pada lempeng tipis kromatografi dan nilai *Retardation factor* (Rf) selanjutnya dapat ditentukan. Fase diam berupa silika gel F-254 dan fase gerak berupa campuran heksan : dietil eter : aseton (5 : 3 : 2, v/v).

Isolat klorofil a diambil sebanyak 5 – 10 μ l dengan menggunakan pipa kapler dan ditotolkan pada lempeng KLT yang telah disiapkan dengan ukuran 5 cm x 10 cm. Lempeng KLTP dimasukkan secara berdiri tegak dalam *chamber* yang berisi fase gerak yaitu campuran heksan : dietil eter : aseton (5 : 3 : 2, v/v)

sebanyak 10 mL dan ditutup, ditunggu sampai eluent mencapai batas atas, kemudian lempeng TLC diambil dengan penjepit. Totol warna yang terbentuk kemudian dihitung nilai Rf-nya.

6.2. Analisis klorofil a dengan spektrofotometer

Sampel yang digunakan dalam identifikasi klorofil a propagul *K. alvarezii* hasil kultur jaringan menggunakan spektrofotometer adalah sampel yang diyakini sebagai ekstrak murni klorofil a berdasarkan hasil uji KLT dengan nilai Rf 0,40 – 0,63. Larutan sampel dan larutan blanko disiapkan dalam kuvet/ tabung reaksi khusus. Spektrofotometer dinyalakan dan panjang gelombang diatur pada kisaran 400 – 700 nm. Selanjutnya kuvet sampel dan blanko dimasukkan secara bersama dalam slot spektrofotometer. Absorbansi maksimal larutan sampel pada panjang gelombang tertentu, dibaca dan dicatat. Dengan cara yang sama seperti sampel, maka larutan standar klorofil a diukur absorbansinya pada panjang gelombang yang sama pada sampel dan selanjutnya digunakan untuk menghitung kandungan klorofil a sampel dengan rumus (Lichtenthaler, 1987) :

$$\text{Klo. a} = 10,05 A_{660,6} - 0,97 A_{642,2}$$

6.3. Analisis klorofil a dengan FTIR (Liu *et al.*, 2006)

Dua miligram sampel dicampur dengan 200 mg KBr untuk dijadikan pelet. Pelet dibuat dengan menggunakan *hand press* Shimadzu dengan tekanan kerja sebesar 8 ton selama 10 menit. Pengukuran spektrum FTIR dilakukan dengan menggunakan Spektrometer FTIR Tensor 37 yang dilengkapi dengan detektor DTGS. Personal komputer yang dilengkapi dengan Software OPUS versi 4.2. digunakan untuk mengontrol kerja spektrometer dalam menghasilkan spektrum pada range 400 – 4000 cm^{-1} , spektrum dihasilkan dengan kecepatan 30 detik

dengan resolusi 4 cm⁻¹. Untuk meningkatkan rasio sinyal/noise, 32 spektrum digabungkan dan dirata-ratakan.

Untuk keperluan pengolahan data, spektrum yang dihasilkan dari sampel diubah menjadi file dalam format ASCII. Data ini kemudian diimpor ke dalam software Unscrambler versi 9.1 dan Sirius Versi 6.5 yang dijalankan dalam PC dengan sistem operasi Microsoft Windows XP profesional. Analisis gugus fungsi suatu sampel dilakukan dengan membandingkan pita absorpsi yang terbentuk pada spektrum infra merah menggunakan tabel korelasi dan menggunakan spektrum senyawa pembanding (yang sudah diketahui). Identifikasi setiap absorpsi ikatan yang khas dari setiap gugus fungsi merupakan basis dari interpretasi spektrum inframerah.

6.4. Analisis klorofil a dengan LCMS (Sangeetha *et. al.*, 2009)

Sampel dianalisis menggunakan LCMS dengan detektor spektrometer massa 3200 Qtrap, kolom Phenomenex C18 (50 mm x 2.0 mm) pada temperatur 30°C. Dua jenis fase gerak yang digunakan, yaitu eluen A : akuabides dan amonium format, eluen B : metanol dan amonium format. Aliran digunakan elusi gradien 30% - 90% eluen B. Volume injeksi sampel, yaitu 10µL, dengan laju alir 0,5 mL/min dan waktu analisis selama 15 menit.

Pemisahan senyawa dipantau dengan DAD di 254 dan 190 nm dan dengan detektor spektrometri massa. Analisis spektrometri massa (ESI) dilakukan pada LCMS-8030 spektrometer massa triple quadrupole. LC-MS dicirikan negatif dan modus ionisasi positif dengan spektrum yang diperoleh selama kisaran massa 50-1000 m/z.

4.4. Analisis data

Rancangan percobaan pada penelitian Tahap I - III digunakan

Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial dengan tiga kali ulangan. Model matematika dari rancangan percobaan ini adalah sebagai berikut (Steel and Torrie, 1980) :

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + E_{ijk}$$

Dimana : Y_{ijk} = nilai pengamatan

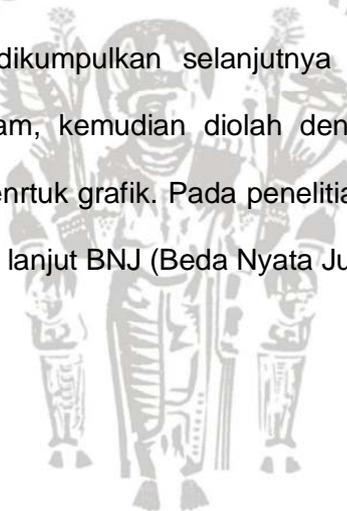
μ = nilai tengah umum

A_i = pengaruh faktor A taraf ke-i

B_j = pengaruh faktor B taraf ke-j

AB_{ij} = pengaruh interaksi faktor A taraf ke-i dengan faktor B taraf ke-j

Data yang dikumpulkan selanjutnya dianalisis secara statistik dengan analisis sidik ragam, kemudian diolah dengan program Microsoft Excel dan disajikan dalam bentuk grafik. Pada penelitian tahap III, jika terdapat perbedaan maka dilakukan uji lanjut BNJ (Beda Nyata Jujur).



BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Penelitian Tahap I (Konsentrasi Media PES Cair)

Salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan propagul dalam kultur jaringan rumput laut adalah media kultur yang berupa air laut. Air laut alami (*Natural seawater*) adalah media kompleks mengandung lebih dari 50 elemen yang diketahui dan senyawa organik dalam jumlah besar dan bervariasi (Harrison and Berges, 2005).

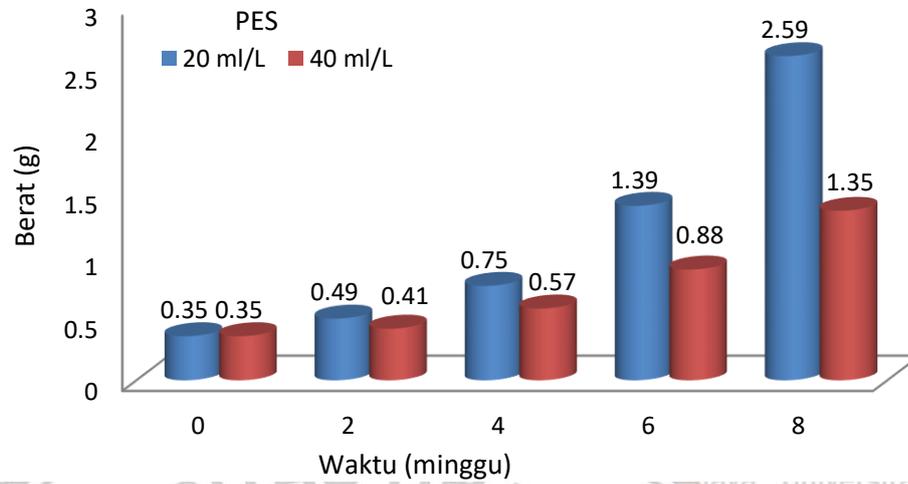
Dalam kultur rumput laut, penggunaan air laut secara langsung jarang dilakukan, karena tanpa penambahan *trace* metal dan nutrisi lainnya pertumbuhan rumput laut biasanya sangat rendah. sehingga umumnya dilakukan pengkayaan nutrisi. Media PES cair merupakan salah satu media kultur yang cukup baik digunakan untuk pembesaran propagul *K. alvarezii*. Media ini juga telah banyak dilaporkan sangat baik digunakan untuk pembesaran propagul pada jenis-jenis alga lainnya (Mansilla *et al.*, 2008 ; Yong *et al.*, 2011).

5.1.1. Pengaruh Konsentrasi Media PES Cair Terhadap Pertumbuhan Propagul *K. alvarezii* Hasil Kultur Jaringan

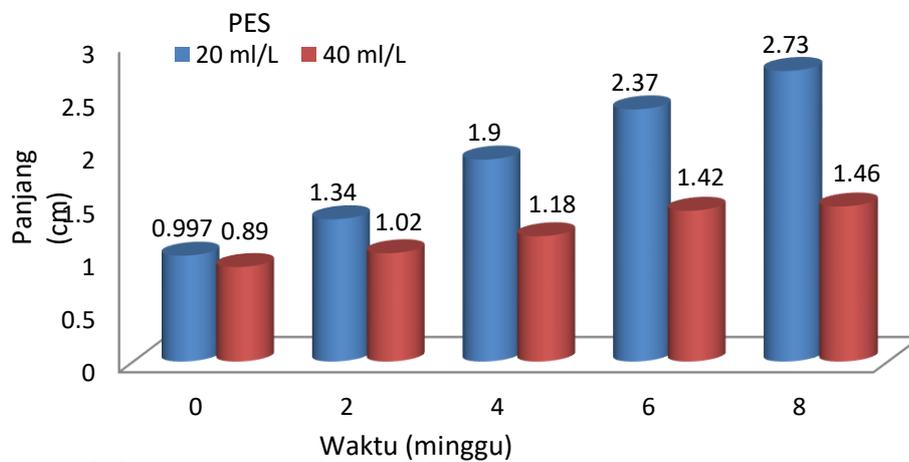
Pertumbuhan thallus merupakan pertambahan ukuran sel atau perubahan dari keadaan sejumlah sel membentuk organ-organ yang mempunyai struktur dan fungsi yang berbeda. Pola pertumbuhan menyebabkan terjadinya penambahan jumlah massa sel penyusun thallus (Hayashi, *et.al.*, 2008).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa selama delapan minggu masa pemeliharaan terjadi pertambahan berat dan panjang propagul *K. alvarezii* yang semakin meningkat seiring dengan meningkatnya waktu pemeliharaan pada semua perlakuan konsentrasi media PES cair. Perlakuan interaksi konsentrasi media PES cair 20 mL/L dengan waktu pemeliharaan delapan minggu

memberikan penambahan berat dan panjang propagul *K. alvarezii* yang paling tinggi (Gambar 13. Dan 14.).



Gambar 13. Pengaruh Interaksi Konsentrasi Media PES Cair dan Waktu Pemeliharaan terhadap Pertambahan Berat Propagul *K. alvarezii* Selama delapan minggu pemeliharaan



Gambar 14. Pengaruh Interaksi Konsentrasi Media PES Cair dan Waktu Pemeliharaan terhadap Pertambahan Panjang Propagul *K. alvarezii* Selama delapan minggu pemeliharaan

Berdasarkan nilai rata-ratanya maka perlakuan interaksi konsentrasi media PES cair 20 mL/L dengan waktu pemeliharaan delapan minggu memberikan pertambahan berat dan panjang tertinggi, yaitu sebesar 2,59 g dan 2,73 cm, sementara perlakuan interaksi konsentrasi media PES cair 40 mL/L

dengan waktu pemeliharaan delapan minggu memberikan rata-rata pertambahan berat dan panjang terendah, yakni 1,35 g dan 1,46 cm (Tabel 2., Lampiran 1. dan 2.). Dengan demikian maka kandungan nutrisi pada media PES cair 20 mL/L lebih sesuai bagi pertumbuhan sel propagul *K. alvarezii*.

Tabel 2. Rerata pertambahan Berat dan Panjang propagul *K. alvarezii* pada berbagai konsentrasi media PES cair

PES cair (mL/L)	Pertambahan	Awal (0 minggu)	Akhir (8 minggu)	Pertambahan Mutlak (g)
20	Berat (g)	0,35±0,020	2,59±0,072	2,24±0,074
	Panjang (cm)	0,997±0,233	2,73±0,070	1,73±0,287
40	Berat (g)	0,35±0,010	1,35±0,042	1,00±0,035
	Panjang (cm)	0,89±0,104	1,46±0,122	0,57±0,144

Hasil *analysis of variance* (ANOVA) menunjukkan bahwa setiap perlakuan interaksi konsentrasi media PES cair dan waktu pemeliharaan memberikan pengaruh yang sangat nyata ($P < 0,05$) dengan tingkat keyakinan 95% terhadap pertambahan berat dan panjang propagul *K. alvarezii*. Demikian juga pengaruh faktor tunggal media PES cair tanpa melihat faktor waktu pemeliharaan dan perlakuan tunggal waktu pemeliharaan tanpa melihat faktor media PES cair juga memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap pertambahan berat dan panjang propagul *K. alvarezii* (Lampiran 3. dan 4.).

Semakin meningkatnya pertambahan berat dan panjang propagul pada perlakuan media PES cair 20 mL/L dibandingkan perlakuan media PES cair 40 mL/L ini menunjukkan bahwa perlakuan media PES cair 20 mL/L merupakan konsentrasi yang tepat dan ketika diserap oleh propagul dapat bekerja secara optimal dalam mendukung pertumbuhan sel propagul *K. alvarezii*. Penyerapan

unsur hara yang terkandung dalam media PES cair 20 mL/L dapat dimanfaatkan dengan baik oleh propagul didukung oleh pergerakan air yang optimal dengan pemberian aerasi. Aerasi adalah suatu mekanisme dimana karbondioksida dari udara didifusikan kedalam media kultur (Yong *et al.*, 2011).

Media PES merupakan pupuk yang lengkap karena mengandung unsur hara makro dan mikro nutrien yang sangat lengkap dan dibutuhkan oleh rumput laut. Reddy *et al.* (2008) melaporkan bahwa pupuk PES merupakan pupuk yang banyak digunakan untuk pertumbuhan alga karena kandungan haranya yang lengkap dan cocok untuk jenis alga terutama rumput laut pada pembesaran kalus hingga berukuran 3-5 cm. Mansilla *et al.* (2008) menyatakan bahwa selama pemeliharaan bibit rumput laut di laboratorium, pupuk yang mengandung unsur hara makro (nitrogen, fosfor, kalium) dan mikro (Mo, Ni, Mn, B, Cu, Zn, Co, Cl, Na, S), memberikan laju pertumbuhan yang lebih tinggi pada rumput laut dibandingkan dengan pupuk yang hanya mengandung unsur hara makro saja.

Proses penyerapan nutrien pada rumput laut dilakukan secara osmosis melalui seluruh bagian tubuhnya. Membran sel yang merupakan bagian terluar setelah dinding sel berperan sebagai pelindung isi sel yang ada dalam tubuh serta mengatur nutrien yang keluar dan masuk ke dalam sel. Sifat *semi-permeabel* dari membran sel akan menyeleksi setiap zat yang dapat masuk ke dalam sel. Hal ini disebabkan karena membran plasma memiliki permeabilitas selektif (*selective permeability*), yaitu memungkinkan beberapa substansi dapat melintasinya dengan lebih mudah daripada substansi yang lainnya (Campbell, *et al.*, 2008)

Banyaknya nutrien yang berdifusi ke dalam sel tergantung pada kadar nutrien di dalam dan di luar sel. Media PES cair dengan konsentrasi 20 mL/L dan 40 mL/L yang digunakan pada penelitian ini memiliki kandungan nutrien yang tinggi dibandingkan dengan air laut, sehingga diharapkan dapat memenuhi dan

mencukupi kebutuhan nutrisi untuk pertumbuhan propagul *K. alvarezii* serta proses penyerapannya dapat optimal. Hurd *et al.* (2014) menyatakan bahwa nutrisi di luar sel yang kadarnya lebih tinggi dibandingkan di dalam sel mengakibatkan nutrisi dari luar sel akan berdifusi bebas ke dalam sel sesuai kebutuhannya. Nutrisi tersebut akan meningkatkan aktivitas metabolisme sel dengan cara masuk ke dalam sel sedikit demi sedikit kemudian akan mengembangkan vakuola yang ada di dalam sel. Vakuola berperan sangat penting dalam kehidupan karena mekanisme pertahanan hidup tumbuhan bergantung pada kemampuan vakuola menjaga konsentrasi zat-zat terlarut di dalamnya. Volume vakuola semakin bertambah dengan masuknya nutrisi ke dalam sel yang mengakibatkan berat propagul *K. alvarezii* yang digunakan pada penelitian ini juga semakin meningkat.

Hasil penelitian pada tahap ini menunjukkan bahwa walaupun kedua perlakuan media PES cair yang digunakan memiliki kandungan nutrisi yang tinggi dibandingkan dengan air laut, tetapi perlakuan media PES cair 20 mL/L memberikan pertumbuhan propagul *K. alvarezii* yang lebih meningkat dibandingkan perlakuan media PES cair 40 mL/L. Pengamatan secara kasat mata pada media pemeliharaan menunjukkan bahwa kondisi media kultur pada perlakuan konsentrasi media PES cair 40 mL/L lebih keruh dibandingkan perlakuan konsentrasi media PES cair 20 mL/L. Kekeruhan menunjukkan tingkat kejenuhan larutan, dimana diduga hal ini berhubungan dengan kepekatan larutan media kultur akibat konsentrasi mikronutrien yang sangat tinggi dalam media sehingga mempengaruhi proses osmosis sel. Osmosis merupakan peristiwa berpindahnya air dalam sel dari keadaan yang hipotonis zat terlarut menuju ke daerah yang hipertonis zat terlarut melalui membran semi permeabel (Rahmasari dan Susanto, 2014).

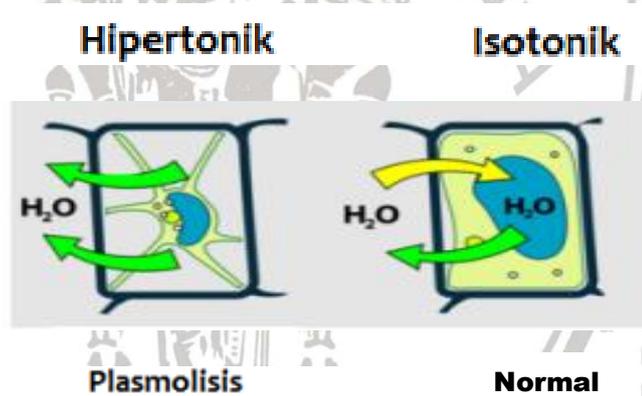
Jika konsentrasi larutan di dalam sel lebih tinggi daripada larutan di luar sel (hipotonis), maka air akan masuk ke dalam sel. Pergerakan masuknya air ke dalam sel ini disebut endosmosis. Sebaliknya, apabila kepekatan larutan di luar sel lebih tinggi daripada di dalam sel (hipertonis), maka air akan keluar dari sel. Pergerakan keluarnya air dari dalam sel ini disebut eksoosmosis. Sedangkan jika kepekatan zat terlarut di dalam sel sama dengan diluar sel (isotonis), maka jumlah air yang masuk dan keluar sama (Handayani *et al.*, 2012).

Diduga bahwa konsentrasi mikronutrien dalam media menyebabkan kepekatan larutan media kultur pada konsentrasi media PES cair 20 mL/L menghasilkan proses pergerakan molekul air dari konsentrasi tinggi ke konsentrasi rendah masih dapat mencapai kondisi isotonik sehingga terjadi keseimbangan jumlah air yang masuk dan keluar sel. Sementara konsentrasi mikronutrien yang sangat tinggi dalam media menyebabkan kepekatan larutan media kultur pada konsentrasi media PES cair 40 mL/L menjadi lebih pekat/jenuh sehingga sel propagul berada dalam kondisi larutan yang lebih hipertonik dan mengakibatkan larutan pada media kultur memiliki konsentrasi air yang lebih rendah dibandingkan konsentrasi air di dalam vakoula sel propagul. Kondisi ini menyebabkan air akan senantiasa bergerak keluar dari sel. Karena kondisi larutan pada konsentrasi media PES 40 mL/L sangat hipertonik bila dibandingkan konsentrasi media PES cair 20 mL/L maka air yang bergerak keluar dari sel terlalu banyak dan pada akhirnya menyebabkan terjadinya plasmolisis yang merupakan peristiwa lepasnya sel dari dinding sel sehingga pertumbuhan propagul menjadi terhambat bahkan mengalami kematian.

(Gambar 15.).

Menurut Choi *et al* (2010) bahwa kepekatan yang berbeda antara cairan di dalam dan di luar sel, mendorong badan golgi untuk terus berusaha menyeimbangkan hingga menjadi isotonis. Hal tersebut berdampak pada

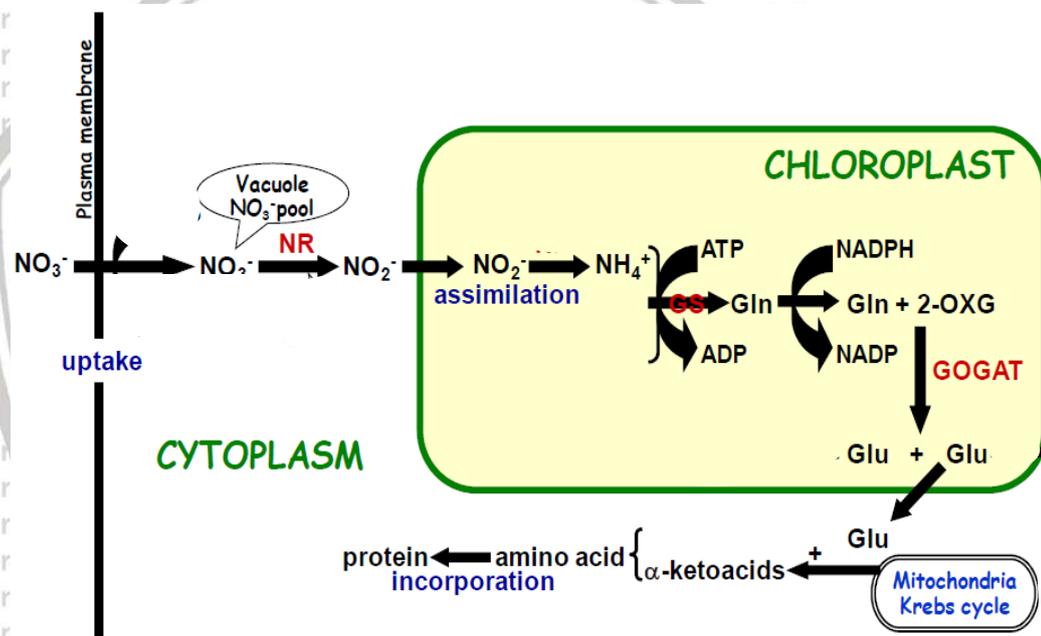
pemanfaatan energi yang lebih besar sehingga berpengaruh terhadap rendahnya pertumbuhan dan perkembangan rumput laut (Xiong dan Zhu, 2002). Dengan demikian maka konsentrasi media PES cair 20 mL/L merupakan konsentrasi yang tepat karena dapat memberikan keseimbangan transport air dan nutrisi sehingga tidak mengganggu tekanan osmotik dalam sel propagul *K. alvarezii*. Sementara konsentrasi media PES cair 40 mL/L yang terlalu pekat menyebabkan tekanan osmotik dalam sel terganggu. Jika tekanan osmotik tidak seimbang maka pertukaran air, nutrient dan ion-ion yang dibutuhkan oleh sel menjadi tidak optimal. Hurd *et al.* (2014) menyatakan bahwa pada konsentrasi nutrisi yang tepat, tekanan osmotik dalam sel tidak akan berubah dengan cepat sehingga pertukaran air dan zat hara berjalan lancar dan proses metabolisme yang berjalan baik dapat menghasilkan pertumbuhan yang optimal.



Gambar 15. Ilustrasi Struktur Sel pada Kondisi Hipertonik dan Isotonik

Media PES merupakan media kultur untuk rumput laut yang kaya dengan nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan. Beberapa unsur pada senyawa ini dapat melengkapi kekurangan yang ada pada *Sterilized Sea Water* (SSW) (Andersen, 2005). Salah satu unsur nutrisi yang berperan dalam pertumbuhan propagul *K. alvarezii* dan terdapat dalam media PES cair adalah nitrogen. Mekanisme meningkatnya pertumbuhan propagul *K. alvarezii* pada perlakuan media PES cair 20 mL/L ini dapat terjadi karena ketika media PES cair 20 mL/L

terlarut dalam media kultur berupa air laut steril maka nitrogen dalam bentuk nitrat (NO_3^-) akan masuk melalui plasma membran propagul secara osmosis ke dalam sitoplasma. Nitrat akan disimpan dalam vakuola dan ada yang direduksi menjadi nitrit (NO_2^-). Nitrit kemudian ditransportasikan ke dalam kloroplas dan direduksi menjadi ammonium (NH_4^+). Ammonium akan mengalami serangkaian reaksi untuk membentuk Glutamat (Glu). Glutamat akan dibawa kembali ke sitoplasma dan berperan dalam reaksi transaminasi dengan α - ketoacid untuk membentuk asam amino dan protein yang berperan dalam proses pertumbuhan propagul (Mulholland & Lomas, 2008) (Gambar 16).

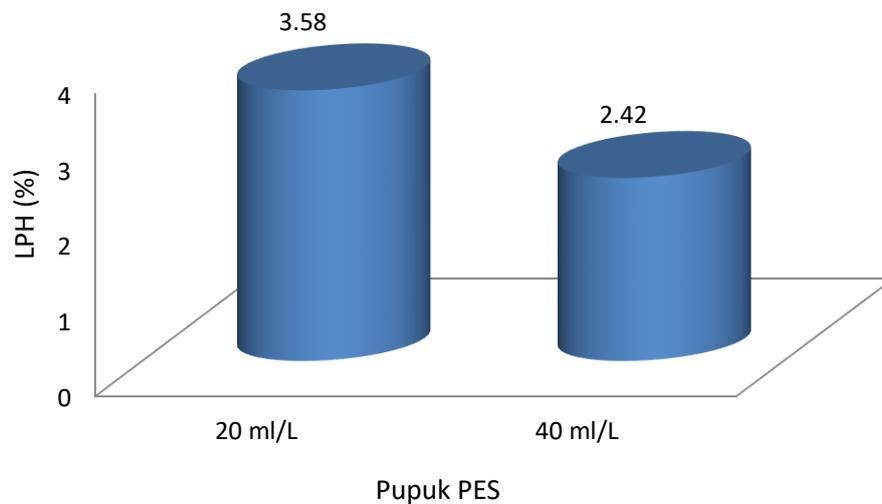


Gambar 16. Skema Jalur Asimilasi Nitrat

Meningkatnya pertambahan berat dan panjang propagul *K. alvarezii* pada perlakuan konsentrasi media PES cair 20 mL/L ini juga didukung oleh hasil pengukuran laju pertumbuhan hariannya (LPH) pada perlakuan faktor tunggal konsentrasi media PES cair. Hasil *analysis of variance* (ANOVA) menunjukkan bahwa setiap perlakuan interaksi konsentrasi media PES cair dan waktu pemeliharaan tidak berpengaruh nyata terhadap laju pertumbuhan harian (LPH)

berat dan panjang propagul *K. alvarezii*. Namun pengaruh faktor tunggal konsentrasi media PES cair tanpa melihat faktor waktu pemeliharaan dan perlakuan tunggal waktu pemeliharaan tanpa melihat faktor media PES cair memberikan pengaruh yang nyata terhadap laju pertumbuhan harian (LPH) berat dan panjang propagul *K. alvarezii* (Lampiran 7. Dan 8.).

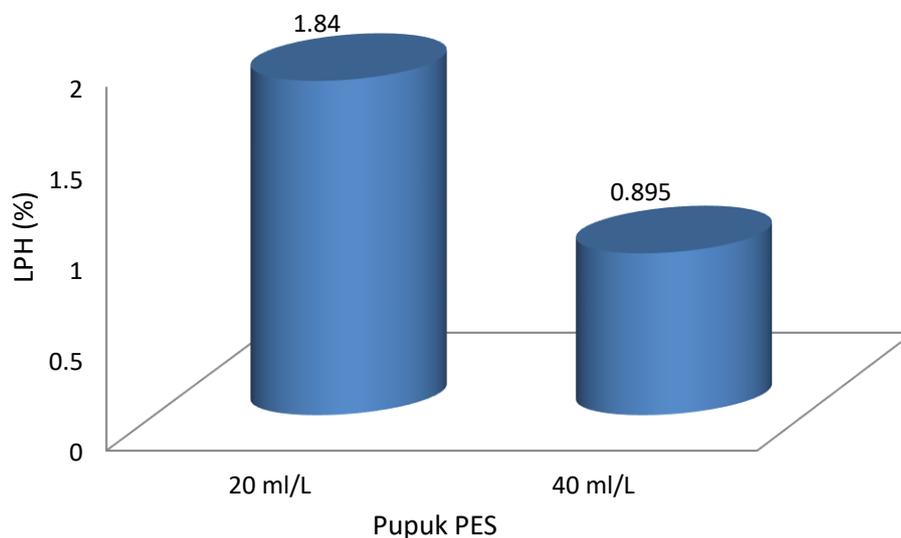
Perlakuan media PES cair 20 mL/L memberikan rata-rata Laju Pertumbuhan Harian (LPH) berat sebesar 3,58 %/hari dan rata-rata Laju Pertumbuhan Harian (LPH) panjang sebesar 1,84 %/hari, sementara perlakuan media PES cair 40 ml/L memberikan rata-rata Laju Pertumbuhan Harian (LPH) berat sebesar 2,42 %/hari dan rata-rata Laju Pertumbuhan Harian (LPH) panjang sebesar 0,90 %/hari (Gambar 17. dan 18. serta Lampiran 5. dan 6.).



Gambar 17. Pengaruh Konsentrasi Media PES Cair Terhadap Laju pertumbuhan harian berat propagul *K. alvarezii* selama delapan minggu pemeliharaan

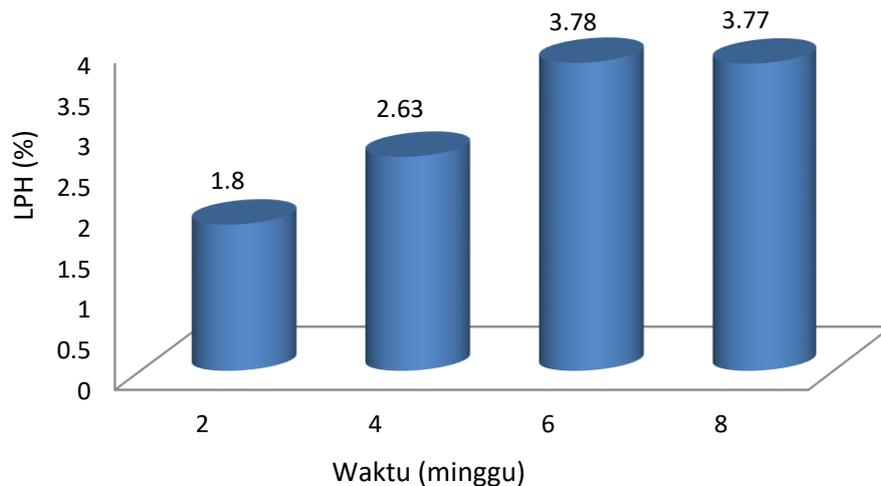
Nilai LPH pada perlakuan media PES 20 mL/L ini cukup baik mengingat LPH rumput laut *cottonii* pada saat dibudidayakan di alam berkisar antara 3-5% tergantung musim (Thirumaran & Anantharaman, 2009). Young *et al* (2011) menyatakan bahwa pada mikropropagasi *in vitro* jenis *Eucheuma sp*, laju

pertumbuhan harian (LPH) pada media PES lebih tinggi dibandingkan media von Stosch, F/2 dan air laut. Lebih lanjut hasil penelitian Sulistiani *et al* (2011) menunjukkan bahwa LPH propagul pada konsentrasi PES 20 mL/L tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 10 mL/L, tetapi LPH kedua perlakuan lebih tinggi dan berbeda nyata dengan LPH pada perlakuan 5 mL/L. Untuk tujuan efisiensi penggunaan bahan kimia maka dalam pembesaran propagul tidak harus menggunakan konsentrasi 20 mL/L tetapi bisa menggunakan konsentrasi PES 10 mL/L.

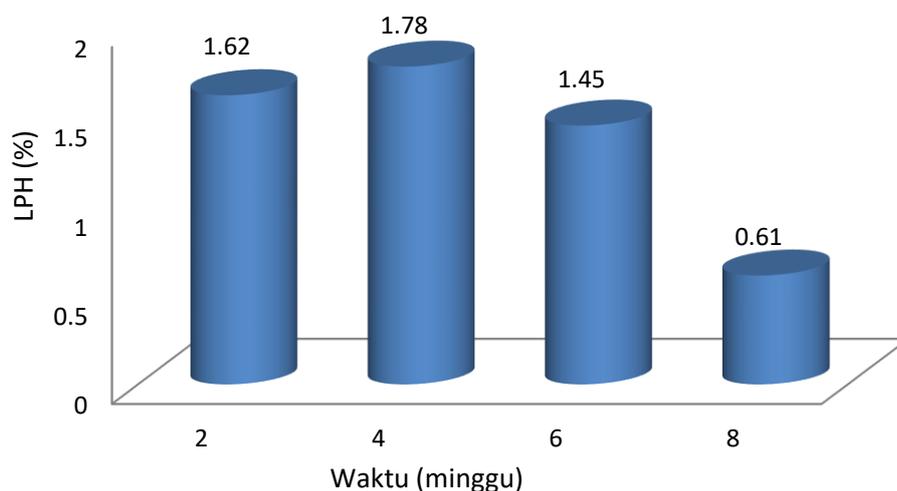


Gambar 18. Pengaruh Konsentrasi Media PES Cair Terhadap Laju pertumbuhan harian panjang propagul *K. alvarezii* selama delapan minggu pemeliharaan

Pengaruh waktu pemeliharaan terhadap laju pertumbuhan harian propagul *K. alvarezii* hasil kultur jaringan menunjukkan bahwa waktu pemeliharaan minggu keenam memberikan laju pertumbuhan harian berat tertinggi, yaitu 3,78 %/hari sementara waktu pemeliharaan minggu keempat memberikan laju pertumbuhan harian panjang tertinggi, yaitu 1,78 %/hari (Gambar 19. dan 20.).



Gambar 19. Pengaruh Waktu Pemeliharaan Terhadap Laju pertumbuhan harian berat propagul *K. alvarezii* selama delapan minggu pemeliharaan



Gambar 20. Pengaruh Waktu Pemeliharaan Terhadap Laju pertumbuhan harian panjang propagul *K. alvarezii* selama delapan minggu pemeliharaan

Pertumbuhan propagul *K. alvarezii* yang dipengaruhi oleh interaksi media PES cair dan waktu pemeliharaan pada penelitian ini juga didukung oleh kondisi kualitas air pemeliharaan, terutama salinitas. Ask and Azansa (2002) menyatakan bahwa faktor-faktor lingkungan yang mempunyai peranan penting dalam budidaya *K. alvarezii* adalah suhu, salinitas, nutrisi, cahaya dan beberapa faktor ekologi lainnya. Pertumbuhan dapat meningkat selain didukung oleh

nutrien juga jika media dan lingkungan sekitar pemeliharaan sesuai dengan kebutuhan atau kisaran yang dapat ditoleransi. Hasil pengukuran kualitas air selama pemeliharaan menunjukkan bahwa perlakuan media PES cair 20 mL/L memberikan nilai kualitas air yang masih pada kisaran baik. Sementara perlakuan media PES cair 40 mL/L menunjukkan nilai kualitas air yang sedikit berada diluar kisaran kualitas air yang sesuai literatur, terutama salinitas yang berada sedikit lebih tinggi diatas kisaran rata-ratanya. (Tabel 3.).

Tabel 3. Parameter Kualitas Air

No.	Parameter	Kisaran Pengamatan		Pustaka
		Konsentrasi media PES Cair		
		20 mL/L	40 mL/L	
1	Suhu (°C)	22,18 – 26,81	23,5 – 26,12	22- 33 (Lideman <i>et al.</i> , 2013).
2	Derajat Keasaman (PH)	7,87 – 8,67	8,13 – 8,17	6 – 8 (Semedi <i>et al.</i> , 2016)
3	DO (mg/L)	5,03 – 5,3	5,15 – 5,46	5 – 8 (Semedi <i>et al.</i> , 2016)
4	Salinitas (ppm)	33 – 34,2	36,2 – 38,8	30 - 35 (Dawes, 1981)

Tabel 3. menunjukkan bahwa rerata kisaran salinitas yang diukur pada perlakuan media PES cair 40 mL/L berkisar antara 36,2 – 38,8 ‰ sementara menurut Dawes (1981) salinitas optimum berkisar antara 30 - 35 ‰. Peningkatan salinitas yang tinggi pada konsentrasi media PES cair 40 mL/L ini mendukung kondisi hipertonic yang terjadi pada perlakuan ini sebagaimana telah dijelaskan sebelumnya. Kondisi ini mengakibatkan penurunan kandungan air dalam sel propagul sehingga dapat mempengaruhi pertumbuhan berat dan panjang propagul *K. alvarezii*. Kisaran salinitas yang terlalu tinggi diduga menyebabkan terjadi perubahan tekanan osmotik yang terlalu besar di dalam sel

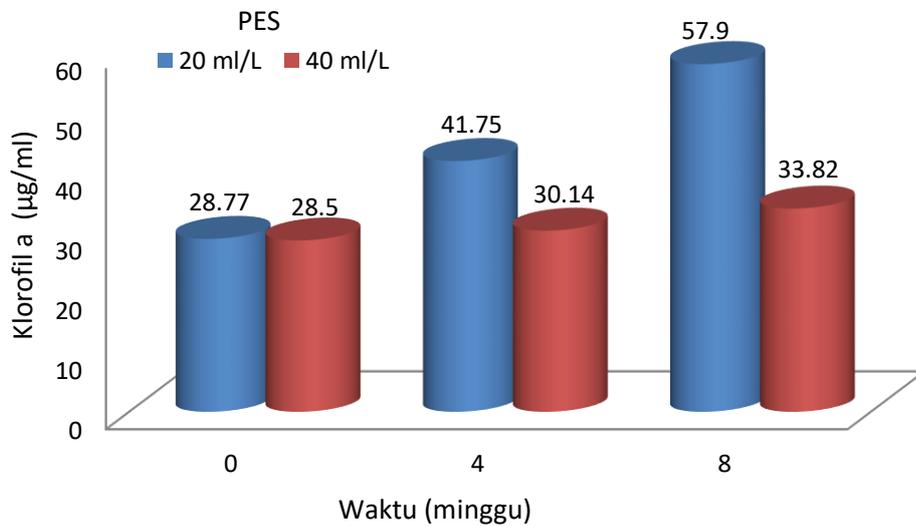
tanaman sehingga air yang ada dalam sel akan berdifusi keluar, dan volume sel mengalami penyusutan. Selain itu membran sel, enzim dan organel sel yang lainnya akan rusak dan tidak dapat berfungsi sebagaimana mestinya sehingga pertumbuhan tanaman menjadi tidak optimal. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Ding *et al.* (2013) dan Nitschke *et al.* (2014) pada rumput laut merah *Hypnea cervicornis* dan *S. alsidii* yang menunjukkan bahwa pemberian salinitas diatas 40‰ menyebabkan tekanan turgor sel berkurang, terhentinya pembelahan sel dan tingkat pertumbuhan rumput laut yang negative (menurun) sehingga juga berdampak pada penurunan konsentrasi klorofil a. Araújo *et al.* (2014) menjelaskan bahwa pada salinitas tinggi, pertumbuhan dan konsentrasi klorofil juga rendah pada *K. alvarezii*.

Salinitas mempengaruhi mekanisme fisiologi dan biokimia terutama tekanan osmosis yang berkaitan erat dengan peran membran sel dalam proses transport nutrisi dan memberikan efek stimulasi terhadap pertumbuhan rumput laut (Rumampuk *et al.*, 2004; Hurtado-Ponce *et al.*, 2009; Luhan dan Sollesta, 2010).

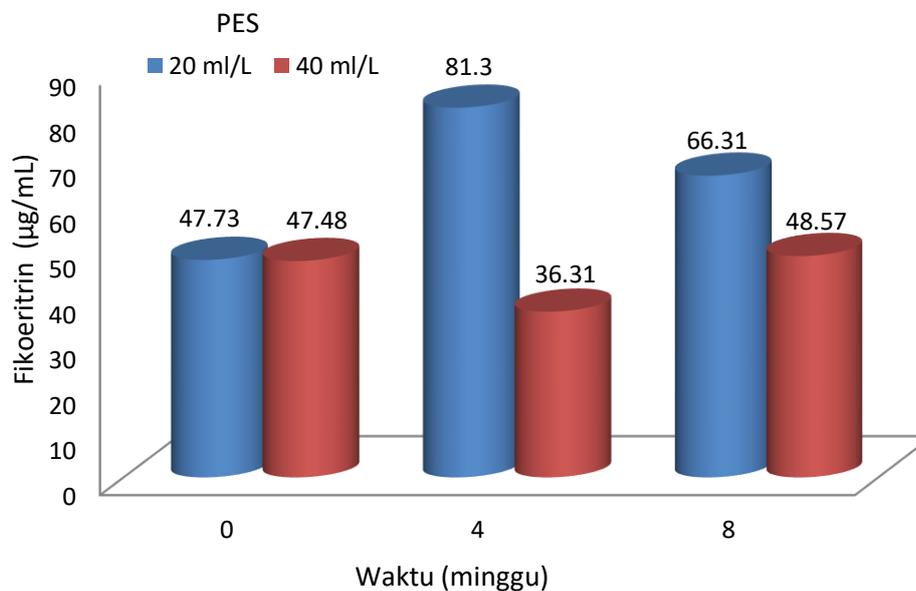
5.1.2. Pengaruh Konsentrasi Media PES Cair Terhadap Kandungan Klorofil a dan Fikoeritrin Propagul *K. Alvarezii* Hasil Kultur Jaringan

Hasil pengamatan selama delapan minggu masa pemeliharaan menunjukkan bahwa kandungan klorofil a pada propagul *K. alvarezii* meningkat seiring dengan meningkatnya waktu pemeliharaan pada semua perlakuan konsentrasi media PES cair (Gambar 21.). Sementara kandungan fikoeritrin pada perlakuan konsentrasi media PES cair 20 mL/L mengalami peningkatan pada pemeliharaan minggu keempat dan menurun pada minggu kedelapan, sebaliknya pada perlakuan konsentrasi media PES cair 40 mL/L, kandungan

pigmen fikoeittrin mengalami penurunan pada pemeliharaan minggu keempat dan meningkat pada minggu kedelapan (Gambar 22.).



Gambar 21. Pengaruh Interaksi Konsentrasi Media PES Cair dan Waktu Pemeliharaan terhadap Kandungan Klorofil a Propaguk *K. alvarezii* Selama delapan minggu pemeliharaan



Gambar 22. Pengaruh Interaksi Konsentrasi Media PES Cair dan Waktu Pemeliharaan terhadap kandungan Fikoeittrin Propaguk *K. alvarezii* Selama delapan minggu pemeliharaan

Pada akhir masa pemeliharaan (8 minggu) menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi media PES cair 20 mL/L memberikan rata-rata kandungan klorofil a dan fikoeittrin yang paling tinggi, yaitu 57,90 µg/mL dan 66,31 µg/mL

sedangkan perlakuan konsentrasi media PES cair 40 ml/L memberikan kandungan klorofil a dan fikoeritrin yang lebih rendah, yaitu 33,82 µg/mL dan 48,57 µg/mL (Tabel 4., Lampiran 9. dan 10.). Dengan demikian maka perlakuan interaksi konsentrasi media PES cair 20 mL/L dengan waktu pemeliharaan delapan minggu tidak hanya meningkatkan penambahan bobot tetapi juga meningkatkan kandungan klorofil a dan fikoeritrin pada propagul *K. alvarezii*.

Tabel 4. Rerata Kandungan Klorofil a dan Fikoeritrin propagul *K. alvarezii* pada berbagai konsentrasi media PES cair

PES cair (mL/L)	Waktu pemeliharaan (minggu)	Pigmen Fotosintesis (µg/mL)	
		Klorofil a	Fikoeritrin
20	0	28,77±0,822	47,73±1,355
	4	41,75±0,828	81,30±3,185
	8	57,90±4,063	66,31±14,995
40	0	28,50±1,314	47,48±8,160
	4	30,14±1,688	36,31±0,989
	8	33,82±4,600	48,57±7,266

Hasil *analysis of variance* (ANOVA) menunjukkan bahwa setiap perlakuan interaksi konsentrasi media PES cair dan waktu pemeliharaan memberikan pengaruh yang sangat nyata ($P < 0,05$) dengan tingkat keyakinan 95% terhadap kandungan klorofil a dan fikoeritrin propagul *K. alvarezii*. Demikian juga pengaruh faktor tunggal media PES cair tanpa melihat faktor waktu pemeliharaan memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap kandungan klorofil a dan fikoeritrin propagul *K. alvarezii*, sementara perlakuan tunggal waktu pemeliharaan tanpa melihat faktor media PES cair hanya berpengaruh sangat

nyata terhadap kandungan klorofil a dan tidak berpengaruh nyata terhadap kandungan fikoeitrin propagul *K. alvarezii* (Lampiran 11. Dan 12.).

Mekanisme peningkatan kandungan klorofil a pada konsentrasi media PES cair 20 mL/L juga merupakan respon terhadap kandungan nutrisi, terutama nitrogen dalam media kultur. Hal ini dapat dijelaskan sebagai berikut, nitrogen dalam bentuk nitrat pada media kultur dapat diperoleh propagul *K. alvarezii* melalui proses absorpsi yaitu osmosis sebagaimana telah dibahas pada uraian sebelumnya (Gambar 16.). Nitrat direduksi menjadi nitrit, kemudian nitrit dibawa ke kloroplas untuk direduksi menjadi ammonia. Selanjutnya ammonia mengalami perubahan menjadi asam glutamat, dikatalisis oleh enzim glutamin sintase. Asam glutamat berfungsi sebagai bahan dasar dalam biosintesis asam amino dan asam nukleat. Asam glutamat akan membentuk asam aminolevulinat (ALA) yang berperan sebagai pra zat cincin porfirin pembentukan klorofil. Oleh karena itu nitrogen yang banyak dalam tumbuhan akan meningkatkan kandungan klorofil a karena menyebabkan pembentukan asam glutamat yang terbentuk juga banyak (Lea and Mifflin, 2003 ; Suzuki and Knaff, 2005 ; Yaronskaya *et al.*, 2006).

Meningkatnya kandungan klorofil a sangat berpengaruh terhadap hasil fotosintesis melalui enzim fotosintetik maupun kandungan klorofil yang terbentuk. Proses fotosintesis yang berlangsung dengan baik akan memicu penimbunan karbohidrat dan protein. Penimbunan karbohidrat dan protein sebagai hasil akumulasi proses fotosintesis akan mempengaruhi pertambahan berat propagul. Pertumbuhan dapat terjadi sebagai akibat dari fungsi nitrat sebagai bahan penyusun protein. Diduga bahwa protein ini berpotensi untuk mengaktifkan enzim yang ada di dalam tubuh tumbuhan. Enzim tersebut nantinya akan mengubah substrat menjadi produk baru akibatnya terjadi duplikasi/perbanyakan sel.

Peningkatan kadungan klorofil a juga berhubungan dengan kandungan fikoeritrin. Fikoeritrin merupakan protein yang bekerja sebagai pigmen pelengkap pada alga merah dan alga biru-hijau yang berfungsi untuk membantu klorofil-a dalam menyerap cahaya pada proses fotosintesis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi media PES cair 20 mL/L memberikan kandungan fikoeritrin yang lebih tinggi sehingga proses penyerapan cahaya oleh klorofil a lebih banyak dibandingkan konsentrasi media PES cair 40 mL/L karena dibantu oleh kandungan fikoeritrin yang tinggi juga. Cahaya yang diserap oleh fikoeritrin secara efisiensi dipindahkan ke fikosianin, kemudian ke allofikosianin, diteruskan ke allofikosianin B dan terakhir ke klorofil (Chakdar and Pabbi, 2012 ; Pugalendren et al., 2012).

Meningkatnya kandungan klorofil a dan fikoeritrin pada perlakuan konsentrasi media PES cair 20 mL/L dibandingkan perlakuan konsentrasi media PES cair 40 mL/L ini juga sejalan dengan penambahan berat dan panjang propagul. Secara umum pertumbuhan rumput laut sangat berhubungan dengan kandungan klorofil a dan fikoeritrin. Jika penyerapan cahaya yang dilakukan klorofil a mencukupi maka proses fotosintesis akan berlangsung optimal sehingga pertumbuhan rumput laut dapat meningkat. Menurut Wenno *et al.* (2012), rumput laut memerlukan unsur hara untuk bahan baku proses fotosintesis dan untuk menunjang pertumbuhan. Oleh karena itu setiap proses pertumbuhan dan pembentukan klorofil akan membutuhkan nutrisi.

Penambahan konsentrasi media PES cair 20 mL/L lebih baik dalam menjaga pertumbuhan eksplan dan pembentukan klorofil diduga karena pada konsentrasi tersebut kebutuhan nutrisi jaringan rumput laut terutama Nitrogen (N) dan Fosfor (P) telah tercukupi. Harrison and Hurd (2001) menyatakan bahwa pertumbuhan dan perkembangan rumput laut membutuhkan kualitas cahaya serta nutrisi yang cukup seperti Nitrogen (N) dan Fosfor (P) yang diperlukan

sebagai bahan dasar penyusun protein dan pembentukan klorofil dalam proses fotosintesis. Skriptsova and Miroshnikova, (2013) menyatakan bahwa Nitrogen digunakan oleh tanaman untuk menghasilkan protein dan klorofil, sedangkan fosfor memiliki peran penting dalam transportasi energi dan juga pembentukan DNA, RNA, dan fosfolipid.

Hasil analisis terhadap kandungan Nitrogen (N) dan Fosfor (P) berdasarkan kualitas air dan kandungan proksimat pada penelitian ini sebagai data pendukung juga menunjukkan bahwa propagul *K. alvarezii* pada perlakuan konsentrasi media PES cair 20 ml/L mampu melakukan penyerapan nitrogen dan fosfor yang lebih tinggi. Nitrogen yang berada di perairan umumnya dalam bentuk nitrat (NO_3), nitrit (NO_2) dan amoniak (NH_3), sedangkan fosfor yang berada di perairan sering melimpah dalam berbagai bentuk senyawa fosfat, diantaranya total fosfat (PO_4).

Hasil perhitungan penyerapan N dan P berdasarkan kualitas air menunjukkan bahwa propagul *K. alvarezii* lebih banyak menyerap nitrat dibandingkan dengan nitrit dan amoniak. Jumlah nitrat yang diserap pada perlakuan konsentrasi media PES cair 20 mL/L sebesar 1,316602 mg/g, sedangkan pada perlakuan konsentrasi media PES cair 40 mL/L menunjukkan nilai sebesar 0,332046 mg/g. Nitrit yang diserap tidak dapat dideteksi, karena nilai kandungan nitrit yang terdapat di perairan $<0,01$ mg/L. (Tabel 5.).

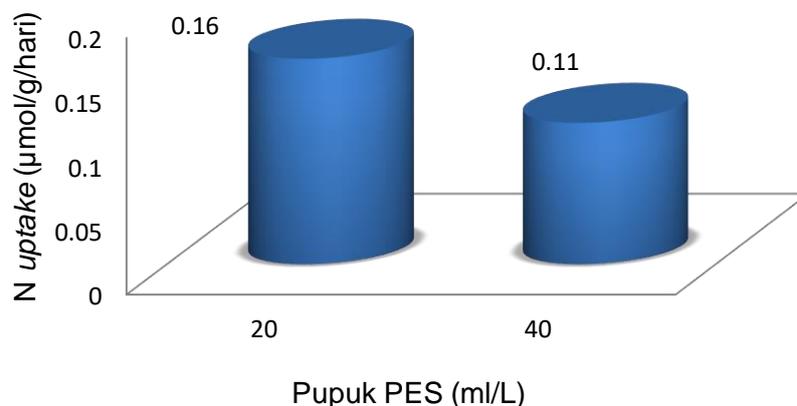
Amoniak yang diserap pada perlakuan konsentrasi media PES cair 20 mL/L sebesar 0,06564 mg/g, sedangkan pada perlakuan konsentrasi media PES cair 40 mL/L hanya mampu menyerap sebesar 0,05405 mg/g. Pada hasil perhitungan total fosfat menunjukkan bahwa propagul *K. alvarezii* pada perlakuan konsentrasi media PES cair 20 mL/L melakukan penyerapan total fosfat sebesar 0,5444 mg/g, sedangkan pada perlakuan konsentrasi media PES cair 40 mL/L hanya mampu menyerap total fosfat sebesar 0,42471 mg/g.

Tabel 5. Penyerapan nitrat, nitrit, amoniak dan total fosfat oleh propagul *K. alvarezii* pada berbagai konsentrasi media PES cair.

Penyerapan (mg/g)	PES cair	
	20 mL/L	40 mL/L
NO ₃	1,316602	0,332046
NO ₂	*	*
NH ₃	0,06564	0,05405
PO ₄	0,5444	0,42471

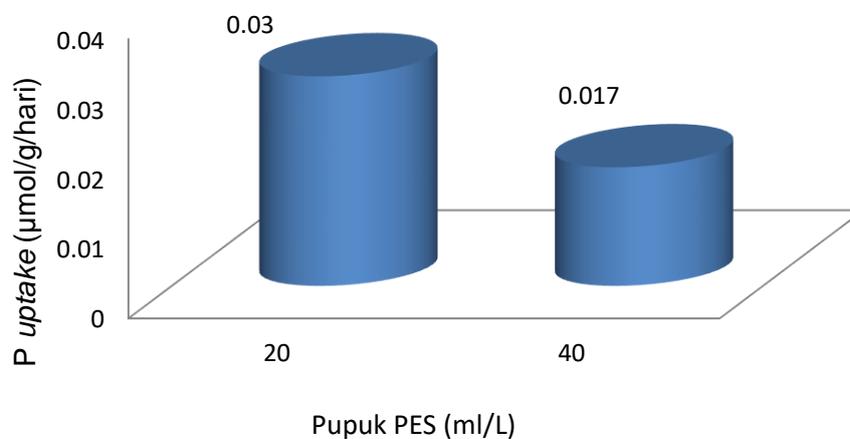
Keterangan : * = tidak terdeteksi

Hasil perhitungan penyerapan N dan P berdasarkan analisis proksimat (Gambar 23. dan 24.) menunjukkan bahwa propagul *K. alvarezii* pada perlakuan konsentrasi media PES cair 20 mL/L mampu melakukan penyerapan nitrogen dan fosfor berturut-turut sebesar 0,16 $\mu\text{mol/g/hari}$ dan 0,03 $\mu\text{mol/g/hari}$. Sementara propagul *K. alvarezii* dengan perlakuan konsentrasi media PES cair 40 mL/L hanya mampu melakukan penyerapan nitrogen dan fosfor secara berturut-turut sebesar 0,11 $\mu\text{mol/g/hari}$ dan 0,017 $\mu\text{mol/g/hari}$.



Gambar 23. Penyerapan nitrogen oleh propagul *K. alvarezii* pada perlakuan konsentrasi media PES cair 20 ml/L dan 40 ml/L selama delapan minggu pemeliharaan

Semakin banyak rumput laut menyerap nitrogen dan fosfor, maka semakin banyak jumlah nitrogen dan fosfor yang terdapat didalam rumput laut, dan ini menunjukkan bahwa semakin baik kualitasnya. Laju penyerapan nitrat dan fosfat memiliki korelasi positif dengan peningkatan laju pertumbuhan serta sintesis klorofil a dan *phycoerythrin* (Gordillo *et al.*, 2002 ; Kim *et al.*, 2007 ; Lea and Azevedo, 2006).

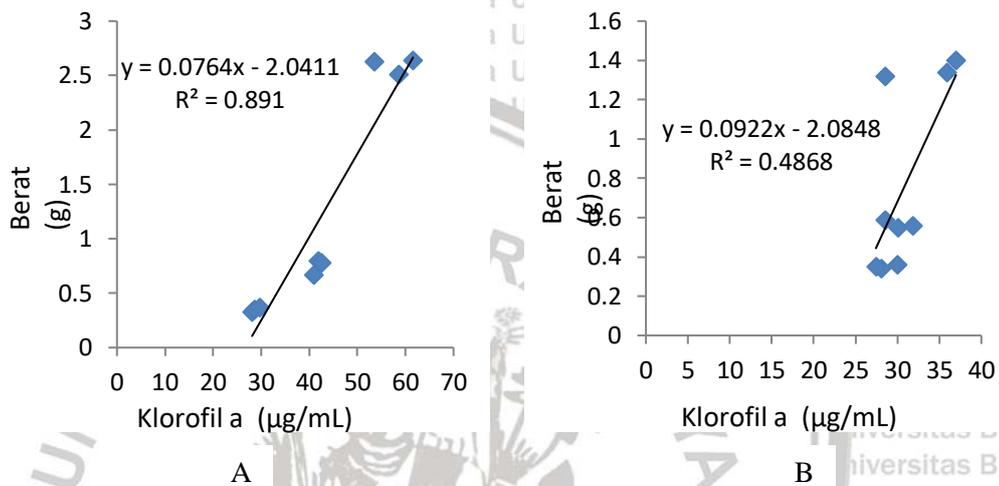


Gambar 24. Penyerapan fosfor oleh propagul *K. alvarezii* pada perlakuan konsentrasi media PES cair 20 ml/L dan 40 ml/L selama delapan minggu pemeliharaan

Ahmad *et al.* (2011) menyatakan kandungan klorofil rumput laut meningkat terhadap respon kandungan nitrogen dalam kolom air. Korelasi linier antara nutrisi (utamanya total phosphor dan total nitrogen) dan klorofil telah ditunjukkan oleh beberapa peneliti sebelumnya (Brown *et al.*, 2000). Hasil ini diperkuat oleh penelitian Liu *et al.* (2000) yang menyimpulkan bahwa pada semua tumbuhan, peningkatan konsentrasi total nitrogen dan fiksasi karbon pada proses fotosintesis terjadi secara bersamaan dan lebih dari 50% N dialokasikan pada kloroplas.

Penelitian ini juga memperkuat asumsi tersebut bahwa pemberian media PES cair pada berbagai konsentrasi berpengaruh nyata terhadap kandungan

klorofil propagul *K. alvarezii*. ($p < 0,05$). Di samping itu, pada penelitian ini didapatkan adanya korelasi yang kuat antara pertumbuhan dengan kandungan klorofil a propagul *K. alvarezii* pada perlakuan interaksi konsentrasi media PES cair 20 mL/L dengan waktu pemeliharaan ($R^2 = 0,891$) dibandingkan perlakuan interaksi konsentrasi media PES cair 40 mL/L dengan waktu pemeliharaan ($R^2 = 0,486$) (Gambar 25.).



Gambar 25. Persamaan hubungan kandungan klorofil a dan Pertumbuhan propagul *K. alvarezii* pada perlakuan interaksi konsentrasi media PES cair dan waktu Pemeliharaan (A = 20 mL/L dan B = 40 mL/L).

Nilai determinasi ($R^2 = 0,891$) pada perlakuan interaksi konsentrasi media PES cair 20 mL/L dengan waktu pemeliharaan menunjukkan bahwa pertumbuhan propagul *K. alvarezii* turut dipengaruhi oleh kandungan klorofil a sebesar 89,1%, sedangkan sisanya sebesar 10,9% adalah pengaruh faktor luar yang tidak dapat dijelaskan dalam model. Sementara Nilai determinasi ($R^2 = 0,486$) pada perlakuan interaksi konsentrasi media PES cair 40 mL/L dengan waktu pemeliharaan menunjukkan bahwa pertumbuhan propagul *K. alvarezii* turut dipengaruhi oleh kandungan klorofil a hanya sebesar 48,6%, sedangkan sisanya sebesar 51,4% adalah pengaruh faktor luar yang tidak dapat dijelaskan dalam model.

Meskipun nitrat dan fosfat sangat penting untuk pertumbuhan dan proses fotosintesis tanaman, namun tanaman hanya membutuhkan unsur ini dalam jumlah yang cukup. Oleh karena itu berdasarkan hasil penelitian ini maka diduga bahwa konsentrasi media PES cair 20 mL/L menyediakan unsur N dan P yang cukup untuk pertumbuhan dan proses fotosintesis propagul *K. alvarezii*. Tetapi ketika konsentrasi media PES cair dinaikkan menjadi 40 mL/L menyebabkan pertumbuhan serta kandungan klorofil a dan fikoeritrin menurun. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi nutrisi diatas kebutuhan optimal tidak akan meningkatkan pertumbuhan. Hal ini sejalan dengan pendapat Knecht and Göransson (2004) bahwa tanaman membutuhkan konsentrasi nutrisi minimum tertentu untuk tumbuh, dan ketika konsentrasi nutrisi meningkat ke tingkat optimum, maka akan meningkatkan laju pertumbuhan relatif. Peningkatan konsentrasi nutrisi lebih jauh di atas optimal tidak akan meningkatkan pertumbuhan, dan pada konsentrasi yang sangat tinggi nutrisi akan menjadi racun, pertumbuhan dan tingkat fotosintesis akan menurun dan tanaman mungkin akan mati.

Berdasarkan uraian diatas maka pada penelitian tahap I ini diperoleh bahwa perlakuan konsentrasi media PES cair 20 mL/L memberikan kandungan klorofil a dan fikoeritrin yang dapat meningkatkan pertumbuhan propagul *K. alvarezii* dibandingkan perlakuan konsentrasi media PES cair 40 mL/L. Oleh karena itu konsentrasi media PES cair 20 mL/L selanjutnya digunakan sebagai perlakuan pada penelitian tahap II dan III.

5.2. Penelitian Tahap II (Intensitas Cahaya)

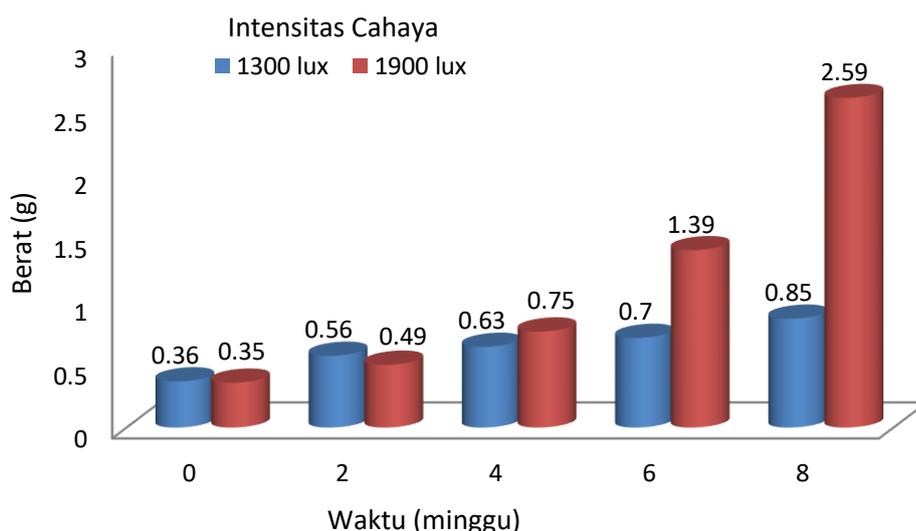
Cahaya adalah faktor fisik yang penting untuk fotosintesis pada rumput laut dan tumbuhan yang lebih tinggi karena digunakan untuk menyerap nutrisi ke dalam sel, terutama nitrogen dan karbon. Penyerapan cahaya untuk fotosintesis

tergantung pada komposisi pigmen, sementara komposisi pigmen tergantung pada tersedianya nitrogen. Stockenreiter *et al.* (2013) menyatakan bahwa pertumbuhan alga dipengaruhi oleh intensitas cahaya melalui efeknya pada fotosintesis.

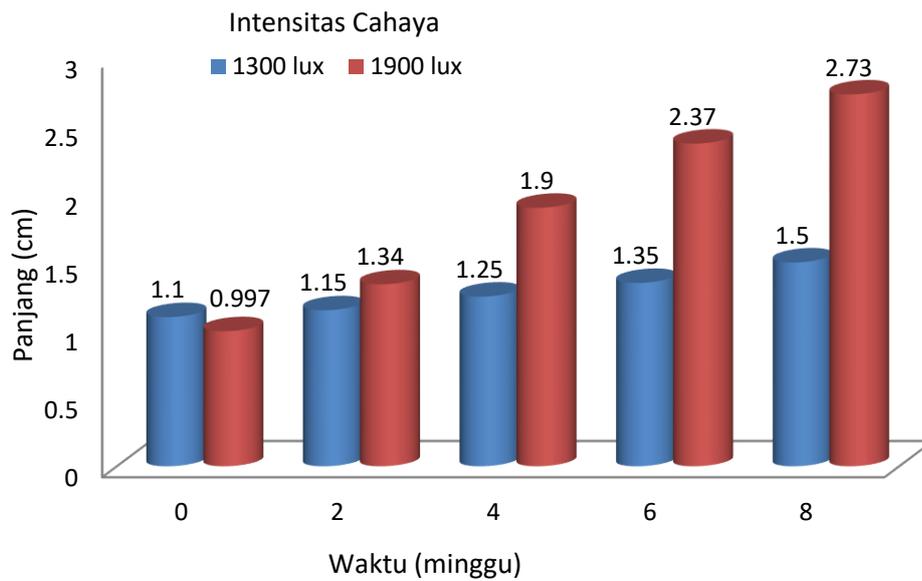
5.2.1. Pengaruh Intensitas Cahaya Terhadap Pertumbuhan Propagul *K. alvarezii* Hasil Kultur Jaringan

Intensitas cahaya adalah sumber energi bagi rumput laut untuk tumbuh dan merupakan faktor terpenting untuk mengendalikan absorpsi nitrogen. Choochote *et al.*, (2010) menyatakan bahwa intensitas cahaya merupakan salah satu faktor penting untuk memaksimalkan konversi dari energi cahaya menjadi biomassa.

Hasil pengamatan selama delapan minggu masa pemeliharaan menunjukkan bahwa penambahan berat dan panjang propagul *K. alvarezii* semakin meningkat seiring dengan meningkatnya waktu pemeliharaan pada semua perlakuan intensitas cahaya (Gambar 26. dan 27).



Gambar 26. Pengaruh Interaksi Intensitas Cahaya dan Waktu Pemeliharaan terhadap Pertambahan Berat Propagul *K. alvarezii* Selama delapan minggu pemeliharaan



Gambar 27. Pengaruh Interaksi Intensitas Cahaya dan Waktu Pemeliharaan terhadap Pertambahan Panjang Propagul *K. alvarezii* Selama delapan minggu pemeliharaan

Berdasarkan nilai rata-ratanya maka perlakuan interaksi intensitas cahaya 1900 lux dengan waktu pemeliharaan delapan minggu memberikan pertambahan berat dan panjang tertinggi, yaitu sebesar 2,59 g dan 2,73 cm, sementara perlakuan interaksi intensitas cahaya 1300 lux dengan waktu pemeliharaan delapan minggu memberikan rata-rata pertambahan berat dan panjang terendah, yakni 0,85 g dan 1,50 cm (Tabel 6., Lampiran 13. dan 14.).

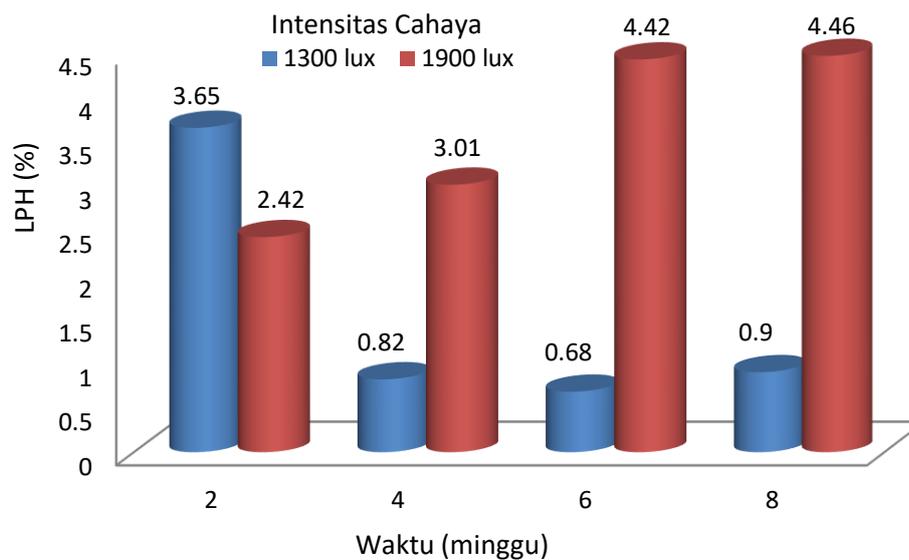
Tabel 6. Rerata pertambahan Berat dan Panjang propagul *K. alvarezii* pada berbagai perlakuan intensitas cahaya

Intensitas cahaya (lux)	Pertambahan	Awal (0 minggu)	Akhir (8 minggu)	Pertambahan Mutlak (g)
1300	Berat (g)	0,36±0,026	0,85±0,138	0,49±0,114
	Panjang (cm)	1,10±0,265	1,50±0,346	0,40±0,100
1900	Berat (g)	0,35±0,020	2,59±0,072	2,24±0,074
	Panjang (cm)	0,997±0,233	2,73±0,070	1,73±0,287

Hasil *analysis of variance* (ANOVA) menunjukkan bahwa setiap perlakuan interaksi intensitas cahaya dan waktu pemeliharaan memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) dengan tingkat keyakinan 95% terhadap penambahan berat dan panjang propagul *K. alvarezii*. Demikian juga pengaruh faktor tunggal intensitas cahaya tanpa melihat faktor waktu pemeliharaan dan perlakuan tunggal waktu pemeliharaan tanpa melihat faktor intensitas cahaya memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap penambahan berat dan panjang propagul *K. alvarezii* (Lampiran 15. Dan 16.).

Meningkatnya penambahan berat dan panjang propagul *K. alvarezii* pada perlakuan intensitas cahaya 1900 lux ini juga didukung oleh hasil pengukuran laju pertumbuhan hariannya (LPH). Hasil pengamatan selama delapan minggu masa pemeliharaan menunjukkan bahwa laju pertumbuhan harian (LPH) berat propagul *K. alvarezii* semakin meningkat seiring dengan meningkatnya waktu pemeliharaan pada perlakuan intensitas cahaya 1900 lux. Sementara pada perlakuan intensitas cahaya 1300 lux memberikan laju pertumbuhan harian (LPH) berat propagul yang semakin menurun sampai waktu pemeliharaan minggu keenam dan sedikit meningkat pada waktu pemeliharaan minggu kedelapan (Gambar 28.).

Pada akhir masa pemeliharaan (8 minggu) menunjukkan bahwa interaksi perlakuan intensitas cahaya 1900 lux dengan waktu pemeliharaan delapan minggu memberikan rata-rata laju pertumbuhan harian (LPH) berat adalah 4,46%/hari sedangkan perlakuan intensitas cahaya 1300 lux memberikan rata-rata laju pertumbuhan harian (LPH) berat sebesar 0,9%/hari (Lampiran 17.). Nilai LPH berat pada perlakuan intensitas cahaya 1900 lux ini cukup baik dibandingkan perlakuan intensitas cahaya 1300 lux, mengingat LPH rumput laut *cottonii* pada saat dibudidayakan di alam berkisar antara 3-5% tergantung musim (Thirumaran & Anantharaman, 2009).



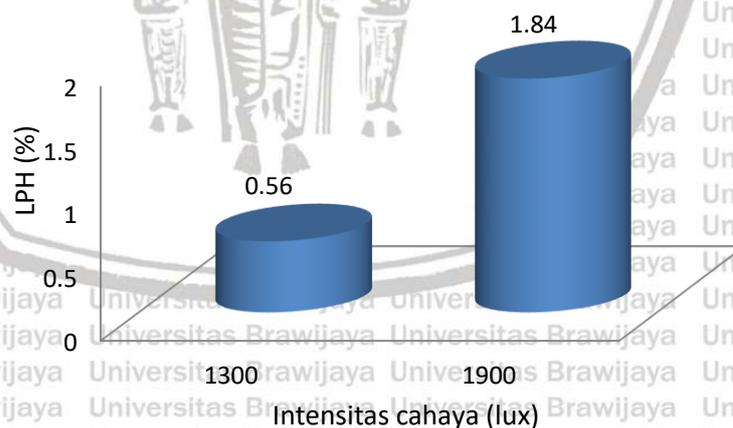
Gambar 28. Pengaruh Interaksi Intensitas Cahaya dan Waktu Pemeliharaan terhadap Laju Pertumbuhan Harian (LPH) Berat Propagul *K. alvarezii* Selama delapan minggu pemeliharaan

Laju pertumbuhan sangat dipengaruhi oleh bobot rumput laut. Bobot rumput laut yang meningkat dengan cepat maka laju pertumbuhan juga semakin cepat. Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa meningkatnya rata-rata laju pertumbuhan harian (LPH) berat selama delapan minggu pemeliharaan pada perlakuan intensitas cahaya 1900 lux sejalan dengan peningkatan bobot beratnya. Model pertumbuhan yang terjadi menunjukkan bahwa pada awalnya terjadi periode pertumbuhan yang cepat kemudian melambat yang merupakan suatu proses pertumbuhan yang normal bagi rumput laut. Rioux *et al.* (2009) mengemukakan bahwa pada setiap proses pertumbuhan maka periode awal merupakan sintesis protein dan lipid yang meningkat kemudian periode elongasi dimulai, dan tanaman tumbuh cepat sampai pada tingkat maksimum kemudian pertumbuhan akan mengalami penurunan.

Hasil *analysis of variance* (ANOVA) menunjukkan bahwa setiap perlakuan interaksi intensitas cahaya dan waktu pemeliharaan berpengaruh sangat nyata terhadap laju pertumbuhan harian (LPH) berat propagul *K. alvarezii*

tetapi tidak berpengaruh nyata terhadap laju pertumbuhan harian (LPH) panjang propagul *K. alvarezii*. Sementara pengaruh faktor tunggal intensitas cahaya tanpa melihat faktor waktu pemeliharaan memberikan pengaruh yang nyata terhadap laju pertumbuhan harian (LPH) berat dan panjang propagul *K. alvarezii*. Selanjutnya perlakuan tunggal waktu pemeliharaan tanpa melihat faktor intensitas cahaya tidak berpengaruh nyata terhadap laju pertumbuhan harian (LPH) berat propagul *K. alvarezii* tetapi memberikan pengaruh yang nyata terhadap laju pertumbuhan harian (LPH) panjang propagul *K. alvarezii* (Lampiran 19. dan 20.).

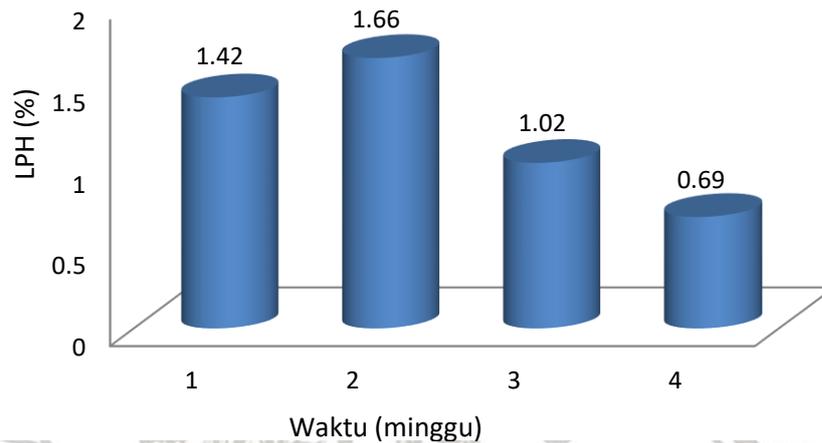
Pengaruh perlakuan tunggal intensitas cahaya terhadap laju pertumbuhan harian (LPH) panjang propagul *K. alvarezii* hasil kultur jaringan menunjukkan bahwa perlakuan intensitas cahaya 1900 lux memberikan rata-rata laju pertumbuhan harian (LPH) panjang sebesar 1,84%/hari sementara perlakuan intensitas cahaya 1300 lux memberikan rata-rata laju pertumbuhan harian (LPH) panjang sebesar 0,56%/hari. (Gambar 29. dan Lampiran 18.).



Gambar 29. Pengaruh Intensitas Cahaya Terhadap Laju Pertumbuhan Harian (LPH) panjang propagul *K. alvarezii* selama delapan minggu pemeliharaan

Pengaruh perlakuan tunggal waktu pemeliharaan terhadap laju pertumbuhan harian (LPH) panjang propagul *K. alvarezii* hasil kultur jaringan

menunjukkan bahwa laju pertumbuhan harian (LPH) panjang propagul *K. alvarezii* meningkat pada waktu pemeliharaan minggu kedua dan selanjutnya mengalami penurunan sampai akhir masa pemeliharaan (minggu kedelapan) (Gambar 30.).



Gambar 30. Pengaruh Waktu Pemeliharaan Terhadap Laju Pertumbuhan Harian (LPH) Panjang propagul *K. alvarezii* selama delapan minggu pemeliharaan

Kisaran laju pertumbuhan harian pada perlakuan intensitas cahaya 1900 lux menunjukkan hasil yang lebih tinggi, yaitu 2,42–4,46 %/hari untuk penambahan berat dan 0,99–2,57 %/hari untuk penambahan panjang. Sementara perlakuan intensitas cahaya 1300 lux memberikan kisaran laju pertumbuhan berat harian adalah 0,68–3,65 %/hari dan laju pertumbuhan panjang harian adalah 0,37-0,76 %/hari.

Berdasarkan nilai rata-ratanya maka perlakuan intensitas cahaya 1900 lux memberikan rata-rata nilai Laju Pertumbuhan Hariannya (LPH) sebesar 3,58 %/hari untuk penambahan berat dan 1,84 %/hari untuk penambahan panjang, sementara perlakuan intensitas cahaya 1300 lux memberikan rata-rata laju pertumbuhan harian adalah 1,48 %/hari untuk penambahan berat dan 0,56 %/hari untuk penambahan panjang (Lampiran 17. dan 18.).

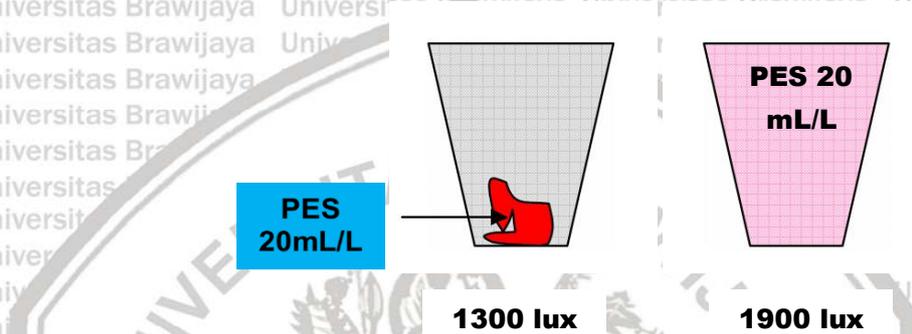
Semakin meningkatnya penambahan berat dan panjang propagul pada perlakuan intensitas cahaya 1900 lux dibandingkan perlakuan intensitas cahaya 1300 lux menunjukkan bahwa perlakuan intensitas cahaya 1900 lux merupakan intensitas cahaya yang dapat memaksimalkan penyerapan nutrisi pada media kultur sehingga memberikan pertumbuhan sel propagul *K. alvarezii* yang lebih baik. Diduga bahwa peranan intensitas cahaya terhadap pertumbuhan propagul *K. alvarezii* ini berhubungan dengan penyerapan nutrisi melalui proses difusi.

Difusi merupakan peristiwa mengalirnya atau berpindahnya suatu zat dalam pelarut dari bagian berkonsentrasi tinggi ke bagian yang berkonsentrasi rendah. (Campbell, 2008). Proses berpindahnya zat-zat nutrisi pada media PES cair ke dalam air laut steril sebagai pelarut yang merupakan media kultur berlangsung melalui proses difusi. Zat-zat nutrisi pada media PES cair yang mempunyai konsentrasi tinggi akan menyebar ke dalam air laut steril sebagai media kultur yang mempunyai konsentrasi lebih rendah untuk mencapai keadaan yang homogen pada larutan media kultur. Keadaan yang homogen ini akan mengoptimalkan penyerapan nutrisi dari media kultur ke dalam sel propagul melalui proses osmosis.

Salah satu faktor yang mempengaruhi kecepatan atau laju difusi zat-zat nutrisi ke dalam air laut steril sebagai media kultur adalah suhu. Sebagaimana diketahui bahwa setiap zat cenderung dalam keadaan bergerak. Tenaga gerak semakin besar pada suhu yang semakin tinggi sehingga gerak zat akan semakin cepat. Molekul-molekul zat yang lebih cepat bergerak karena kenaikan suhu tersebut akan mengakibatkan laju difusi juga semakin cepat.

Perlakuan intensitas cahaya 1900 lux diduga memberikan laju difusi yang lebih cepat dibandingkan perlakuan intensitas cahaya 1300 lux karena suhu akan semakin meningkat pada intensitas cahaya yang lebih tinggi. Retnaningdyah, *et al.*, (2011) menyatakan bahwa cahaya juga berfungsi untuk

memanasi media (air) sehingga terjadi perubahan suhu pada media, dimana semakin lama dan besar intensitas cahaya, maka suhu media akan semakin meningkat. Akibatnya kondisi homogenitas zat-zat nutrisi pada media kultur lebih cepat tercapai pada perlakuan intensitas cahaya 1900 lux sehingga dapat memaksimalkan penyerapan nutrisi melalui proses osmosis untuk meningkatkan pertumbuhan propagul bila dibandingkan dengan perlakuan intensitas cahaya 1300 lux (Gambar 31.).



Gambar 31. Ilustrasi Pengaruh Intensitas Cahaya terhadap Proses Difusi Media PES cair

Peningkatan suhu pada perlakuan intensitas cahaya 1900 lux didukung oleh data hasil pengukuran suhu pada pengamatan parameter kualitas air media kultur selama pemeliharaan. Perlakuan intensitas cahaya 1900 lux memberikan rata-rata kisaran suhu media kultur selama pemeliharaan adalah 23,48 – 26,81°C sementara perlakuan intensitas cahaya 1300 lux memberikan rata-rata kisaran suhu media kultur selama pemeliharaan yang lebih rendah, yaitu 21,8 - 22°C (Tabel 7.).

Proses difusi yang berlangsung lebih optimal pada perlakuan intensitas cahaya 1900 lux ini menyebabkan sehingga semakin banyak nutrisi, khususnya nitrogen dalam bentuk nitrat (NO_3^-) yang dapat dipindahkan ke dalam plasma membran melalui proses osmosis, sebagaimana yang telah dijelaskan pada tahap I (Gambar 16.). Selanjutnya Nitrat (NO_3^-) akan direduksi menjadi nitrit

(NO₂⁻) kemudian direduksi menjadi ammonium (NH₄⁺). Ammonium ini akan segera mengalami sintesis lebih lanjut menjadi senyawa-senyawa organik baik yang berupa asam amino, amida maupun senyawa lainnya (Mulholland & Lomas, 2008).

Tabel 7. Parameter Kualitas Air

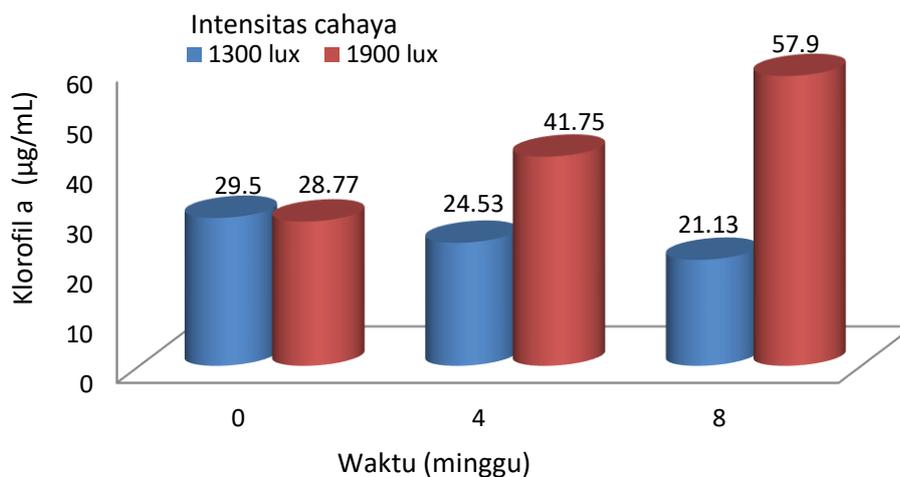
No.	Parameter	Kisaran Pengamatan		Pustaka
		1300 lux	1900 lux	
1	Suhu (°C)	21,8 – 22	23,48 – 26,81	22- 33 (Lideman <i>et al.</i> , 2013).
2	Derajat Keasaman (pH)	8,43 – 8,59	7,87 – 8,67	6 – 8 (Semedi <i>et al.</i> , 2016)
3	DO (mg/L)	4,5 – 4,6	5,03 – 5,3	5 – 8 (Semedi <i>et al.</i> , 2016)
4	Salinitas (ppm)	38 – 40	33 – 34,2	30 - 35 (Dawes, 1981)

5.2.2. Pengaruh Intensitas Cahaya Terhadap Kandungan Klorofil a dan Fikoeritrin *K. alvarezii* Hasil Kultur Jaringan

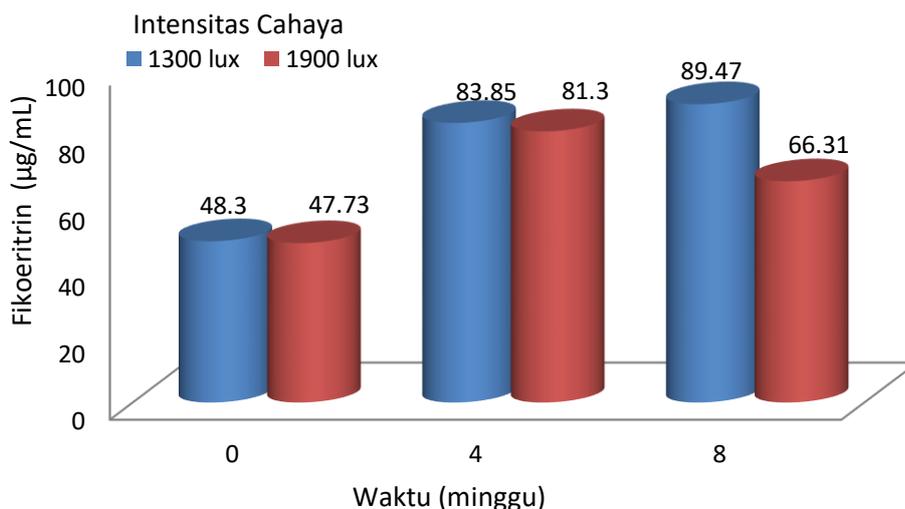
Intensitas cahaya juga mempunyai peranan yang sangat penting dalam proses fotosintesis, dimana cahaya digunakan untuk membantu rumput laut dalam proses perombakan bahan anorganik menjadi organik. Semakin tinggi intensitas cahaya yang diterima, maka semakin cepat rumput laut melakukan fotosintesis dan semakin cepat rumput laut tumbuh, sebaliknya ketika tumbuhan tidak mendapatkan cahaya yang cukup maka akan mengurangi bahkan menghambat proses pertumbuhan.

Hasil pengamatan selama delapan minggu masa pemeliharaan menunjukkan bahwa kandungan klorofil a pada propagul *K. alvarezii* meningkat seiring dengan meningkatnya waktu pemeliharaan pada perlakuan intensitas cahaya 1900 lux. Sementara pada perlakuan intensitas cahaya 1300 lux memberikan penurunan kandungan klorofil a sejalan dengan meningkatnya waktu pemeliharaan (Gambar 32.). Sebaliknya kandungan fikoeritrin pada perlakuan intensitas cahaya 1300 lux mengalami peningkatan sejalan dengan bertambahnya waktu pemeliharaan, sementara pada perlakuan intensitas cahaya 1900 lux, kandungan fikoeritrin mengalami peningkatan pada pemeliharaan minggu keempat kemudian menurun pada waktu pemeliharaan minggu kedelapan (Gambar 33.).

Pada akhir masa pemeliharaan (8 minggu) terlihat bahwa perlakuan intensitas cahaya 1900 lux memberikan kandungan klorofil a dan fikoeritrin berturut-turut 57,90 µg/mL dan 66,31 µg/mL sedangkan perlakuan intensitas cahaya 1300 lux memberikan kandungan klorofil a dan fikoeritrin berturut-turut adalah 21,13 µg/mL dan 89,47 µg/mL (Tabel 8., Lampiran 21. dan 22.).



Gambar 32. Pengaruh Interaksi Intensitas Cahaya dan Waktu Pemeliharaan terhadap Kandungan Klorofil a Propagul *K. alvarezii* Selama delapan minggu pemeliharaan



Gambar 33. Pengaruh Interaksi Intensitas Cahaya dan Waktu Pemeliharaan terhadap Kandungan Fikoeittrin Propagul *K. alvarezii* Selama delapan minggu pemeliharaan

Tabel 8. Rerata Kandungan Pigmen Fotosintesis propagul *K. alvarezii* pada berbagai perlakuan intensitas cahaya

Intensitas Cahaya (lux)	Waktu pemeliharaan (minggu)	Pigmen Fotosintesis (µg/mL)	
		Klorofil a	Fikoeittrin
1300	0	29,50±1,924	48,30±9,064
	4	24,53±1,013	83,85±3,234
	8	21,13±2,534	89,47±0,935
1900	0	28,77±0,822	47,73±1,355
	4	41,75±0,828	81,30±3,185
	8	57,90±4,063	66,31±14,995

Secara umum perlakuan intensitas cahaya 1900 lux memberikan rata-rata kandungan klorofil a yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan intensitas cahaya 1300 lux. Sementara perlakuan intensitas cahaya 1300 lux memberikan rata-rata kandungan fikoeittrin yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan intensitas cahaya 1900 lux. Menurut Kimball (1990), fikoeittrin merupakan

pigmen pelengkap yang berfungsi membantu klorofil-a dalam menyerap cahaya pada proses fotosintesis.

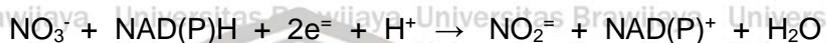
Kandungan fikoeitrin yang tinggi pada propagul *K. alvarezii* dengan perlakuan intensitas cahaya 1300 lux ini diduga berhubungan dengan proses absorpsi cahaya pada proses fotosintesis. Pada perlakuan intensitas cahaya 1300 lux, kandungan klorofil-a pada propagul *K. alvarezii* adalah paling rendah, sehingga menyebabkan menurunnya absorpsi/penyerapan cahaya untuk proses fotosintesis. Sebagai bentuk adaptasi maka terjadi peningkatan pembentukan fikoeitrin yang lebih banyak yang berperan sebagai pemanen cahaya untuk membantu klorofil a dalam mengabsorpsi cahaya. Indriatmoko *et al.*, (2015) menyatakan bahwa rendahnya kandungan klorofil a akan memicu pembentukan fikoeitrin yang lebih banyak untuk membantu penyerapan cahaya yang digunakan untuk fotosintesis. Sementara itu, propagul *K. alvarezii* dengan perlakuan intensitas cahaya 1900 lux mempunyai kandungan klorofil-a yang lebih tinggi.

Hasil *analysis of variance* (ANOVA) menunjukkan bahwa setiap perlakuan interaksi intensitas cahaya dan waktu pemeliharaan memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) dengan tingkat keyakinan 95% terhadap kandungan klorofil a dan fikoeitrin propagul *K. alvarezii*. Demikian juga pengaruh faktor tunggal intensitas cahaya tanpa melihat faktor waktu pemeliharaan dan perlakuan tunggal waktu pemeliharaan tanpa melihat faktor intensitas cahaya memberikan pengaruh yang nyata terhadap kandungan klorofil a dan fikoeitrin propagul *K. alvarezii*. (lampiran 23. dan 24.).

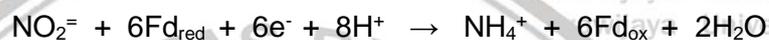
Mekanisme peningkatan klorofil a yang lebih tinggi pada perlakuan intensitas cahaya 1900 lux dapat dijelaskan sebagai berikut. Untuk mengasimilasi klorofil a maka dibutuhkan nitrogen. Nitrogen diabsorpsi oleh propagul melalui media kultur dalam bentuk nitrat. Selanjutnya nitrat akan

direduksi menjadi nitrit dengan bantuan enzim nitrat reduktase. Aktivitas enzim nitrat reduktase akan meningkat dengan meningkatnya cahaya. Oleh karena itu meningkatnya aktivitas enzim nitrat reduktase pada perlakuan intensitas cahaya 1900 lux juga menyebabkan peningkatan asimilasi nitrit melalui reaksi anabolic sebagai berikut :

Nitrate reductase (NR)



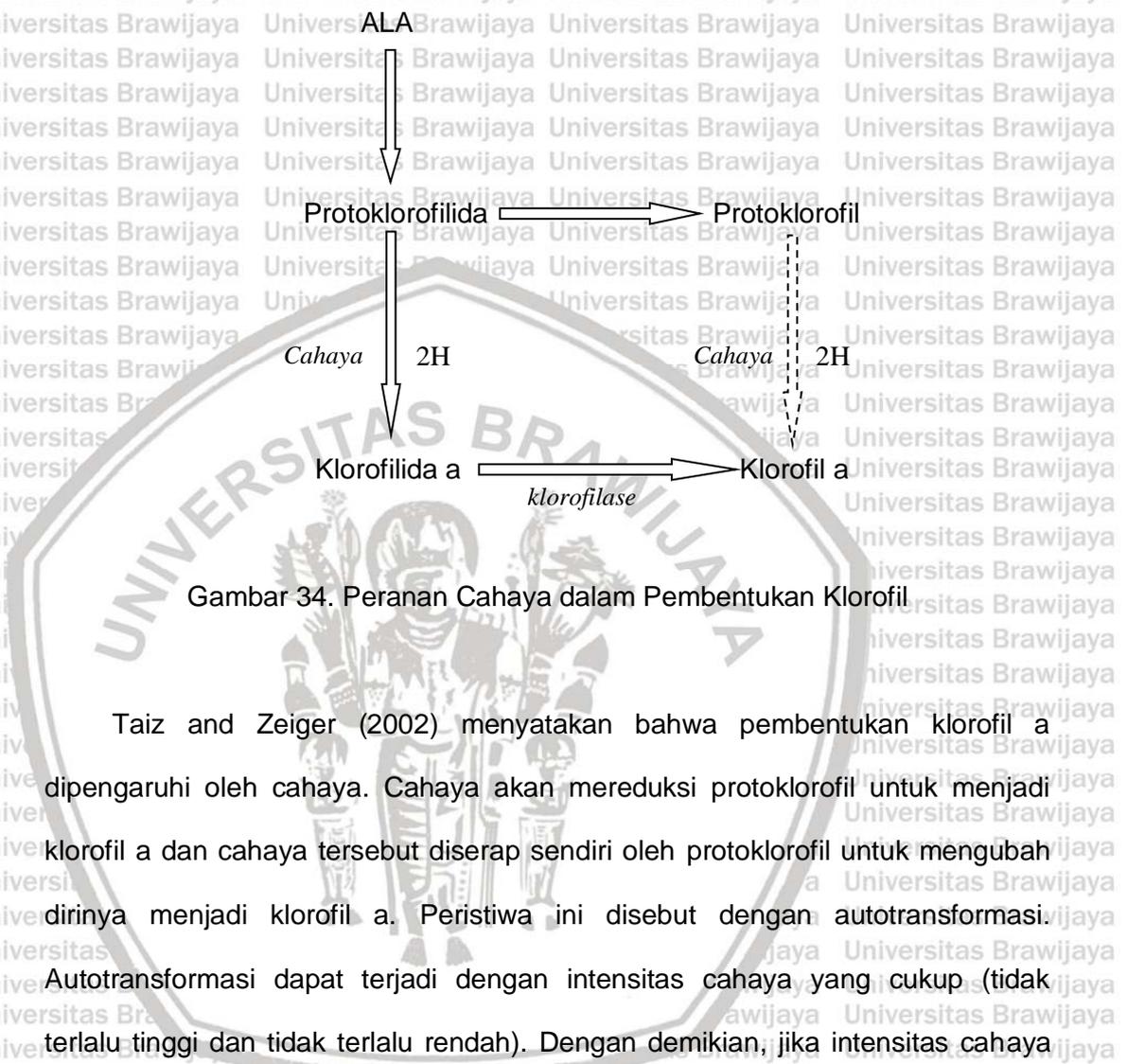
Nitrite reductase (NiR)



Dalam bentuk yang tereduksi, nitrogen bereaksi dengan salah satu asam karboksilat, yaitu α -Asam ketoglutarat membentuk asam amino berupa asam glutamat. Asam glutamat akan membentuk asam amino levulinat (ALA) yang berperan sebagai prazat cincin porfirin yang akan mengubah protoklorofilide menjadi korofil a melalui serangkaian reaksi. Dengan demikian maka perlakuan intensitas cahaya 1900 lux menyebabkan proses reduksi nitrat menjadi nitrit berlangsung lebih cepat sehingga klorofil a yang terbentuk juga semakin banyak. Akibat meningkatnya klorofil a maka semakin banyak juga foton yang diserap. Foton yang diserap pada intensitas cahaya yang lebih tinggi akan menyumbang lebih banyak elektron (e) untuk bergabung dengan atom H dan O₂ untuk menghasilkan energi.

Selanjutnya cahaya juga mempunyai peranan penting pada perubahan protoklorofilida (Pchl) menjadi klorofil a tersebut, dimana perubahan ini akan berlangsung cepat pada intensitas cahaya yang lebih tinggi. Protoklorofilida oxioreduktase (POR) berperan dalam mereduksi protoklorofilida a menjadi klorofilida a. POR akan bekerja jika ada NADPH cahaya. Proses reduksi

protoklorofilida a menjadi klorofilida a akan terjadi jika cahaya yang diserap memiliki panjang gelombang 628 – 630 nm. Klorofil sintetase merubah klorofilida a menjadi klorofil a (Gambar 34.)



Gambar 34. Peranan Cahaya dalam Pembentukan Klorofil

Taiz and Zeiger (2002) menyatakan bahwa pembentukan klorofil a dipengaruhi oleh cahaya. Cahaya akan mereduksi protoklorofil untuk menjadi klorofil a dan cahaya tersebut diserap sendiri oleh protoklorofil untuk mengubah dirinya menjadi klorofil a. Peristiwa ini disebut dengan autotransformasi. Autotransformasi dapat terjadi dengan intensitas cahaya yang cukup (tidak terlalu tinggi dan tidak terlalu rendah). Dengan demikian, jika intensitas cahaya rendah maka klorofil a tidak dapat terbentuk sehingga pada penelitian ini rata-rata intensitas cahaya 1300 lux menyebabkan kandungan klorofil a lebih rendah dibandingkan intensitas cahaya 1900 lux.

Hal sebaliknya terjadi pada kandungan fikoeritrin propagul, dimana pada intensitas cahaya 1900 lux kandungan fikoeritrin lebih rendah jika dibandingkan dengan perlakuan intensitas cahaya 1300 lux. Hal ini sangat dipengaruhi oleh jumlah klorofil a yang lebih rendah pada perlakuan intensitas cahaya 1300 lux

menyebabkan fikoeritrin yang terbentuk meningkat sebagai bentuk adaptasi propagul terhadap intensitas cahaya yang rendah. Chakdar *et al.* (2012)

menyatakan bahwa fikoeritrin merupakan protein yang bekerja sebagai pigmen pelengkap pada algae merah dan alga biru-hijau seperti halnya fikobilin, berfungsi dalam sel alga untuk membantu klorofil-a dalam menyerap cahaya pada proses fotosintesis. Cahaya yang diserap oleh fikoeritrin secara efisiensi dipindahkan ke fikosianin, kemudian ke allofikosianin, diteruskan ke allofikosianin

B dan terakhir ke klorofil.

Peningkatan kandungan fikoeritrin pada intensitas cahaya rendah ini juga menyebabkan pertumbuhan propagul yang lebih rendah dibandingkan intensitas cahaya 1900 lux. Zou and Gao (2010) menyatakan bahwa pada intensitas cahaya yang rendah efisiensi fotosintesis setiap klorofil dan laju pertumbuhan akan menurun karena energi yang ada lebih banyak digunakan untuk sintesis pigmen dibandingkan untuk pertumbuhan. Oleh karena itu maka meningkatnya kandungan klorofil a pada perlakuan intensitas cahaya 1900 lux dibandingkan perlakuan intensitas cahaya 1300 lux ini juga sejalan dengan pertumbuhan propagul *K. alvarezii*.

Necchi (2005) menyatakan bahwa intensitas cahaya merupakan salah satu faktor utama yang mempengaruhi laju pertumbuhan, konsentrasi pigmen dan laju fotosintesis pada rumput laut merah. Gunawan (2012) menyatakan bahwa peningkatan kandungan klorofil terjadi pada saat pertumbuhan yang maksimal.

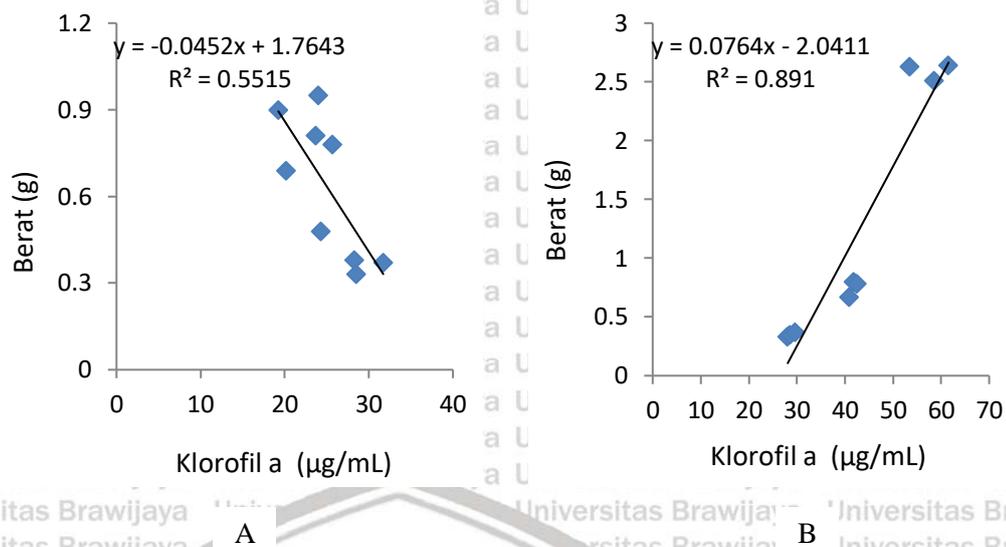
Hal tersebut disebabkan karena pada pertumbuhan yang maksimal energi yang dibutuhkan semakin besar sehingga kloroplas perlu mengubah banyak energi cahaya menjadi energi kimia. Semakin bekerja bagian kloroplas maka semakin banyak pula klorofil yang dibutuhkan untuk menyerap energi cahaya tersebut, dengan demikian klorofil yang terbentuk akan semakin banyak. Oleh karena itu

meningkatnya kandungan klorofil a. pada intensitas cahaya 1900 lux juga diikuti dengan peningkatan pertumbuhan propagul.

Klorofil a merupakan pigmen pemanen cahaya pada rumput laut dari genus *Kappaphycus*, sementara fikoeitrin merupakan pigmen pelengkap yang berfungsi membantu klorofil-a dalam menyerap cahaya pada proses fotosintesis (Chakdar *et al.* 2012). Intensitas cahaya sangat mempengaruhi pembentukan klorofil a pada tanaman. Penerimaan cahaya yang kurang maksimal akan mempengaruhi proses pembentukan klorofil dan mengganggu proses fotosintesis rumput laut. Penurunan aktifitas fotosintesis akan berdampak pada pertumbuhan rumput laut karena sangat berhubungan dengan penyerapan dan pemanfaatan nutrisi untuk metabolisme sel.

Serditi dan Widiastuti (2010) mengemukakan bahwa rumput laut dapat memanfaatkan cahaya lebih optimal sebagai sumber energi untuk proses fotosintesis dan dapat membantu rumput laut untuk memperoleh unsur hara atau nutrisi, karena peningkatan fotosintesis dapat meningkatkan kemampuan rumput laut untuk memperoleh unsur hara atau nutrisi untuk pertumbuhan. Hal ini dipertegas oleh pendapat Soenardjo (2011) bahwa pertumbuhan rumput laut didukung oleh cahaya terutama sebagai pendukung dalam proses berlangsungnya kegiatan fotosintesis yang digunakan untuk pertumbuhan dan perkembangan.

Pernyataan diatas sejalan dengan hasil penelitian ini yang menunjukkan adanya korelasi yang kuat antara pertumbuhan dengan kandungan klorofil a propagul *K. alvarezii* pada perlakuan interaksi intensitas cahaya 1900 lux dengan waktu pemeliharaan ($R^2 = 0,891$) dibandingkan perlakuan interaksi intensitas cahaya 1300 lux dengan waktu pemeliharaan ($R^2 = 0,486$) (Gambar 35.).



Gambar 35. Persamaan hubungan kandungan klorofil a dan Pertumbuhan propagul *K. alvarezii* pada perlakuan interaksi intensitas cahaya dan waktu Pemeliharaan (A = 1300 lux dan B = 1900 lux).

Nilai determinasi ($R^2 = 0,891$) pada perlakuan interaksi intensitas cahaya 1900 lux dengan waktu pemeliharaan menunjukkan bahwa pertumbuhan propagul *K. alvarezii* turut dipengaruhi oleh kandungan klorofil a sebesar 89,1%, sedangkan sisanya sebesar 10,9% adalah pengaruh faktor luar yang tidak dapat dijelaskan dalam model. Sementara Nilai determinasi ($R^2 = 0,551$) pada perlakuan interaksi intensitas cahaya 1300 lux dengan waktu pemeliharaan menunjukkan bahwa pertumbuhan propagul *K. alvarezii* turut dipengaruhi oleh kandungan klorofil a hanya sebesar 55,1%, sedangkan sisanya sebesar 44,9% adalah pengaruh faktor luar yang tidak dapat dijelaskan dalam model.

Peningkatan berat dan panjang propagul yang lebih tinggi pada perlakuan intensitas cahaya 1900 lux dibandingkan perlakuan intensitas cahaya 1300 lux diduga juga dipengaruhi oleh transportasi nitrat dan fosfor. Sebagaimana diketahui bahwa nitrogen dalam media kultur biasanya dalam bentuk nitrat (NO_3), nitrit (NO_2) dan amoniak (NH_3). Nitrogen dalam bentuk nitrat pada media kultur dapat diperoleh propagul *K. alvarezii* melalui proses osmosis sebagaimana telah dibahas pada penelitian tahap I. Nitrat akan direduksi menjadi nitrit dengan

bantuan enzim nitrat reduktase di sitosol. Aktivitas enzim nitrat reduktase ini dipengaruhi oleh intensitas cahaya. Meningkatnya intensitas cahaya menyebabkan aktivitas enzim nitrat reduktase juga meningkat dalam mempercepat pengambilan nitrat. Oleh karena itu perlakuan intensitas cahaya 1900 lux pada penelitian ini dapat mempercepat reduksi nitrat (NO_3^-) yang diabsorpsi melalui media kultur menjadi nitrit (NO_2^-) bila dibandingkan dengan perlakuan intensitas cahaya 1300 lux. Selanjutnya Nitrit (NO_2^-) akan direduksi menjadi ammonium (NH_4^+). Ammonium ini akan segera mengalami sintesis lebih lanjut menjadi senyawa-senyawa organik baik yang berupa asam amino, amida maupun senyawa lainnya (Mulholland & Lomas, 2008).

Senyawa organik yang terbentuk melalui penyerapan nitrat dan asimilasi ini selanjutnya akan bergabung membentuk protein dan makromolekul yang berperan untuk pertumbuhan propagul. Metabolisme nitrogen ini merupakan bagian terpenting dari asam amino yang berhubungan dengan kadar protein propagul. Menurut Armanda *et al.*, (2013) bahwa makronutrien yang sangat mempengaruhi pertumbuhan dan produktivitas biomassa alga adalah nitrogen dalam bentuk nitrat karena digunakan untuk pembentukan protein, lemak dan klorofil. Reaksi reduksi nitrogen sampai penyusunan asam amino menjadi protein ini sangat dipengaruhi intensitas cahaya. Berdasarkan pernyataan tersebut maka dapat disimpulkan bahwa perlakuan intensitas cahaya 1900 lux memiliki serapan nitrat yang tinggi karena jumlah cahaya yang diberikan pada perlakuan ini dapat meningkatkan aktivitas enzim nitrat reduktase yang berperan dalam proses reduksi nitrat menjadi nitrit.

Selain nitrat, fosfat juga merupakan faktor nutrien utama bagi kebutuhan alga. Fosfat merupakan komponen yang berperan dalam pembentukan DNA, lipid dan metabolisme energi, seperti ATP dan NADPH. Intensitas cahaya sangat dibutuhkan untuk membantu penyerapan fosfat yang akan digunakan untuk

membantu produksi ATP dan NADPH sebagai sumber energi yang digunakan pada siklus Calvin untuk memfosforilasi dan mengubah 3-phosphoglycerate (PGA) menjadi Glyceraldehyde 3-phosphate (G3P) serta regenerasi Ribulose 1,5-bisphosphate (RuBP) (Reich *et al.*, 2009). Perlakuan intensitas cahaya 1900 lux diduga dapat mempercepat penyerapan fosfor dengan meningkatkan aktivitas enzim alkalin fosfatase yang dapat mengubah fosfat-fosfat menjadi ortofosfat yang siap dipakai sehingga propagul mampu menyerap fosfat melebihi kebutuhannya (*luxury consumption*) dan mampu menyerap fosfat pada konsentrasi yang sangat rendah (Sahoo and Ohno, 2001).

Hasil analisa data terhadap kandungan Nitrogen (N) dan Fosfor (P) berdasarkan kualitas air dan kandungan proksimat pada penelitian ini juga mendukung mekanisme pengaruh intensitas cahaya erhadap transportasi nitrat dan fosfor dalam meningkatkan pertumbuhan propagul *K. alvarezii*. Hasil perhitungan penyerapan N dan P berdasarkan kualitas air (Tabel 9.) menunjukkan bahwa propagul *K. alvarezii* pada perlakuan intensitas cahaya 1300 lux lebih banyak menyerap amoniak sedangkan propagul *K. alvarezii* pada perlakuan intensitas cahaya 1900 lux lebih banyak menyerap nitrat.

Tabel 9. Penyerapan nitrat, nitrit, amoniak dan total fosfat oleh propagul *alvarezii* pada berbagai perlakuan intensitas cahaya.

Penyerapan (mg/g)	Intensitas cahaya	
	1300 lux	1900 lux
NO ₃	0,047059	1,316602
NO ₂	*	*
NH ₃	0,152941	0,06564
PO ₄	0,094118	0,5444

Keterangan : * = tidak terdeteksi



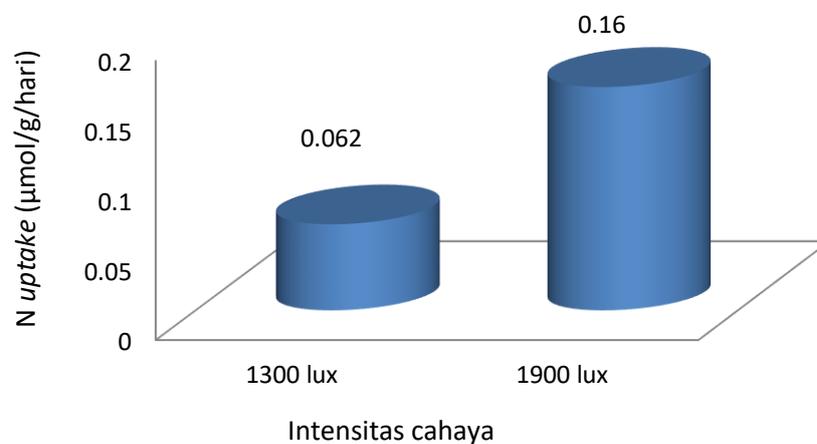
Jumlah nitrat yang diserap pada perlakuan intensitas cahaya 1900 lux menunjukkan nilai yang paling tinggi yaitu sebesar 1,316602 mg/g, sedangkan pada perlakuan intensitas cahaya 1300 lux menunjukkan nilai sebesar 0,047059 mg/g. Nitrit yang diserap tidak dapat dideteksi, karena nilai kandungan nitrit yang terdapat di perairan <0,01 mg/L. Sementara itu, amoniak yang diserap pada perlakuan intensitas cahaya 1300 lux menunjukkan nilai tertinggi yaitu sebesar 0,152941 mg/g, sedangkan pada perlakuan intensitas cahaya 1900 lux hanya mampu menyerap sebesar 0,06564 mg/g. Pada hasil perhitungan total fosfat menunjukkan bahwa propagul *K. alvarezii* pada perlakuan intensitas cahaya 1900 lux melakukan penyerapan total fosfat tertinggi yaitu sebesar 0,5444 mg/g, sedangkan pada perlakuan intensitas cahaya 1300 lux hanya mampu menyerap total fosfat sebesar 0,094118 mg/g.

Berdasarkan hasil diatas maka penyerapan nutrisi berupa NO_3 dan PO_4 yang lebih banyak pada perlakuan intensitas cahaya 1900 lux menyebabkan intensitas cahaya 1900 lux memberikan rata-rata pertumbuhan propagul yang lebih tinggi. Sementara itu perlakuan intensitas cahaya 1300 lux menunjukkan penyerapan NO_3 yang lebih rendah karena energy cahaya yang ada tidak cukup untuk mereduksi nitrat menjadi nitrit untuk membentuk senyawa organik yang berperan dalam pertumbuhan propagul. Oleh karena itu propagul pada perlakuan intensitas cahaya 1300 lux lebih cenderung memanfaatkan ammonium terlarut terlebih dahulu dibandingkan nitrat karena amoniak biasanya dapat digunakan langsung untuk sintesis asam-asam amino.

Hasil penelitian ini diperkuat oleh penelitian Joniyas *et al.*, (2016) yang menyimpulkan bahwa kapasitas penyerapan nitrat dan fosfat sangat berkorelasi dengan kondisi intensitas cahaya, sementara itu intensitas cahaya tidak berpengaruh signifikan terhadap laju serapan amonium. Penyerapan NO_3 pada

intensitas cahaya tinggi menjadi dua kali lebih tinggi dibandingkan dengan intensitas cahaya rendah.

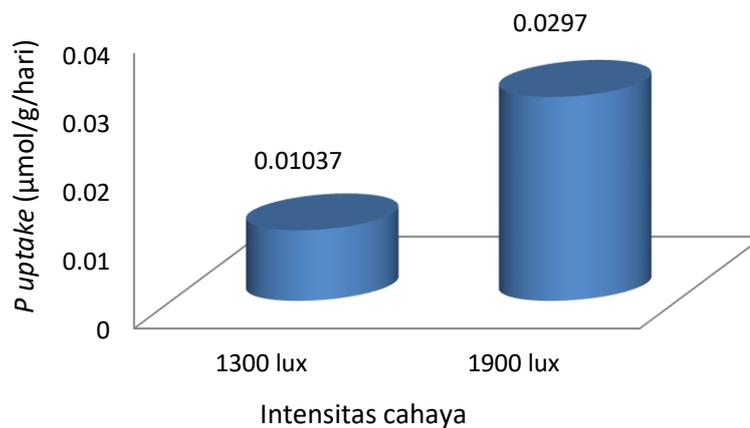
Hasil perhitungan penyerapan N dan P berdasarkan analisis proksimat (Gambar 36. dan 37.) menunjukkan bahwa propagul *K. alvarezii* pada perlakuan intensitas cahaya 1900 lux mampu melakukan penyerapan nitrogen dan fosfor yang tertinggi, yaitu berturut-turut sebesar 0,16 $\mu\text{mol/g/hari}$ dan 0,0297 $\mu\text{mol/g/hari}$. Sementara propagul *K. alvarezii* dengan perlakuan intensitas cahaya 1300 lux secara berturut-turut hanya mampu melakukan penyerapan nitrogen dan fosfor sebesar 0,062 $\mu\text{mol/g/hari}$ dan 0,01037 $\mu\text{mol/g/hari}$. Hasil ini menunjukkan bahwa pada semua perlakuan intensitas cahaya, propagul *K. alvarezii* mencatat tingkat pertumbuhan tertinggi ketika konsentrasi nutrisi lebih tinggi. Hal ini disebabkan karena rumput laut tumbuh sangat cepat di bawah konsentrasi nutrisi yang tinggi terutama ketika N tinggi (Fei, 2004).



Gambar 36. Penyerapan nitrogen oleh propagul *K. alvarezii* pada berbagai perlakuan intensitas cahaya selama delapan minggu pemeliharaan.

Banyak penelitian melaporkan bahwa tingkat penyerapan nitrat dan fosfor meningkat dengan meningkatnya intensitas cahaya (Smit, 2002; Ozaki et al., 2001). Markou et al., (2012) menyatakan bahwa beberapa alga memiliki

mekanisme penyimpanan fosfor di mana mereka mengambil fosfor dalam jumlah yang lebih besar daripada yang dibutuhkan untuk pertumbuhan langsung mereka dan mereka menyimpannya sebagai polifosfat dalam bentuk intraseluler. Hasil penelitian ini juga mengungkapkan bahwa penyerapan fosfat lebih tinggi dengan intensitas cahaya yang meningkat.



Gambar 37. Penyerapan fosfor oleh propagul *K. alvarezii* pada berbagai perlakuan intensitas cahaya selama delapan minggu pemeliharaan

Lebih lanjut Markou *et al.*, (2012) juga mempelajari efek dari berbagai serapan fosfor dalam kaitannya dengan intensitas cahaya pada *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis*. Hasilnya mengungkapkan bahwa dengan meningkatnya intensitas cahaya, penyerapan fosfor juga meningkat. Xu *et al.* (2012) melaporkan bahwa tingkat penyerapan fosfor pada *Laminaria japonica* tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan peningkatan intensitas cahaya, kecuali pada intensitas cahaya $144 \mu\text{mol foton m}^{-2} \text{s}^{-1}$, yang menunjukkan tingkat penyerapan fosfor yang lebih tinggi dibandingkan dengan tingkat penyerapan fosfor pada intensitas cahaya 18, 36, 72, $270 \mu\text{mol foton m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Kesimpulannya bahwa media akuatik termasuk media kultur memiliki beberapa interaksi dengan nutrisi dan intensitas cahaya sebagai faktor pertumbuhan yang efektif pada alga.

Hurd *et al.* (2014) menyatakan bahwa intensitas cahaya dapat menyediakan energi untuk menghasilkan daya dan ATP yang digunakan dalam transportasi nitrat, reduksi NO_2^- dan NO_3^- menjadi NH_4^+ menjadi asam amino.

Selanjutnya, cahaya menghasilkan karbon yang diperlukan untuk membentuk molekul yang lebih besar dari ion-ion nutrisi tersebut. Oleh karena itu tingkat pertumbuhan alga umumnya meningkat dengan meningkatnya intensitas cahaya.

Penyerapan nutrisi dan proses asimilasi merupakan proses yang sangat mempengaruhi pertumbuhan.

Berdasarkan uraian diatas maka pada penelitian tahap II ini diperoleh bahwa perlakuan intensitas cahaya 1900 lux dengan media PES 20 mL/L memberikan kandungan klorofil a dan fikoeritrin yang dapat meningkatkan pertumbuhan propagul *K. alvarezzi* dibandingkan perlakuan intensitas cahaya 1300 lux dengan media PES 20 mL/L. Oleh karena itu intensitas cahaya 1900 lux dengan media PES 20 mL/L selanjutnya digunakan sebagai perlakuan pada penelitian tahap III.

5.3. Penelitian Tahap III (Fotoperiod / Lama Penyinaran)

Selain intensitas cahaya, fotoperiod juga memegang peranan penting sebagai pendukung pertumbuhan alga. Fotoperiodik atau lama penyinaran merupakan salah satu aspek cahaya yang juga dapat mempengaruhi pertumbuhan dan proses fotosintesis rumput laut. Dalam fotoperiode yang terpenting bukanlah intensitas cahaya, melainkan lama paparan cahaya.

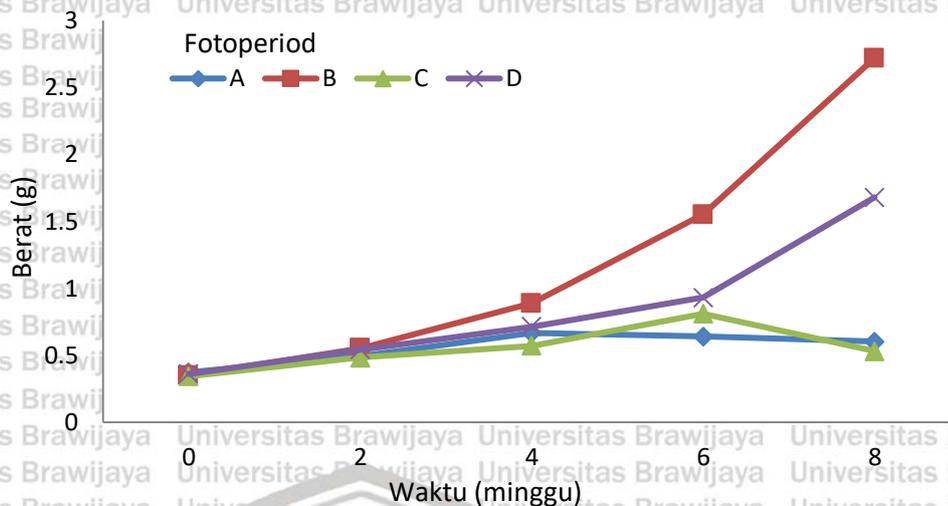
Fotoperiodisme adalah respon suatu organisme terhadap lamanya penyinaran sinar matahari. Lama penyinaran relative antara siang dan malam 24 jam ini akan mempengaruhi fisiologis dari tumbuhan. Liqin *et al.* (2008) menyatakan bahwa fotoperiode dapat mendukung proses transfer energi cahaya pada organisme fotosintesis seperti alga.

5.3.1. Pengaruh Fotoperiod Terhadap Pertumbuhan Propagul *K. alvarezii* Hasil Kultur Jaringan

Menurut Prasetyo *et al.*, (2015) , pencahayaan merupakan faktor yang berpengaruh terhadap pertumbuhan karena pencahayaan memfasilitasi proses asimilasi nutrisi terutama gula. Fotoperiode atau siklus gelap terang berperan sebagai agen stressor yang mempengaruhi pertumbuhan dan sintesis senyawa sekunder.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa selama delapan minggu masa pemeliharaan perlakuan fotoperiod B (12L : 12D) dan D (18L : 6D) memberikan pertambahan berat propagul *K. alvarezii* yang terus meningkat sampai akhir masa pemeliharaan dengan pertambahan berat paling tinggi terdapat pada perlakuan fotoperiod B (12L : 12D). Sementara perlakuan fotoperiod A (6L : 18D) menunjukkan pertambahan berat yang meningkat sampai masa pemeliharaan 4 minggu kemudian mengalami penurunan pertambahan berat pada masa pemeliharaan 6 dan 8 minggu. Perlakuan fotoperiod C (24L : 0D) menunjukkan pertambahan berat yang meningkat sampai masa pemeliharaan 6 minggu kemudian mengalami penurunan pertambahan berat pada masa pemeliharaan 8 minggu (Gambar 38.).

Berdasarkan nilai rata-ratanya maka interaksi perlakuan fotoperiod B (12L : 12D) dengan waktu pemeliharaan 8 minggu memberikan rata-rata pertambahan berat propagul *K. alvarezii* yang paling tinggi, yaitu 2,72 g, kemudian berturut-turut secara menurun diikuti oleh perlakuan fotoperiod D (18L : 6D) sebesar 1,68 g, perlakuan fotoperiod A (6L : 18D) sebesar 0,60 g dan pertumbuhan yang paling rendah pada perlakuan pencahayaan penuh C (24L) sebesar 0,53 g (Tabel 10. dan Lampiran 25.).



Gambar 38. Pengaruh Interaksi Fotoperiod dan Waktu Pemeliharaan terhadap Pertambahan Berat Propagul *K. alvarezii* Selama delapan minggu pemeliharaan [A (6L : 18D), B (12L : 12D), C (24L : 0D), dan D (18L : 6D)]

Tabel 10. Rerata pertambahan Berat dan Panjang propagul *K. alvarezii* pada berbagai perlakuan fotoperiod

Fotoperiod / L:D (Jam)	Pertambahan	Awal (0 minggu)	Akhir (8 minggu)	Pertambahan Mutlak (g)
A (6L : 18D)	Berat (g)	0,37±0,015	0,60±0,097	0,23±0,082
	Panjang (cm)	0,87±0,153	1,63±0,208	0,77±0,321
B (12L : 12D)	Berat (g)	0,35±0,036	2,72±0,286	2,37±0,252
	Panjang (cm)	0,98±0,301	2,67±0,168	1,69±0,312
C (24L : 0D)	Berat (g)	0,34±0,015	0,53±0,178	0,19±0,179
	Panjang (cm)	0,97±0,058	1,50±0,5	0,53±0,451
D (18L : 6D)	Berat (g)	0,36±0,035	1,68±0,045	1,32±0,076
	Panjang (cm)	0,97±0,306	1,97±0,153	1,00±0,361

Hasil *analysis of variance* (ANOVA) menunjukkan bahwa setiap perlakuan interaksi fotoperiod dan waktu pemeliharaan berpengaruh sangat

nyata ($P < 0,05$) dengan tingkat keyakinan 95% terhadap penambahan berat propagul *K. alvarezii* tetapi tidak berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan panjang propagul *K. alvarezii*. Sementara pengaruh faktor tunggal fotoperiod tanpa melihat faktor waktu pemeliharaan serta perlakuan tunggal waktu pemeliharaan tanpa melihat faktor fotoperiod juga memberikan pengaruh yang nyata terhadap penambahan berat dan panjang propagul *K. alvarezii*. (Lampiran 27. dan 28.).

Hasil uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ) perlakuan interaksi fotoperiod dengan waktu pemeliharaan terhadap penambahan berat propagul *K. alvarezii* menunjukkan bahwa perlakuan interaksi fotoperiod B (12L : 12D) dengan waktu pemeliharaan delapan minggu memberikan penambahan berat propagul *K. alvarezii* yang paling tinggi. Hasil ini tidak berbeda nyata dengan interaksi perlakuan fotoperiod D (18L : 6D) dengan waktu pemeliharaan delapan minggu tetapi kedua interaksi perlakuan ini memberikan penambahan berat propagul *K. alvarezii* yang berbeda sangat nyata dengan kedua interaksi perlakuan lainnya (Tabel 11.).

Hasil uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ) terhadap pengaruh faktor tunggal fotoperiod menunjukkan bahwa perlakuan fotoperiod B (12L : 12D) memberikan penambahan berat propagul *K. alvarezii* yang paling tinggi dan tidak berbeda nyata dengan perlakuan fotoperiod D (18L : 6D) tetapi kedua perlakuan ini berbeda sangat nyata dengan kedua perlakuan fotoperiod lainnya. Sementara hasil uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ) terhadap pengaruh faktor tunggal waktu pemeliharaan menunjukkan bahwa perlakuan waktu pemeliharaan delapan minggu memberikan penambahan berat propagul *K. alvarezii* yang paling tinggi dan berbeda nyata dengan dengan semua perlakuan waktu pemeliharaan lainnya (Tabel 11.).

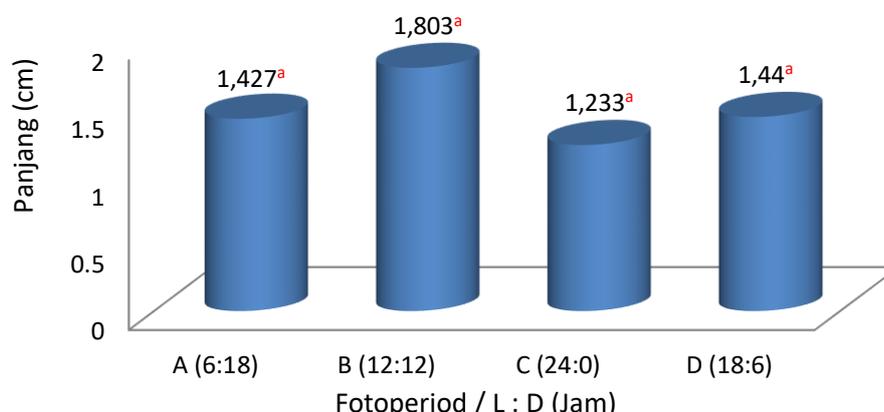
Tabel 11. Uji Beda Nyata Jujur (BNJ) Pertambahan Berat Propagul *K. alvarezii* pada Berbagai Perlakuan Fotoperiod

Pengaruh Tunggal B (Fotoperiod)	Pengaruh Tunggal A (waktu Pemeliharaan)					Pengaruh Utama (B)
	0	2	4	6	8	
A (6L : 18D)	0,37 ^{ab}	0,49 ^{abc}	0,67 ^{abc}	0,64 ^{abc}	0,60 ^{abc}	0,56 ^{ab}
B (12L : 12D)	0,35 ^a	0,55 ^{abc}	0,89 ^{bc}	1,55 ^d	2,72 ^e	1,21 ^c
C (24L : 0D)	0,34 ^a	0,48 ^{abc}	0,57 ^{abc}	0,81 ^{abc}	0,53 ^{abc}	0,55 ^a
D (18L : 6D)	0,36 ^{ab}	0,54 ^{abc}	0,71 ^{abc}	0,93 ^c	1,68 ^d	0,85 ^{abc}
Pengaruh Utama A	0,36 ^a	0,52 ^{ab}	0,71 ^{abc}	0,98 ^{cd}	1,38 ^e	

BNJ $A_{0,05} = 0.368$; BNJ $B_{0,05} = 0.344$; BNJ $AxB_{0,05} = 0.496$

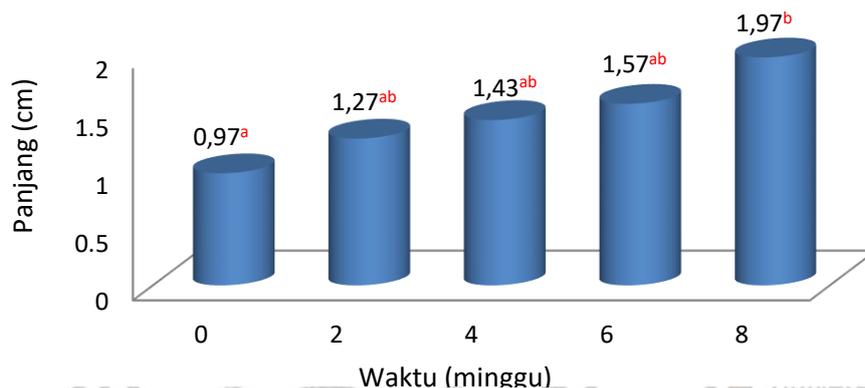
Ket : angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata

Pengaruh perlakuan tunggal fotoperiod terhadap pertambahan panjang propagul *K. alvarezii* hasil kultur jaringan menunjukkan bahwa perlakuan fotoperiod B (12L : 12D) memberikan rata-rata pertambahan panjang yang paling tinggi dibandingkan perlakuan lainnya, sementara perlakuan fotoperiod C (24L : 0D) menunjukkan rata-rata pertambahan panjang yang paling rendah dibandingkan perlakuan lainnya (Gambar 39.).



Gambar 39. Pengaruh Fotoperiod Terhadap Pertambahan panjang propagul *K. alvarezii* selama delapan minggu pemeliharaan (Ket : Diagram yang ditandai dengan huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($p > 0.05$))

Pengaruh perlakuan tunggal waktu pemeliharaan terhadap laju pertumbuhan panjang propagul *K. alvarezii* hasil kultur jaringan menunjukkan bahwa pertumbuhan panjang propagul *K. alvarezii* semakin meningkat seiring dengan meningkatnya waktu pemeliharaan (Gambar 40.).



Gambar 40. Pengaruh Waktu Pemeliharaan Terhadap Pertambahan Panjang propagul *K. alvarezii* selama delapan minggu pemeliharaan (pemeliharaan (Ket : Diagram yang ditandai dengan huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($p>0.05$))

Pada akhir masa pemeliharaan (8 minggu) menunjukkan bahwa perlakuan tunggal fotoperiod B (12L : 12D) memberikan rata-rata pertumbuhan panjang mutlak propagul *K. alvarezii* yang paling tinggi, yaitu 1,69 cm, kemudian berturut-turut secara menurun diikuti oleh perlakuan fotoperiod D (18L : 6D) sebesar 1 cm, perlakuan fotoperiod A (6L : 18D) sebesar 0,77 cm dan pertumbuhan yang paling rendah pada perlakuan pencahayaan penuh C (24L) sebesar 0,53 cm (Tabel 10.).

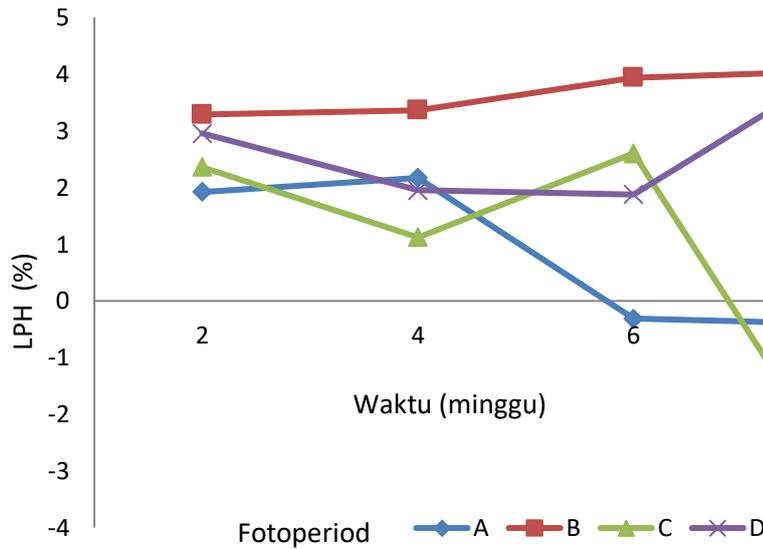
Hasil uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ) menunjukkan bahwa semua perlakuan tunggal fotoperiod memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata terhadap pertumbuhan panjang propagul *K. alvarezii* sementara perlakuan tunggal waktu pemeliharaan delapan minggu memberikan pertumbuhan panjang propagul *K. alvarezii* yang paling tinggi. Hasil ini berbeda sangat nyata hanya

dengan perlakuan waktu pemeliharaan awal (0 minggu) dan tidak berbeda nyata dengan waktu pemeliharaan minggu ke-2, ke-4 dan ke-6 (Gambar 39. dan 40.).

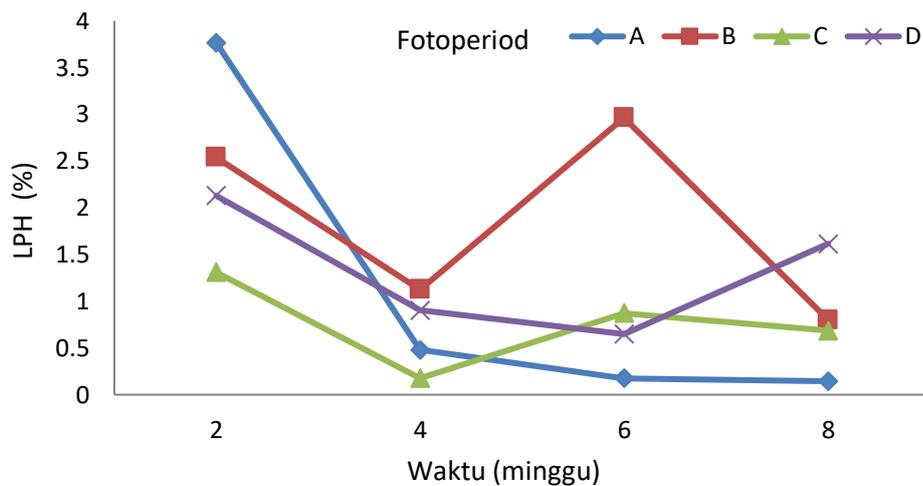
Berdasarkan semua hasil analisis diatas maka diduga bahwa interaksi perlakuan fotoperiod B (12L : 12D) dengan waktu pemeliharaan delapan minggu merupakan interaksi perlakuan yang dapat meningkatkan pertumbuhan berat dan panjang propagul *K. alvarezii* dibandingkan interaksi perlakuan fotoperiode lainnya, yaitu berturut-turut 2,30 g dan 1,69 cm.

Meningkatnya pertumbuhan propagul *K. alvarezii* pada perlakuan interaksi perlakuan fotoperiod B (12L : 12D) dengan waktu pemeliharaan delapan minggu ini juga didukung oleh hasil pengukuran laju pertumbuhan hariannya (LPH). Hasil pengamatan selama delapan minggu masa pemeliharaan menunjukkan bahwa perlakuan fotoperiod B (12L : 12D) memberikan laju pertumbuhan harian berat propagul *K. alvarezii* yang terus meningkat sampai akhir masa pemeliharaan. Sementara perlakuan fotoperiod D (18L : 6D) memberikan laju pertumbuhan harian berat propagul *K. alvarezii* yang menurun sampai masa pemeliharaan minggu keenam dan juga meningkat pada akhir masa pemeliharaan. Perlakuan fotoperiod A (6L : 18D) dan C (24L) memberikan laju pertumbuhan harian berat propagul *K. alvarezii* yang berfluktuatif dan menurun pada akhir waktu pemeliharaan (Gambar 41.).

Sementara pada laju pertumbuhan harian panjang propagul *K. alvarezii* menunjukkan bahwa semua perlakuan fotoperiod memberikan laju pertumbuhan harian panjang propagul *K. alvarezii* yang menurun pada waktu pemeliharaan minggu keempat kemudian berfluktuatif dan di akhir waktu pemeliharaan terlihat bahwa perlakuan fotoperiod D (18L : 6D) memberikan laju pertumbuhan harian panjang yang lebih tinggi kemudian berturut-turut secara menurun diikuti oleh perlakuan fotoperiod B (12L : 12D), perlakuan pencahayaan penuh C (24L) dan yang paling rendah pada perlakuan fotoperiod A (6L : 18D) (Gambar 42.).



Gambar 41. Pengaruh Interaksi Fotoperiod dan Waktu Pemeliharaan terhadap Pertumbuhan Harian (LPH) Berat Propagul *K. alvarezii* Selama delapan minggu pemeliharaan



Gambar 42. Pengaruh Interaksi Fotoperiod dan Waktu Pemeliharaan terhadap Pertumbuhan Harian (LPH) Panjang Propagul *K. alvarezii* Selama delapan minggu pemeliharaan

Berdasarkan nilai rata-ratanya maka perlakuan fotoperiod B (12L : 12D) memberikan rata-rata Laju Pertumbuhan Harian (LPH) yang tertinggi, yaitu sebesar 3,66 %/hari untuk penambahan berat dan 1,86 %/hari untuk penambahan panjang, kemudian berturut-turut diikuti oleh perlakuan fotoperiod D (18L : 6D) yang memberikan rata-rata laju pertumbuhan harian adalah 2,75

%/hari untuk penambahan berat dan 1,32 %/hari untuk penambahan panjang.

Selanjutnya adalah perlakuan fotoperiod A (6L : 18D) yang memberikan rata-rata laju pertumbuhan harian adalah 0,84 %/hari untuk penambahan berat dan 1,14 %/hari untuk penambahan panjang. Sementara hasil yang terendah adalah perlakuan fotoperiod C (24L : 0D) yang memberikan rata-rata laju pertumbuhan harian adalah 0,70 %/hari untuk penambahan berat dan 0,72 %/hari untuk penambahan panjang (Lampiran 29. dan 30.)

Hasil *analysis of variance* (ANOVA) menunjukkan bahwa setiap perlakuan interaksi fotoperiod dan waktu pemeliharaan memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) dengan tingkat keyakinan 95% terhadap laju pertumbuhan harian (LPH) berat dan panjang propagul *K. alvarezii*. Demikian juga pengaruh faktor tunggal waktu pemeliharaan tanpa melihat faktor fotoperiod memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap laju pertumbuhan harian (LPH) berat dan panjang propagul *K. alvarezii*. Sementara pengaruh faktor tunggal fotoperiod tanpa melihat waktu pemeliharaan hanya berpengaruh nyata terhadap laju pertumbuhan harian (LPH) berat propagul *K. alvarezii* tetapi tidak berpengaruh nyata terhadap laju pertumbuhan harian (LPH) panjangnya. (Lampiran 31. dan 32.).

Hasil uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ) terhadap laju pertumbuhan harian (LPH) berat propagul *K. alvarezii* menunjukkan bahwa perlakuan interaksi fotoperiod B (12L : 12D) dengan waktu pemeliharaan delapan minggu memberikan laju pertumbuhan harian (LPH) berat propagul *K. alvarezii* yang paling tinggi. Hasil ini hanya berbeda nyata dengan perlakuan interaksi fotoperiod A (6L : 18D) dengan waktu pemeliharaan enam minggu dan delapan minggu serta perlakuan interaksi fotoperiod C (24L : 0D) dengan waktu pemeliharaan delapan minggu (Tabel 12.).

Hasil uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ) terhadap pengaruh faktor tunggal fotoperiod menunjukkan bahwa perlakuan fotoperiod B (12L : 12D) memberikan laju pertumbuhan harian (LPH) berat propagul *K. alvarezii* yang paling tinggi.

Hasil ini berbeda nyata dengan perlakuan fotoperiod D (18L : 6D) tetapi berbeda sangat nyata dengan perlakuan fotoperiod A(6L : 18D) dan C (24L : 0 D).

Sementara hasil uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ) pengaruh faktor tunggal waktu pemeliharaan menunjukkan bahwa perlakuan waktu pemeliharaan dua minggu memberikan laju pertumbuhan harian (LPH) berat propagul *K. alvarezii* yang paling tinggi dan tidak berbeda nyata dengan semua perlakuan waktu pemeliharaan lainnya (Tabel 12.).

Tabel 12. Uji Beda Nyata Jujur (BNJ) Laju Pertumbuhan Harian (LPH) Berat Propagul *K. alvarezii* pada Berbagai Perlakuan Fotoperiod

Pengaruh Tunggal B (Fotoperiod)	Pengaruh Tunggal A (waktu Pemeliharaan)				Pengaruh Utama (B)
	2	4	6	8	
A (6L : 18D)	1,92 ^{bcd}	2,17 ^{bcd}	-0,31 ^{abc}	-0,41 ^{ab}	0,84 ^{ab}
B (12L : 12D)	3,29 ^{de}	3,36 ^{de}	3,94 ^{de}	4,06 ^{de}	3,66 ^c
C (24L : 0D)	2,36 ^{bcd}	1,13 ^{bcd}	2,60 ^{cde}	-3,30 ^a	0,70 ^a
D (18L : 6D)	2,95 ^{de}	1,95 ^{bcd}	1,88 ^{bcd}	4,21 ^e	2,75 ^{abc}
Pengaruh Utama A	2,63 ^a	2,15 ^a	2,03 ^a	1,14 ^a	

BNJ A & B_{0.05} = 1,26 ; BNJ AxB_{0.05} = 2,99

Ket : angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata

Periode pertumbuhan yang awalnya cepat kemudian melambat merupakan pertumbuhan yang normal bagi rumput laut. Rioux *et al.* (2009) mengemukakan bahwa pada setiap proses pertumbuhan maka periode awal merupakan sintesis protein dan lipid yang meningkat kemudian periode elongasi

dimulai, dan tanaman tumbuh cepat sampai pada tingkat maksimum kemudian pertumbuhan akan mengalami penurunan.

Hasil uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ) terhadap laju pertumbuhan harian (LPH) panjang propagul *K. alvarezii* menunjukkan bahwa perlakuan interaksi fotoperiod A (18L : 6D) dengan waktu pemeliharaan dua minggu memberikan laju pertumbuhan harian (LPH) panjang propagul *K. alvarezii* yang paling tinggi.

Hasil ini tidak berbeda nyata dengan perlakuan interaksi waktu pemeliharaan dua minggu dengan fotoperiod B (12L : 12D) dan D (18L : 6D) serta perlakuan interaksi fotoperiod B (12L : 12D) dengan waktu pemeliharaan enam minggu (Tabel 13.).

Hasil uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ) terhadap pengaruh faktor tunggal waktu pemeliharaan menunjukkan bahwa perlakuan waktu pemeliharaan dua minggu memberikan laju pertumbuhan harian (LPH) panjang propagul *K. alvarezii* yang paling tinggi dan hasil ini tidak berbeda nyata dengan perlakuan waktu pemeliharaan lainnya. (Tabel 13.).

Tabel 13. Uji Beda Nyata Jujur (BNJ) Laju Pertumbuhan Harian (LPH) Panjang Propagul *K. alvarezii* pada Berbagai Perlakuan Fotoperiod

Pengaruh Tunggal B (Fotoperiod)	Pengaruh Tunggal A (waktu Pemeliharaan)				Pengaruh Utama (B)
	2	4	6	8	
A (6L : 18D)	3,76 ^e	0,48 ^{ab}	0,18 ^a	0,14 ^a	1,14 ^a
B (12L : 12D)	2,54 ^{cde}	1,13 ^{abc}	2,96 ^{de}	0,80 ^{ab}	1,86 ^a
C (24L : 0D)	1,31 ^{abcd}	0,18 ^a	0,70 ^{ab}	0,68 ^{ab}	0,72 ^a
D (18L : 6D)	2,13 ^{bcde}	0,90 ^{abc}	0,65 ^{ab}	1,61 ^{abcd}	1,32 ^a
Pengaruh Utama A	2,43 ^d	0,67 ^a	1,12 ^{abc}	0,81 ^{ab}	

BNJ A & B_{0.05} = 1,26 ; BNJ AxB_{0.05} = 2,99

Ket : angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata

Secara keseluruhan terlihat bahwa perlakuan fotoperiod B (12L : 12D) memberikan kisaran laju pertumbuhan harian yang lebih tinggi, yaitu 3,29–4,06 %/hari untuk penambahan berat dan 0,80–2,96 %/hari untuk penambahan panjang. Sementara perlakuan fotoperiod A (6L : 18D) memberikan kisaran laju pertumbuhan berat harian adalah -0,41–2,17 %/hari dan laju pertumbuhan panjang harian adalah 0,14–3,76 %/hari. Perlakuan fotoperiod C (24L : 0D) memberikan kisaran laju pertumbuhan berat harian adalah -3,30–2,60 %/hari dan laju pertumbuhan panjang harian adalah 0,18–1,31 %/hari, serta perlakuan fotoperiod D (18L : 6D) memberikan kisaran laju pertumbuhan berat harian adalah 0,86–2,96 %/hari dan laju pertumbuhan panjang harian adalah 0,65–2,13 %/hari.

Berdasarkan semua hasil analisis diatas maka terlihat bahwa interaksi perlakuan fotoperiod B (12L : 12D) dengan waktu pemeliharaan delapan minggu merupakan interaksi perlakuan yang terbaik karena tidak hanya dapat meningkatkan pertumbuhan berat propagul *K. alvarezii* yang lebih baik tetapi juga memberikan laju pertumbuhan harian (LPH) yang lebih tinggi. Hasil ini tidak berbeda nyata dengan perlakuan fotoperiod D (18L : 6D) tetapi berbeda nyata dengan perlakuan fotoperiod A (6L : 18D) dan C (24L : 0D).

Diduga bahwa peranan fotoperiode terhadap pertumbuhan propagul *K. alvarezii* ini berhubungan dengan siklus terang/gelap. Energi cahaya yang ditangkap pada siklus terang digunakan untuk mengaktifkan elektron di klorofil sehingga elektron bergerak sepanjang rantai oksidasi yang terdapat di membran tilakoid. Proses pemindahan elektron memompa proton (H^+) melewati membran tilakoid. Lintasan elektron berakhir di molekul NAD^+ yang kemudian elektron berenergi tinggi tersebut diubah menjadi Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-oxidase (NADPH). Sementara H^+ (proton) berpindah dari lumen ke stroma kemudian terbentuk Adenosine triphosphate (ATP).

Selanjutnya energi yang tersimpan dalam ATP dan NADPH hasil fotosintesis pada fase terang tersebut dibutuhkan pada fase biokimia (*biochemical*) atau reaksi gelap untuk mengubah CO₂ menjadi karbohidrat untuk mensintesis molekul-molekul organik, seperti asam amino dan protein yang berperan juga dalam proses pertumbuhan propagul. Bouterfas *et al.* (2006) menyatakan bahwa cahaya dibutuhkan pada fase fotokimia (*photochemical*) untuk menghasilkan Adenosine triphosphate (ATP) dan Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate- oxidase (NADPH), sedangkan kondisi gelap dibutuhkan pada fase biokimia (*biochemical*) untuk sintesis molekul-molekul essensial yang berperan dalam proses pertumbuhan.

.Apabila siklus terang berlangsung di bawah 12 jam (fotoperiod A (6L : 18D)) atau melebihi 12 jam (fotoperiod D (18L : 6D)) maka pertumbuhan propagul *K. alvarezii* tetap berlangsung tetapi lebih lambat dibandingkan perlakuan fotoperiod B (12L : 12D). Diduga bahwa lama penyinaran siklus terang yang berlangsung dibawah 12 jam (fotoperiod A (6L : 18D)) menyebabkan sediaan energi cahaya yang dihasilkan berada dibawah titik kompensasi cahaya untuk fotosintesis pada reaksi terang sehingga menyebabkan terganggunya proses metabolisme, termasuk pertumbuhan propagul karena menurunnya akumulasi karbohidrat yang dihasilkan pada reaksi gelap. Dengan kata lain pada saat kondisi cahaya kurang maka respirasi gelap terjadi lebih tinggi daripada fotosintesis sehingga *net* fotosintesis lebih rendah. Chen and Lee, (2012) menyatakan bahwa penetrasi cahaya merupakan salah satu faktor pembatas untuk pertumbuhan rumput laut, apabila cahaya yang diterima berada di bawah tingkat kebutuhan, maka energi yang dihasilkan melalui proses fotosintesa tidak seimbang atau tidak terpenuhi.

Sementara itu pada siklus terang yang melebihi 12 jam (fotoperiod D (18L : 6D)) menyebabkan paparan cahaya yang terlalu lama pada perlakuan ini

menyebabkan terjadinya efek *photoinhibition* sehingga diduga terjadi kerusakan pada protoplasma dan menurunkan laju kecepatan fotosintesis. Penurunan laju fotosintesis pada reaksi terang ini menyebabkan berkurangnya energi yang dapat dimanfaatkan pada reaksi gelap untuk mensintesis senyawa kompleks yang dapat dimanfaatkan untuk memacu pertumbuhan propagul. Akibatnya pertumbuhan propagul pada perlakuan fotoperiod D (18L : 6D) sedikit lebih rendah dibandingkan perlakuan fotoperiod B (12L : 12D). Namun kedua perlakuan ini tidak berbeda nyata diduga karena kerusakan protoplasma yang terjadi hanya bersifat sementara.

Propagul *K. alvarezii* mengalami pertumbuhan yang sangat lambat apabila hanya terpapar oleh cahaya yang kontinu (fotoperiod C (24L : 0 D)) dibandingkan perlakuan yang mengalami siklus terang dan gelap. Hal ini disebabkan karena paparan cahaya secara terus menerus selama 24 jam menyebabkan efek *photoinhibition* sehingga terjadi kerusakan sel yang menyebabkan terhambatnya laju pertumbuhan (Harun *et al.*, 2014). Chen and Lee, (2012) juga menyatakan bahwa penetrasi cahaya merupakan salah satu faktor pembatas untuk pertumbuhan rumput laut, apabila cahaya yang diterima terus menerus dapat menyebabkan tumbuhan makin lama makin mati.

Pemberian lama penyinaran selama 24 jam penuh juga menyebabkan proses fotosintesis hanya melewati satu proses, yaitu reaksi terang saja. Akibatnya reaksi gelap tidak berlangsung dalam proses fotosintesis, sehingga pertumbuhan propagul *K. alvarezii* tidak berlangsung dengan baik karena tidak adanya energi dan senyawa kompleks yang dapat dimanfaatkan untuk memacu pertumbuhan propagul pada reaksi gelap. Srirangan *et al.*, (2015) menyatakan bahwa pembelahan sel pada alga berlangsung pada pemeliharaan dengan reaksi/siklus terang dan gelap, tetapi pada pemeliharaan hanya dengan siklus terang saja memberikan tingkat pembelahan sel yang konstan. Bouterfas, *et al.*,

(2006) menyatakan bahwa kondisi gelap dibutuhkan sebagai fase biokimia (biochemical) untuk sintesis molekul-molekul esensial yang berperan dalam proses pertumbuhan. Lebih lanjut Aguilera *et al.*, (2002) menyatakan bahwa reaksi gelap berperan penting dalam dua hal : pertama, untuk asimilasi metabolit dan reaksi biokimia yang mengarah untuk pertumbuhan dan pembelahan sel dan kedua, untuk pergantian dan reorganisasi semua mesin fotosintesis yang rusak pada fase cahaya sebelumnya.

Pertumbuhan propagul sangat maksimal pada saat lama penyinaran siklus terang sama dengan siklus gelap (fotoperiod B (12L : 12D)). Jika dikaitkan dengan fenomena alam di Indonesia maka perlakuan fotoperiod B (12L : 12D) merupakan pencahayaan secara alami. Diduga bahwa lama penyinaran 12 jam terang ini menyebabkan energi cahaya yang ditangkap cukup efektif dalam reaksi/siklus terang dan gelap pada proses fotosintesis yang dapat mempengaruhi pertumbuhan sel propagul. Krzeminska *et al.* (2014) menyatakan bahwa fotoperiode atau siklus gelap terang berperan sebagai agen stressor yang mempengaruhi pertumbuhan. Oleh karena itu laju pertumbuhan dan produksi biomassa dapat ditingkatkan dan menurun tergantung periode paparan cahaya (Singh *et al.*, 2015).

Secara ringkas pola produksi ATP dan NAPH₂ pada reaksi terang dan produksi karbohidrat pada reaksi gelap akibat pengaruh berbagai perlakuan fotoperiode yang mempengaruhi pertumbuhan propagul *K. alvarezii* disajikan pada Tabel 14. Produksi ATP dan NADPH₂ yang tinggi pada reaksi terang menyebabkan produksi gula (karbohidrat) yang tinggi pula pada reaksi gelap sehingga dapat digunakan untuk mensintesis molekul-molekul esensial yang berperan dalam proses pertumbuhan.

Hasil penelitian ini juga sejalan dengan penelitian Suryati *et al.*, (2016) yang menunjukkan bahwa sintasan eksplan rumput laut *K. alvarezii* hasil transformasi

gen *MaSOD* yang paling tinggi terdapat pada rasio terang gelap L:D = 12:12 (84%) tidak berbeda nyata dengan perlakuan L:D= 16:8 (80%), namun berbeda nyata dengan perlakuan L:D= 8:12 (20%), demikian juga pada rumput laut *K. alvarezii* non-transgenik memiliki sintasan paling tinggi pada perlakuan L:D= 12:12 (80%), namun tidak berbeda nyata dengan perlakuan L:D= 16:8 (50%), dan berbeda nyata dengan perlakuan L:D= 8:16 (40%).

Tabel 14. Pengaruh Berbagai Fotoperiode terhadap Siklus Terang dan Gelap

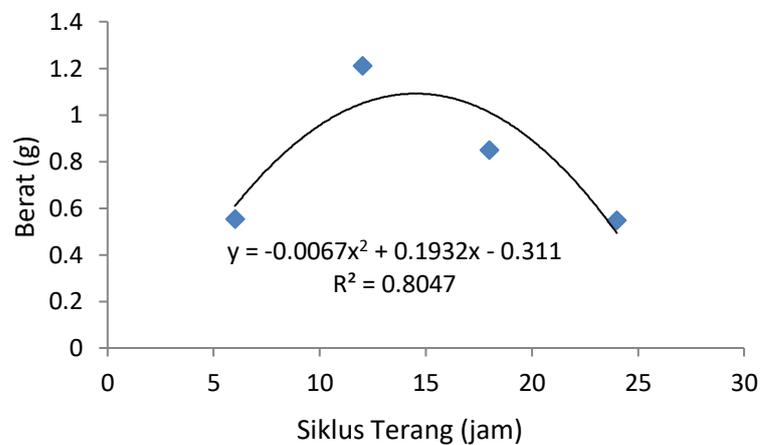
Perlakuan	Reaksi Terang	Reaksi Gelap
A (6L : 18D)	ATP dan NADPH ₂	↓ Karbohidrat ↓
B (12L : 12D)	ATP dan NADPH ₂	↑ Karbohidrat ↑
C (24L : 0D)	ATP dan NADPH ₂	↑ Karbohidrat ↓
D (18L : 6D)	ATP dan NADPH ₂	↑ Karbohidrat ↑

Kultur yang dilakukan pada rumput laut merah *Porphyra umbilicalis* juga menunjukkan hasil yang sama bahwa pemberian fotoperiod 12:12 L/D memberikan laju pertumbuhan harian yang tidak signifikan dengan fotoperiod 18:6 L/D tetapi kedua fotoperiod ini memberikan laju pertumbuhan harian yang sangat signifikan dengan fotoperiod 6:18 L/D pada intensitas cahaya 110 μmol photons m⁻² s⁻¹ (Green and Neefus, 2016).

Korelasi hubungan antara fotoperiod dengan pertumbuhan propagul *K. alvarezii* pada penelitian ini dapat ditunjukkan pada Gambar 43. yang menggambarkan hubungan antara fotoperiod dengan penambahan berat propagul *K. alvarezii* selama masa pemeliharaan delapan minggu.

Nilai korelasi (R² = 0,804) menunjukkan bahwa penambahan berat propagul *K. alvarezii* dipengaruhi oleh fotoperiod sebesar 80,4%, sementara sisanya 20,6% adalah pengaruh faktor luar yang tidak dapat digambarkan dalam model. Semakin lama waktu siklus terang pada perlakuan fotoperiod yang

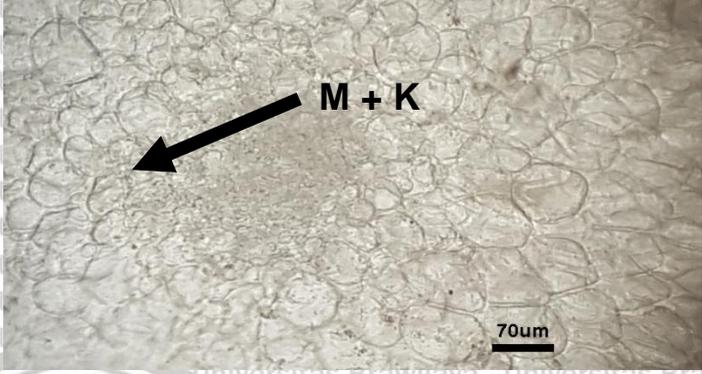
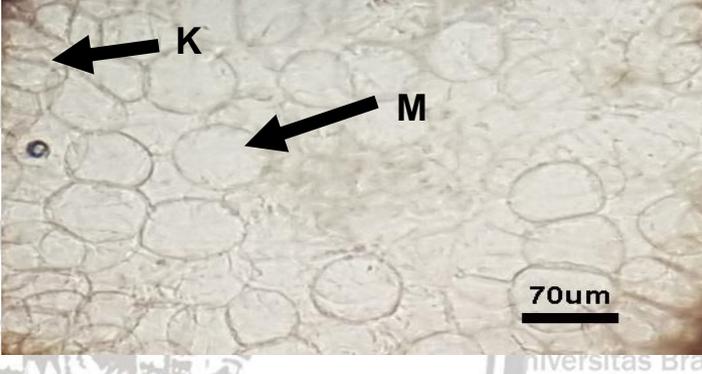
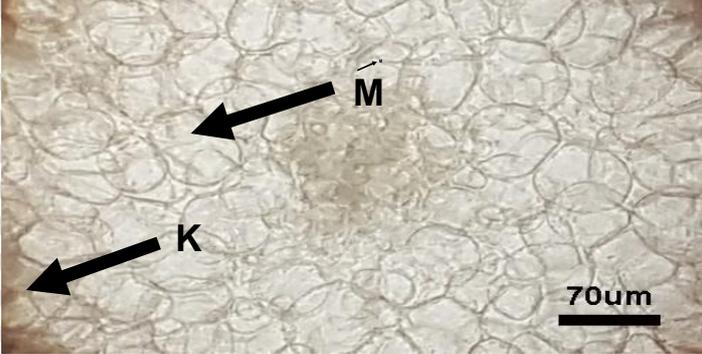
diberikan menunjukkan penambahan berat propagul *K. alvarezii* yang semakin tinggi, namun pada titik tertentu pertambahan beratnya mengalami penurunan, yaitu pada perlakuan siklus terang siklus terang 16 jam atau perlakuan fotoperiod D (18L : 6D) dan perlakuan siklus terang 24 jam atau perlakuan fotoperiod C (24L : 0D). Dengan kata lain bahwa pertumbuhan propagul dipengaruhi oleh perlakuan fotoperiod yang diberikan melalui sejumlah energi yang diberikan pada setiap siklus terang dan gelap akibat fotoperiod tersebut. (Krzeminska *et al.*, 2014)



Gambar 43. Korelasi antara Fotoperiod dengan Pertambahan Berat Propagul *K. alvarezii* Selama pemeliharaan delapan minggu

Pengaruh berbagai perlakuan fotoperiod terhadap pertumbuhan propagul rumput laut *K. alvarezii* pada penelitian ini juga didukung oleh hasil pengamatan morfologi sel propagul rumput laut *K. alvarezii* yang menunjukkan bahwa pada setiap perlakuan fotoperiod terdapat perbedaan morfologi (Tabel 15.). Tabel 15. menunjukkan bahwa sel propagul *K. alvarezii* pada perlakuan fotoperiod B(12L : 12D) tumbuh relatif lebih baik dibandingkan perlakuan fotoperiod lainnya. Secara umum pada akhir pengujian, terlihat bahwa medulla dan korteks dalam keadaan yang utuh, dimana bentuk korteksnya masih teratur dan sel-sel medulla masih berbentuk bulat utuh. Sel-sel kortikal (K) berukuran lebih kecil dengan bentuk memanjang.

Tabel 15. Penampang Melintang Sel Propagul *K. Alavarezii* Pada Berbagai Perlakuan Fotoperiod (M = medulla ; K = korteks)

Fotoperiod	Morfologi sel
A (6L : 18D)	
B (12L : 12D)	
C (24L : 0D)	
D (18L : 6D)	

Sel-sel korteks tersebut berkurang secara linier dan berkembang menjadi sel-sel medular. Pada bagian tengah *thallus* sel-sel medular (M) berukuran lebih besar dan bulat, namun tidak terlalu padat jika dibandingkan dengan sel-sel kortikal. Ukuran sel medular yang besar ini menunjukkan bahwa proses pertumbuhan sel-sel propagul berlangsung secara baik dan normal pada pemberian perlakuan fotoperiod B (12L : 12D) tersebut. Hal ini sesuai yang ditemukan oleh Tri (2000), bahwa pada pemotongan melintang *Kappaphycus medulla* mengandung sel-sel bulat atau poligonal dengan bagian yang menebal (lenticular thickening) pada bagian dinding, dikelilingi oleh sel-sel berukuran kecil. Bagian dalam korteks mengandung sel-sel poligon (polygonal-ovoid) yang semakin mengecil ke arah bagian pinggir. Sel-sel bagian luar ini identik dengan sel-sel *thallus* bagian ujung (apikal), dimana disebutkan bahwa bagian apikal terdiri dari sel-sel asimilator atau sel-sel yang aktif tumbuh.

Sel propagul *K. alvarezii* pada perlakuan fotoperiod D (18L : 6D) menampakkan bagian medulla dan korteks masih berbentuk utuh sama dengan sel pada fotoperiod B (12L : 12D) yang masih tampak sempurna. Namun terlihat ada beberapa bagian sel-sel medulla yang tampaknya hampir menyatu dengan korteks. Pada saat sel propagul *K. alvarezii* mendapatkan lama penyinaran melebihi 12 jam ternyata bentuk pinggiran korteksnya sudah mengalami perubahan, dimana batas antara korteks dengan medulanya hampir tidak ada lagi, dan korteks sudah sangat menipis serta putus, hal ini juga terjadi pada bagian medulla yang sudah tidak utuh serta sel-selnya hampir menyatu dengan korteks. Hal ini diduga karena kerusakan protoplasma akibat efek *photoinhibition* karena lama penyinaran pada reaksi terang melebihi 12 jam. Namun sepertinya kerusakan ini masih bersifat sementara bukan permanen karena secara struktur masih ada beberapa bagian korteks dan medulla yang masih utuh.

Pada perlakuan fotoperiod A (6L : 18D) nampak sebagian besar bentuk medula di bagian tengah memiliki ukuran yang mengecil. Diduga karena menurunnya lama penyinaran pada siklus terang yang diberikan kepada propagul sehingga energi yang dibutuhkan untuk mensintesis molekul-molekul essensial yang berperan dalam proses pertumbuhan pada siklus gelap menjadi tidak optimal sehingga mempengaruhi ukuran sel-sel medula dan korteks yang terbentuk. Sementara pada perlakuan fotoperiod C (24L) menunjukkan bentuk sel korteks dan medulla telah terjadi kerusakan total, dimana batas antara korteks dan medula sudah tidak ada lagi karena sel-selnya sudah menyatu. Diduga karena paparan cahaya secara kontinu menyebabkan peningkatan suhu yang menyebabkan terjadinya kerusakan protoplasma secara permanen, termasuk medula dan korteks.

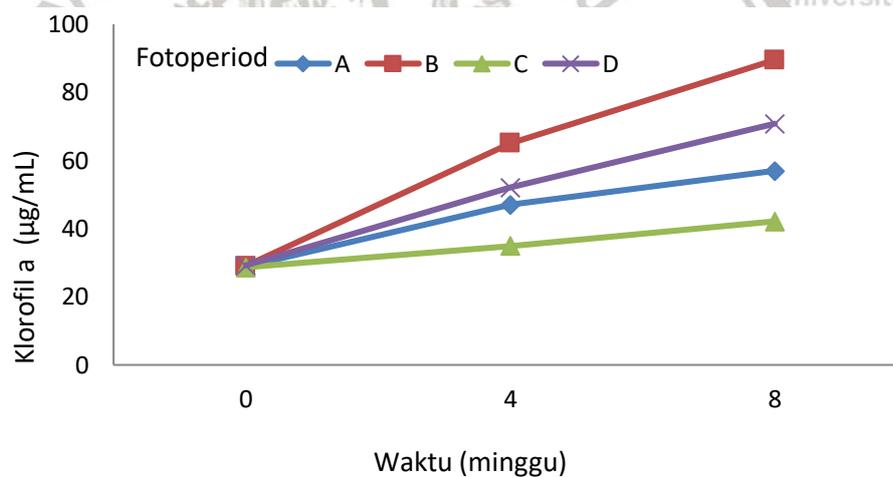
Korteks merupakan jaringan yang mengelilingi medulla serta mengandung filamen pada ujungnya. Menurut Atmadja *dkk*, (1996), jaringan tengah dari *K. alvarezii* terdiri dari filamen-filamen yang berwarna dan dikelilingi oleh sel-sel besar dan dilapisi oleh lapisan korteks. Filamen adalah suatu tipe thallus yang terdiri dari satu atau lebih barisan yang menghubungkan sel, dengan atau tanpa lapisan gelatin dan perekat. Perubahan korteks juga dapat menyebabkan rusaknya "pit connection". Loban dan Wayne (1981), menyatakan bahwa hubungan sel yang satu dengan sel lainnya karena adanya "pit connection". Rusaknya "pit connection" akan mempengaruhi suplai oksigen dan makanan ke seluruh sel alga. Kerusakan pada bagian korteks akan mempercepat kerusakan pada sel medulla.

Korteks merupakan bagian dari rumput laut yang di dalamnya mengandung klorofil, untuk melakukan fotosintesis. Klorofil adalah pigmen karena menyerap cahaya yakni radiasi elektromagnetik pada spectrum kasat mata (visibel). Dengan adanya pigmen maka alga dapat mensintesis bahan-

bahan organik dengan menyerap cahaya sebagai sumber energi (Kimbal, 1998; Tokida *et al.*, 1975). Perubahan yang terjadi pada korteks diduga berhubungan juga dengan pigmen dalam sel, dimana perlakuan fotoperiod atau lama penyinaran dapat mempengaruhi peningkatan pigmen fotosintesis sebagaimana akan dibahas pada sub bab berikut ini.

5.3.2. Pengaruh Fotoperiod Terhadap Kandungan Klorofil a dan Fikoeritrin Propagul *K. alvarezii* Hasil Kultur Jaringan

Hasil pengamatan selama delapan minggu masa pemeliharaan menunjukkan bahwa kandungan klorofil a propagul *K. alvarezii* semakin meningkat seiring dengan meningkatnya waktu pemeliharaan pada semua perlakuan fotoperiod (Gambar 44.).



Gambar 44. Pengaruh Interaksi Fotoperiod dan Waktu Pemeliharaan terhadap Kandungan Klorofil a Propagul *K. alvarezii* Selama delapan minggu pemeliharaan [A (6L : 18D), B (12L : 12D), C (24L : 0D), dan D (18L : 6D)]

Berdasarkan nilai rata-rata maka terlihat bahwa interaksi perlakuan fotoperiod B (12L : 12D) dengan waktu pemeliharaan delapan minggu memberikan kandungan Klorofil a yang paling tinggi, yaitu 89,53 µg/mL dan perlakuan fotoperiod C (24L : 0D) memberikan kandungan Klorofil a yang paling

rendah, yaitu 42,14 µg/mL. Sementara perlakuan fotoperiod A (6L : 18D) dan D (18L : 6D) memberikan kandungan klorofil a berturut-turut adalah 56,99 µg/mL dan 70,83 µg/mL (Tabel 16. dan Lampiran 31.).

Tabel 16. Rerata Kandungan Klorofil a dan Fikoeritrin propagul *K. alvarezii* pada berbagai perlakuan fotoperiod

Fotoperiod	Waktu pemeliharaan (minggu)	Pigmen Fotosintesis (µg/mL)	
		Klorofil a	Fikoeritrin
A (6:18)	0	28,87±2,359	47,995±12,124
	4	47,06±5,751	97,03±8,958
	8	56,99±3,300	116,44±27,218
B (12:12)	0	29,05±4,336	48,17±13,016
	4	65,11±3,094	98,31±39,670
	8	89,53±12,15	112,90±1.281
C (24)	0	28,65±2,691	45,03±13,955
	4	34,93±4,504	49,07±2,595
	8	42,14±3,534	38,52±3,533
D (18:6)	0	29,22±4,682	46,24±14,966
	4	52,05±1,321	74,61±1,949
	8	70,83±5,895	71,59±4,440

Hasil *analysis of variance* (ANOVA) menunjukkan bahwa setiap perlakuan interaksi fotoperiod dan waktu pemeliharaan berpengaruh sangat nyata ($P < 0,05$) dengan tingkat keyakinan 95% terhadap kandungan klorofil a propagul *K. alvarezii*. Demikian juga pengaruh faktor tunggal fotoperiod tanpa melihat faktor waktu pemeliharaan serta pengaruh faktor tunggal waktu pemeliharaan tanpa melihat faktor fotoperiod memberikan pengaruh yang sangat

nyata terhadap kandungan klorofil a propagul *K. alvarezii* (Lampiran 33.). Hasil penelitian Zucchi and necchi (2001), juga menunjukkan bahwa perlakuan manipulasi fotoperiode (lama pencahayaan) memberikan pengaruh yang nyata terhadap kandungan klorofil-a pada beberapa rumput laut merah dari spesies *Audouinella hermannii*, *Batrachospermum delicatulum*, dan *Compsopogon coeruleus*.

Hasil uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ) terhadap kandungan klorofil a propagul *K. alvarezii* menunjukkan bahwa perlakuan interaksi fotoperiod B (12L : 12D) dengan waktu pemeliharaan delapan minggu memberikan kandungan klorofil a propagul *K. alvarezii* yang paling tinggi dan berbeda sangat nyata dengan semua perlakuan interaksi fotoperiod dan waktu pemeliharaan lainnya.

Sementara hasil uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ) terhadap pengaruh faktor tunggal fotoperiod dan pengaruh faktor tunggal waktu pemeliharaan menunjukkan hasil yang sama bahwa perlakuan fotoperiod B (12L : 12D) memberikan kandungan klorofil a propagul *K. alvarezii* yang paling tinggi dan berbeda sangat nyata dengan perlakuan tunggal fotoperiod dan perlakuan tunggal waktu pemeliharaan lainnya. (Tabel 17.).

Berdasarkan hasil analisa diatas maka terlihat bahwa perlakuan fotoperiod B (12L : 12D) tidak hanya meningkatkan pertumbuhan propagul yang lebih tinggi tetapi juga memberikan peningkatan kandungan klorofil a yang lebih baik. Diduga bahwa pembentukan klorofil a yang meningkat pada perlakuan fotoperiod B (12L : 12D) ini berhubungan dengan produksi ATP dan NADPH sebagai sumber energi yang dihasilkan dari siklus terang pada proses fotosintesis propagul. Sebagaimana diketahui bahwa proses reaksi terang dimulai dengan menangkap foton yang dilakukan oleh pigmen klorofil yang berperan sebagai antena. Pada *thalus* rumput laut, cahaya akan diserap melalui molekul klorofil dan kemudian dikumpulkan pada pusat-pusat reaksi. Foton yang

diserap akan menyumbang lebih banyak elektron (e) untuk bergabung dengan atom H dan O₂ untuk menghasilkan energi berupa ATP dan NADPH tersebut (Campbell *et al.*, 2008).

Tabel 17. Uji Beda Nyata Jujur (BNJ) Kandungan Klorofil a Propagul *K. alvarezii* pada Berbagai Perlakuan Fotoperiod

Pengaruh Tunggal B (Fotoperiod)	Pengaruh Tunggal A (waktu Pemeliharaan)			Pengaruh Utama (B)
	0	4	8	
A (6L : 18D)	28,87 ^a	47,06 ^{bcd}	56,99 ^{def}	44,31 ^{ab}
B (12L : 12D)	29,05 ^a	65,11 ^{efg}	89,53 ⁱ	61,23 ^d
C (24L : 0D)	28,65 ^a	34,93 ^{ab}	42,14 ^{abc}	35,24 ^a
D (18L : 6D)	29,22 ^a	52,05 ^{cde}	70,83 ^{ghi}	50,70 ^{bc}
Pengaruh Utama A	28,95 ^a	49,79 ^b	64,87 ^c	
BNJ A_{0.05} = 9,36 ; BNJ B_{0.05} = 10.41 ; BNJ AxB_{0.05} = 13,87				

Ket : angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata

Dengan demikian maka perlakuan fotoperiod B (12L : 12D) dimana dengan pemberian lama penyinaran siklus terang selama 12 jam ini diduga dapat meningkatkan sejumlah cahaya/foton yang ditangkap untuk memaksimalkan produksi ATP dan NADPH sebagai sumber energi yang dihasilkan pada rekasi terang sehingga dapat memaksimalkan pembentukan klorofil a. Akibat meningkatnya klorofil a maka semakin banyak juga foton yang akan diserap kembali. Semakin banyak foton yang diserap maka semakin besar ATP dan NADPH yang dihasilkan. Selanjutnya energi yang dihasilkan tersebut digunakan untuk sintesis klorofil a melalui serangkaian reaksi yang diawali dengan reduksi nitrat pada media kultur membentuk nitrit, kemudian nitrit dibawa ke kloroplas untuk direduksi menjadi ammonia. Ammonia mengalami perubahan menjadi asam glutamat, dikatalisis oleh enzim glutamin sintetase (Mulholland and Lomas, 2008).

Pembentukan asam glutamat merupakan salah satu prekursor dalam pembentukan senyawa pigmen klorofil. Proses deaminasi pada asam glutamat akan menghasilkan α -ketoglutarat, kemudian direduksi menjadi γ , δ -dioxovalerate dan mengalami transmisi asam δ -amino-laevulinat (ALA). Selanjutnya ALA yang berperan sebagai prazat cincin porfirin pembentukan klorofil a. Proses sintesis ini memerlukan ATP dan NADPH yang dihasilkan dari reaksi terang pada proses fotosintesis propagul.

Selanjutnya ATP dan NADPH juga digunakan sebagai sumber energi pada reaksi gelap untuk membentuk karbohidrat (gula). Gula yang dihasilkan akan digunakan pada reaksi katabolisme, yaitu pada proses respirasi. Energi yang dihasilkan dari proses respirasi ini adalah NADH. Electron dari NADPH hasil respirasi akan membantu mempercepat reduksi nitrogen yang diserap oleh propagul *K. alvarezii* melalui media kultur dengan cara mengaktifkan enzim nitrat reduktase. Semakin aktif aktivitas enzim nitrat reduktase maka semakin cepat proses pengambilan nitrat melalui membran sel propagul. Nutrient yang masuk tersebut akan membentuk glutamate yang merupakan precursor terbentuknya klorofil a.

Sementara itu pada perlakuan lama penyinaran diatas 12 jam (fotoperiod D (18L : 6D) dan fotoperiod C(24L : 0D)) memberikan kandungan klorofil a yang lebih rendah dibandingkan perlakuan fotoperiod B (12L : 12D) diduga karena sel mengalami efek *photoinhibition* dimana sel menjadi stres akibat lama penyinaran yang terlalu lama. Sebagai bentuk adaptasi terhadap paparan cahaya yang tinggi ini maka sel akan menghasilkan klorofil dengan ukuran antena yang lebih kecil sehingga menyebabkan kandungan klorofil juga menurun (Srirangan, 2015).

Diduga bahwa propagul yang terpapar oleh cahaya yang kontinu (fotoperiod C(24L : 0 D)) lebih banyak mengalami proses adaptasi ini sehingga memberikan kandungan klorofil a yang paling rendah dibandingkan perlakuan fotoperiod

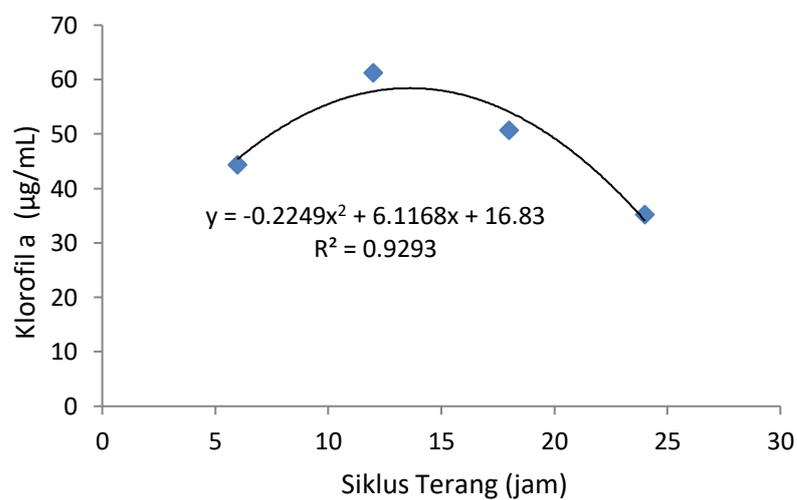
lainnya. Mekanisme adaptasi ukuran antena ini dimungkinkan karena pada saat propagul terpapar cahaya yang terlalu tinggi maka terjadi efek saturasi sehingga terjadi beberapa kondisi, yaitu : pertama, kecepatan perpindahan elektron kimia antara fotosistem I dan fotosistem II tidak cukup untuk mentransfer energi foton yang diserap oleh antena pemanen cahaya sehingga terjadi penurunan laju fotosintesis yang berdampak pada produksi ATP dan NADPH yang dibutuhkan dalam sintesis klorofil; kedua, dosis cahaya yang diterima di aparatus fotosintesis menjadi meningkat sehingga hampir semua akseptor teroksidasi yang digunakan dalam siklus Calvin pada siklus gelap menjadi berkurang dan mempengaruhi asimilasi senyawa yang dibutuhkan dalam pembentukan klorofil a, seperti nitrogen (Aguilera *et al.*, 2002).

Perlakuan fotoperiod A (6L : 18D) juga memberikan kandungan klorofil a yang paling rendah dibandingkan perlakuan lainnya pada siklus terang/gelap diduga karena karena lama penyinaran pada reaksi terang dibawah 12 jam menyebabkan foton yang diserap propagul lebih sedikit sehingga ATP dan NADPH yang terbentuk selama siklus terang menjadi tidak optimal dalam menyimpan energi yang dibutuhkan untuk membantu sintesis klorofil a dan menyebabkan kandungan klorofil a menjadi tidak optimal.

Korelasi hubungan antara fotoperiod dengan kandungan klorofil a propagul *K. alvarezii* pada penelitian ini dapat ditunjukkan pada Gambar 45. yang menunjukkan hubungan antara fotoperiod dengan kandungan klorofil a propagul

K. alvarezii selama masa pemeliharaan delapan minggu. Nilai korelasi ($R^2 = 0,929$) menggambarkan bahwa klorofil a propagul *K. alvarezii* dipengaruhi oleh fotoperiod sebesar 92,9%, sementara sisanya 7,1% adalah pengaruh faktor luar yang tidak dapat digambarkan dalam model. Semakin lama waktu siklus terang pada perlakuan fotoperiod yang diberikan menunjukkan kandungan klorofil a propagul *K. alvarezii* yang semakin tinggi, namun pada titik tertentu kandungan

klorofil a mengalami penurunan, yaitu pada perlakuan siklus terang 16 jam atau perlakuan fotoperiod D (18L : 6D) dan perlakuan siklus terang 24 jam atau perlakuan fotoperiod C (24L : 0D). Dengan demikian maka perlakuan fotoperiod B(12L : 12D) merupakan perlakuan fotoperiod yang dapat meminimalkan kerusakan akibat pengaruh cahaya (*Photodamage*). Pemberian 12 jam siklus gelap berperan dalam memulihkan kinerja fotosintesis melalui penyusunan kembali pigmen klorofil a pada apparatus fotosintesis (Aquilera *et. al.*, 2008). Sementara penggunaan fotoperiode dengan durasi cahaya 12 jam memungkinkan terbentuknya keseimbangan antara fenomena anabolik dan katabolik selama siklus fotoperiode (Boutefas *et al.*, 2006)



Gambar 45. Korelasi antara Fotoperiod dengan Kandungan Klorofil a Propagul *K. alvarezii* Selama pemeliharaan delapan minggu

Fotosintesis merupakan proses anabolisme sementara respirasi merupakan proses katabolisme. Salah satu komponen senyawa yang dihasilkan melalui proses respirasi menggunakan senyawa karbohidrat adalah protein.

Protein merupakan salah satu penyusun utama klorofil sementara bahan dasar pembentuk protein adalah asam-asam amino. Dengan demikian maka komposisi asam amino juga mempengaruhi kandungan klorofil a pada propagul *K. alvarezii*. Sementara itu nitrogen merupakan salah satu unsur esensial yang

diperlukan oleh tumbuhan untuk menyusun asam-asam amino. Ion nitrat yang diserap tumbuhan akan diubah menjadi nitrit oleh nitrat reduktase sebagai katalisator selanjutnya nitrit akan diubah pula menjadi amonia, kemudian akan bergabung dengan kerangka karbon hasil antara respirasi untuk pembentukan asam-asam amino yang merupakan bahan dasar pembentuk protein. Dengan demikian semakin banyak nitrit yang diubah menjadi amonium maka semakin banyak terbentuk asam amino. Peningkatan terbentuknya asam amino berpengaruh terhadap pembentukan protein sebagai penyusun utama klorofil.

Hasil pengukuran kandungan nitrogen (N) dan analisis asam amino dengan metode hidrolisis asam menggunakan HPLC pada propagul *K. alvarezzi* hasil kultur jaringan dengan berbagai perlakuan fotoperiode sebagai data pendukung juga menunjukkan bahwa perlakuan fotoperiod B (12L : 12D) dan D (18L : 6D) cenderung memberikan kandungan nitrogen dan asam glutamat yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan fotoperiod A (6L : 18D) dan perlakuan pencahayaan penuh C (24L : 0D) (Lampiran 26. dan Tabel 18.). Namun secara umum semua perlakuan fotoperiode menunjukkan bahwa asam amino yang mendominasi pada semua perlakuan fotoperiode adalah asam glutamat. Hadi *et al.*, (2015) menyatakan bahwa salah satu asam amino yang merupakan bahan dasar dalam biosintesis asam amino adalah asam glutamat yang berfungsi sebagai penyusun utama dalam makromolekul protein.

Tabel 18. Hasil Analisis Asam Glutamat dan Total N propagul *K. alvarezzi* pada berbagai perlakuan fotoperiode

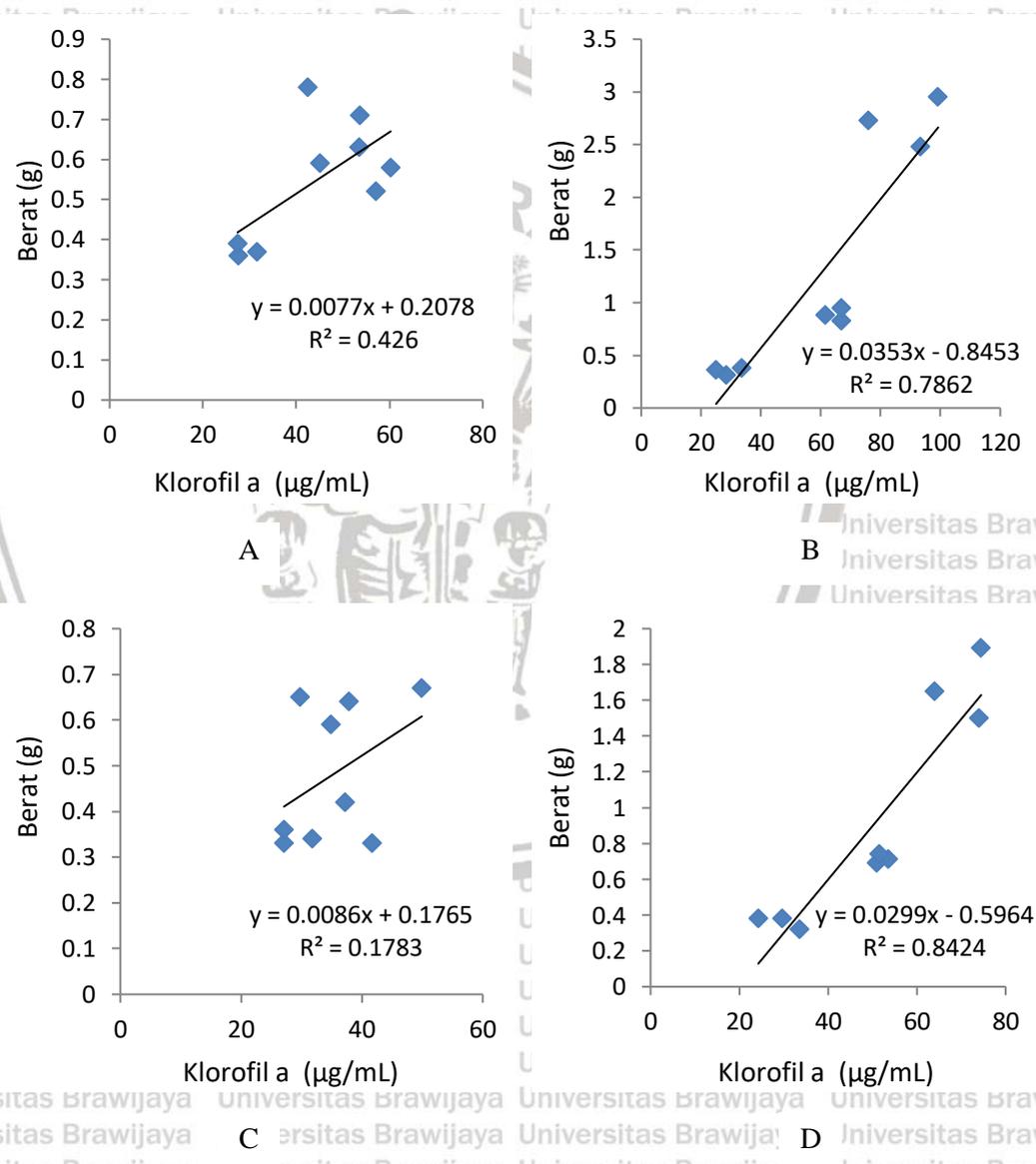
No.	Fotoperiod	Glutamat (%)	Nitrogen (%)
1	A (6:18)	36,84	4,04
2	B (12:12)	44,82	4,47
3	C (24:0)	36,60	3,76
4	D (18:6)	43,70	4,36

Diduga bahwa perlakuan fotoperiod B (12L : 12D) menyebabkan total nitrogen dalam jaringan thallus lebih tinggi dibandingkan perlakuan lainnya karena peningkatan klorofil a seiring dengan peningkatan total N pada jaringan rumput. Hasil ini diperkuat oleh penelitian Liu *et al.* (2000) yang menyimpulkan bahwa peningkatan konsentrasi total nitrogen dan fiksasi karbon pada proses fotosintesis terjadi secara bersamaan dan lebih dari 50% N dialokasikan pada kloroplas. Sementara asam glutamate merupakan komponen yang sangat berperan dalam pembentukan klorofil a karena asam glutamat akan membentuk asam α aminolevulinat (ALA) yang berperan sebagai prazat cincin porfirin pembentukan klorofil a.

Hasil penelitian pada tahap ini juga menunjukkan bahwa pengaruh fotoperiode terhadap kandungan klorofil a sama dengan pengaruhnya terhadap pertumbuhan propagul *K. alvarezii*. Hal ini disebabkan karena klorofil a terletak pada kloroplas, sementara proses fotosintesis sangat dipengaruhi oleh kloroplas yang akan menyerap cahaya yang mengenainya. Oleh karena itu pada tahap selanjutnya secara teoritik kloroplas ini akan menjadi lebih besar dan ini akan menambah biomasa propagul. Pernyataan ini didukung oleh Gambar 46. Yang menunjukkan bahwa korelasi yang kuat antara pertumbuhan dengan kandungan klorofil a propagul *K. alvarezii* ditunjukkan pada perlakuan fotoperiod B(12L : 12D) dengan nilai determinasi ($R^2 = 0,786$) dan perlakuan fotoperiod D (18L : 6D) dengan nilai determinasi ($R^2 = 0,842$). Sementara perlakuan fotoperiod A (6L : 18D) dan C (24L : 0D) memberikan korelasi pertumbuhan dengan kandungan klorofil a propagul *K. alvarezii* sangat lemah karena nilai determinasi berturut-turut adalah $R^2 = 0,426$ dan $R^2 = 0,178$.

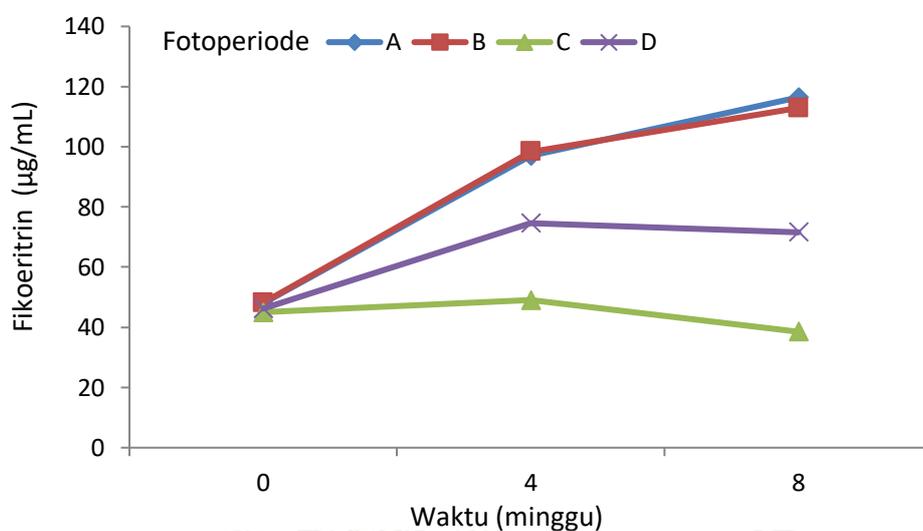
Proses fotosintesis pada *K. alvarezii* tidak hanya menggunakan pigmen klorofil tetapi terdapat pigmen pelengkap yang juga berperan penting dalam proses fotosintesis tersebut, yaitu fikobiliprotein. Menurut Pagulendren *et al*,

(2012) bahwa salah satu pigmen dominan pada rumput laut merah adalah fikobilin. Salah satu pigmen fikobilin yang diamati pada penelitian ini adalah fikoeritrin (PE). Fikoeritrin (PE) adalah salah satu fikobiliprotein yang merupakan pigmen yang paling dominan pada algae merah dibandingkan dengan pigmen yang lain, pigmen yang dapat menutupi warna hijau dari klorofil dan warna biru dari fikosianin, hal tersebut yang menyebabkan warna thallus pada algae berwarna merah (Mc Hugh et al., 2003)



Gambar 46. Persamaan hubungan kandungan klorofil a dan Pertumbuhan propagul *K. alvarezii* pada perlakuan interaksi fotoperiode dan waktu Pemeliharaan [A (6L : 18D), B (12L : 12D), C (24L : 0D), dan D. (18L : 6D)]

Hasil pengamatan selama delapan minggu masa pemeliharaan menunjukkan bahwa kandungan fikoeritrin propagul *K. alvarezii* pada perlakuan fotoperiod A (6L : 18D) dan B (12L : 12D) semakin meningkat seiring dengan meningkatnya waktu pemeliharaan pada semua perlakuan fotoperiod. Sebaliknya, perlakuan fotoperiod C (24L : 0D) dan D (18L : 6D) memberikan kandungan fikoeritrin yang meningkat pada waktu pemeliharaan empat minggu dan menurun pada akhir masa pemeliharaan (Gambar 47.).



Gambar 47. Pengaruh Interaksi Fotoperiod dan Waktu Pemeliharaan terhadap Kandungan Fikoeritrin Propagul *K. alvarezii* Selama delapan minggu pemeliharaan [A (6L : 18D), B (12L : 12D), C (24L : 0D), dan D (18L : 6D)]

Hasil *analysis of variance* (ANOVA) menunjukkan bahwa setiap perlakuan interaksi fotoperiod dan waktu pemeliharaan berpengaruh nyata ($P > 0,05$) dengan tingkat keyakinan 95% terhadap kandungan fikoeritrin propagul *K. alvarezii*. Demikian juga pengaruh faktor tunggal fotoperiod tanpa melihat faktor waktu pemeliharaan serta pengaruh faktor tunggal waktu pemeliharaan tanpa melihat faktor fotoperiod memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap kandungan fikoeritrin propagul *K. alvarezii* (Lampiran 34.).

Hasil uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ) terhadap kandungan fikoeritrin propagul *K. alvarezii* menunjukkan bahwa perlakuan interaksi fotoperiod A (6L : 18D) dengan waktu pemeliharaan delapan minggu memberikan kandungan fikoeritrin propagul *K. alvarezii* yang paling tinggi dan tidak berbeda nyata dengan perlakuan fotoperiod B (12L : 12D), tetapi interaksi kedua perlakuan ini berbeda sangat nyata dengan interaksi perlakuan fotoperiode yang lainnya.

Sementara hasil uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ) terhadap pengaruh faktor tunggal fotoperiod menunjukkan bahwa perlakuan fotoperiod A (6L : 18D) memberikan kandungan fikoeritrin propagul *K. alvarezii* yang paling tinggi dan tidak berbeda nyata dengan perlakuan fotoperiod B (12L : 12D), tetapi kedua perlakuan ini berbeda sangat nyata dengan perlakuan fotoperiode yang lainnya.

Sementara pengaruh faktor tunggal waktu pemeliharaan menunjukkan hasil yang sama bahwa perlakuan lama pemeliharaan delapan minggu memberikan kandungan fikoeritrin propagul *K. alvarezii* yang paling tinggi dan tidak berbeda nyata dengan perlakuan lama pemeliharaan enam minggu tetapi kedua perlakuan ini berbeda sangat nyata dengan perlakuan awal pemeliharaan (Tabel 19.).

Tabel 19. Uji Beda Nyata Jujur (BNJ) Kandungan Fikoeritrin Propagul *K. alvarezii* pada Berbagai Perlakuan Fotoperiod

Pengaruh Tunggal B (Fotoperiod)	Pengaruh Tunggal A (waktu Pemeliharaan)			Pengaruh Utama (B)
	0	4	8	
A (6L : 18D)	47,995 ^{abc}	97,03 ^{de}	116,44 ^e	87,15 ^b
B (12L : 12D)	48,17 ^{abc}	98,31 ^{de}	112,90 ^e	86,46 ^b
C (24L : 0D)	45,03 ^{ab}	49,07 ^{abc}	38,52 ^a	44,21 ^a
D (18L : 6D)	46,24 ^{abc}	74,61 ^{cd}	71,59 ^{bcd}	64,15 ^a
Pengaruh Utama A	46,86 ^a	79,75 ^b	84,86 ^b	

BNJ A_{0.05} = 19,59 ; BNJ B_{0.05} = 21,80 ; BNJ AxB_{0.05} = 29,05

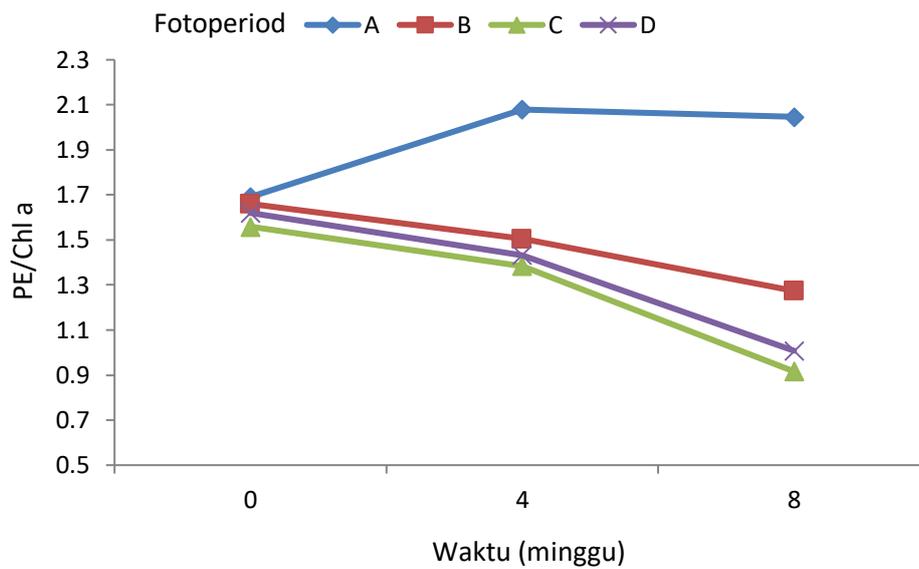
Ket : angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata

Secara keseluruhan hasil analisis menunjukkan bahwa perlakuan fotoperiod A (6L : 18D) cenderung memberikan kandungan fikoeritrin yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan fotoperiod lainnya. Hasil ini menunjukkan bahwa siklus terang yang lebih sedikit (< 12 jam) memiliki kecenderungan kandungan fikoeritrin yang lebih tinggi dibandingkan dengan siklus terang yang lebih banyak (> 12 jam). Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian Green and Neefus (2016) pada rumput laut merah *Porphyra umbilicalis* yang menunjukkan bahwa kandungan fikoeritrin meningkat pada kondisi lama penyinaran yang rendah (fotoperiode 8L : 16D) dengan intensitas cahaya $\geq 110 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Guan (2013) mengemukakan bahwa *K. alvarezii* adalah spesies yang mempunyai kemampuan beradaptasi pada cahaya yang rendah karena dapat mensintesis fikobiliprotein untuk membantu klorofil a dalam menangkap foton. Hal ini mengakibatkan sehingga laju pertumbuhan akan menurun karena energi yang ada lebih banyak digunakan untuk sintesis pigmen dibandingkan untuk pertumbuhan (Zou and Gao, 2010). Pada penelitian ini juga menunjukkan bahwa perlakuan fotoperiod A (6L : 18D) memberikan laju pertumbuhan propagul yang paling rendah pada fotoperiode dengan siklus terang/gelap (LD).

Hasil penelitian ini juga didukung oleh rasio fikoeritrin terhadap klorofil a (PE/Chl a), dimana kandungan fikoeritrin yang meningkat pada fotoperiod dengan waktu terang yang lebih rendah menyebabkan peningkatan rasio PE/Chl a dan sebaliknya perlakuan fotoperiod dengan siklus terang lebih tinggi menyebabkan penurunan rasio PE/Chl a (Gambar 48.). Hal ini diduga karena siklus terang yang lebih lama dibandingkan siklus gelap menyebabkan terjadinya kerusakan fikoeritrin (Bouzon *et al.* 2012, Gouveia *et al.* 2013, Santos *et al.* 2014).

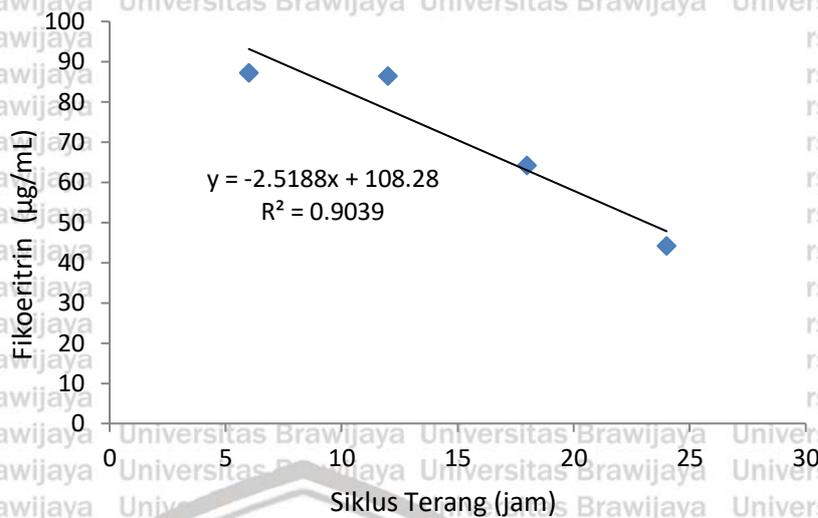
Ostrock dan Plastino (2014) menyatakan bahwa fikoeritrin (PE) adalah pigmen pertama yang dipengaruhi oleh sinar ultraviolet kemudian diikuti oleh

fikosianin (PC) , allofikosianin (APC), karotenoid dan yang paling akhir adalah Chl a, yang merupakan pigmen paling tahan terhadap sinar ultraviolet. Pola destruksi pigmen pada kloroplas seperti ini juga ditemukan pada *G. domingensis* (Schmidt et al., 2010c), *Iridaea cordata* (Navarro et al., 2010), dan *Kappaphycus alvarezii* (Eswaran et al., 2001; Schmidt et al., 2010a, 2010b)



Gambar 48. Ratio fikoeritrin terhadap klorofil a (PE/Chl a) propagul *K. alvarezii* pada berbagai perlakuan fotoperiod [A (6L : 18D), B (12L : 12D), C (24L : 0D), dan D (18L : 6D)]

Korelasi hubungan antara fotoperiod dengan kandungan fikoeritrin propagul *K. alvarezii* pada penelitian ini dapat ditunjukkan pada Gambar 49. yang menunjukkan hubungan yang sangat kuat antara fotoperiod dengan kandungan fikoeritrin propagul *K. alvarezii* selama masa pemeliharaan delapan minggu. Nilai korelasi ($R^2 = 0,903$) menggambarkan bahwa fikoeritrin propagul *K. alvarezii* dipengaruhi oleh fotoperiod sebesar 90,3%, sementara sisanya 9,7% adalah pengaruh faktor luar yang tidak dapat digambarkan dalam model. Semakin lama waktu siklus terang pada perlakuan fotoperiod yang diberikan menunjukkan kandungan fikoeritrina propagul *K. alvarezii* yang semakin menurun.



Gambar 49. Korelasi antara Fotoperiod dengan Kandungan Fikoterin Propagul *K. alvarezii* Selama pemeliharaan delapan minggu

Kandungan fikoterin yang lebih tinggi pada fotoperiod dengan siklus terang yang lebih rendah ini juga didukung oleh kondisi morfologi warna propagul *K. alvarezii* pada akhir kultur dimana perlakuan fotoperiod A (8L : 16D) dan B (12L : 12D) menghasilkan tallus yang berwarna lebih terang (menjadi coklat gelap-kemerahan) dibandingkan perlakuan fotoperiod dan C (24L : 0D) dan D (16L : 8D) (Gambar 50.).



Gambar 50. Morfologi tallus *K. alvarezii* pada berbagai perlakuan fotoperiod [A(8L : 16D), B (12L : 12D), C (24L : 0D), dan D (16L : 8D)]

Perubahan warna talus menjadi lebih terang ini berhubungan dengan induksi peningkatan fikobiliprotein terutama fikoeritrin. Menurut Xu dan Gao (2012) intensitas cahaya yang rendah, baik cahaya putih ataupun cahaya monokrom menginduksi peningkatan pigmen yang sama. Marsac, (2003) menyatakan bahwa warna talus coklat-kemerahan mengindikasikan konsentrasi fikoeritrin yang tinggi. Meningkatnya kandungan fikobiliprotein pada intensitas cahaya rendah ditujukan untuk meningkatkan peluang energi cahaya diserap oleh molekul anterior fotosistem (Luning, 1990). Fikoeritrin merupakan protein yang bekerja sebagai pigmen pelengkap pada algae merah dan alga biru-hijau seperti halnya fikobilin, berfungsi dalam sel alga untuk membantu klorofil-a dalam menyerap cahaya pada proses fotosintesis. Cahaya yang diserap oleh fikoeritrin secara efisiensi dipindahkan ke fikosianin, kemudian ke allofikosianin, diteruskan ke allofikosianin B dan terakhir ke klorofil (Chakdar *et al.* 2012).

Berdasarkan uraian diatas maka pada penelitian tahap III ini diperoleh bahwa perlakuan intensitas cahaya 1900 lux, media PES 20 mL/L dan fotoperiode (12L : 12D) memberikan kandungan klorofil a dan fikoeritrin yang dapat meningkatkan pertumbuhan propagul *K. alvarezzi*.

5.3.3. Karakterisasi Kandungan Klorofil a Ekstrak Propagul *K. alvarezzi* Hasil Kultur Jaringan

Karakterisasi klorofil a propagul *K. alvarezzi* hasil kultur jaringan dilakukan untuk mempertegas kandungan klorofil a yang dianalisa pada penelitian ini. Hasil karakterisasi kandungan ekstrak klorofil a propagul *K. alvarezzi* hasil kultur jaringan meliputi nilai kadar air, nilai rendemen ekstrak, hasil isolasi dan identifikasi.

5.3.3.1. Analisis Kadar Air

Analisa kadar air sampel propagul *K. alvarezii* segar hasil kultur jaringan dilakukan dengan metode thermografimetri (Winarno, 2007). Identifikasi kadar air diperoleh dari reduksi massa atau berat awal sampel karena penguapan air akibat pemanasan dalam oven. Selanjutnya data reduksi massa disubstitusikan ke dalam rumus perhitungan kadar air (Lampiran 49.). Hasil perhitungan menunjukkan bahwa rata-rata kadar air segar propagul *K. alvarezii* hasil kultur jaringan yang digunakan pada penelitian ini adalah 87,05%. Ahmad *et al* (2012) menyatakan bahwa kadar air pada rumput laut segar bervariasi antara 75,95 – 96,03%.

5.3.3.2. Hasil Randemen Ekstrak

Proses ekstraksi pigmen sampel propagul *K. alvarezii* segar hasil kultur jaringan dilakukan dengan metode da Costa *et al* (2009) yang dimodifikasi pada beberapa tahapannya sehingga diperoleh hasil berupa ekstrak kasar pigmen kering dengan warna hijau tua pekat. Menurut Ncube *et al.*, (2008) bahwa ekstraksi adalah metode pemisahan senyawa bioaktif dari jaringan tanaman dengan menggunakan pelarut terutama pelarut organik dan selama ekstraksi erut mengalami difusi ke dalam jaringan tanaman dan melarutkan komponen yang memiliki polaritas yang sama dengan pelarut. Pelarut yang digunakan pada tahap ini adalah metanol dan aseton.

Hasil Penelitian Torres *et al.* (2014) metanol adalah pelarut yang paling efisien untuk mengekstrak karotenoid dan chl a pada *Gracilaria tenuistipitata* Var.

Liui. Lebih lanjut dikatakan bahwa semua organisme laut memiliki kandungan air yang tinggi sehingga kandungan air ini membentuk penghalang terhadap penetrasi dari pelarut-pelarut ini. Karakteristik inilah yang dapat menjelaskan mengapa semakin banyak pelarut polar memberikan hasil ekstraksi terbaik,

karena mampu memecah dinding sel organisme dengan kandungan air yang tinggi.

Setelah diekstraksi selanjutnya dianalisa nilai randemennya (Widyastuti, 2010). Hasil perhitungan menunjukkan bahwa randemen ekstrak kering propagul *K. alvarezii* segar hasil kultur jaringan yang digunakan pada penelitian ini adalah 2,1056%. Menurut Rohman (2013) dinding sel pada alga merah terdiri atas selulosa, agar, karagenan, porpiran dan selaran. Dibandingkan dengan rumput laut *Eucheuma spinosum* maka dinding sel *Eucheuma cottonii/ K. alvarezii* lebih mudah ditembus oleh pelarut (Ulfah, 2009).

5.3.3.3. Hasil Isolasi Klorofil a

Isolasi pigmen klorofil a sampel propagul *K. alvarezii* segar hasil kultur jaringan dilakukan dengan mengacu pada metode isolasi pigmen menurut Pangestuti *et al.*, (2007). Klorofil a dipisahkan dari pigmen lain yang terdapat pada propagul *K. alvarezii* dengan metode kromatografi kolom dengan fase gerak heksan : etil asetat (7:3 v/v) dan fase diam silika gel. Perbandingan campuran pelarut heksan : etil asetat (7:3 v/v) memperlihatkan mulai terjadi pemisahan klorofil a. Tabel 20. menunjukkan bahwa eluen heksan : etil asetat dengan perbandingan 7 : 3 mampu memisahkan fukosantin dengan baik dan didapatkan warna hijau.

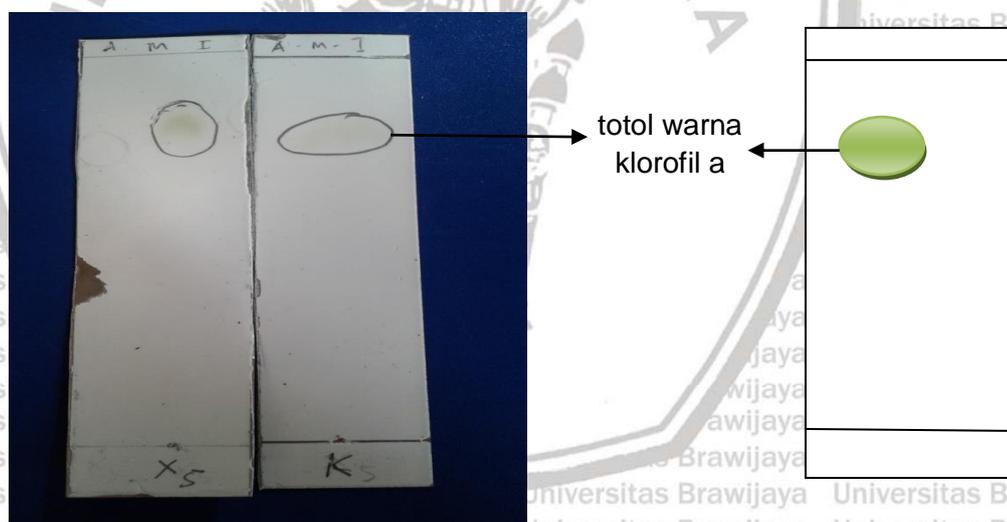
Tabel 20. Perbandingan eluen yang digunakan untuk memisahkan pigmen klorofil a propagul *K. alvarezii* pada kromatografi kolom

Kombinasi jenis pelarut	Perbandingan eluen	Keterangan
Heksan : etil asetat	8 : 2	Belum terpisah
Heksan : etil asetat	7 : 3	Terpisah
Heksan : etil asetat	6 : 4	Terpisah
Heksan : etil asetat	5 : 5	Terpisah

5.3.3.4. Hasil Identifikasi Pigmen Klorofil a

1. Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Analisa pigmen klorofil a propagul *K. alvarezii* dilakukan dengan metode *Thin Layer Chromatography* (TLC) atau Kromatografi lapis tipis (KLT) untuk mendapatkan total warna yang dapat digunakan untuk penetapan *Retardation factor* (Rf) komponen/senyawa pembentuk total warna klorofil a. Penetapan bercak atau total warna pada TLC didasarkan pada nilai Rf seperti dilakukan oleh Dimara *et al.*, (2012) dengan menggunakan standar klorofil a. Warna yang ditunjukkan dalam pemisahan pigmen pada KLT dapat digunakan sebagai dasar untuk identifikasi pigmen. Analisa faktor retardasi (Rf) perlu dilakukan untuk memperkuat identifikasi komposisi pigmen berdasarkan warna (Daood 2003). Hasil analisa klorofil a dengan metode TLC dapat dilihat pada Gambar 51.



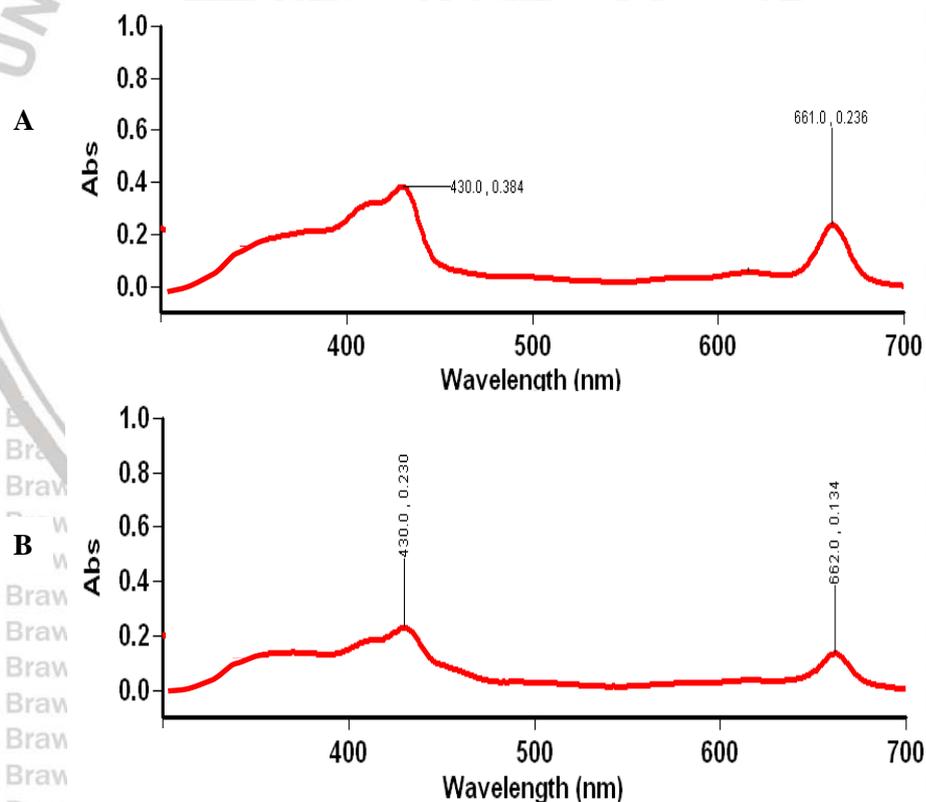
Gambar 51. Hasil analisa klorofil a dengan TLC dari ekstrak kasar (X5 = ekstrak kasar, K = Standar) dengan fase gerak hexan : dietil eter : aseton (5 : 3 : 2, v/v).

Gambar 51. menunjukkan bahwa total berwarna hijau biru memiliki nilai Rf 0,55 dan diidentifikasi sebagai klorofil a, sebab setara dengan Rf standar klorofil a (K). Data ini sesuai dengan deskripsi Gross (1991), yang menyatakan

bahwa klorofil a berwarna hijau biru, klorofil b hijau kuning dan karotenoid berwarna kuning, orange, merah. Menurut Arya dan Kumar (2017), bahwa nilai Rf pigmen klorofil a dengan menggunakan beberapa pelarut organik dan inorganik berkisar antara 0,51 – 0,59.

2. Hasil analisis klorofil a secara kualitatif dengan spektrofotometer

Pola spektrum klorofil a hasil isolasi dengan kromatografi kolom dibandingkan dengan pola spektrum standar klorofil a, memiliki serapan maksimal gelombang biru pada panjang gelombang 430 nm dan serapan maksimal gelombang merah pada panjang gelombang 661 nm untuk standar dan 662 nm untuk hasil isolasi kromatografi kolom (Gambar 52.).



Gambar 52. Pola spektrum klorofil a pada panjang gelombang maksimum (A) Pola spektrum standar klorofil a, (B) Pola spektrum klorofil a hasil isolasi kromatografi kolom

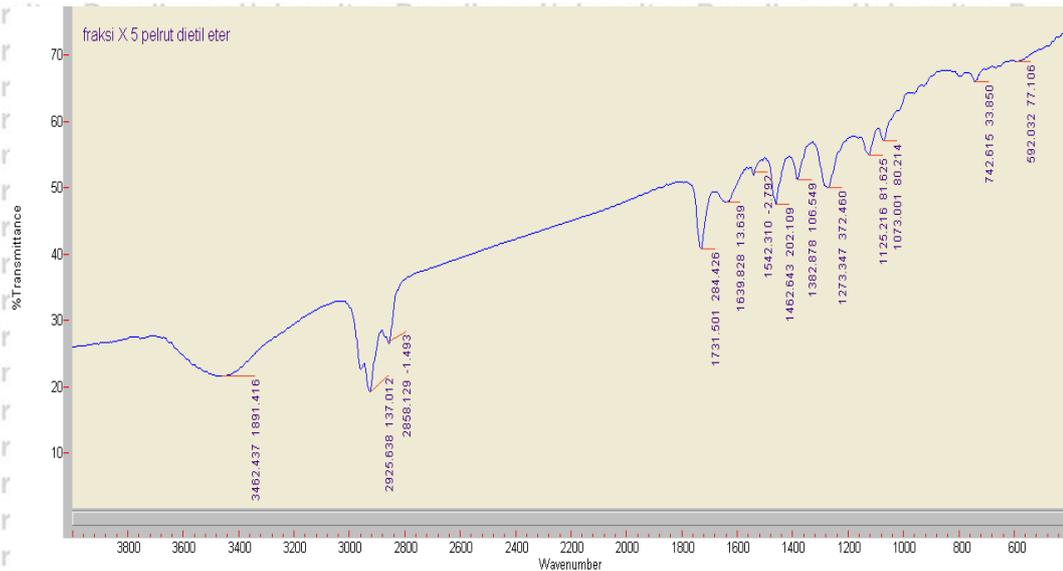
Menurut Lichtenthaler and Buschmann (2001), bahwa panjang gelombang biru maksimum klorofil a berkisar antara 428 - 432 nm dan panjang gelombang merah maksimum klorofil a berkisar antara 660 – 665 nm. Perbedaan panjang gelombang merah maksimum klorofil a pada standar dan hasil isolasi kromatografi kolom tersebut lebih disebabkan oleh kualitas pelarut atau tingkat kemurnian pelarut yang digunakan untuk analisa.

3. Hasil analisis klorofil a secara kualitatif dengan FT-IR

Analisa gugus fungsional klorofil a menggunakan metode *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) spektrofotometri. FTIR merupakan alat yang sangat berguna untuk mempelajari gugus fungsional dalam suatu senyawa (Yue, *et al.*, 2007). Analisa spektra infra merah sampel fukosantin *S. filipendula* disajikan pada Tabel 21. dan Gambar 53.

Tabel 21. Hasil analisis gugus fungsional sampel Klorofil a propagul *K. alvarezii* menggunakan *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) *Spectrometer*

Puncak Serapan (cm ⁻¹)	Vibrasi GuGus Fungsional
3462,44	N-H ulur pada amina sekunder atau imina
2925,63	C-H ulur dari C-O-CH ₃
2858,13	C-H pada N-CH ₂ -
1731,50	C-O pada αβ tak jenuh (ster & laktoon)
1639,83	C-H pada C-C terkonjugasi
1542,31	N-H tekuk
1462,64	C-H <i>anti-symmetric</i> dan <i>symetric</i>
1382,88	C-N pada cincin tetrapirrole
1273,35	vibrasi C-O.
1125,22	gugus C=N
1073	C-C skeletal
742,62	CH ₂ <i>rocking</i>



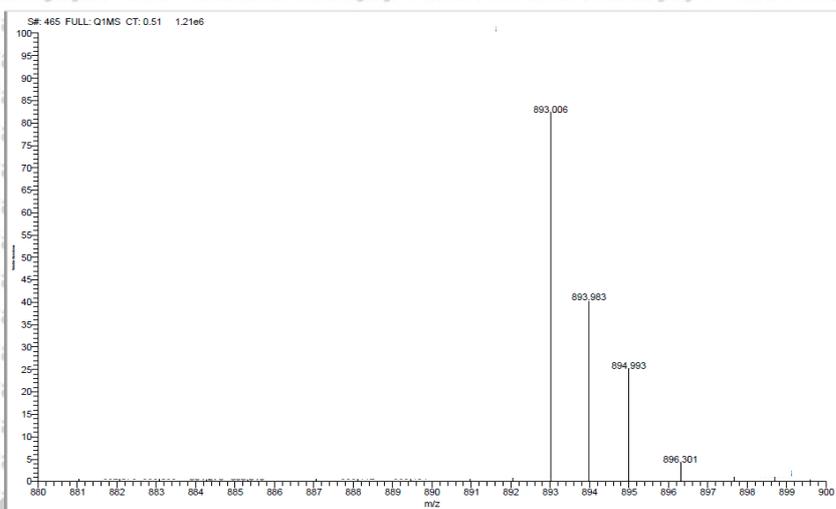
Gambar 53. Kromatogram FTIR spektrometer klorofil a propagul *K. alvarezii* hasil isolasi dengan kromatografi kolom

Spesifikasi dari gugus klorofil ditandai dengan adanya cincin vibrasi oksigen ketone dimana hidrogen yang terikat dengan air berkoordinasi dengan atom pusat Magnesium dari klorofil. Kondisi ini akan memunculkan hidrogen terikat pada karbonil ester dengan puncak pada 3431,31 cm^{-1} (Konwar and Baruah, 2011). Agregat klorofil-air akan menghasilkan puncak pada 1643,30 cm^{-1} (Konwar and Baruah, 2011). Selain itu puncak 1643,30 cm^{-1} juga dapat sebagai indikasi adanya koordinasi Oksigen keton dengan Magnesium (Dikio and Isabirye, 2008). Deformasi gugus alkil C-H *anti-symmetric* dan *symetric* muncul pada 1417 cm^{-1} (Dikio and Isabirye, 2008). Sedangkan puncak pada 1155 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C=N (Konwar and Baruah, 2011).

4. Spektrum massa klorofil a propagul *K. alvarezii* yang dianalisis dengan LCMS

Berdasarkan data hasil pengukuran spektra massa sampel (Gambar 54.) menunjukkan bahwa di dalam sampel tersebut senyawa klorofil a dengan karakteristik 3 pecahan ion molekul dengan kelimpahan terbanyak (*base peak*) dari fragmen-fragmen tersebut adalah 893,98 m/z yang juga diduga kuat sebagai

berat molekul senyawa klorofil a. Daftar fragmentasi yang dihasilkan dapat dilihat pada Tabel 22.



Gambar 54. Kromatogram klorofil a hasil analisis dengan LCMS

Tabel 22. menunjukkan bahwa puncak pertama dan kedua adalah klorofil a dengan bobot molekul 893,01 m/z dan 893,98 m/z, sedangkan puncak ketiga adalah bobot molekul 894,99 m/z, dimana puncak ini diduga sebagai klorofil a dengan penambahan ion H⁺ ([M+H]⁺) dan puncak ketiga dengan bobot molekul 896,30 m/z, adalah klorofil a dengan penambahan dua ion H⁺ ([M+2H]⁺).

Tabel 22. Pecahan ion molekul senyawa klorofil a yang terkandung dalam propagul *K. alvarezii*.

Massa ion (m/z)	Dugaan pecahan ion molekul
893,01	C ₅₅ H ₇₂ O ₅ N ₄ Mg
893,98	C ₅₅ H ₇₂ O ₅ N ₄ Mg
894,99	C ₅₅ H ₇₃ O ₅ N ₄ Mg
896,30	C ₅₅ H ₇₅ O ₅ N ₄ Mg

5.4. Kebaharuan (Novelty)

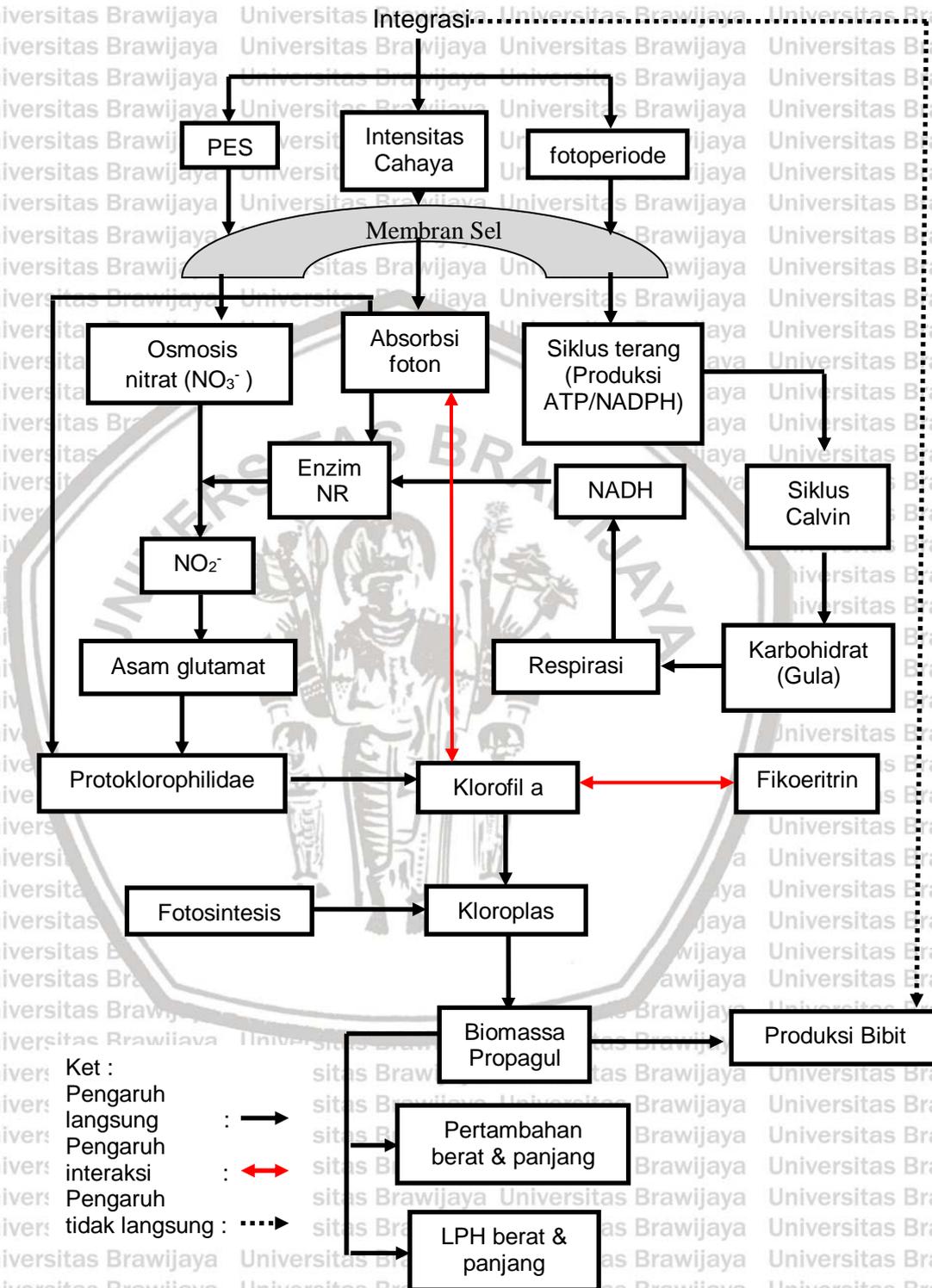
Penelitian yang berfokus pada kultur jaringan rumput laut *K. alvarezii* cukup banyak yang sudah dikembangkan oleh peneliti, namun kajiannya bersifat partial dan tidak terintegrasi, sehingga capaian hasil belum maksimal. Dalam penelitian ini menitikberatkan pada interaksi media kultur, intensitas cahaya dan fotoperiode dengan waktu pemeliharaan pengaruhnya terhadap kandungan klorofil a dan fikoeritrin untuk mendapatkan kualitas propagul dengan indikator pertumbuhan yang terbaik.

Hasil temuan diperoleh bahwa interaksi perlakuan media PES cair 20 mL/L, intensitas cahaya 1900 lux dan fotoperiode 12L : 12D dengan waktu pemeliharaan delapan minggu merupakan perlakuan yang terbaik dengan indikator pertambahan berat dan panjang, laju pertumbuhan harian (LPH) berat dan panjang serta kandungan klorofil a dan fikoeritrin yang terbaik dibandingkan dengan hasil yang tercatat pada perlakuan lainnya.

Bagan alir hubungan integrasi antara media kultur, intensitas cahaya dan fotoperiode (Gambar 55.) merupakan implementasi hasil penelitian yang memiliki hubungan saling terkait antara kandungan klorofil a dan fikoeritrin dengan pertumbuhan propagul. Kultur jaringan menggunakan interaksi media PES cair 20 mL/L, intensitas cahaya 1900 lux dan fotoperiod dengan waktu pemeliharaan delapan minggu menunjukkan bahwa pertumbuhan propagul dipengaruhi oleh kandungan klorofil a sebesar 84,2% ($R^2 = 0,842$) pada fotoperiod D (18L : 6D) dan hasil ini tidak berbeda nyata dengan kultur jaringan menggunakan fotoperiod B(12L : 12D) sebesar 78,6% ($R^2 = 0,786$). Interaksi perlakuan ini juga memberikan hubungan korelasi yang kuat terhadap pertumbuhan propagul ($R^2 = 0,804$), kandungan klorofil a ($R^2 = 0,929$) dan kandungan fikoeritrin ($R^2 = 0,903$).

Luaran hasil penelitian ini terindikasi original karena integrasi antara media kultur, intensitas cahaya dan fotoperiode dengan waktu pemeliharaan terhadap

pertumbuhan kandungan klorofil a dan fikoeritrin akan melengkapi beberapa penelitian sebelumnya yang bersifat parsial (Tabel 23).



Gambar 55. Bagan Alir hubungan antara media PES cair, Intensitas Cahaya dan Fotoperiode

Tabel 23. Matriks Perbandingan Penelitian Disertasi Program Doktor dan Hasil Penelitian Jurnal Global dan Lokal serta Penulisan Lainnya

No.	Nama Peneliti	Judul penelitian	Hasil Penelitian	Luaran Hasil
1	Disertasi Doktor (Lumbessy, 2019)	Kajian Kandungan Klorofil a dan Fikoeritrin Pada Kultur Jaringan Rumput Laut <i>Kappaphycus alvarezii</i>	Interaksi perlakuan media PES cair 20 mL/l, intensitas cahaya 1900 lux dan fotoperiode 12L : 12D dengan waktu pemeliharaan delapan minggu memberikan kandungan klorofil a dan fikoeritrin yang dapat memberikan pertumbuhan propagul <i>K. alvarezii</i> yang terbaik.	<u>Terintegrasi</u> ❖ Media Kultur ❖ Intensitas cahaya ❖ Fotoperiode ❖ pertumbuhan ❖ klorofil a ❖ fikoeritrin ❖ waktu pemeliharaan
2	Suryati <i>et al.</i> , (2016)	Regenerasi dan Perbanyakkan Rumput Laut <i>Kappaphycus alvarezii</i> Hasil Transformasi Gen Superoksida Dismutase (<i>MaSOD</i>)	Sintasan Rumput Laut <i>K. alvarezii</i> yang paling tinggi diperoleh menggunakan media PES (94%), salinitas 30 g/L (90%), pH 7 (96%), intensitas cahaya pada 1.500 lux (80%), fotoperiode 12:12 (84%), komposisi ZPT dengan campuran IAA dan BAP dengan perbandingan 2:1.	<u>Terintegrasi</u> ❖ Media Kultur ❖ Intensitas cahaya ❖ Fotoperiode ❖ salinitas ❖ pH ❖ komposisi IAA dan BAP ❖ Sintasan
3.	Suryati <i>et al.</i> , (2015)	In Vitro Growth Rate of <i>Kappaphycus alvarezii</i> micropropagule & Embryo by Enrichment Medium With Seaweeds Extract	Media PES 1/20 yang diperkaya dengan 50 µL ekstrak rumput laut dapat meningkatkan kelangsungan hidup dan pertumbuhan talus <i>K. alvarezii</i>	<u>Parsial</u> ❖ <u>Media Kultur</u> ❖ <u>Pertumbuhan</u>
4.	Mulyaningrum <i>et al.</i> , (2012)	Regenerasi Kalus Berfilamen Rumput Laut <i>Kappaphycus alvarezii</i> Pada berbagai Perbandingan Zat Pengatur Tumbuh Auksin % Sitokinin	Kultur filamen kalus pada media cair dengan ZPT indole acetic acid (IAA) : kinetin : zeatin, (0,4:0:1) ppm memberikan laju pertumbuhan harian, sintasan, kecepatan regenerasi dan panjang tunas lebih baik	<u>Parsial</u> ❖ <u>Media Kultur</u> ❖ <u>Hormon</u> ❖ <u>Pertumbuhan</u>
5	Yong <i>et al.</i> , (2011)	In vitro Micropropagation of <i>Eucheuma</i> Seaweed	Laju pertumbuhan harian talus dengan media PES lebih tinggi dibandingkan media von Stosch, f/2 dan air laut pada mikropropagasi <i>in vitro</i> rumput laut <i>Eucheuma</i> sp,	<u>Parsial</u> ❖ <u>Media Kultur</u> ❖ <u>Pertumbuhan</u>

BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

1. Interaksi media PES cair 20 mL/L dengan waktu pemeliharaan delapan minggu memberikan kandungan klorofil a dan fikoeritrin tertinggi, yaitu 57,89 µg/mL dan 66,30 µg/mL serta penambahan berat dan panjang tertinggi, yaitu 2,59 g dan 2,73 cm. Pengaruh media PES cair 20 mL/L berhubungan dengan proses osmosis Nitrogen (N) dan Fosfor (P) dari media kultur ke dalam dinding sel propagul. Sementara laju penyerapan nitrat dan fosfat memiliki korelasi positif dengan peningkatan laju pertumbuhan serta sintesis klorofil a dan *phycoerythrin*.
2. Interaksi intensitas cahaya 1900 lux dan media PES 20 mL/L dengan waktu pemeliharaan delapan minggu memberikan kandungan klorofil a tertinggi, yaitu 57,89 µg/mL dan penambahan berat dan panjang tertinggi, yaitu 2,59 g dan 2,73 cm serta laju pertumbuhan harian berat dan panjang tertinggi, yaitu 3,58 %/hari dan 1,84 %/hari. Sementara interaksi intensitas cahaya 1300 lux dan media PES 20 mL/L dengan waktu pemeliharaan delapan minggu memberikan kandungan fikoeritrin tertinggi, yaitu 89,47 µg/mL. Pengaruh intensitas cahaya 1900 lux berhubungan dengan proses difusi dan penyerapan foton oleh molekul-molekul pemanen cahaya sehingga proses reduksi nitrat menjadi nitrit berlangsung lebih cepat dan klorofil a yang terbentuk juga semakin banyak. Pembentukan klorofil a akan mempengaruhi proses fotosintesis yang berhubungan dengan pertumbuhan propagul.
3. Interaksi fotoperiod B(12L : 12D), intensitas cahaya 1900 lux, dan media PES 20 mL/L dengan waktu pemeliharaan delapan minggu memberikan kandungan klorofil a yang paling tinggi, yaitu 89,53 µg/mL serta penambahan berat dan Laju Pertumbuhan Harian (LPH) berat yang paling tinggi, yaitu

berturut-turut 2,72 g dan 4,06%/hari. Sementara interaksi perlakuan D(18L : 6D) intensitas cahaya 1900 lux dan media PES 20 mL/L dengan waktu pemeliharaan delapan minggu memberikan kandungan fikoeitrin yang paling tinggi, yaitu 116,44 µg/mL dan tidak berbeda nyata dengan perlakuan interaksi fotoperiod B(12L : 12D), intensitas cahaya 1900 lux dan media PES 20 mL/L dengan waktu pemeliharaan delapan minggu. Pengaruh fotoperiode 12L :12D berhubungan dengan terbentuknya keseimbangan antara fenomena anabolik dan katabolik selama siklus fotoperiode untuk memaksimalkan pembentukan klorofil a dan pertumbuhan propagul.. Hasil identifikasi klorofil a dengan TLC pada isolat *K. alvarezii* diperoleh total warna hijau biru yang memiliki nilai Rf 0,55. Pola spektra memiliki serapan maksimal gelombang biru pada panjang gelombang 430 nm dan serapan maksimal gelombang merah pada panjang gelombang 662 nm dengan pelarut metanol. Pada metode LCMS, ditunjukkan bahwa bobot molekul klorofil a sebesar 893,98 m/z

6.2. Kebaharuan (Novelty)

Ditemukannya propagul rumput laut *K. alvarezii* sebagai sumber bibit dengan pertumbuhan yang lebih baik melalui kultur jaringan menggunakan teknik rekayasa media kultur, intensitas cahaya dan fotoperiode yang dapat meningkatkan kandungan klorofil a dan fikoeitrin propagul.

6.2. Saran

Disarankan dalam kegiatan kultur jaringan *K. alvarezii* pada tahap regenerasi mikropropagul menjadi propagul (plantlet) dapat dilakukan rekayasa pertumbuhan propagul menggunakan media PES cair 20 mL/L, intensitas cahaya 1900 lux dan fotoperiode (lama penyinaran) 12L : 12D dengan lama pemeliharaan delapan minggu untuk meningkatkan kandungan klorofil a dan

fikoeritrin yang dapat memberikan pertumbuhan propagul yang lebih baik dalam meningkatkan produksi bibit rumput laut *K. alvarezii* pada perbanyakan di laut



DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, F., M. R. Sulaiman, W. Saimon, C. F. Yee and P. Matanjun. 2012. Proximate Compositions And Total Phenolic Contents Of Selected Edible Seaweed From Semporna, Sabah, Malaysia. *Borneo Science*. 31: 85 – 96
- Alados, C. L., Y. Pueyo, M. L. Giner, T. Navarro, J. Escos, F. Barroso, B. Cabezudo, and G. M. Emlen. 2003. Quantitative Characterization of the Regressive Ecological Succession by Fractal Analysis of Plant Spatial Patterns. *Ecological Modelling*, 163 :1–17.
- Andersson, M., H. Schubert, M. Pedersen and P. Snoeijs. 2006. Different Patterns of Carotenoid Composition and Photosynthesis Acclimation in Two Tropical Red Algae. *Marine Biology*, 149 : 653–665.
- Anderson A. C. C., M. U. G. Barros, J. H. C. Bezerra, J. W. A. da Silva, R. L. Moreira and W. R. L. Farias. 2013. Growth of the Microalgae *Tetraselmis tetraathele* and Nitrate Depletion in Culture Medium Guillard f/2 and Conway. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 35(2) : 163-168
- Aguilera, J., K. Bischof, U. Karsten, D. Hanelt and C. Wiencke. 2002. Seasonal Variation in Ecophysiological Patterns in Macroalgae from an Arctic Fjord. II. Pigment
- Aguilera, J., L. F Félix, P. H. Donat and C. Jiménez. 2008. Photoinhibition and photosynthetic pigment reorganisation dynamics in light/darkness cycles as photoprotective mechanisms of *Porphyra umbilicalis* against damaging effects of UV radiation. *Scientia Marina* 72(1) : 87-9
- Aguirre, E., F.L. Figueroa and A.C. Pasini. 2001. Photosynthesis and Growth of Red and Green Morphotypes of *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta) from the Philippines. *Marine Biology*, 138 : 679–686.
- Ahmad, S.H., Surif, M., Wan Omar, W.M., Rosli, MN., and Nor, A.R. 2011. Nutrient uptake, growth and chlorophyll content of green seaweed, *Ulva reticulata*: Response to Different Source of Inorganic Nutrients. UMTAS.
- Andersen, R. A. 2005. Algal Culturing Techniques. Elsevier Academic Press. Burlington, pp : 501.
- Anggadiredja, T. J., A. Zatinika, H. Purwoto, S. Istini. 2007. Rumput Laut. Jakarta. Penebar Swadaya
- Araujo P. G., A. L. Ribeiro, N. S. Yokoya and M. T. Fujii. 2014. Temperature and Salinity Responses of Drifting Specimens of *Kappaphycus alvarezii* (*Gigartinales, Rhodophyta*) Farmed on the Brazilian Tropical Coast. *Journal of Applied Phycology*, 26(5) : 1979-1988
- Arisandi, A., Marsoedi, H. Nursyam, dan A. Sartimbul. Pengaruh Salinitas yang Berbeda terhadap Morfologi, Ukuran dan Jumlah Sel, Pertumbuhan serta Randemen Karaginan *Kappaphycus alvarezii*. *Jurnal Ilmu Kelautan*, 16(3) : 143-150.

Armanda, D. T. 2013. Pertumbuhan Kultur mikroalga diatom *Skeletonema costatum* (Greville) cleve isolat Jepara pada medium $\frac{1}{2}$ dan medium conway. *Bioma*. 2(1) : 49-63

Ask, E. I. and V. R. Azanza. 2002. Advances in Cultivation Technology of Commercial *Eucheumatoid* Species: A Review with Suggestions For Future Research. *Journal of Aquaculture*, 206 : 257-277.

Aslan, L. M. 2003. Budidaya Rumput Laut. Penerbit Kanisius, Yogyakarta

Ayuningtiaz, O. N., M. A. Alamsjah dan S. Subekti. 2010. Pengaruh Lama Penyinaran Terhadap Pertumbuhan dan Klorofil a *Gracilaria verrucosa* Pada Sistem Budidaya Indoor. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 2 (1) : 21 - 29.

Baishnab, C. T. and G. Pattanayk. 2012. Chlorophyll Biosynthesis in Higher Plants. *Photosynthesis: Plastid Biology, Energy Conversion and Carbon Assimilation*. pp. 63-94

Baweja, P. D., P. Sahoo, Garcia-jimenez and R. R. Robaina. 2009. Seaweed Tissue Culture as Applied to Biotechnology: Problems, Achievements and Prospects. *Phycological Research*, 57: 45-58.

Beer, S., and A. Eshel. 1985. Determining Phycoerythrin and Phycocyanin Concentrations in Aqueous Crude Extracts of Red Algae. *Marine and Freshwater Research*, 36 : 785–792

Bouterfas R., M. Belkoura, and A. Dauta. 2006. The Effects of Irradiance and Photoperiod on the Growth Rate of Three Freshwater Green Algae Isolated from a Eutrophic Lake. *Limnetica*, 25 (3): 647-656

Bouzon Z. L., F. Chow, C. S. Zitta, R. W. Santos, L. C. Ouriques, M. R. Felix, L. K. P. Osorio, C. Gouveia, R. P. Martins, A. Latini, F. Ramlov, M. Maraschin, É. C. Schmidt. 2012. Effects Of Natural Radiation, Photosynthetically Active Radiation and Artificial Ultraviolet Radiation-B on the Chloroplast Organization and Metabolism of *Porphyra acanthophora* var. brasiliensis (Rhodophyta, Bangiales). *Micros Microanal*, 18:1467–1479

Bowsher C. G., A. E. Lacey, G. T. Hanke, D. T. Clarkson, L. R. Saker, I. Stulen, M. J. Emes. 2007. The Effect of Glc6P Uptake and Its Subsequent Oxidation Within Pea Root Plastids on Nitrite Reduction and Glutamate Synthesis. *Journal of Experimental Botany* 58 : 1109–1118.

Brady, N. C., and R. R. Weil. 2002. The Nature and Properties of Soil. Upper Saddle River, N. J. Prentice Hall, Inc. 690 p.

Campbell, N. A., J. B. Reece and L. G. Mitchell. 2008. Biologi Jilid 1 Ed Ke-8. Rahayu L, Penerjemah. Jakarta (ID): Erlangga. 576 hlm.

Chakdar, H., and S. Pabbi. 2012. Extraction and Purification of Phycoerythrin From *Anabaena variabilis* (CC421). *Phykos*. 42 (1): 25-31.

Chakraborty, S. and S.C. Santra. 2008. Biochemical Composition of Eight Benthic Algae Collected from Sunderban. *Indian Journal of Marine Sciences* 37(3): 329-332.

Chen, Y. C. And M. C. Lee. 2012 Double-Power Double-Heterostucture Light-Emitting Diodes in Microalgae, *Spirulina platensis* and *Nannochloropsis oculata* Cultures. *Journal of Marine Science and Technology*, 20(2) : 233-236

Choi, T.S., E.J. Kang, J.H. Kim, and K.Y. Kim. 2010. Effect of salinity on growth and nutrient uptake of *Ulva pertusa* (Chlorophyta) from an eelgrass bed. *Algae*, 25 (1): 17-25.

Choochote, W., K. Paiboonsin, S. Rugngpan, and A. Pharugan. 2010. Effects of Urea and Light Intensity on the Growth of *Chlorella* sp. In : The 8th *International Symposium on Biocontrol and Biotechnology*

Chouliaras V., I. Therios, A. Molassiotis, A. Patakas and G. Diamantidis. 2004. Effect of Iron Deficiency on Gas Exchange and Catalase and Peroxidase Activity in Citrus. *Jornal of Plant Nutrition*, 27: 2085–2099

Collantes G., C. Melo, and A. Candia. 2004. Micropropagation by Explant of Bird, McLachlan and Oliveira. *Journal of Applied Phycology*, 16: 203-13.

Costa, J. F. Da, F. F. Karwur, and L. Limantara. 2009. Efek beta Karoten dan Agregasi Klorofil pada Fotostabilitas Klorofil a dalam Pelarut Aseton. 11(2) : 115 - 123

Daood, H. 2003. Chlorophyll. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition* (Second Edition). Academic Press Pp. 1196-1205

Dawes, C. J. 1981. *Marine Botany*, A Wiley-International Science Publication. United States

Dawes, C. J., A. O. Lluisma, G. and C. Trono. 1994. Laboratory and Field Growth Studies of Commercial Strains of *Euclima denticulatum* and *Kappaphycus alvarezii* in the Philippines. *J Appl Phycol*. 6 : 21 – 24.

De Junet, A., G. Abril, F. Guerin, I. Billy, De Wit R. 2009. A multi-tracers analysis of sources and transfers of particulate organic matter in a tropical reservoir (Petit Saut, French Guiana). *River Res. Appl*. 25 253–271

Dewangga, I.G. 2008. Studi Pengaruh Pengeringan Terhadap Kandungan dan Komposisi Pigmen Utama Rumput Laut *Kappaphycus Alvarezii* (Doty) Doty 1986. Skripsi. Universitas Diponegoro. Semarang

Dikio E.D. And D.A. Isabirye. 2008. Isolation Of Chlorophyll A From Spinach Leaves. *Bulletin Of The Chemical Society Of Ethiopia*, 22(2), 301-304.

Ding, J., J. Bierma, M. R. Smith, E. Poliner, c. Wolfe, A. N. Haddock, S. Zara, M. Jirikovic, K. van Zee, M. H. Penner, J. Patton Vogt, and A. T. Bakalinsky . 2013. Acetic acid inhibits nutrient uptake in *Saccharomyces cerevisiae*: auxotrophy confounds the use of yeast deletion libraries for strain improvement. *Appl Microbiol Biotechnol* 97(16):7405-7416

Donnini, S., A. Castagna, L. Guidi, G. Zoechi, A. Ranieri. 2003. Leaf Responses to Reduced Iron Availability in Two Tomato Genotypes: T3238FER (Iron Efficient) and T3238fer (Iron Inefficient). *Journal of Plants Nutrition*, 26 : 2137-2148

Doty, M. S. 1985. *Eucheuma alvarezii* sp.nov (Gigartinales, Rhodophyta) from Malaysia. In: Abbot I.A. and J.N. Norris (editors). *Taxonomy of Economic Seaweeds*. California Sea Grant College Program. p 37 - 45.

Doty, M. S. 1986. Biotechnological and Economic Approaches to Industrial Development Based on Marine Algae in Indonesia. Workshop on Marine Algae Biotechnology. Summary Report.: National Academic Press. Washington DC. p 31-34

Eswaran, K., P. V. S. Rao and O. P. Mairh, 2001. Impact of Ultraviolet-B Radiation on a Marine Red Alga *Kappaphycus alvarezii* (Solieriaceae, Rhodophyta). *Indian Journal of Geo-Marine Science* 30(2) : 105-107

Fei, X. G. 2004. Solving the Coastal Eutrophication Problem by Large Scale Seaweed Cultivation. *Hydrobiologia*, 512 : 145-151

Fiedor, J., L. Fiedor, J. Winkler, A. Scherz, and H. Scheer. 2001. Photodynamic of the Bacteriochlorophyll-Carotenoid System 1. Bacteriochlorophyll-photosensitized oxygenation of Beta-Caroten in Aceton. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 74: 64-71.

Forde, B. G., and P. J. Lea. 2007. Glutamate in Plants: Metabolism, Regulation, and Signalling. *Journal of Experimental Botany*, 58 : 2339–2358

Gaj, M. D. 2001. Direct Somatic Embryogenesis as a Rapid and Efficient System for in Vitro Regeneration of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell and Organ Culture*, 64: 39-46

Galova, E., I. Salgovicova, V. Demko, K. Mikulova, A. Sevcovicova, L. Slovakova, V. Kysella and J. Hudak. 2008. A short overview of Chlorophyll Biosynthesis in Algae. *Biologia* 63(6) : 947-951

Gogorcena, Y., N. Molias, A. Larbi, J. Abadía, A. Abadía, 2001. Characterization of the Responses of Cork Oak (*Quercus suber*) to Iron Deficiency. *Tree Physiology*, 21 : 1335-1340

Gordillo, F.J.L., M.J. Dring, and G.Savidge, 2002. Nitrate and Phosphate Uptake Characteristics of Three Species of Brown Algae Cultured at Low Salinity. *Marine Ecology Progress Series*, 234: 111-118.

Gouveia, C., M. Kreuzsch, É. C. Schmidt, M. R. L. Felix, L. K. P. Osorio, D. T. Pereira, R. Santos, L. C. Ouriques, R. P. Martins, A. Latini, F. Ramlov, T. J. G. Carvalho, F. Chow, M. Maraschin, Z. L. Bouzon. 2013. The Effects of Lead and Copper on The Cellular Architecture and Metabolism of the Red Alga *Gracilaria domingensis*. *Microsc Microanal*, 19:513–524

Green, L.A. and C. D. Neefus. 2016. Effects of Temperature, Light Level, and Photoperiod on The Physiology of *Porphyra umbilicalis* Kützinger from the Northwest Atlantic, a Candidate for Aquaculture. *Appl. Phycol*, 28:1815–1826

Guan, X., S. Qin, F. Zhao, X. Zhang, and X. Tang. 2007. Phycobilisomes Linker Family in cyanobacterial Genomes : Divergence and Evolution. *Int. J. Bio. Sci.* 3 : 343-355

Guan, X., J. Wang, J. Zhu, C. Yao, J. Liu, S. Qin and P. Jiang. 2013. Photosystem II Photochemistry and Phycobiliprotein of the Red Algae *Kappaphycus alvarezii* and Their Implications for Light Adaptation. *BioMed Research International*. Vol 2013 : 1-9

Gudrun, K., and C. Wincke. 2005. Photosynthesis, Photosynthetic Pigment and Mycosporine-Like Aminoacids After Exposure of the Marine Red Alga *Chondrus crispus* (Gigartinales, Rhodophyta) to Different Light Qualities. *Phycologia*, 44(1): 95-102.

Gunawan. 2012. Microalgae Growth Response (*Tetraselmis* sp.) on Different Light Intensity. *Bioscientific Journal*, 9(1) : 55 – 59.

Hamama, L., M. Baasiz, and R. Letouze. 2001. Somatic Embryogenesis and Plant Regeneration from Leaf Tissue of Jojoba. *Plant Cell and Organ Culture*, 65:109-113

Handayani, W. Y. Nurchayati dan N. Setiari. 2012. Respon Pertumbuhan dan Produksi Alkaloid pada Kalus Berakar *Datura metel* L. Terhadap Peningkatan Mikronutrien dari Medium MS. *Buletin Anatomi dan Fisiologi*, XX(1) : 29-36

Harrison, P. J., and C. L. Hurd. 2001. Nutrient Physiology of Seaweeds : Applications of Concepts to Aquaculture. *Cahiers de Biologie Marine*, 42 : 71-82

Harrison, P. J. and J. A. Berges. 2005. Marine Culture Media. In: Algal Culturing Techniques. R. Andersen (ed.) Academic Press, NY, pp. 21-33

Harun, I., Yahya, L., Chik, M. N., Kadir, N. N. A. and Pang, M. A. M. A. Effects of Natural Light Dilution on Microalgae Growth. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, 5 (2), pp. 112 – 116, 2014.

Hayashi, L., N. S. Yokoya, D. M. Kikuchi and E. C. Oliveira. 2008. Callus Induction and Micropropagation Improved by Colchicine and Phytoregulators in *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Solieriaceae). *Journal of Applied Phycology*, 20 : 653–659

Hsu C. Y., P. Y. Cha, S. P. Hu and C. M. Yang. 2013. The Antioxidant and Free Radical Scavenging Activities of Chlorophylls and Pheophytins. *Food and Nutrition Sciences*, 4 : 1-8

Hurd, C., P. J. Harrison, C. S. Lobban and K. Bischof. 2014. *Seaweed Ecology and Physiology*. Cambridge University Press

Hurtado, A.Q., D.A. Yunque, K. Tibubos, and A.T. Critchley. 2009. Use of Acadian Marine Plant Extract Powder from *Ascophyllum nodosum* in Tissue Culture of *Kappaphycus alvarezii*. *J. Appl. Phycol.* 21: 633–639

Hurtado, A., R. Reis, R. Loureiro, and A. Critchley. 2014. *Kappaphycus* (Rhodophyta) Cultivation: Problems and the Impacts of Acadian Marine Plant Extract Powder. In: Pereira L, Neto JM (eds) *Marine Algae*. CRC Press, Boca Raton, pp : 251–299

Indriatmoko, Heriyanto, L. Limantara, and T. H. P. Brotosudarmo. 2015. Composition of Photosynthetic Pigments in A Red Alga *Kappaphycus alvarezii* Cultivated in Different Depths. *Procedia Chemistry*, 14 : 193–201

Joniyas, A., M. Surif and R. Dehgani. 2016. Effect of Nutrient and Light Intensity on Nutrient Uptakes of *Gracilaria manilaensis*. *International Journal of Scientific Research in Environmental Science*, 4(6) : 0173 -0185

Juneja, Ankita, R. M. Ceballos, and G. S. Murthy. 2013. Effects of Environmental Factors and Nutrient Availability on the Biochemical Composition of Algae for Biofuels Production: a review. *Energies* 6 (9) : 4607-4638.

Kawsar S., Yuki F., Ryo M., Hidetaro Y., and Yasuhiro O. 2011. Protein R-Phycoerythrin From Marine Red Alga *Amphiroa anceps*: Extraction, Purification And Characterization. *Phytologia Balcanica*. 17(3):347-354

Kim, J. K., G. P. Kreamer, C. D. Neefus, I. K. Chung and C. Yarish. 2007. Effect of Temperature and Ammonium on Growth, Pigment Production and Nitrogen Uptake by Four Species of *Porphyra* (Bangiales, Rhodophyta) Native to The New England Coast. *Journal of Applied Phycology*, 19 : 431-440.

Knecht, F. M and A. Göransson. 2004. Terrestrial Plants Require Nutrients in Similar Proportions. *Tree Physiology* 24 : 447–460

Konwar, M. and G. D Baruah. 2011. On the nature of vibrational bands in the FTIR spectra of medicinal plant leaves. *Archives of Applied Science Research*, 3(1) : 214-221

Kumar G. R., C. R. K. Reddy, and B. Jha. 2007. Callus Induction and Thallus Regeneration From Callus of Phycocolloid Yielding Seaweeds from the Indian Coast. *Journal of Applied Phycology*, 19: 15-25.

Kumar J.I., R.N. Kumar, A. Bora, M. Kaur Amb and S. Chakraborty. 2009. An Evaluation of the Pigment Composition of Eighteen Marine Macroalgae Collected from Okha Coast, Gulf of Kutch, India. *Our Nature*, (7) : 48-55.

Kusmita L., and L. Limantara. 2009. The Influence Of Strong and Weak Acid Upon Aggregation and Pheophytinization of Chlorophyll A and B. *Indonesian Journal of Chemistry.*, 9 (1) : 70 – 76

Krzemin´ska, I, B. P. Skowron´ska, and M. Trzcina´ska .2014. Influence of photoperiods on the growth rate and biomass productivity of green microalgae. *Bioprocess Biosyst Eng*, 37:735–741

Larkum A. W. D and M. Khl. 2005. Chlorophyll d: The Puzzle Resolved. *Trends in Plant Science*, 10: 355-357

Lea, P. J. and B. J. Miflin. 2003. Glutamate Synthase and The Synthesis of Glutamate in Plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 41 : 555–560.

Lea, P. J. and R. A. Azevedo. 2006. Nitrogen Use Efficiency. 1. Uptake of Nitrogen from the Soil. *Annals of Applied Biology* 149 (3) : 243–247

Lee, R. E. 2008. Phycology. Fourth Edition. Cambridge University Press. <http://www.cambridge.org/97805621864084>. Diakses pada tanggal 21 Februari 2016.

Lestari, E. G. 2007. In Vitro Selection and Somaclonal Variation for Biotic and Abiotic Stress Tolerance. *Biodivesitas*, 7(3) : 297 – 301.

Lobban, C. S., and P. J. Harrison. 1994. Seaweed Ecology and Physiology. Cambridge University Press.

Lichtenthaler, K. H. 1987. Methods in Enzymology. Chlorophyll and Carotenoid: Pigments of Photosynthetic Biomembranes. New York: Academic Press.Inc.

Lichtenthaler, H. K. and C. Buschmann. 2001. Chlorophylls and Carotenoids: Measurement and Characterization by UV-VIS Spectroscopy. Current Protocols in Food Analytical Chemistry (CPFA), John Wiley and Sons, New York, F 4.3.1 - F4.3.8.

Lideman, G. N. Nishihara, T. Noro and R. Terada. 2013 Effect of Temperature and Light on The Photosynthesis as Measured by Chlorophyll Fluorescence of Cultured *Eucaema denticulatum* and *Kappaphycus* sp. (Sumba strain) From Indonesia. *Journal of Applied Phycology*, 25 (2) : 399-406.

Liqin, S., W. Changhai and S. Lei. Effects of Light Regime on Extracellular Polysaccharide Production by *Periphyridium cruentum* Cultured in Flat Plate Photobioreactors. *Prosiding 2nd International Conference Bioinformatics and Biomedical Engineering*, 2 : 1488 – 1491.

Liu, J.W., Dong, S.L., Liu, X.Y., and Ma, S. 2000. Responses of the macroalga *Gracilaria tenuistipitata* var.liui (Rhodophyta) to iron stress. *Journal of Applied Phycology* 12, 605-612.

Liu, H.X., S.Q. Sun, G.H. Lv and K.K.C. Chan. 2006. Study on angelica and its different extracts by Fourier transform infrared spectroscopy and twodimensional correlation IR spectroscopy, *Spectrochimica Acta*, Part A 64:321-326.

Luhan, M. R. J and H. Sollesta. 2010. Growing the Reproductive cells (Carpospores) of the Seaweed, *Kappaphycus striatum*, in the Laboratory Until Outplanting in the Field and Maturation to tetrasporophyte. *Journal of Applied Phycology*, 22(5) : 579-585

Luning, K. 1990. Seaweeds: Their environment, biogeography and ecophysiology. John Wiley and Sons Inc., p. 344-345.

Mansilla A., M. Palacios, N. P. Navarro, and M. Avila. 2008. Growth and Survival Performance of the Gametophyte of *Gigartina skottsbergi* (Rodophyta, Gigartinales) Under Defined Nutrient Conditions in Laboratory Culture. *Journal of Applied Phycology*, 20(5) : 889 – 896

Marchetti, J., G. Bougara, T. Jauffrais, S. Lefebvre, C. Rouxel, B. Saint-Jean, E. Lukomska, R. Robert and J. P. Cadoret. 2013. Effects of Blue Light on the Biochemical Composition and Photosynthetic Activity of *Isochrysis* sp. (T-iso). *Journal of Applied Phycology*, 25 : 109–119.

Marisca, N. 2013. Aklimatisasi Rumput Laut *Kappaphycus Alvarezii* Hasil Kultur Jaringan Dengan Kepadatan Yang Berbeda Dalam Akuarium Di Rumah Kaca. Skripsi. (Tidak Untuk Dipublikasi). Teknologi Dan Manajemen Perikanan Budidaya Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor. Bogor

Markou, G., I. Chatzipavlidis and D. Georgakakis. 2012. Effects of Phosphorus Concentration and light Intensity on the Biomass Composition of *Arthrospira (Spirulina) platensis*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(8) : 2661 -2670

Marsac, N.T. 2003. Cyanobacterial Phycobilisomes. *J.Struc. Biol.*, 124(2-3): Pp 311-334

McHugh, Charles W., and Kolb, T. E. 2003. Ponderosa Pine Mortality Following Fire In Northern Arizona. *International Journal Of Wildland Fire*. 12: 7-22.

Mengel, K. and E. A. Kirkby. 2001. Principles of Plant Nutrition. Netherlands. Kluwer Academic Publishers. 849 p

Mercado, J. M., M. P. Saavedra, G. C. Reyes, L. Lubian, O. Montero and F. L. Figueroa. 2004. Blue Light Effect on Growth, Light Absorbition Characteristic and Photosynthesis of Five Benthic Diatom Strains. *Journal Aquatic Botany* 78 : 265-277

Miflin, J. Ben. and D. Z. Habash. 2001. The Role of Glutamine Synthetase and Glutamate Dehydrogenase in Nitrogen Assimilation and Possibilities For Improvement in the Nitrogen Utilization of Crops. *Journal of Experimental Botany*, 53 (370) : 979–987.

Ming-Li, T., W. L. Chu and S. M. Phang. 2010. Effect of Temperature Change on Physiology and Biochemistry of Algae: A review. *Malaysian Journal of Science*, 29 (2) : 82-97

Mulholland, M. R and M. W. Lomas. 2008. Nitrogen Uptake and Assimilation. In : Nitrogen in the Marine Environment (2nd Edition). Pp. 303 - 384

Mulyaningrum S. R., H., H. Nursyam, Y. Risjani, dan A. Parenrengi. 2012. Regenerasi Filamen Kalus Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii* dengan Formulasi Zat Pengatur Tumbuh yang Berbeda. *Jurnal Penelitian Perikanan* 1(1) (2012) : 52-60.

Muñoz J., A. C. Cahue-López, R. Patiño and D. Robledo. 2006. Use of Plant Growth Regulators In Micropropagation of *Kappaphycus alvarezii* (Doty) in Airlift Bioreactors. *Journal of Applied Phycology*, 18: 209-18.

Naguit, M. R. A. and W. L. Tisera. 2009. Pigment Analysis on *Euचेuma denticulatum* (Collins & Hervey) and *Kappaphycus alvarezii* (doty) Cultivars Cultured at Different Depths. *Threshold*, 4 : 29–37.

Navarro, N. P., A. Mansilla and E. M. Plastino. 2010. *Iradaea cordata* (Gigartinales, Rhodophyta) : Responses to Artificial UVB Radiation. *J Appl Phycol* 22 : 385-394.

Ncube, N. S., A. J. Afolayan and A. I. Okoh. 2008. Assessment Techniques Of Antimicrobial Properties Of Natural Compounds Of Plant Origin: Current Methods And Future Trends. *African Journal Of Biotechnology (AJB)*, 7(12): 1797-1806.

Necchi, O. J. 2005. Light Related Photosynthetic Characteristics of Freshwater *Rhodophytes*. *Aquatic Botany*, 3 : 193-209.

Niu Jian-Feng, Guang-ce W and Cheng-Kui T. 2006. Method for large-scale isolation and purification of R-phycoerythrin from red *Polysiphonia urceolata* Grev. *Protein Expression and Purification*. 49: 23-31

Nitschke, C. R., M. Amoroso, K. D. Coates, and R. Astrup. 2012. The influence of climate change, site type and disturbance on stand dynamics in northwest British Columbia, Canada, *Ecosphere* (3) : 1–21,

Nuraini, A. D. 2007. Ekstraksi Komponen Antibakteri dan Antioksidan dari Biji Teratai (*Nymphaea pubescens* Wild). Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Nyman, E. S. and P. H. Hynninen. 2004. Research advances in the use of tetrapyrrolic photosensitizers for photodynamic therapy. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 73 : 1–28.

Ozaki, A., H. Mizuta and H. Yamamoto. 2001. Physiological Differences Between the Nutrient Uptakes of *Kjellmaniella crassifolia* and *Laminaria japonica* (Phaeophyceae). *Fisheries Science*, 3 : 415-419

Pangestuti, R., L. Limantara and A. Susanto. 2007. Kandungan dan Aktivitas Antioksidan Fukosantin *Sargasum polycistum* C. A. Agardh. 9(2) : 201 -208

Parenrengi, A., Sulaeman, Suryati E and Tenriulo A. 2006. karakterisasi Genetik Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii* yang dibudidayakan di Sulawesi Selatan. *Jurnal Riset Akuakultur*, 1(1) : 1 – 11

Pepe, M., C. Giordino, G. Borsani, A. C. G. Cardoso, G. Chiauda, E. Premazzi, Rodari and E. Zilioli. 2001. Relationship Between Apparent Optical Properties and Photosynthetic Pigments in the Sub-Alpine Lake Iseo. *The science of Total Environment*, 268 : 31-45.

Prakoewa, S., A., Ribkahwati dan D. R. Suryaningsih. 2009. Teknik Kultur Jaringan Tanaman. Dian Prima Lestari. Sidoarjo. hal. 3-29

Prasetyo, H., I. Setyaningsih, D. R. Agungpriyono. 2015. Growth and Extracellular Polysaccharide Production of *Porphyridium cruentum* in Various Photoperiod. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 18(2) : 219 - 229

Pugalendren S., B. Sarangam, and R. Rengasamy. 2012. Extraction of R-Phycoerythrin from *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty ex Silva and Analyses of its Physico-Chemical Properties. *Youth Education and Research Trust (YERT)*, 1(7) : 407-411

Rahmasari, H dan W. H. Susanto. 2014. Ekstraksi Osmosis pada Pembuatan Sirup Murbei (*Morus alba* L.) Kajian Proporsi Buah : Sukrosa dan Lama Osmosis. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 2(3) : 191-197.

Rasyid. A. J. 2005. Studi Kondisi Fisika Oseanografi Untuk Kesesuaian Budidaya Rumput Laut Di Perairan Pantai Sinjai Timur. *Jurnal Torani* 15 : 73- 80.

Reddy, C. R. K., G. R. K. Kumar, A. K. Siddhanta, and A. Tewari, 2003. In Vitro Somatic Embryogenesis and Regeneration of Somatic Embryos from Pigmented Callus of *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty (Rhodophyta, Gigartinales). *Journal of Phycology*, 39 : 610-616

Reddy, C. R. K., B. Jha, Y. Fujita, and M. Ohno. 2008. Seaweed Micropropagation Techniques and Their Potentials: An Overview. *Journal of Applied Phycology*, 20 : 609–617

Reeta, J and G. Kulandaivelu. 2000. Effect of Light Intensity on the Saturation of Photosynthesis in *Gracilaria* Species (Rhodophyta). *Seaweed Research Utilization*, 22(1&2) : 31-35.

Reich, P. B., O. Jacek, J. W. Ian. 2009. Leaf Phosphorus Influences the Photosynthesis-Nitrogen Relation: a Crossbiome Analysis of 314 Species. *Oecologia*, 160 : 207 – 212

Retnaningdyah, C., U. Marwati, A. Soegianto dan B. Irawan. 2011. Media pertumbuhan, intensitas cahaya dan lama penyinaran yang efektif untuk kultur *Microcystis* hasil isolasi dari waduk sutami di laboratorium. *Jurnal Bina Praja*. 13 (2): 123-130.

Richmond, A. 2004. Biological principles of mass cultivation. In: Richmond A (ed) Handbook of microalgal mass culture. *Biotechnology and applied phycology*. Blackwell, Oxford, p. 566

Rioux L. E., L. T Sylvie and B. Martin. 2009. Effect of Season on The Composition of Bioactive Polysaccharides From The Brown Seaweed *Saccharina longicuris*. *Phytochemistry*. 70:1069–1075

Riyono, S. H. 2007. Beberapa Sifat Umum dari Klorofil Fitoplankton. *Oseana* 32(1) : 23-31

Rohman, S. 2013. Pengaruh Penambahan Natrium Hidroksida (NaOH) Terhadap Kandungan Protein dan Abu pada Karagenan Rumput Laut *Euचेuma cottonii* Pasca Panen. IKIP PGRI Semarang.

Romiyanto, A. 2014. Studi kandungan β -Karoten pada Rumput Laut Merah (*Euचेuma spinosum*) dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Universitas Brawijaya. Malang

Rudiger W. 2002. Biosynthesis of Chlorophyll b and the Chlorophyll Cycle. *Photosynthesis Research* 74 : 187 – 193.

Rumampuk, N.D.C., G.S. Grevo, I.F.M. Rumengan, M. Ohji, T. Arai, and N. Miyazaki. 2004. Effect of Triphenyltin Exposure on The Red Alga *Euचेuma denticulatum*. *Coastal Marine Science*, 29(1): 8184.

Sachindra, N. M., M. K. W. Airanthi, M. Hosokawa, and K. Miyasitha, 2010. Radical Scavenging and Singlet Oxygen Quenching Activity of Extracts from Indian Seaweeds. *Journal of Food. Science and Technology* 47(1) : 94-99.

Sahoo, D. and M. Ohno 2001. Deep Seawater-New Area of Research and Utilization in 21st Century. *Journal of Indian Ocean Studies*, 9 : 282-286

Santos, W. S., É. C. Schmidt, M. R. Felix, L. K. Polo, M. Kreuzsch, D. T. Pereira, G. B. Costa, C. Simioni, F. Chow, F. Ramlov, M. Maraschini, Z. Bouzon. 2014. Bioabsorption of Cadmium, Copper and Lead by the Red Macroalga *Gelidium floridanum*: Physiological Responses and Ultrastructure Features. *Ecotox Envir Safe*, 105:80–89

Sarojini Y. K., and L. Narayanan. 2009. Influence of Environmental Factors on Variations in Distribution of Photosynthetic Pigments of Macro Algae. *Algal Biomass, Resources and Utilization*: 157-163.

Sangeetha, R. K., N. Bhaskar, S. Divakar and V. Baskaran. 2009. Bioavailability and Metabolism of Fucoxanthin in rats : Structural Characterization of Metabolites by LC-MS (APCI). *Molecular and Cellular Biochemistry*, 333 : 299-310.

Scheer, H. 2006. An Overview of Chlorophyll and Bacteriochlorophyll: Biochemistry, Biophysics, Function and Applications. Advances in Photosynthesis and Respiration Vol. 25. Springer, pp : 1 – 26

Schmidt, E. C., B. G. Nunes, M. Maraschin, and Z. L. Bouzon. 2010a. Effect of Ultraviolet-B Radiation on Growth, Photosynthetic Pigment, and Cell Biology of *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Gigartinales) Macroalgae Brown Strain. *Photosynthetica*, 48(2): 161-172.

Schmidt, E. C., M. Maraschin, and Z. L. Bouzon. 2010b. Effect of UVB Radiation on Carragenophyte *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Gigartinales) : Changes in Ultrastructure, Growth, and Photosynthetic pigments. *Hydrobiologia*, 649 (1) : 171-182

Schmidt, E. C., R. D. Santos, P. A. Horta, M. Maraschin, and Z. L. Bouzon. 2010c. Effect of UVB Radiation on the Agarophyte *Gracilaria domingensis* (Rhodophyta, Gracilariales) : Changes in Cell Organization, Growth and Photosynthetic Performance. *Micron* 41(8) : 919-930

Scholes, G. D., Fleming, G. R., Olaya-Castro, A., and van Grondelle, R. 2011. Lessons from nature about solar light harvesting. *Nature chemistry*, 3(10), 763-774.

Schubert, H., M. Andersson, and P. Snoeijs. 2006. Relationship Between Photosynthesis and Non-Photochemical Quenching of Chlorophyll Fluorescence in Two Red Algae with Different Carotenoid Compositions. *Marine Biology*, 149 : 1003–1013

Semedi, B., Da Kosta and M. Mahmudi. 2016. Feasibility of Seaweed (*Kappaphycus alvarezii*) Mariculture Using Geographic Information System In Hading Bay, East Flores Indonesia. *Journal of Natural Environment and Pollution Technology*, 15(4): 1347-1349.

Serdiati N. and I. M. Widiastuti. 2010. Pertumbuhan dan Produksi Rumput Laut *Euclima cottonii* pada Kedalaman Penanaman yang Berbeda. *Media Litbang Sulteng*. 3(1):21-26.

Singh, P., S.K. Gupta., A. Guldhe, I. Rawat and F. Bux. 2015. Microalgae Isolation and Basic Culturing Techniques. In: KIM, S.-K. (ed.) *Handbook of Marine Microalgae*. Boston: Academic Press. pp. 43-54.

Skriptsova A. V. and N. V. Miroshnikova. 2011. Laboratory Experiment To Determine The Potential Of Two Macroalgae from the Russian Far-East as Biofilters for Integrated Multi-Trophic Aquaculture (IMTA). *Bioresour Technology*, 102: 3149-3154.

Smit, A. J. 2002. Nitrogen Uptake by *Gracilaria gracilis* (Rhodophyta) : Adaptations to a Temporally Variable Nitrogen Environment. *Botanica Marina*, 45(2) : 196-209

Soenardjo, N. 2011. Aplikasi Budidaya Rumput Laut *Euclima cottonii* dengan Metode Jaring Lepas Dasar Model Cidaun. *Buletin Oseanografi Marina*, 1(1):36-44.

Srirangan S., M. L. Saue., B. Howard, M. Dvora, J., Dums, P. Backman, and H. Sederoff. 2015. Interaction of Temperature and Photoperiod Increases Growth and Oil Content in the Marine Microalgae *Dunaliella viridis*. *PLoS ONE* 10(5): e0127562

Steel, R. G. D and J. H. Torrie. 1991. Prinsip dan Prosedur Statistika : Pendekatan Biometrik. Diterjemahkan oleh B Sumantri. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta : 748 hl.

Sterman, T. N. 1988. Spectrophotometric and Fluorometric Chlorophyll Analysis. *In*: Lobban, S. C., D.J. Chapman and B. P. Kremer. Experimental Phycology, A Laboratory Manual Cambridge University Press. New York. Pp. 35-39.

Stockenreiter, M., F. Haupt, A.K. Graber, J. Seppala, K. Spilling, T. Tamminen and H. Stibor, 2013. Functional group richness: Implications of biodiversity for light use and lipid yield in microalgae. *J. Phycol.*, 49: 838-847

Suh, H. J., C. S. Kim, J. Y. Lee, and J. Jung. 2002. Photodynamic Effect of Iron Excess on Photosystem II Function In Pea Plants. *Journal of Photochemistry and Photobiology* 75 : 513-518.

Sulistiani, E., D.T. Soelistyowati, and S. A. Yani. 2011. Thallus Regeneration from Callus of *Cottonii* Seaweed (*Kappaphycus alvarezii* Doty). *Research Report 2011*. SEAMEO BIOTROP. Bogor.

Sulistiani E. , D. T. Soelistyowati , Alimuddin and S. A. Yani. 2012. Callus Induction and Filaments Regeneration From Callus of *Cottonii* Seaweed (Doty) Collected From Natuna Islands, Riau Islands Province *Kappaphycus Alvarezii*. *Biotropia* 19(2) : 103 - 114

Sumaryanti, Utari, A. Supriyanto, B. Purnama. 2011. Karakterisasi Optik dan Listrik Larutan Klorofil *Spirulina* sp. sebagai Dye Sensitized Solar Cell. *Jurnal Material dan Energi Indonesia*, 1(1) : 141-147.

Suryati, E., Tenriulo A and Mulyaningrum S.R.H. 2009. Isolasi dan Kultur protoplas Rumpun Laut *Kappaphycus alvarezii* di Laboratorium. *Jurnal Riset Akuakultur* 2(3) : 403 – 409

Suryati, E. Rosmiati, A. Parenrengi dan A. Tenriulo. 2015. In Vitro Growth Rate of *Kappaphycus alvarezii* Micropropagule and Embryo by Enrichment Medium With Seaweed Extract. *Indonesian Aquaculture Journal*, 10(1) : 13-17

Suryati, E., H. Triana, U. Widyastuti, Dan A. Tenriulo. 2016. Regenerasi Dan Perbanyak Rumpun Laut *Kappaphycus alvarezii* Hasil Transformasi Gen Superoksida Dismutase (*Masod*). *Jurnal Riset Akuakultur*, 11(4) : 321-330

Suzuki, A. and D. B. Knaff. 2005. Glutamate Synthase: Structural, Mechanistic and Regulatory Properties, and Role in the Amino Acid Metabolism. *Photosynthesis Research*, 83 : 191–217.

Taiz, L. and E. Zeiger. 2002. Plant Physiology, 3rd ed. Sinauer Associates, p. 690.

Tandeau, N. 2003. Phycobiliprotein and phycobilisome: the early observations. Kluwer Academic Publisher. Netherland. *Photosynthesis Research*. 76: 197-205

Thirumaran, G. and P. Anantharaman. 2009. Daily Growth Rate of Field Farming Seaweed *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty ex P. Silva in Vellar Estuary. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 1(3) : 144-153.

Torres, I.L., C. Rosa-Ferreira, S. Munro. 2014. The Arf family G protein Arl1 is required for secretory granule biogenesis in Drosophila. *J. Cell Sci.* 127(10): 2151--216

Tri, P.H., 2000. Morphological variability of *Kappaphycus cottoni* in Vietnam. Section IV. *Kappaphycus/Eucheuma*. Uncomplete Artikel

Tsekos I., F. X. Niell, I. J. Aguilera, F. L. Figueroa and S. G. Delivopoulos. 2002. Ultrastructure of The Vegetative Gametophytic Cells of *Porphyra leucosticte* (Rhodophyta) Grown In Red, Blue and Green Light. *Phycological Research* 50(4) : 251-264.

Ulfah, M. 2009. Pemanfaatan Iota Karagenan (*Eucheuma spinosum*) dan Kappa Karagenan (*Kappaphycus alvarezii*) sebagai Sumber Serat untuk Meningkatkan Kekenyalan Mie Kering. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Vanitha, A. and S. Chandra. 2012. Studies on Photosynthetic Pigments of Some Red Algae of Covelong, Chennai (India). *International Journal of Current Science* : 149-154.

Vladkova, R., 2000. Chlorophyll a Self-assembly in Polar Solvent-Water Mixtures. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 71: 71-83

Wang, Y., L. Mao, and X. Hu. 2004. Insight Into the Structural Role of Carotenoids in Photosystem I: A Quantum Chemical Analysis. *Biophysical Journal* 86: 309-311

Wang, W. J., G. C. Wang, M. Zhang and C. K. Tseng 2005. Isolation of Fucoxanthin from the Rhizoid of *Laminaria japonica* Aresch. *Journal of Integrative Plant Biology Formerly Acta Botanica Sinica*, 47 (8): 1009-1015

Wenno M. R., L. T. Johanna, G. C. L. Cynthia. 2012. Karakteristik kappa karagenan *Kappaphycus alvarezii* pada berbagai umur panen. *JPB Perikanan*. 7(1):61-68.

Widyastuti, N. 2010. Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode CUPRAC, DPPH dan FRAP serta korelasinya dengan Fenol dan Flavonoid pada Enam Tanaman. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Winarno, F. G., S. Fardiaz and D. Fardiaz. 1980. Pengantar Teknologi Pangan. PT. Gramedia. Jakarta. 90 hlmm

Winarno, F. G. 2007. Kimia Pangan dan Gizi. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 250 hlmn.

Xiong, L., and J. K. Zhu. 2002. Molecular and Genetic Aspects of Plant Responses to Osmotic Stress. *Plant Cell Environ*, 25 : 131-139

Xu, Z. and, K, Gao, 2012. NH₄ enrichment and UV radiation interact to affect the photosynthesis and nitrogen uptake of *Gracilaria lemaneiformis* (Rhodophyta). *Marine Pollution Bulletin*, 64 : 99–105

Yaronskaya, E., I. Vershilovskaya, Y. Poers, A. E. Alawady, N. Averina, and B. Grimm. 2006. Cytokinin Effects on Tetrapyrrole Biosynthesis And Photosynthetic Activity in Barley Seedlings. *Planta*, 224 : 700–709.

Yokoya, N. S., W. A. Stirk, J. van Staden, O. Nova'k, V. Turec'kova, A. Pe'nc'ik, and M. Strnad. 2010. Endogenous Cytokinins, Auxins, and Abscisic Acid in Red Algae from Brazil. *Journal of Phycology*, 46 : 1198-205

Yokoya, N. S. and Y. Y. Valentin. 2011. Micropropagation as a tool for sustainable utilization and conservation of populations of Rhodophyta. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 21(2): 334-339

Yong W. T. L., S. H. Ting, W. L. Chin, K. F. Rodrigues, and A. Anton. 2011. In vitro Micropropagation of *Eucheuma* Seaweeds. 2nd International Conference on Biotechnology and Food Science IPCBEE, 7 : 58-60

Yong, W. T. L., J. Y. Y. Chin, V. Y. Thien, and S. Yasir. 2014. Evaluation of Growth Rate and Semi-Refined Carrageenan Properties of Tissue-Cultured *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Gigartinales). *Phycological Research*, 62 : 316–321

Yong, Y. S., W. T. L. Yong, V. Y. Thien, S. E. Ng, A. Anton, and S. Yasir. 2015. Acclimatization of Micropropagated *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty ex Silva (Rhodophyta, Solieriaceae) in Outdoor Nursery System. *Journal of Applied Phycology*, 27 : 413–419

Yue, J., G. Chen, Q. Yuan, L. Luo, and Y. Gonthe. 2007. Hydrodynamics and mass transfer characteristics in gas–liquid flow through a rectangular microchannel. *Chemical Engineering Science*, 62 (7) : 2096-2108

Zhao, S. and P. He. 2009. Effects of Light Intensity and Salinity on Growth of *Kappaphycus alvarezii*. *Journal of Tropical Oceanography*, 28 : 24–29.

Zhou, Y., H. Yang, H. Haiyan, L. Ying, M. Yuze, Z. Hua, X. Xinling, and Z. Fusui. 2006. Bioremediation Potential of the Macroalga *Gracilaria lemaneiformis* (Rhodophyta) Integrated Into Fed Fish Culture in Coastal Waters of North China. *Aquaculture*, 252: 264-276.

Zou, D and K. Gao. 2010. Photosynthetic Acclimation to Different Light Levels in the Brown Marine Macroalga, *Hizikia fusiformis* (Sargassaceae, Phaeophyta). *Journal of Applied Phycology*, 22 : 395-404.

Zou, D and K. Gao. 2010. Physiological Responses of Seaweeds to Elevated Atmospheric CO₂ Concentrations. *Cell Orig Life Extrem Habitats Astrobiology*, 15: 115-126

Zucchi, M.R., and O. Necchi. 2001. Effects of Temperature, Irradiance and Photoperiode on Growth and Pigment Content in Some Freshwater Red Algae in Culture. *Phycological Research*, 49 : 103 – 114.



LAMPIRAN

LAMPIRAN 1. Hasil Analisis Pengaruh Konsentrasi Media PES Cair terhadap Pertambahan Berat Propagul *K. alvarezzi* Hasil Kultur Jaringan

PES Cair (mL/L)	Ulangan	Waktu Pemeliharaan (Minggu ke-) (g)					Rerata
		0	2	4	6	8	
20	1	0,33	0,55	0,67	1,47	2,63	
	2	0,35	0,5	0,8	1,33	2,51	
	3	0,37	0,43	0,78	1,37	2,64	
	Rerata	0,35	0,49	0,75	1,39	2,59	1,12
40	1	0,36	0,41	0,56	0,88	1,40	
	2	0,34	0,39	0,55	0,87	1,34	
	3	0,35	0,44	0,59	0,89	1,32	
	Rerata	0,35	0,41	0,57	0,88	1,35	0,71
Rerata		0,35	0,453	1,14	1,97		

LAMPIRAN 2. Hasil Analisis Pengaruh Konsentrasi Media PES Cair terhadap Pertambahan Panjang Propagul *K. alvarezzi* Hasil Kultur Jaringan

PES Cair (mL/L)	Ulangan	Waktu Pemeliharaan (Minggu ke-) (cm)					Rerata
		0	2	4	6	8	
20	1	1,1	1,52	1,93	2,41	2,76	
	2	1,16	1,46	2,04	2,34	2,65	
	3	0,73	1,05	1,74	2,37	2,78	
	rata2	0,997	1,34	1,90	2,37	2,73	1,87
40	1	0,97	1	1,15	1,33	1,38	
	2	0,92	1	1,24	1,6	1,6	
	3	0,77	1,07	1,14	1,32	1,4	
	rata2	0,89	1,02	1,18	1,42	1,46	1,19
Rerata		0,94	1,18	1,54	1,90	2,095	



Lampiran 3. Analysis of Variance (ANOVA) Pertambahan Berat Propagul *K. alvarezii* pada Berbagai Perlakuan Media PES cair

Sumber	Keragaman	db	JK	KT	F-hitung	F tabel	
						0,01	0,05
Waktu (A)		4	10,6007	2,650	1184,832**	4,431	2,866
PES cair (B)		1	1,216	1,216	543,694**	8,096	4,351
A x B		4	1,540	0,385	172,190**	4,431	2,866
Galat		20	0,045	0,002			
Total		29	13,402				

**) Berbeda sangat nyata

Lampiran 4. Analysis of Variance (ANOVA) Pertambahan Panjang Propagul *K. alvarezii* pada Berbagai Perlakuan Media PES cair

Sumber	Keragaman	db	JK	KT	F-hitung	F tabel	
						0,01	0,05
Waktu (A)		4	5,513	1,378	67,442**	4,431	2,866
PES cair (B)		1	3,434	3,434	168,036**	8,096	4,351
A x B		4	1,322	0,330	16,171**	4,431	2,866
Galat		20	0,409	0,020			
Total		29	1,808				

**) Berbeda sangat nyata

LAMPIRAN 5. Hasil Analisis Pengaruh Konsentrasi Media PES Cair terhadap Laju Pertumbuhan Harian Berat Propagul *K. alvarezzi* Hasil Kultur Jaringan

PES Cair (mL/L)	Ulangan	Waktu Pemeliharaan (Minggu ke-) (%/hari)				Rerata
		2	4	6	8	
20	1	3,65	1,41	5,61	4,16	
	2	2,55	3,36	3,63	4,54	
	3	1,075	4,25	4,02	4,69	
	rata2	2,425	3,01	4,42	4,46	3,58
40	1	0,93	2,23	3,23	3,32	
	2	0,98	2,46	3,28	3,09	
	3	1,63	2,10	2,94	2,82	
	rata2	1,18	2,26	3,15	3,072	2,42
Rerata		1,80	2,63	3,78	3,77	

LAMPIRAN 6. Hasil Analisis Pengaruh Konsentrasi Media PES Cair terhadap Laju Pertumbuhan Harian Panjang Propagul *K. alvarezzi* Hasil Kultur Jaringan

PES Cair (mL/L)	Ulangan	Waktu Pemeliharaan (Minggu ke-) (%/hari)				Rerata
		2	4	6	8	
20	1	2,31	1,71	1,59	0,97	
	2	1,64	2,39	0,989	0,89	
	3	2,60	3,61	2,21	1,14	
	rata2	2,18	2,57	1,59	0,999	1,84
40	1	0,22	0,998	1,04	0,26	
	2	0,60	1,54	1,82	0	
	3	2,35	0,45	1,05	0,42	
	rata2	1,05	0,996	1,30	0,23	0,90
Rerata		1,62	1,78	1,45	0,61	



Lampiran 7. Analysis of Variance (ANOVA) Laju Pertumbuhan Harian (LPH) Berat Propagul *K. alvarezii* pada Berbagai Perlakuan Media PES cair

Sumber	Keragaman	db	JK	KT	F-hitung	F table	
						0,01	0,05
Waktu (A)	3	3	16,626	5,542	8,454**	5,292	3,239
PES cair (B)	1	1	8,114	8,114	12,379**	8,531	4,494
A x B	3	3	0,362	0,121	0,184 ^{tn}	5,292	3,239
Galat	16	16	10,488	0,656			
Total	23	23	35,591				

**) Berbeda sangat nyata ^{tn}) Tidak berbeda nyata

Lampiran 8. Analysis of Variance (ANOVA) Laju Pertumbuhan Harian (LPH) Panjang Propagul *K. alvarezii* pada Berbagai Perlakuan Media PES cair

Sumber	Keragaman	db	JK	KT	F-hitung	F table	
						0,01	0,05
Waktu (A)	3	3	4,857	1,619	3,814*	5,292	3,239
PES cair (B)	1	1	5,3035	5,303	12,493**	8,531	4,494
A x B	3	3	1,331	0,444	1,045 ^{tn}	5,292	3,239
Galat	16	16	6,792	0,4242			
Total	23	23	44,729				

**) Berbeda sangat nyata *) Berbeda nyata ^{tn}) Tidak berbeda nyata

LAMPIRAN 9. Hasil Analisis Pengaruh Konsentrasi Media PES Cair terhadap Kandungan Klorofil a Propagul *K. alvarezzi* Hasil Kultur Jaringan

PES Cair (mL/L)	Ulangan	Waktu Pemeliharaan (Minggu ke-) (µg/mL)			Rerata
		0	4	8	
20	1	28,10	40,88	53,53	
	2	28,54	41,85	58,59	
	3	29,69	42,52	61,57	
	rata2	28,77	41,75	57,90	42,81
40	1	29,96	31,863	36,98	
	2	28,10	30,063	35,938	
	3	27,43	28,493	28,54	
	rata2	28,493	30,14	33,82	30,82
Rerata		28,63	35,94	45,86	

LAMPIRAN 10. Hasil Analisis Pengaruh Konsentrasi Media PES Cair terhadap Kandungan Fikoeritrin Propagul *K. alvarezzi* Hasil Kultur Jaringan

PES Cair (mL/L)	Ulangan	Waktu Pemeliharaan (Minggu ke-) (µg/mL)			Rerata
		0	4	8	
20	1	46,58	79,06	57,29	
	2	47,39	79,90	58,02	
	3	49,22	84,94	83,62	
	rata2	47,73	81,30	66,31	65,11
40	1	56,52	35,47	41,14	
	2	45,25	36,08	48,93	
	3	40,66	37,40	55,66	
	rata2	47,48	36,31	48,57	44,12
Rerata		47,60	58,81	57,44	



Lampiran 11. Analysis of Variance (ANOVA) Kandungan Klorofil a Propagul *K. alvarezii* pada Berbagai Perlakuan Media PES cair

Sumber	Keragaman	db	JK	KT	F-hitung	F table	
						0,01	0,05
Waktu (A)	2	2	896,678	448,339	61,6854**	6,927	3,885
PES cair (B)	1	1	647,100	647,100	89,0324**	9,33	4,747
A x B	2	2	425,298	212,649	29,258**	6,927	3,885
Galat	12	12	87,218	7,268			
Total	17	17	2056,294				

**) Berbeda sangat nyata

Lampiran 12. Analysis of Variance (ANOVA) Kandungan Fikoeitrin Propagul *K. alvarezii* pada Berbagai Perlakuan Media PES cair

Sumber	Keragaman	db	JK	KT	F-hitung	F tabel	
						0,01	0,05
Waktu (A)	2	2	448,31	224,155	3,765 ^{tn}	6,927	3,885
PES cair (B)	1	1	1982,95	1982,95	33,309**	9,33	4,747
A x B	2	2	1524,69	762,345	12,805**	6,927	3,885
Galat	12	12	714,393	59,533			
Total	17	17	4670,34				

**) Berbeda sangat nyata ^{tn}) Tidak berbeda nyata

LAMPIRAN 13. Hasil Analisis Pengaruh Intensitas Cahaya terhadap Pertambahan Berat Propagul *K. alvarezzi* Hasil Kultur Jaringan

Intensitas Cahaya (Lux)	Ulangan	Waktu Pemeliharaan (Minggu ke-) (g)					Rerata
		0	2	4	6	8	
1900	1	0,33	0,55	0,67	1,47	2,63	
	2	0,35	0,5	0,8	1,33	2,51	
	3	0,37	0,43	0,78	1,37	2,64	
	Rerata	0,35	0,49	0,75	1,39	2,59	1,12
1300	1	0,38	0,73	0,81	0,87	0,9	
	2	0,33	0,44	0,48	0,54	0,69	
	3	0,37	0,67	0,78	0,86	0,95	
	Rerata	0,36	0,56	0,63	0,70	0,85	0,62
Rerata		0,36	0,526	0,69	1,05	1,72	

LAMPIRAN 14. Hasil Analisis Pengaruh Intensitas Cahaya terhadap Pertambahan Panjang Propagul *K. alvarezzi* Hasil Kultur Jaringan

Intensitas Cahaya (Lux)	Ulangan	Waktu Pemeliharaan (Minggu ke-) (cm)					Rerata
		0	2	4	6	8	
1900	1	1,1	1,52	1,93	2,41	2,76	
	2	1,16	1,46	2,04	2,34	2,65	
	3	0,73	1,05	1,74	2,37	2,78	
	Rerata	0,997	1,347	1,907	2,377	2,73	1,87
1300	1	1,2	1,3	1,5	1,6	1,7	
	2	0,8	0,9	1	1	1,1	
	3	1,3	1,4	1,5	1,7	1,7	
	Rerata	1,1	1,15	1,25	1,35	1,5	1,27
Rerata		1,05	1,25	1,58	1,868	2,12	



Lampiran 15. Analysis of Variance (ANOVA) Pertambahan Berat Propagul *K. alvarezii* pada Berbagai Perlakuan Intensitas Cahaya

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung	F tabel	
					0,01	0,05
Waktu (A)	4	7,022	1,755	36,886**	4,431	2,866
Intensitas Cahaya (B)	1	1,853	1,853	38,927**	8,096	4,351
A x B	4	3,465	0,866	18,203**	4,431	2,866
Galat	20	0,9525	0,048			
Total	29	13,292				

**) Berbeda sangat nyata

Lampiran 16. Analysis of Variance (ANOVA) Pertambahan Panjang Propagul *K. alvarezii* pada Berbagai Perlakuan Intensitas Cahaya

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung	F tabel	
					0,01	0,05
Waktu (A)	4	4,553	1,138	7,677**	4,431	2,866
Intensitas Cahaya (B)	1	2,694	2,694	18,171**	8,096	4,351
A x B	4	1,859	0,465	3,134*	4,431	2,866
Galat	20	2,965	0,148			
Total	29	12,071				

**) Berbeda sangat nyata

*) Berbeda nyata

LAMPIRAN 17. Hasil Analisis Pengaruh Intensitas Cahaya terhadap Laju Pertumbuhan Harian Berat Propagul *K. alvarezzi* Hasil Kultur Jaringan

Intensitas Cahaya (lux)	Ulangan	Waktu Pemeliharaan (Minggu ke-) (%/hari)				Rerata
		2	4	6	8	
1900	1	3,65	1,41	5,61	4,16	
	2	2,55	3,36	3,63	4,54	
	3	1,07	4,25	4,02	4,69	
	rata2	2,42	3,01	4,42	4,46	3,58
1300	1	4,66	0,74	0,51	0,24	
	2	2,05	0,62	0,84	1,75	
	3	4,24	1,09	0,7-	0,71	
	rata2	3,65	0,82	0,68	0,90	1,51
Rerata		3,04	1,91	2,55	2,68	

LAMPIRAN 18. Hasil Analisis Pengaruh Intensitas Cahaya terhadap Laju Pertumbuhan Harian Panjang Propagul *K. alvarezzi* Hasil Kultur Jaringan

Intensitas Cahaya (lux)	Ulangan	Waktu Pemeliharaan (Minggu ke-) (%/hari)				Rerata
		2	4	6	8	
1900	1	2,31	1,71	1,59	0,97	
	2	1,64	2,39	0,98	0,89	
	3	2,60	3,61	2,21	1,14	
	rata2	2,18	2,57	1,59	0,999	1,84
1300	1	0,572	1,022	0,461	0,43	
	2	0,841	0,753	0	0,68	
	3	0,529	0,493	0,894	0	
	rata2	0,647	0,756	0,452	0,371	0,56
Rerata		1,42	1,66	1,02	0,69	



Lampiran 19. Analysis of Variance (ANOVA) Laju Pertumbuhan Harian (LPH) Berat Propagul *K. alvarezii* pada Berbagai Perlakuan Intensitas Cahaya

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung	F tabel	
					0,01	0,05
Waktu (A)	3	3,9758	1,325	1,395 ^{tn}	5,292	3,239
Intensitas Cahaya (B)	1	25,568	25,568	26,907 ^{**}	8,531	4,494
A x B	3	23,8548	7,951	8,368 ^{**}	5,292	3,239
Galat	16	15,2038	0,950			
Total	23	68,601				

^{**}) Berbeda sangat nyata ^{tn}) Tidak berbeda nyata

Lampiran 20. Analysis of Variance (ANOVA) Laju Pertumbuhan Harian (LPH) Panjang Propagul *K. alvarezii* pada Berbagai Perlakuan Intensitas Cahaya

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung	F tabel	
					0,01	0,05
Waktu (A)	3	3,339	1,113	4,502 [*]	5,292	3,239
Intensitas Cahaya (B)	1	9,810	9,810	39,68 ^{**}	8,531	4,494
A x B	3	1,190	0,397	1,605 ^{tn}	5,292	3,239
Galat	16	3,956	0,247			
Total	23	18,295				

^{**}) Berbeda sangat nyata ^{*}) Berbeda nyata ^{tn}) Tidak berbeda nyata

LAMPIRAN 21. Hasil Analisis Pengaruh Intensitas Cahaya terhadap Kandungan Klorofil a Propagul *K. alvarezzi* Hasil Kultur Jaringan

Intensitas cahaya (lux)	Ulangan	Waktu Pemeliharaan (Minggu ke-) (µg/mL)			Rerata
		0	4	8	
1900	1	28,10	40,88	53,53	
	2	28,54	41,85	58,59	
	3	29,69	42,52	61,57	
	rata2	28,77	41,75	57,90	42,81
1300	1	28,24	23,68	19,24	
	2	28,54	24,26	20,13	
	3	31,71	25,65	24,01	
	rata2	29,50	24,53	21,13	25,05
Rerata		29,14	33,14	39,51	

LAMPIRAN 22. Hasil Analisis Pengaruh Intensitas Cahaya terhadap Kandungan Fikoeritrin Propagul *K. alvarezzi* Hasil Kultur Jaringan

Intensitas cahaya (lux)	Ulangan	Waktu Pemeliharaan (Minggu ke-) (µg/mL)			Rerata
		0	4	8	
1900	1	46,58	79,06	57,29	
	2	47,39	79,90	58,02	
	3	49,22	84,95	83,62	
	rata2	47,73	81,30	66,31	65,11
1300	1	40,83	80,12	88,93	
	2	45,68	85,78	90,55	
	3	58,39	85,65	88,93	
	rata2	48,30	83,85	89,47	73,88
Rerata		48,02	82,58	77,89	

Lampiran 23. Analysis of Variance (ANOVA) Kandungan Klorofil a Propagul *K. alvarezii* pada Berbagai Perlakuan Intensitas Cahaya

Sumber	Keragaman	db	JK	KT	F-hitung	F tabel	
						0,01	0,05
Waktu (A)	2	2	328,654	164,327	33,977**	6,927	3,885
PES cair (B)	1	1	1418,846	1418,846	293,372**	9,33	4,747
A x B	2	2	1055,143	527,5712	109,085**	6,927	3,885
Galat	12	12	58,036	4,836			
Total	17	17	2860,679				

***) Berbeda sangat nyata

Lampiran 24. Analysis of Variance (ANOVA) Kandungan Fikoeitrin Propagul *K. alvarezii* pada Berbagai Perlakuan Intensitas Cahaya

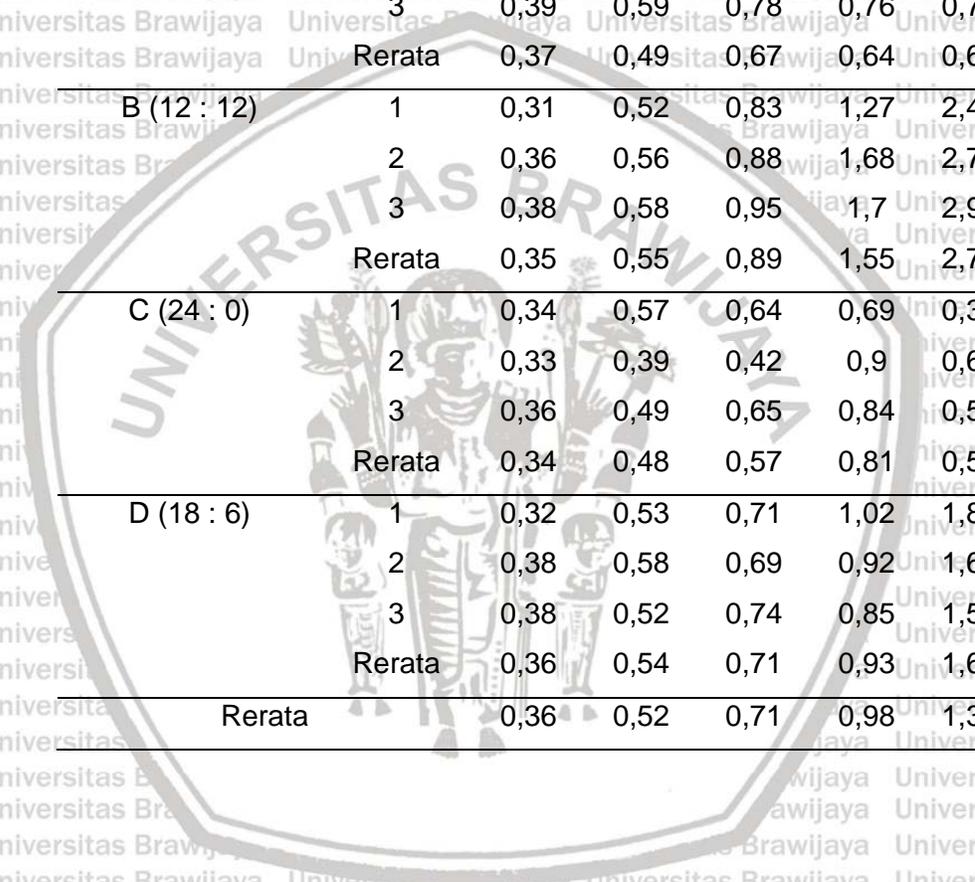
Sumber	Keragaman	db	JK	KT	F-hitung	F tabel	
						0,01	0,05
Waktu (A)	2	2	4217,97	2108,985	38,308**	6,927	3,885
PES cair (B)	1	1	345,451	345,451	6,275*	9,33	4,747
A x B	2	2	469,7	234,85	4,266*	6,927	3,885
Galat	12	12	660,645	55,054			
Total	17	17	5693,76				

***) Berbeda sangat nyata

*) Berbeda nyata

LAMPIRAN 25. Hasil Analisis Pengaruh Fotoperiod terhadap Pertambahan Berat Propagul *K. alvarezzi* Hasil Kultur Jaringan

Fotoperiod (L: D) (Jam)	Ulangan	Waktu Pemeliharaan (Minggu ke-) (g)					Rerata
		0	2	4	6	8	
A (6 : 18)	1	0,37	0,47	0,63	0,62	0,58	
	2	0,36	0,42	0,59	0,54	0,52	
	3	0,39	0,59	0,78	0,76	0,71	
	Rerata	0,37	0,49	0,67	0,64	0,60	0,56
B (12 : 12)	1	0,31	0,52	0,83	1,27	2,48	
	2	0,36	0,56	0,88	1,68	2,73	
	3	0,38	0,58	0,95	1,7	2,95	
	Rerata	0,35	0,55	0,89	1,55	2,72	1,21
C (24 : 0)	1	0,34	0,57	0,64	0,69	0,33	
	2	0,33	0,39	0,42	0,9	0,67	
	3	0,36	0,49	0,65	0,84	0,59	
	Rerata	0,34	0,48	0,57	0,81	0,53	0,55
D (18 : 6)	1	0,32	0,53	0,71	1,02	1,89	
	2	0,38	0,58	0,69	0,92	1,65	
	3	0,38	0,52	0,74	0,85	1,50	
	Rerata	0,36	0,54	0,71	0,93	1,68	0,85
Rerata		0,36	0,52	0,71	0,98	1,38	0,79



LAMPIRAN 26. Hasil Analisis Pengaruh Fotoperiod terhadap Pertambahan Panjang Propagul *K. alvarezzi* Hasil Kultur Jaringan

Fotoperiod (L : D) (Jam)	Ulangan	Waktu Pemeliharaan (Minggu ke-) (cm)					Rerat
		0	2	4	6	8	a
A (6 : 18)	1	0,7	1,5	1,6	1,6	1,7	
	2	0,9	1,7	1,8	1,8	1,8	
	3	1	1,2	1,3	1,4	1,4	
	Rerata	0,87	1,47	1,57	1,6	1,637	1,43
B (12 : 12)	1	1,22	1,56	1,68	2,31	2,56	
	2	1,07	1,44	2,05	2,73	2,86	
	3	0,64	1,08	1,13	2,14	2,58	
	Rerata	0,98	1,36	1,62	2,398	2,67	1,80
C (24 : 0)	1	1	1,3	1,4	1,5	1,5	
	2	0,9	1	1	1	1	
	3	1	1,2	1,2	1,5	2	
	Rerata	0,97	1,17	1,2	1,33	1,5	1,23
D (18 : 6)	1	0,9	1,3	1,3	1,5	1,8	
	2	1,3	1,4	1,5	1,6	2	
	3	0,7	1,1	1,5	1,6	2,1	
	Rerata	0,97	1,27	1,43	1,57	1,97	1,44
Rerata		0,94	1,32	1,46	1,72	1,94	1,48



Lampiran 27. Analysis of Variance (ANOVA) Pertambahan Berat Propagul *K. alvarezii* pada Berbagai Perlakuan Fotoperiod

Sumber				F tabel		
Keragaman	db	JK	KT	F-hitung	0,01	0,05
Waktu (A)	4	5,873	1,468	64,080**	4.369	2.840
Fotoperiod (B)	3	4,397	1,4656	63,968**	4.874	3.072
A x B	12	6,599	0,550	24,000**	3.173	2.250
Galat	21	0,481	0,023			
Total	59	17,349				

***) Berbeda sangat nyata

Lampiran 28. Analysis of Variance (ANOVA) Pertambahan Panjang Propagul *K. alvarezii* pada Berbagai Perlakuan Fotoperiod

Sumber				F tabel		
Keragaman	db	JK	KT	F-hitung	0,01	0,05
Waktu (A)	4	7,047	1,762	14,477**	4.369	2.840
Fotoperiod (B)	3	2,546	0,849	6,976**	4.874	3.072
A x B	12	2,313	0,193	1,584 ^{tn}	3.173	2.250
Galat	21	2,555	0,122			
Total	59	14,461				

***) Berbeda sangat nyata

^{tn}) Tidak berbeda nyata

LAMPIRAN 29. Hasil Analisis Pengaruh Fotoperiod terhadap Laju Pertumbuhan Harian Berat Propagul *K. alvarezzi* Hasil Kultur Jaringan

Fotoperiod (L : D) (Jam)	Ulangan	Waktu Pemeliharaan (Minggu ke-)				Rerata
		2	4	6	8	
A (6 : 18)	1	1,71	2,09	-0,11	-0,48	
	2	1,101	2,43	-0,63	-0,27	
	3	2,96	1,99	-0,19	-0,49	
	rata2	1,92	2,17	-0,31	-0,41	0,84
B (12 : 12)	1	3,69	3,34	3,04	4,78	
	2	3,16	3,23	4,62	3,47	
	3	3,02	3,52	4,16	3,94	
	rata2	3,29	3,36	3,94	4,06	3,66
C (24 : 0)	1	3,69	0,83	0,54	-5,26856	
	2	1,19	0,53	5,44	-2,10798	
	3	2,20	2,02	1,83	-2,52342	
	rata2	2,36	1,13	2,60	-3,30	0,70
D (18 : 6)	1	3,60	2,09	2,59	4,41	
	2	3,02	1,24	2,05	4,17	
	3	2,24	2,52	0,99	4,06	
	rata2	2,95	1,95	1,88	4,21	2,75
Rerata		2,63	2,15	2,03	1,14	1,99

LAMPIRAN 30. Hasil Analisis Pengaruh Fotoperiod terhadap Laju Pertumbuhan Harian Panjang Propagul *K. alvarezzi* Hasil Kultur Jaringan

Fotoperiod (L : D) (Jam)	Ulangan	Waktu Pemeliharaan (Minggu ke-)				Rerata
		2	4	6	8	
A (6 : 18)	1	5,44	0,46	0	0,43	
	2	4,54	0,41	0	0	
	3	1,30	0,57	0,53	0	
	rata2	3,76	0,48	0,18	0,14	1,14
B (12 : 12)	1	1,76	0,53	2,27	0,73	
	2	2,12	2,52	2,05	0,33	
	3	3,74	0,32	4,56	1,34	
	rata2	2,54	1,13	2,96	0,80	1,86
C (24 : 0)	1	1,87	0,53	0,49	0	
	2	0,75	0	0	0	
	3	1,30	0	1,59	2,05	
	rata2	1,31	0,18	0,70	0,68	0,72
D (18 : 6)	1	2,63	0	1,02	1,30	
	2	0,53	0,49	0,46	1,59	
	3	3,23	2,22	0,46	1,94	
	rata2	2,13	0,90	0,65	1,61	1,32
Rerata		2,431	0,67	1,12	0,81	1,26

Lampiran 31. Analysis of Variance (ANOVA) Laju Pertumbuhan Harian (LPH) Berat Propagul *K. alvarezii* pada Berbagai Perlakuan Fotoperiod

Sumber	db	JK	KT	F-hitung	F tabel	
					0,01	0,05
Waktu (A)	3	37,308	12,436	12,767**	4,538	2,934
Fotoperiod (B)	3	67,365	22,455	23,053**	4,538	2,934
A x B	9	55,878	6,209	6,374**	3,092	2,223
Galat	32	31,170	0,974			
Total	47	191,721				

***) Berbeda sangat nyata

Lampiran 32. Analysis of Variance (ANOVA) Laju Pertumbuhan Harian (LPH) Panjang Propagul *K. alvarezii* pada Berbagai Perlakuan Fotoperiod

Sumber	db	JK	KT	F-hitung	F tabel	
					0,01	0,05
Waktu (A)	3	23,249	7,750	7,888**	4,538	2,934
Fotoperiod (B)	3	7,469	2,490	2,534 ^{tn}	4,538	2,934
A x B	9	20,533	2,282	2,322*	3,092	2,223
Galat	32	31,440	0,983			
Total	47	82,691				

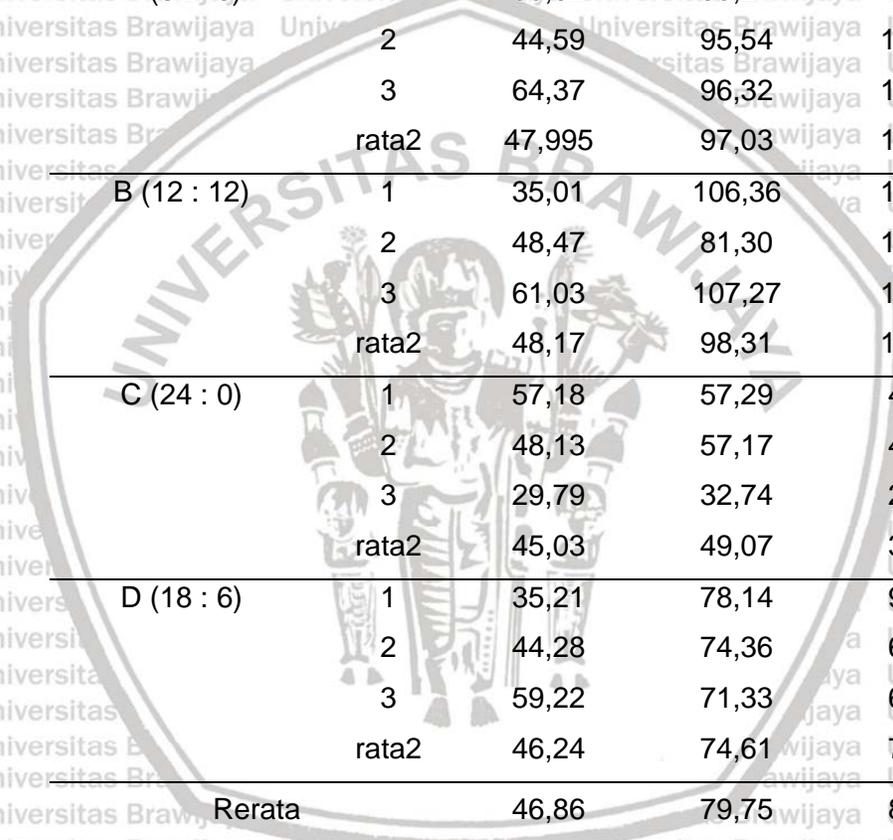
***) Berbeda sangat nyata *) Berbeda nyata ^{tn}) Tidak berbeda nyata

LAMPIRAN 33. Hasil Analisis Pengaruh Fotoperiod terhadap Kandungan Klorofil a Propagul *K. alvarezzi* Hasil Kultur Jaringan

Fotoperiod (L: D) (Jam)	Ulangan	Waktu Pemeliharaan (Minggu ke-)			Rerata
		0	4	8	
A (6 : 18)	1	31,59	53,53	60,26	
	2	27,59	45,09	57,05	
	3	27,43	42,55	53,66	
	rata2	28,87	47,06	56,99	44,31
B (12 : 12)	1	28,49	66,87	93,43	
	2	25,02	61,54	75,91	
	3	33,64	66,93	99,25	
	rata2	29,05	65,11	89,53	61,23
C (24 : 0)	1	31,76	37,80	41,66	
	2	27,08	37,26	49,91	
	3	27,12	29,74	34,86	
	rata2	28,65	34,93	42,14	35,24
D (18 : 6)	1	33,61	53,53	74,50	
	2	24,29	51,01	64,03	
	3	29,76	51,60	73,95	
	rata2	29,22	52,05	70,83	50,70
Rerata		28,95	49,79	64,87	47,87

LAMPIRAN 34. Hasil Analisis Pengaruh Fotoperiod terhadap Kandungan Fikoeritrin Propagul *K. alvarezzi* Hasil Kultur Jaringan

Fotoperiod (L : D) (Jam)	Ulangan	Waktu Pemeliharaan (Minggu ke-)			Rerata
		0	4	8	
A (6 : 18)	1	35,02	99,24	117,73	
	2	44,59	95,54	118,87	
	3	64,37	96,32	112,71	
	rata2	47,995	97,03	116,44	87,15
B (12 : 12)	1	35,01	106,36	119,40	
	2	48,47	81,30	108,38	
	3	61,03	107,27	110,92	
	rata2	48,17	98,31	112,90	86,46
C (24 : 0)	1	57,18	57,29	45,78	
	2	48,13	57,17	40,86	
	3	29,79	32,74	28,93	
	rata2	45,03	49,07	38,52	44,21
D (18 : 6)	1	35,21	78,14	92,48	
	2	44,28	74,36	61,16	
	3	59,22	71,33	61,14	
	rata2	46,24	74,61	71,59	64,15
Rerata		46,86	79,75	84,86	70,49



Lampiran 35. Analysis of Variance (ANOVA) Kandungan Klorofil a Propagul *K. alvarezii* pada Berbagai Perlakuan Fotoperiod

Sumber	db	JK	KT	F-hitung	F tabel	
					0,01	0,05
Waktu (A)	2	7810,31	3905,16	68,917**	6,701	3,806
Fotoperiod (B)	3	3227,33	1075,78	18,987**	5,739	3,411
A x B	6	1843,49	307,25	5,427**	4.620	2,915
Galat	13	736,697	56,67			
Total	35	12887,93				

**) Berbeda sangat nyata

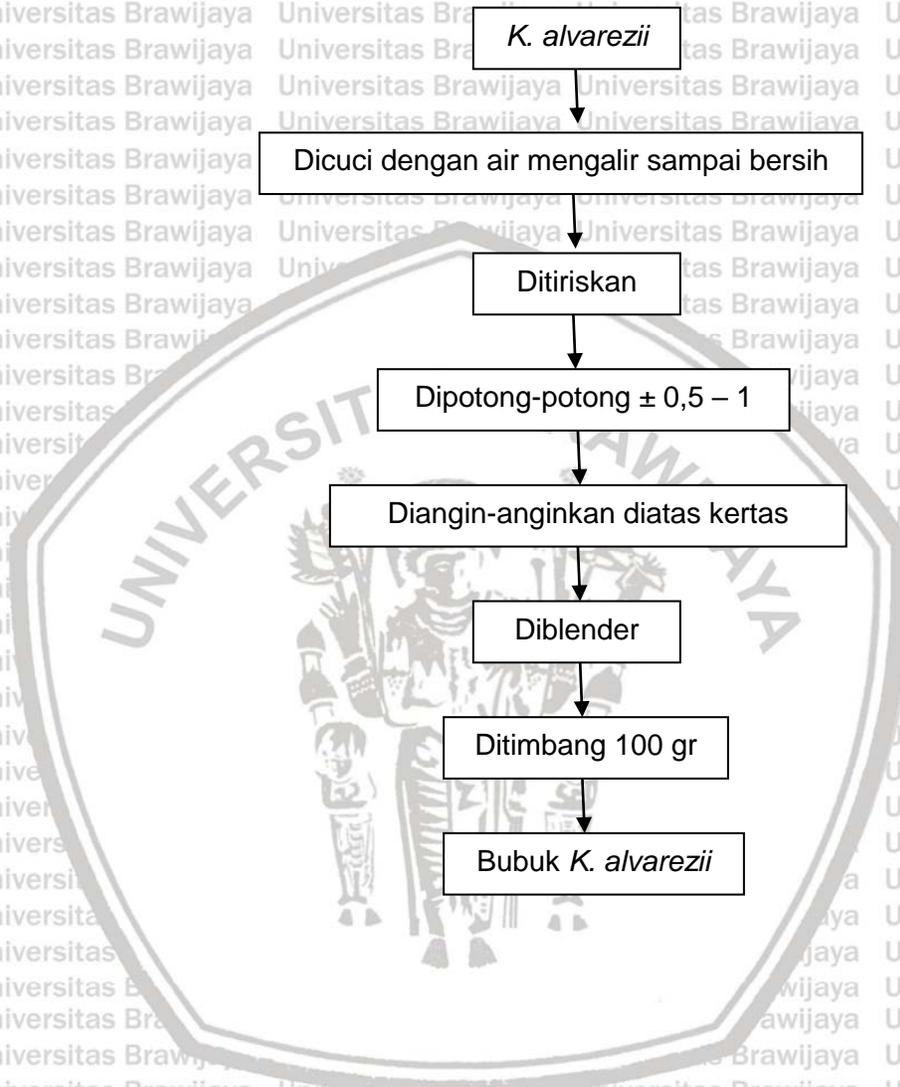
Lampiran 36. Analysis of Variance (ANOVA) Kandungan Fikoeritrin Propagul *K. alvarezii* pada Berbagai Perlakuan Fotoperiod

Sumber	db	JK	KT	F-hitung	F tabel	
					0,01	0,05
Waktu (A)	2	10209,52	5104,76	20,56**	6,701	3,806
Fotoperiod (B)	3	11374,43	3791,48	15,27**	5,739	3,411
A x B	6	5799,45	966,57	3,897*	4.620	2,915
Galat	13	3228,34	248,33			
Total	35	30611,74				

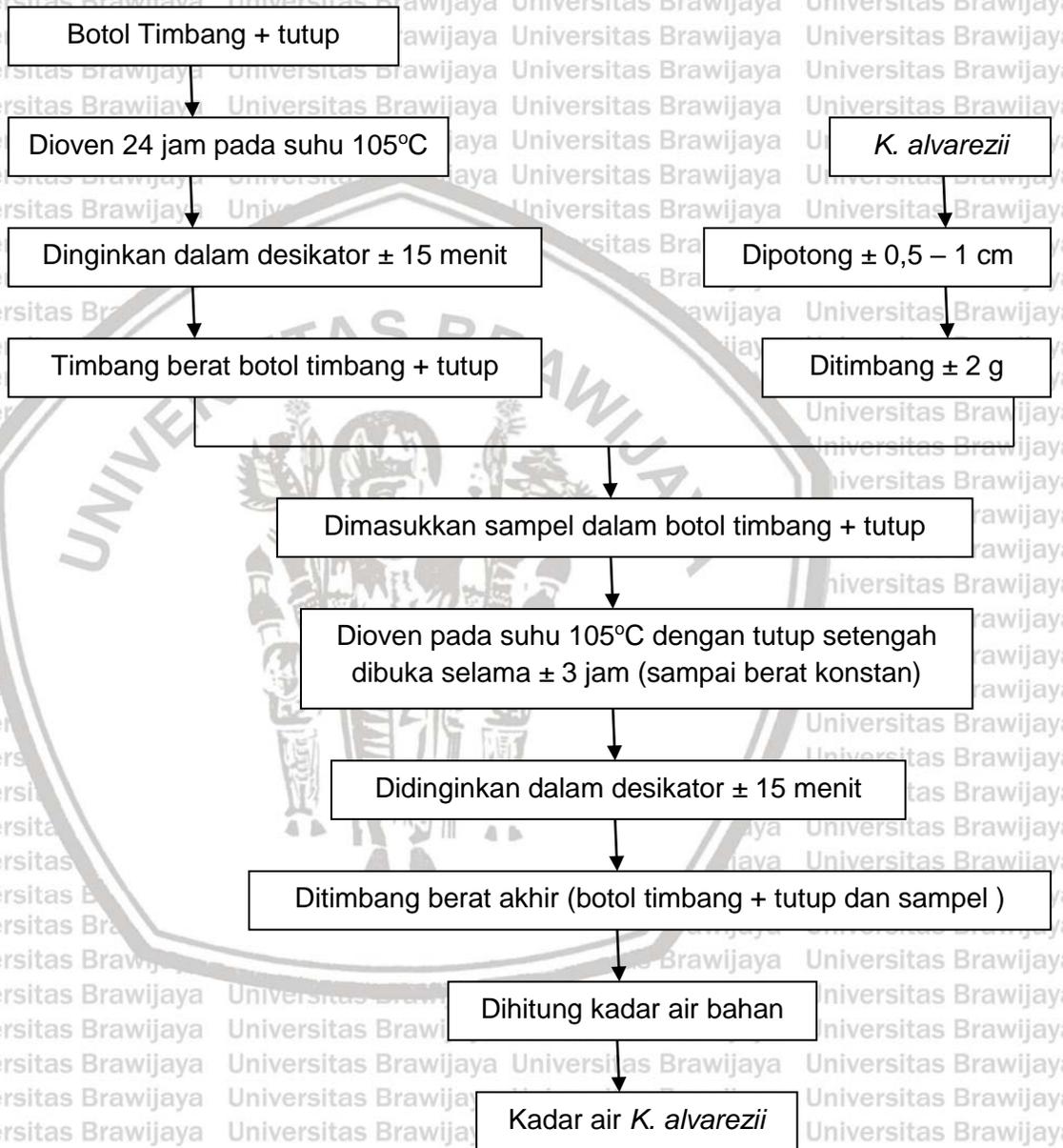
***) Berbeda sangat nyata

*) Berbeda nyata

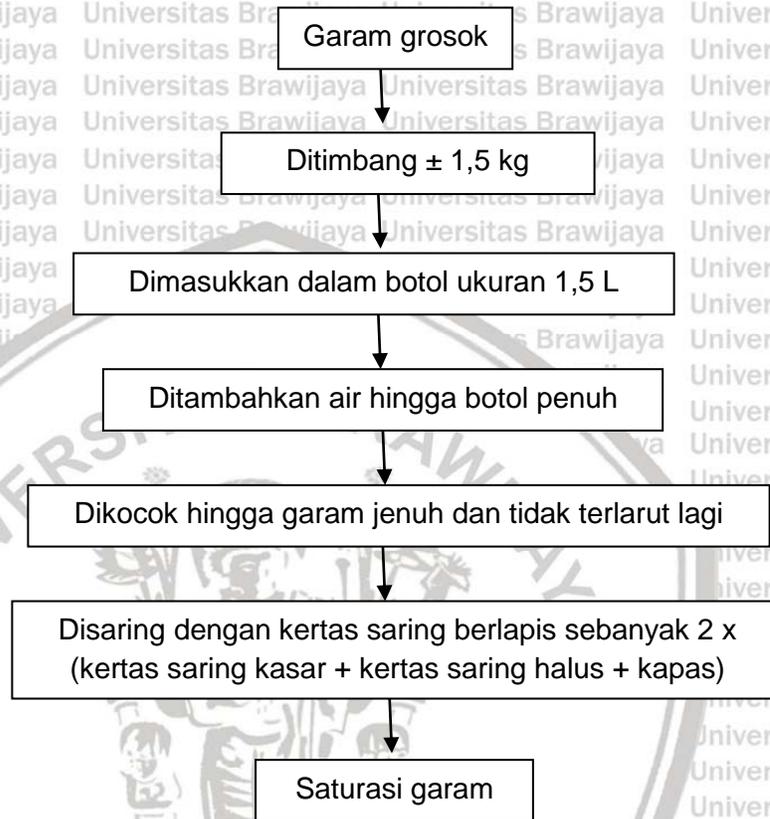
LAMPIRAN 37. Diagram alir Preparasi Sampel *K. alvarezii*



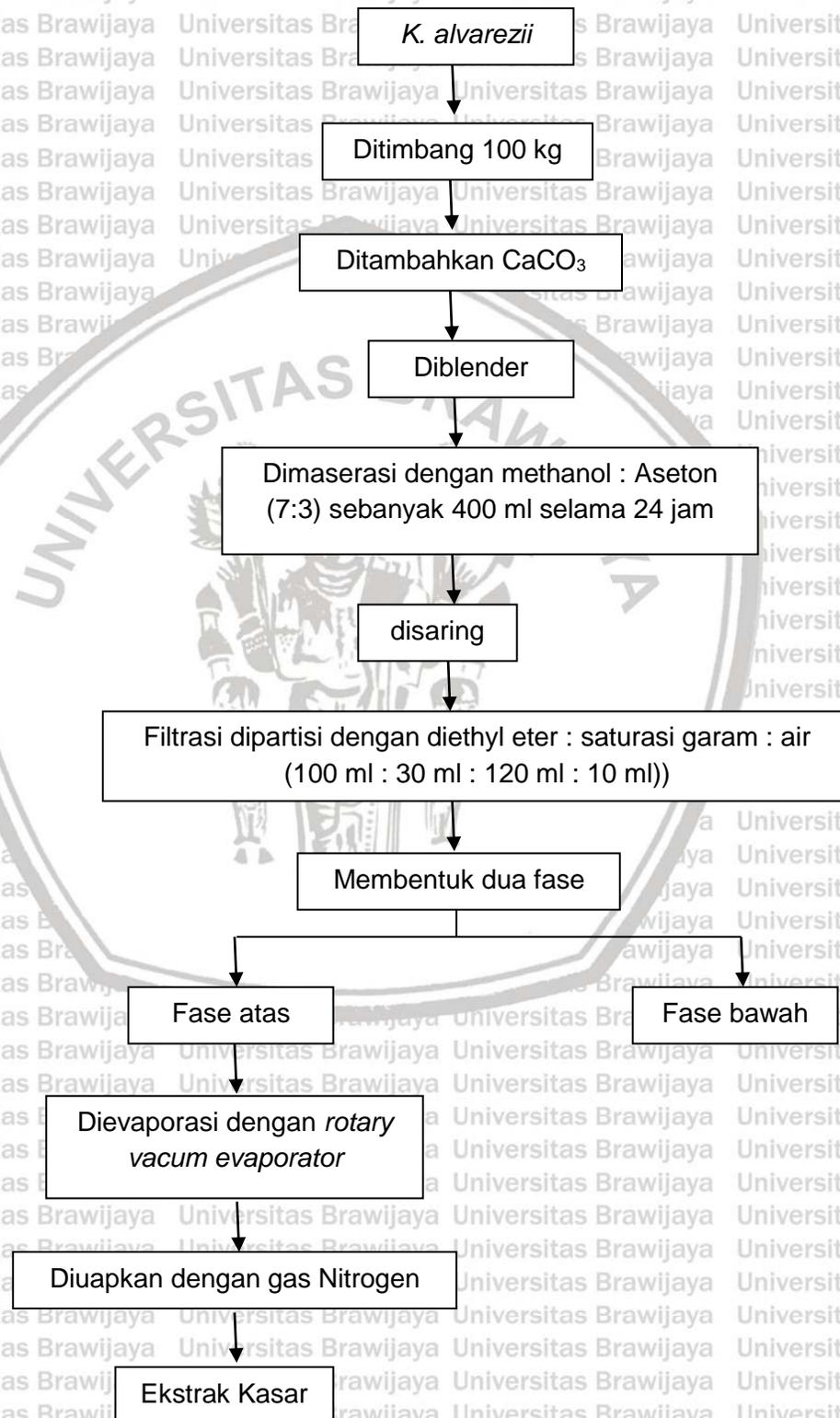
LAMPIRAN 38. Diagram Alir Analisa Kadar Air Sampel *K. alvarezii* (Winarno, 2004)



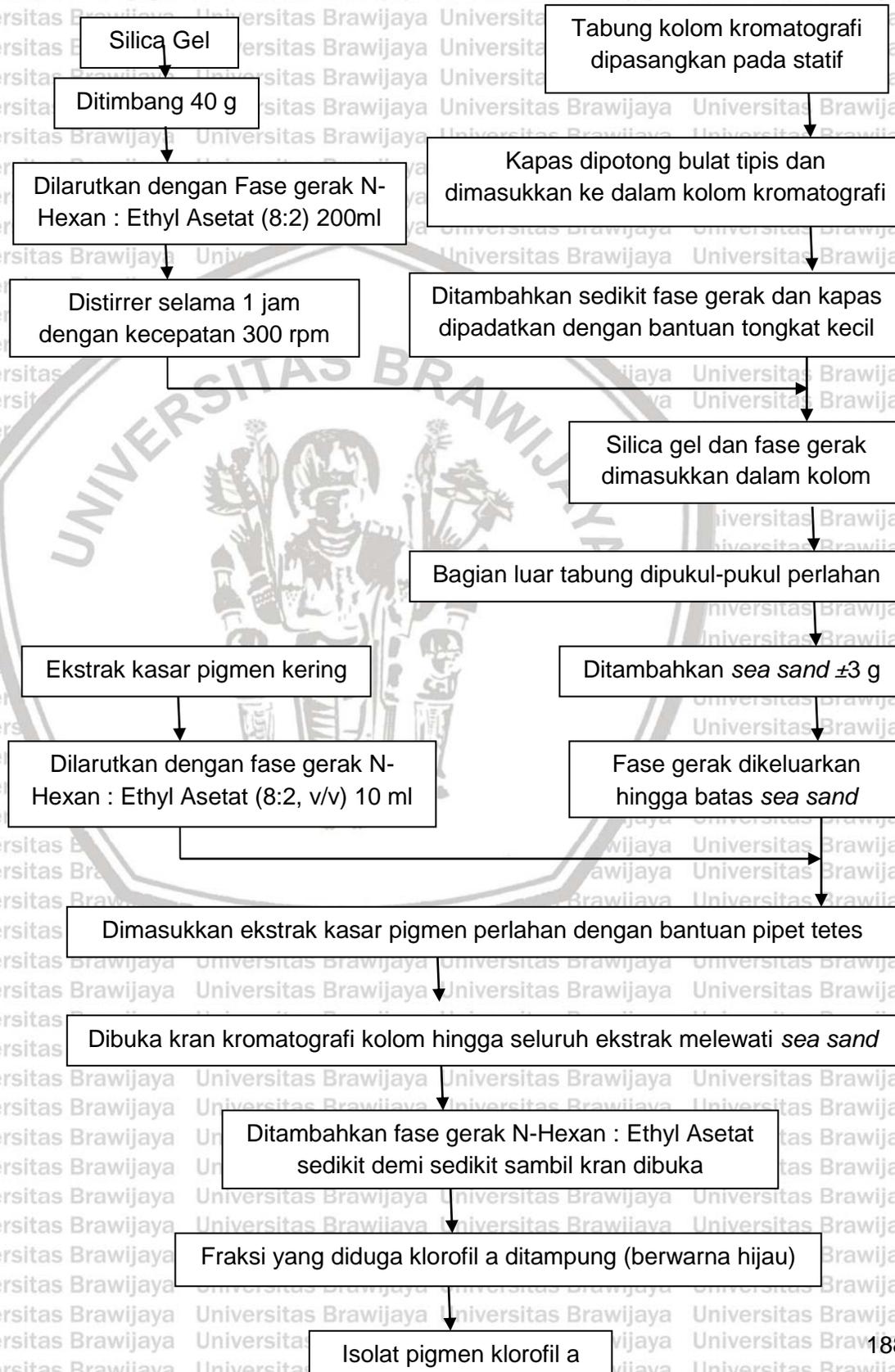
LAMPIRAN 39. Diagram Alir Pembuatan Saturasi Garam (Costa et al., 2009)



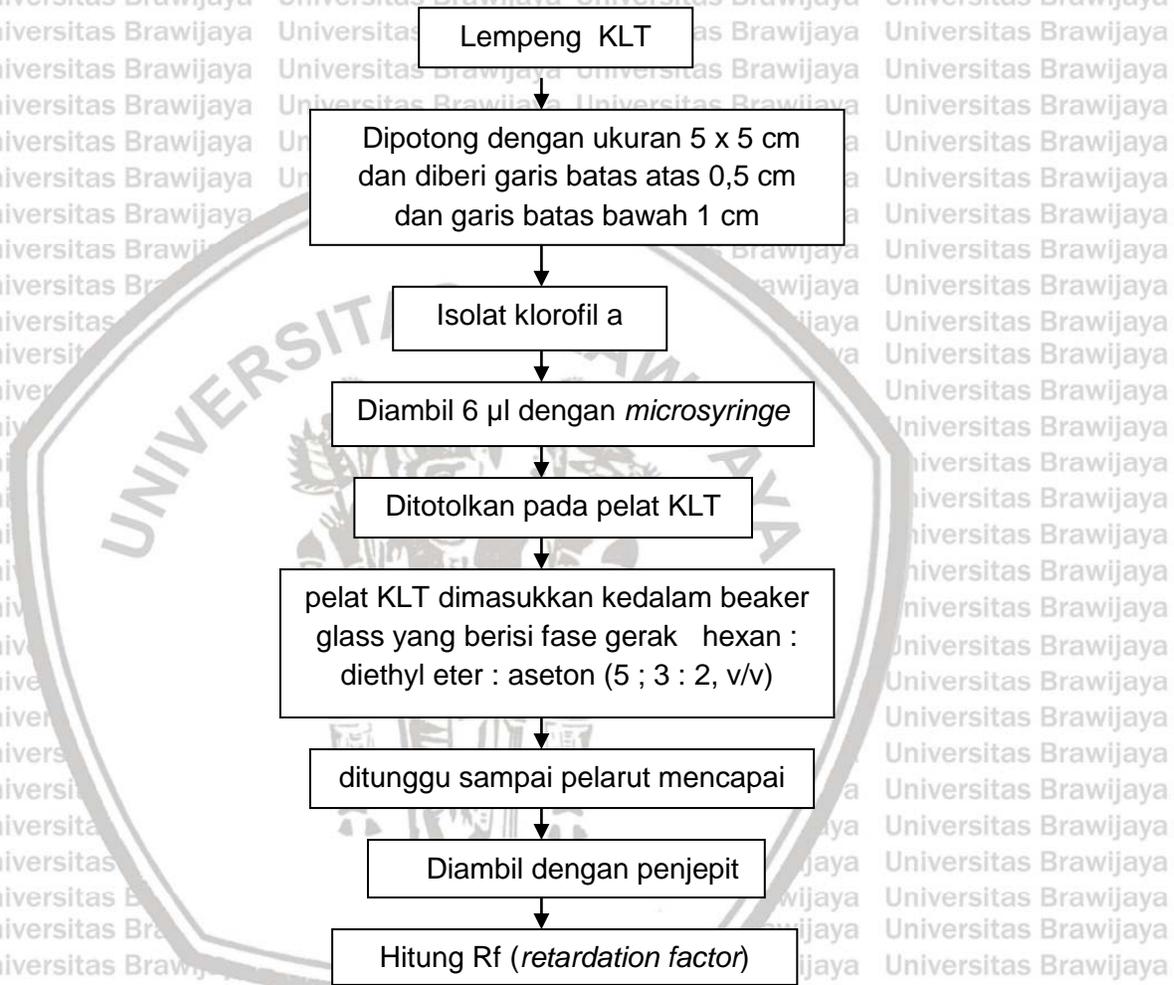
LAMPIRAN 40. Diagram Alir Proses Ekstraksi Pigmen (Modifikasi metode Costa et al., 2009)



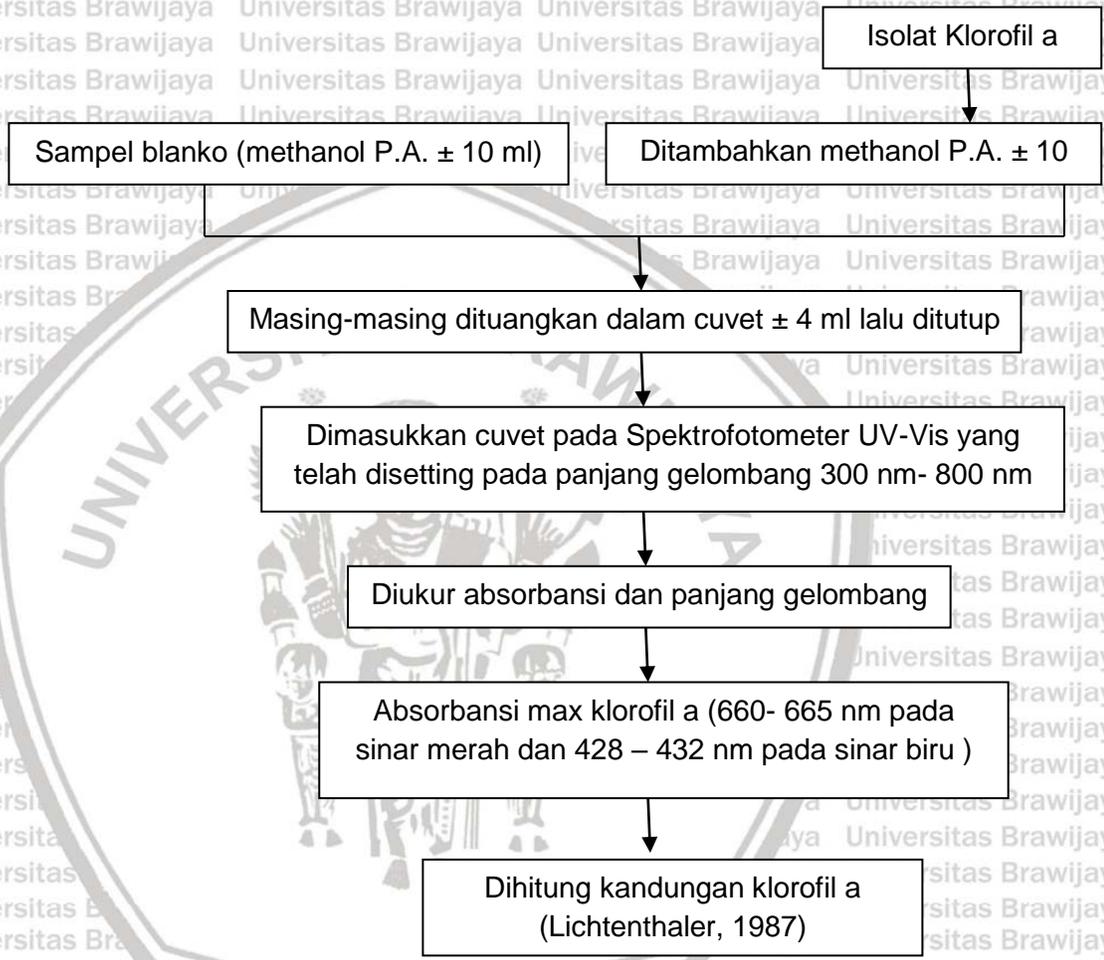
LAMPIRAN 41. Diagram Alir Isolasi Pigmen Klorofil a



LAMPIRAN 42. Diagram Alir analisa Pigmen Klorofil a dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

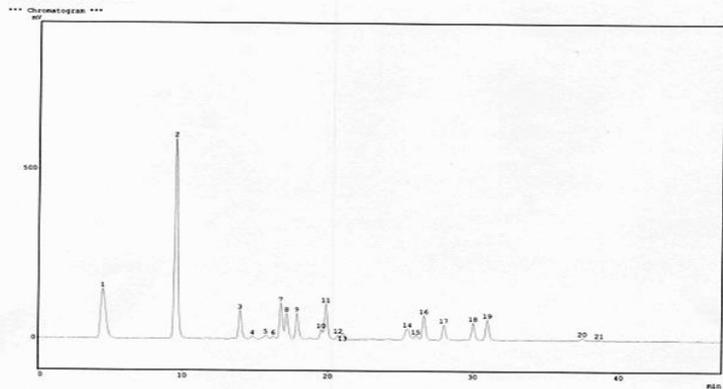


LAMPIRAN 43. Diagram Alir analisa Pigmen Klorofil a dengan Spektrofotometer UV-Vis



LAMPIRAN 44. Perhitungan hasil Analisa Asam Glutamat dengan menggunakan HPLC

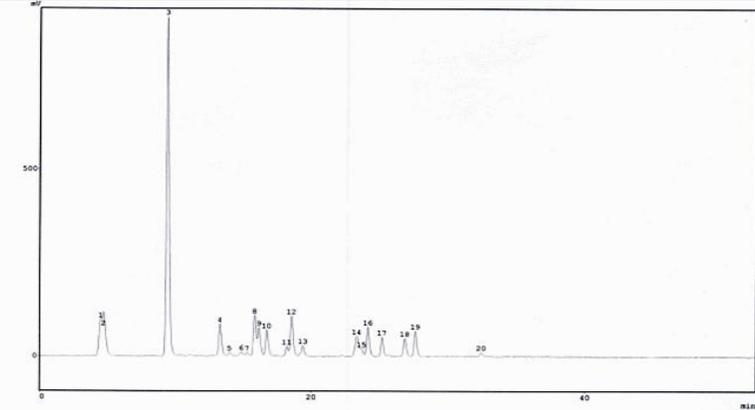
Perlakuan Fotoperiod A (18:6)



PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	NAME
2	4.562	233913	14623	Aspartat
3	5.314	890307	56206	Glutamat
4	13.324	187426	6205	Glisin
6	14.205	14245	477	HISTIDIN
8	18.517	46134	1539	
9	18.134	183935	10490	GILAIN
10	17.134	137923	7474	Threonin
11	18.009	105937	7619	Arginin
12	19.511	156507	7021	Alanin
13	20.087	116802	3233	Lysin
14	20.687	148216	11734	Tyrosin
15	21.058	150589	12441	Tyrosin
16	25.479	70446	3440	Methionin
17	26.060	128776	14926	
18	26.596	1039734	71114	VALIN
19	27.888	128748	43370	Phenylalanin
20	30.943	109730	49885	Isoleusin
21	37.484	64580	6611	Leusin
22	38.441	10437	2723	Lysin

$$\% \text{ As. glutamat} = \frac{8903007}{24165882} \times 100\% = 36,84\%$$

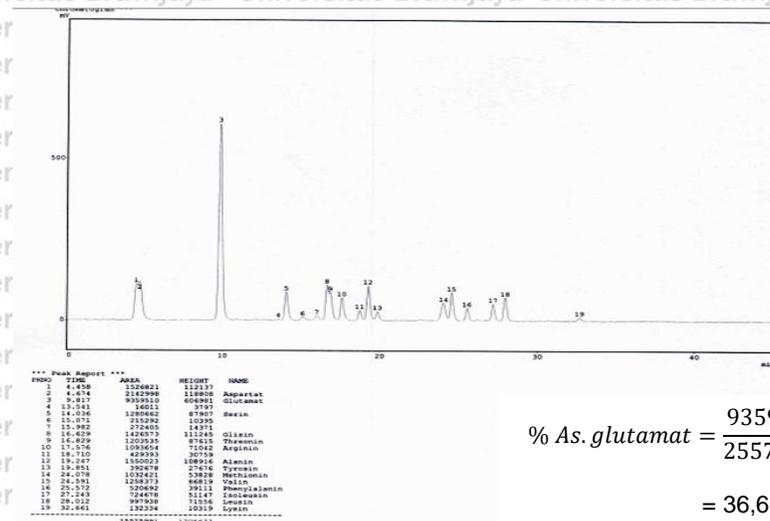
Perlakuan Fotoperiod B (12:12)



PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	NAME
2	4.506	1326001	97498	
3	4.721	1205565	118154	Aspartat
4	13.320	12849634	968026	Glutamat
6	14.207	1245138	63149	Glisin
8	14.879	119020	8331	HISTIDIN
9	15.302	8709	712	
10	18.517	1487960	107756	GILAIN
11	18.184	128547	7442	Threonin
12	18.740	990215	49523	Arginin
13	19.511	30960	2536	Alanin
14	18.504	1580683	107572	Alanin
15	19.389	44137	2900	Tyrosin
16	23.348	1044169	53210	Tyrosin
17	23.708	238680	12144	Methionin
18	24.164	1152145	78432	Valin
19	25.211	667617	50686	Phenylalanin
20	26.897	481717	47432	Isoleusin
21	27.466	98241	47373	Leusin
22	32.519	121439	9813	Lysin

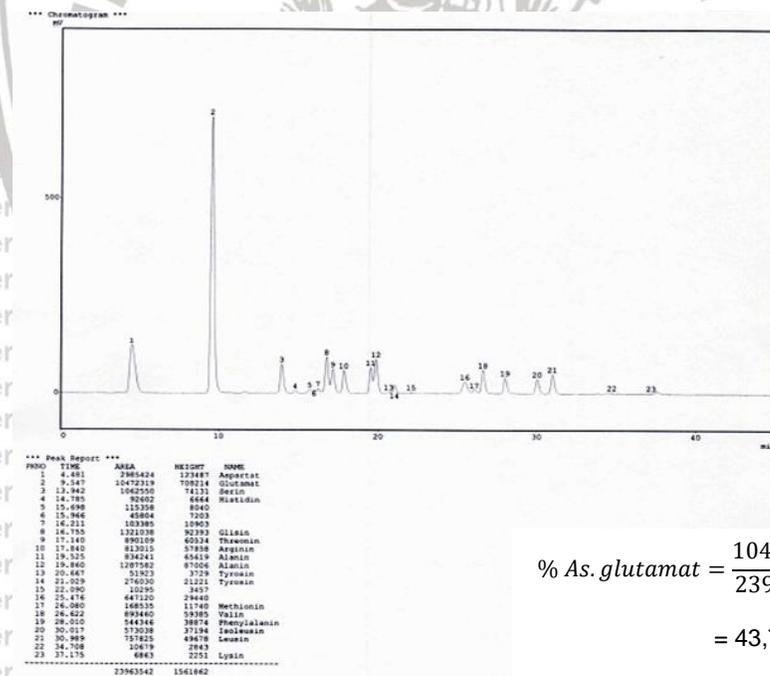
$$\% \text{ As. glutamat} = \frac{12849634}{28666472} \times 100\% = 44,82\%$$

Perlakuan Fotoperiod C (24)



$$\% \text{ As. glutamat} = \frac{9359510}{25575691} \times 100\% = 36,60\%$$

Perlakuan Fotoperiod D (6:18)



$$\% \text{ As. glutamat} = \frac{10472319}{23963542} \times 100\% = 43,70\%$$

LAMPIRAN 45. Perhitungan Hasil Analisa Kadar Air

Sampel	Ulangan	Botol timbang	Botol timbang +sampel awal	Botol timbang +sampel akhir	Kadar air	Rata-rata kadar air
K. <i>alvarezii</i>	1	73,388	74,6427	73,554	86,77%	87,05%
	2	72,915	74,0717	73,065	87,03%	
	3	73,952	75,1859	74,108	87,36%	

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{B - C}{B - A} \times 100\%$$

Keterangan :

- A = berat botol timbang (g)
- B = berat botol timbang + sampel awal (g)
- C = berat botol timbang + sampel kering (g)

Ulangan 1

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{74,6427 - 73,554}{74,6427 - 73,388} \times 100\%$$

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{1,0887}{1,2547} \times 100\%$$

$$\% \text{ Kadar air} = 86,7697\%$$

Ulangan 2

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{74,0717 - 73,065}{74,0717 - 72,915} \times 100\%$$

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{1,0067}{1,1567} \times 100\%$$

$$\% \text{ Kadar air} = 87,0321\%$$

Ulangan 3

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{75,1859 - 74,108}{75,1859 - 73,952} \times 100\%$$

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{1,0779}{1,2339} \times 100\%$$

$$\% \text{ Kadar air} = 87,3572\%$$

LAMPIRAN 46. Perhitungan Nilai Randemen Ekstrak Pigmen Klorofil a

Sampel	Ulangan	Bobot bahan yg diekstrak (g)	Bobot Ekstrak Murni (g)	Kadar air sampel	Randemen	Rata-rata randemen
K. alvarezii	1	100	0,2905	86,77%	2,1957%	2,1056%
	2	100	0,2618	87,03%	2,0185%	

$$\% \text{ Randemen} = \frac{W}{W_0 \times (1 - \text{Kadar air})} \times 100\%$$

Keterangan : W = bobot ekstrak murni (g)
 W₀ = bobot bahan yang diekstrak (g)

Ulangan 1

$$\% \text{ Randemen} = \frac{0,2905}{100 \times (1 - 0,8677)} \times 100\%$$

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{0,2905}{13,23} \times 100\%$$

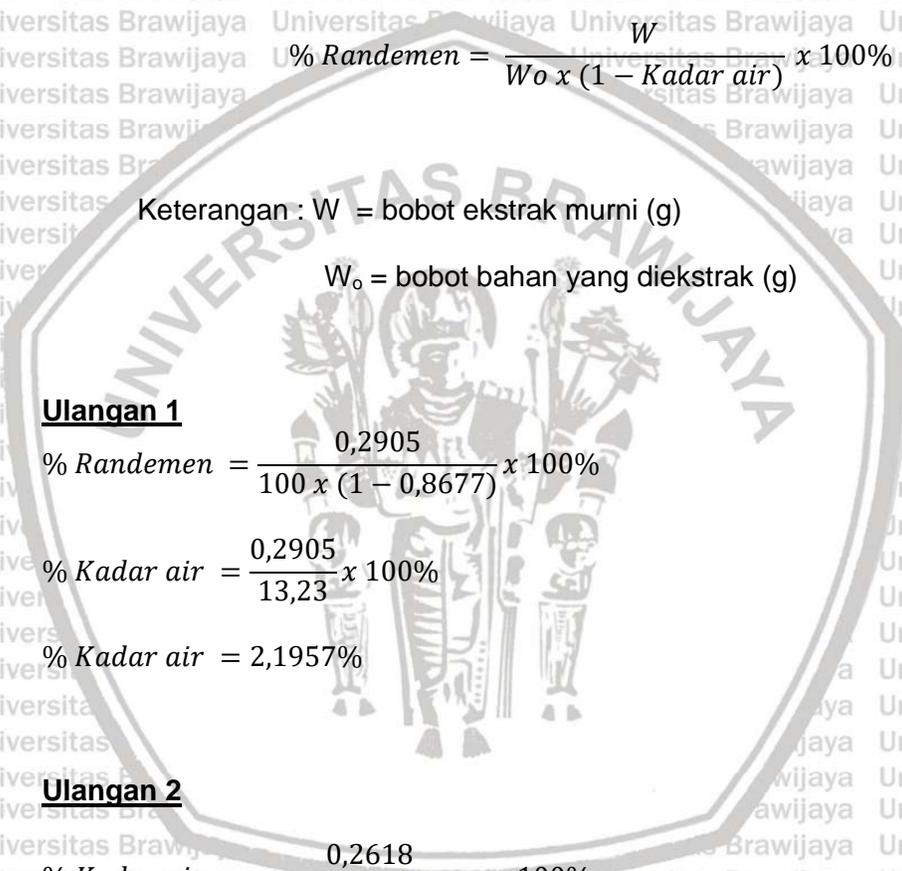
$$\% \text{ Kadar air} = 2,1957\%$$

Ulangan 2

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{0,2618}{100 \times (1 - 0,8703)} \times 100\%$$

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{0,2618}{12,97} \times 100\%$$

$$\% \text{ Kadar air} = 2,0185\%$$



Lampiran 47. Standar pengukuran nitrogen pada rumput laut *Kappaphycus alvarezii* (Kjeldahl Method) (Aoac,1980).

Reagen yang digunakan:

1. Asam Sulfat Pekat
2. Campuran Selenium
3. 50% Larutan NaOH (setiap 100 ml 50% NaOH + 25ml 8% Sodium tiosulfat ditambahkan sebelum digunakan)
4. 2% Asam Boric
5. 0.01 N HCl
6. Indikator (larutkan 80 ml 0.1% metilen merah dalam 95% ethanol dengan 20 ml 0.1% larutan BCG dalam ethanol 95% atau 0.08 gr MR+0.02 gr *Methylene Blue* dalam 100 ml ethanol)

Prosedur kerja yang dilakukan:

1. Sampel sebanyak 0.2-0.3 gram ditimbang dan dimasukkan ke dalam labu kjeldahl.
2. Campuran selenium ditambahkan dan dicampur dengan 20 ml H₂SO₄ (p)
3. Kemudian ditempatkan di saluran pencampuran sampai larutan menjadi jernih.
4. Secara hati-hati tambahkan air akuades sampai tanda ukur (120ml)
5. Setiap 5 ml sampel diambil dengan pipet dan ditambahkan pada alat penyaring.
6. Larutan NaOH 10 ml ditambahkan ke alat ukur dan dibilas dengan air akuades.
7. Tabung erlenmeyer 100 ml terdiri dari 5 ml asam boric dengan indicator dan ditempatkan dibawah outlet kondensor sampai 30 ml.
8. Larutan yang telah tersaring dititrasi dengan 0.01 N HCl sampai warna berubah dari hijau menjadi pink.
9. Preparasi blanko memiliki prosedur yang sama dengan di atas tanpa menggunakan sampel.

$$\text{Perhitungan : \%N} = \frac{(\text{Volume titration sample} - \text{Blanko}) \times 14 \times \text{Normality HCl} \times 24 \times 100}{\text{Weight of sample (mg)}}$$

Lampiran 48. Prosedur analisa asam glutamat dengan HPLC

HPLC SHIMADZU LC 10 A

KOLOM : Merck LiChrospher 100 RP -18 (5um)

DETEKTOR : WATERS 470

ELUEN : A. 50 mM natrium asetat dan sodium dibasic fospat : THF : Methanol (96:2:2) PH.6,8

B. 65 % Methanol

Gradien eluen :

T	A	B
0,1	100%	0
2	100%	0
35	0	100%
40	Stop	

Flow : 1,5 ml/mnt

Cara preparasi : Sampel (A,B,C,D,E) 100 mg + 4 ml HCl 6N direfluks selama 24 jam dengan suhu

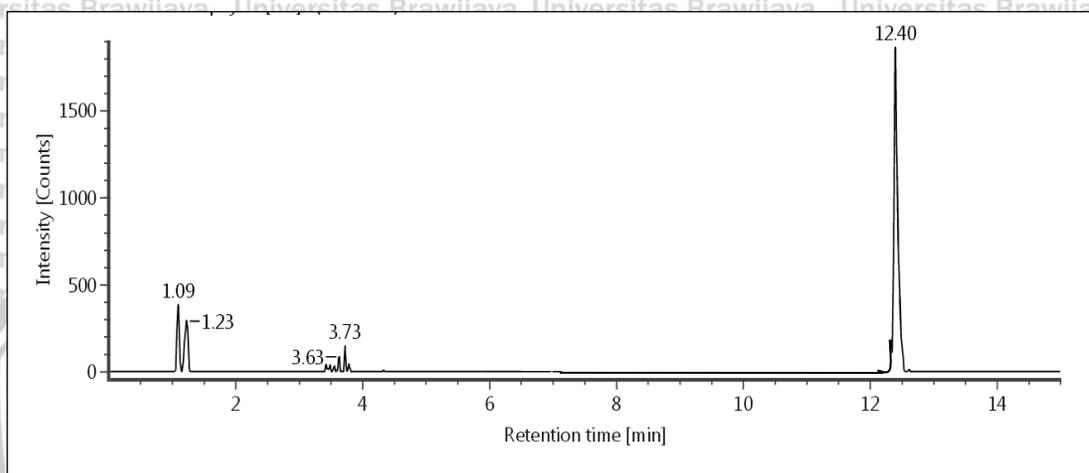
110 C

Dinginkan dan netralkan dengan NaOH 6 N sampai PH 7 dan saring dengan kertas wattman 0.2 um.

Ambil sampel 10 uL ditambah dengan OPA 300 uL dan diinjeksikan ke HPLC

Sebanyak 20 ul.

Lampiran 49. Retention Time Hasil Analisis Ekstrak Klorofil a Propagul K. *alvarezzi* Hasil Kultur Jaringan dengan LCMS



LAMPIRAN 50. Dokumentasi Kegiatan Penelitian

1. Persiapan Bahan



Bibit kalus *Eucheuma cottonii* yang akan dikulturkan



Proses aklimatisasi bibit sebelum digunakan (\pm 1 minggu)



Air laut steril (\pm 500 ml) yang akan digunakan sebagai media kultur pada pemeliharaan 0 – 5 minggu



Air laut steril (\pm 1000 ml) yang akan digunakan sebagai media kultur pada pemeliharaan 6-8 minggu



Pupuk PES yang digunakan sebagai sumber nutrisi



Alkohol yang akan digunakan untuk sterilisasi pada saat pergantian air kultur

2. Persiapan Alat



Peralatan yang digunakan ketika pergantian media air setiap minggu



Ruang steril untuk pergantian media air kultur



Mikropipet yang digunakan untuk pemberian pupuk pada media kultur



Selang aerasi untuk botol duran selama proses kultur



Alat sterilisasi media dan peralatan kultur



Autoclave untuk menyimpan peralatan yang sudah disterilkan

3. Sterilisasi Media dan peralatan kultur



Air laut dan peralatan kultur yang sudah disterilkan

Peralatan kultur yang sudah steril disimpan pada autoclave

4. Perlakuan Pemberian Pupuk pada Media Kultur



Pada tahap ini dilakukan kultur rumput laut *E. Cottonii* dengan menggunakan dua perlakuan pupuk PES, yaitu 20 mL/L (kanan) dan 40 mL/L (kiri)

5. Perlakuan Intensitas Cahaya



A



B

Pada tahap ini dilakukan kultur rumput laut *E. Cottonii* dengan menggunakan dua perlakuan intensitas cahaya, yaitu 1300 lux (A) dan 1900 lux (B)

6. Perlakuan Fotoperiod



Pada tahap ini dilakukan kultur rumput laut *E. Cottonii* dengan menggunakan empat perlakuan fotoperiod, yaitu Perlakuan A (8 jam terang : 16 jam gelap), Perlakuan B (12 jam terang : 12 jam gelap), Perlakuan C (24 jam terang), Perlakuan D 16 jam terang : 8 jam gelap)



Pengaturan fotoperiod diatur dengan menggunakan timer yang diletakkan pada bagian samping



Kondisi rumput laut sebelum dilakukan pergantian media air setiap minggunya.

7. Hasil Pengamatan Pertumbuhan Rumput Laut *E. Cottonii*

Fotoperiod

Pengamatan minggu ke-

0 (awal)

8 (akhir)

A (6L : 18D)



B (12L : 12D)



C (24L : 0D)



D (16L : 18D)

