

KULTUR JARINGAN RUMPUT LAUT (*Gracilaria verrucosa*) DI MEDIA BERBEDA TERHADAP PERTUMBUHAN THALLUS

Gloria Ika Satriani¹⁾, Asfie Maidie²⁾, Sri Handayani³⁾, Ema Suryati⁴⁾

¹⁾FPIK Universitas Borneo Tarakan

^{2,3)}FPIK Universitas Mulawarman

⁴⁾Balai Riset Perikanan Budidaya Air Payau Maros

¹⁾Email: glosatriani@borneo.ac.id

ABSTRACT

*The aims of this experiment are to know the effect of different medium to seaweed (*G. verrucosa*) cultured in vitro expressed total number of thallus. The experiment was conducted in the Biotechnology Laboratory of Research Institute for Coastal Aquaculture (RICA) Maros, South Sulawesi. The experiment was arranged in Completely Randomized Design (CRD) with 10 replications and 4 treatments of medium, those are: Sterile Sea Water / SSW 25 ppt, Prevasoli ES Medium / PES, Agrodyke / AG, and Conwy / CW. The last analyze was Least Significant Difference (LSD) to know the best medium to support total number of thallus. The result of the experiment shows that the highest total number of thallus was achieved by SWS (3,75).*

Keywords: *Gracilaria verrucosa, tissue culture, thallus, medium*

PENDAHULUAN

Rumput laut merupakan komoditas perikanan yang potensial untuk dibudidayakan karena manfaatnya yang sangat besar bagi kehidupan manusia. Rumput laut dapat menjadi sumber pangan yang bergizi dan memiliki khasiat obat, sebagai bahan baku berbagai industri serta peranannya yang penting dalam menjaga kelestarian sumberdaya hayati perairan yaitu sebagai produsen primer perairan dan biofilter alami.

Usaha untuk meningkatkan produksi rumput laut terus diupayakan, mengingat besarnya permintaan pasar akan kebutuhan rumput laut serta

Salah satu alternatif yang dapat digunakan untuk mendukung pasok

luasnya potensi lahan budidaya yang belum tergarap secara maksimal. Rendahnya produksi rumput laut disebabkan oleh ketidaksinambungan benih dari alam yang sangat dipengaruhi pada musim. Selain itu, benih alam yang digunakan secara terus menerus akan mengalami kemerosotan mutu maupun jumlah sehingga rentan terhadap perubahan mutu lingkungan dan penyakit (Malingkas, 2002). Untuk itu upaya penyediaan bibit rumput laut yang berkesinambungan sebagai kunci awal penunjang keberhasilan dalam usaha budidaya rumput laut harus mampu memenuhi kriteria unggul baik dari segi waktu, kualitas dan kuantitas bibit yang dihasilkan.

benih rumput laut adalah melalui kultur jaringan yaitu kultur secara aseptik di

laboratorium. Kemudian diaklimatisasi di lapangan hingga siap untuk dibudidayakan secara luas (Gunawan, 1987). Menurut Suryati (2007) pertumbuhan benih rumput laut hasil *in vitro* di laboratorium lebih baik dibandingkan pertumbuhan rumput laut yang berasal dari alam.

Permasalahan yang dihadapi dalam teknik kultur jaringan *G. verrucosa* adalah adanya perbedaan respon jaringan rumput laut terhadap jenis media yang digunakan sebagai media tumbuh bagi eksplan (bagian tubuh organisme yang diisolasi untuk dikultur secara *in vitro*, yaitu potongan thallus *G. verrucosa*). Perbedaan respon ini diduga disebabkan oleh perbedaan nutrisi yang terkandung dalam media tumbuh, sehingga perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui jenis media yang paling cocok untuk mendukung kultur *in vitro* jaringan rumput laut (*G. verrucosa*).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penggunaan media kultur berbeda terhadap titik tumbuh dan panjang thallus jaringan rumput laut *G. verrucosa* yang dibudidayakan secara *in vitro*.

Memberikan informasi mengenai jenis media kultur yang optimal dalam menunjang pertumbuhan eksplan dan meningkatkan keberhasilan teknik kultur *in vitro* jaringan rumput laut (*G. verrucosa*).

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan selama kurang lebih 2 (dua) bulan di Laboratorium Bioteknologi Balai Riset Perikanan Budidaya Air Payau (BRPBAP) Maros, Sulawesi Selatan.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah, jaringan muda dari

potongan thallus rumput laut *G. verrucosa* yang kondisinya segar, sehat (berwarna hijau tua dan tidak terdapat tanda-tanda pemutihan jaringan), dan percabangannya rimbun sebagai eksplan. Rumput laut diambil di Jonggoa Desa Cikuang Kabupaten Takalar, Sulawesi Selatan. Air laut yang digunakan adalah stok air laut yang diambil dari Labuange Kabupaten Barru Sulawesi Selatan. Stok media pupuk Conwy (CW) menurut Liao (1983), media Provasoli ES Medium (PES) menurut Provasoli (1968 dalam Kuncoro 2005), media pupuk Agrodyke (AG) dan Steril Sea Water salinitas 25 ppt (SSW). Aquades untuk pengenceran air laut dan pembilasan alat. Alkohol 70% untuk sterilisasi alat dan ruangan. Aluminium foil, *wrapping plastic*, dan karet gelang untuk menutup botol kultur. Sabun cair dan HCl 10% untuk pencucian botol kultur. Bahan antibiotik dan desinfektan untuk sterilisasi eksplan secara bertingkat (Rosmiati, 2005) yaitu campuran antibiotik 0,1% (streptomycin, penicillin G, rifampicin, dan kanamicin) dan betadine 1%. Kertas timbang, kapas beralkohol, dan kertas label untuk penimbangan bahan, dan kertas tisu.

Peralatan yang digunakan antara lain ember dan lap kain bersih untuk wadah pengambilan dan pengangkutan rumput laut. Aquarium untuk wadah aklimatisasi di laboratorium, aerator, selang, dan batu aerasi. Penyaring ultrafiltrasi untuk penyaringan air laut bebas kotoran, partikel dan padatan. Hand refraktometer untuk mengukur salinitas. Alat-alat yang digunakan pada proses pembuatan media yaitu timbangan analitik (ketelitian 1 mg), spatula, gelas ukur (500 mL), gelas piala, erlenmeyer (2000 mL), hot plate stirer, dan gunting. Alat-alat yang digunakan selama proses inokulasi yaitu autoclave listrik, botol-botol kultur

(200 mL) tahan panas, hand sprayer sebagai wadah penyimpanan alkohol 70%, hand gloves, masker, cutter, pinset, cawan petri, baskom pencucian eksplan, mikropipet ukuran 1000 μ L dan 50 μ L, mikrotip, labu erlenmeyer (1000 mL), gelas ukur (1000 mL), shakker, rak kultur, lampu TL 20 Watt dengan intensitas cahaya 1500 lux, dan ruangan steril yang dilengkapi dengan pendingin ruangan (AC) yang suhunya dipertahankan 25°C.

Pelaksanaan Penelitian

1. Sterilisasi dan Preparasi Alat

Disiapkan gelas-gelas kultur ukuran 200 mL tahan panas sebanyak 40 botol, yang telah dicuci dengan menggunakan sabun cair kemudian dibilas dengan air mengalir dan HCl 10%. Setelah itu dibilas kembali dengan air mengalir hingga kesat dan bau HCl hilang. Terakhir gelas-gelas kultur tersebut dibilas dengan menggunakan aquades, kemudian dikeringanginkan. Kertas tissue, labu erlenmeyer, gelas ukur, gelas piala, cawan petri, dan bersama 40 gelas kultur yang telah dikeringanginkan, ditutup aluminium foil dan disterilisasi kering menggunakan oven pada temperatur 180°C selama 2 jam. Kemudian alat-alat yang telah disterilisasi kering tersebut disimpan ke dalam inkubator dengan suhu 40°C selama alat-alat tersebut belum digunakan untuk menjaga kondisi steril untuk alat (Dwijoseputro, 1994).

Preparasi yaitu penyiapan media kultur berupa air laut steril (SSW) dengan salinitas 25 ppt melalui pengenceran air laut stok 34 ppt (yang sudah disaring menggunakan ultrafiltrasi) kemudian disterilkan menggunakan autoclave pada temperature 120°C, tekanan uap 1,5 kg/cm² selama 15 menit (Hadioetomo, 1985).

2. Pembuatan Media

Bahan makro dan mikro ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik, kemudian masing-masing bahan dilarutkan dalam aquades steril dan dihomogenkan dengan menggunakan hot plate dan stirer. Masing-masing larutan stok disimpan dalam botol penyimpanan dan diberi label, dan sebaiknya disimpan dalam rak khusus untuk penyimpanan dan ditempatkan pada ruangan bersuhu 25°C, agar larutan stok yang telah dibuat tidak rusak dan tahan lama.

3. Inisiasi

Inisiasi adalah pengambilan eksplan dari bagian tanaman yang akan dikultur secara *in vitro*, diawali dengan pencucian tanaman (*G. verrucosa*) yang berasal dari alam dengan air laut bersih 25 ppt hasil penyaringan alat ultrafiltrasi hingga partikel-partikel dan kotoran yang menempel pada rumput laut hilang terbilas. Aklimatisasi rumput laut di laboratorium dilakukan 24 jam, kemudian dilakukan pemotongan jaringan tanaman yang telah diseleksi, yaitu dipilih thallus muda yang segar dan memiliki percabangan yang banyak.

Thallus dipotong seragam dengan ukuran 1 cm menggunakan cutter steril, dan diletakan dalam baskom bersih berisi air laut 25 ppt steril sebanyak 400 eksplan rumput laut (*G. verrucosa*) kemudian dilanjutkan dengan proses sterilisasi dan penanaman ke dalam media.

4. Sterilisasi eksplan

Proses sterilisasi dilakukan secara bertingkat dengan metode penggojogan. Penggojogan pertama eksplan direndam dalam larutan antibiotik 0,1% selama 3 menit. Larutan antibiotik dibuat dengan menimbang masing-masing 0,2 gram streptomycin, penicillin G, rifampicin, dan kanamicin yang kemudian dicampur ke dalam 200 mL air laut steril 25 ppt. Dilanjutkan

dengan pembilasan lagi menggunakan air laut steril sampai larutan antibiotik terbilas.

Penggojogan kedua eksplan direndam dalam 1% betadine selama 3 menit. Larutan betadine dibuat dengan melarutkan 2 mL betadine dalam 200 mL air laut steril 25 ppt. Dilanjutkan dengan pembilasan lagi menggunakan air laut steril sampai larutan betadine terbilas. Usahakan kondisi kesegaran eksplan terus terjamin selama waktu proses penanaman dengan tetap merendam eksplan dalam air laut steril 25 ppt.

5. Penanaman Eksplan (Inokulasi)

Teknik kultur yang digunakan dalam penelitian ini adalah teknik kultur meristem. Eksplan yang telah disterilisasi siap untuk ditanam dalam media kultur. Proses inokulasi dilaksanakan pada ruangan steril untuk mencegah kontaminasi mikroba yang dapat menghambat pertumbuhan eksplan dalam media kultur. Eksplan diambil dengan menggunakan pinset steril dengan cermat dan hati-hati agar tidak melukai jaringan yang akan dikultur. Setiap botol kultur yang telah berisi media kultur ditanam 10 eksplan. Botol-botol berisi eksplan tersebut diletakkan pada shaker yang disusun pada rak kultur dengan pencahayaan lampu TL 1500 lux dan bersuhu ruang 25°C.

Seminggu sekali dilakukan penggantian media. Hal ini untuk mencegah kekurangan nutrisi namun harus segera diwaspadai, apabila terjadi pemutihan eksplan, dan kekeruhan media, maka harus segera diambil tindakan penyelamatan dengan membuang eksplan yang putih, dan sesegera mungkin menggantinya dengan media yang baru. Namun, eksplan yang kurang dari atau sama dengan 50% bagian jaringannya mengalami pemutihan masih mampu

diselamatkan, dengan cara membuang bagian yang memutih, dan sisanya yaitu jaringan yang masih sehat, dapat tetap diinokulasi.

6. Pengamatan dan Pencatatan Data

Pengamatan yang dilakukan dengan mengambil data tingkat kelangsungan hidup eksplan (per minggu), jumlah titik tumbuh dan panjang thallus (per minggu), serta data penunjang berupa uji kualitas air; setiap 2 minggu untuk mengetahui kandungan amoniak, nitrat, nitrit dan fosfat terlarut.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan 4 perlakuan media berbeda yaitu SSW sebagai kontrol, CW, PES dan AG dengan masing-masing perlakuan memiliki ulangan sebanyak 10 kali, sehingga terdapat 40 satuan percobaan. Percobaan ini dilaksanakan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL).

Analisis Data

Analisis varians (Anova) dilakukan untuk mengetahui pengaruh media terhadap jumlah eksplan yang hidup, jumlah thallus yang tumbuh, dan panjang thallus pada jaringan eksplan rumput laut, *G. verrucosa* dengan selang kepercayaan 95% dan 99% (Gaspersz, 1994). Jika terdapat perbedaan antar perlakuan dilanjutkan dengan uji BNT.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan analisis varians (Anova) menunjukkan bahwa perlakuan media berbeda yaitu media SSW, media PES, media AG dan media CW memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap jumlah thallus yang tumbuh disajikan pada tabel 1 berikut ini.

Tabel 1. Pengaruh media kultur berbeda terhadap jumlah titik tumbuh (thallus) eksplan rumput laut, *G. verrucosa* akhir penelitian umur 6 minggu

Ulangan	Perlakuan			
	SSW	CW	PES	AG
1	4,2	0,7	1,6	0,5
2	4,5	0,5	0,7	0,4
3	4,4	0,7	0,8	0
4	2,6	0	0,6	0,3
5	3,7	0	0,2	0,5
6	3,5	0	1,4	0,4
7	3,5	0,5	2,9	0
8	3,5	0	1,2	0,4
9	3,4	0,6	2,6	1,0
10	4,2	0	0,3	0
Total	37,5	3,0	12,3	3,5
Rata-rata	3,75	0,30	1,23	0,35

Hasil analisis ragam nyata ($P < 0,01$) terhadap jumlah titik menunjukkan bahwa perlakuan media tumbuh eksplan rumput laut, *G. verrucosa* kultur memberi pengaruh yang sangat

Tabel 2. Perbedaan antar perlakuan terhadap jumlah titik tumbuh (thallus) eksplan rumput laut, *G. verrucosa* akhir penelitian umur 6 minggu berdasarkan uji BNT

Perlakuan	Rata-rata	Beda dengan				BNT	
		SSW	PES	AG	CW	0,05	0,01
SSW	3,75					0,5426	0,7260
PES	1,23	2,52**					
AG	0,35	3,40**	0,88**				
CW	0,30	3,45**	0,93**	0,05 ^{tn}			

tn = tidak berbeda nyata pada taraf 0,05

* = berbeda nyata pada taraf 0,05

** = berbeda sangat nyata pada taraf 0,01

Hasil uji BNT di atas menunjukkan bahwa perlakuan media SSW berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) dengan media PES, AG, dan CW. Perlakuan media PES berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) dengan media AG dan CW. Perlakuan media AG tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) dengan media CW.

Kualitas Air dan Cahaya

Hasil uji kualitas air menunjukkan bahwa kualitas air media kultur adalah sesuai untuk menunjang pertumbuhan eksplan rumput laut, *G. verrucosa*. Demikian pula untuk intensitas cahaya yang digunakan, adalah sesuai untuk menunjang pertumbuhan eksplan rumput laut yang dibudidayakan secara *in vitro*.

Tabel 3. Data kimia kualitas air dan intensitas cahaya

Kandungan	Media			
	SSW	PES	AG	CW
Amoniak (mg/L)	0,0547	0,0486	0,0500	0,0955
Nitrat (mg/L)	0,2610	0,9124	0,8097	1,2915
Nitrit (mg/L)	0,0103	0,5150	0,0798	0,1909
Phospat (mg/L)	0,0250	0,5841	0,3738	2,1543
Intensitas Cahaya (lux)	1500	1500	1500	1500

Sumber: Data primer yang diolah

PEMBAHASAN

Jumlah thallus yang tumbuh pada masing-masing eksplan rumput laut (*G. verrucosa*) dihitung berdasarkan banyaknya titik tumbuh yang muncul untuk setiap eksplan yang dikultur secara *in vitro*. Adapun dari hasil pengamatan menunjukkan waktu pertama kali muncul titik tumbuh pada eksplan yang dikultur, yaitu saat berumur 12 hari pemeliharaan secara *in vitro*.

Berdasarkan hasil pengamatan, jumlah tunas yang muncul dipengaruhi oleh banyaknya eksplan yang mampu bertahan hidup. Semakin banyak jumlah eksplan mengakibatkan semakin banyak jumlah titik tumbuh. Jumlah rata-rata thallus untuk setiap eksplan pada akhir penelitian yaitu umur 6 minggu adalah SSW (3,75 mata tunas), PES (1,23 mata tunas), AG (0,35 mata tunas), dan CW (0,30 mata tunas).

Perlakuan media SSW memperlihatkan jumlah thallus tertinggi (3,75). Hal ini disebabkan karena di dalam media SSW terdapat kandungan mikroelemen esensial yang komplit dan komposisi yang optimal memenuhi kebutuhan eksplan rumput laut, *G. verrucosa* sehingga merangsang munculnya titik tumbuh. Sesuai dengan pendapat Kuncoro (2005) bahwa mikroelemen, mikronutrien, ataupun trace elemen, merupakan zat yang diperlukan oleh rumput laut dalam kadar yang sangat sedikit. Keberadaan mikroelemen esensial tidak dapat

diabaikan walaupun jumlahnya sangat kecil karena berkaitan erat dengan kemampuan regenerasi sel, sedangkan dalam jumlah yang besar akan bersifat racun. Salah satu mikroelemen esensial di dalam media SSW adalah unsur besi (Fe), yang diduga jumlahnya sudah optimal merangsang munculnya titik tumbuh bagi eksplan rumput laut, *G. verrucosa*. Hal ini didukung oleh pendapat Lakitan (1993) yang menyatakan bahwa besi adalah unsur hara esensial sebagai bagian dari enzim-enzim yang berfungsi sebagai pembawa elektron pada fotosintesis dan respirasi.

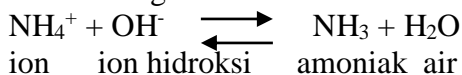
Kualitas Air dan Intensitas Cahaya

Hasil uji kualitas air menunjukkan kandungan nitrat dan fosfat yang mencukupi untuk menunjang pertumbuhan eksplan rumput laut, *G. verrucosa*. Chu (1963 dalam Malingkas 2005) menyatakan bahwa setiap alga mempunyai kebutuhan nitrogen yang berlainan untuk pertumbuhan optimumnya, dimana pertumbuhan optimum pada konsentrasi nitrat 0.9-3.5 ppm. Pada konsentrasi 0.1 ppm ke bawah pengaruh pembatasan nitrogen terjadi, sedangkan 45 ppm ke atas pengaruh penghambatan mulai nampak.

Kuncoro (2005) menyatakan kandungan fosfat 0.05 mg/L merupakan batas terendah bagi lingkungan *in vitro* untuk organisme karena fosfat yang mengandung fosfor dan oksigen juga sangat diperlukan bagi organisme hidup. Menurut Nugroho (2004) bahwa

fosfor berperan sebagai komponen ATP dan asam nukleat.

Kuncoro (2005) menyatakan hasil akhir produksi protein adalah amonium (NH_4). Adapun perubahan NH_4 menjadi NH_3 (amoniak) melalui reaksi sebagai berikut:



Nitrat tidak sebahaya nitrit maupun amoniak, sehingga kandungan nitrit dan amoniak harus lebih rendah. Menurut Nugroho (2004) bahwa nitrat berguna sebagai penyusun asam amino, protein, dan asam nukleat.

Intensitas cahaya yang digunakan dalam penelitian adalah 1500 lux karena intensitas cahaya ini dianggap paling sesuai untuk menunjang pertumbuhan eksplan *G. verrucosa*, sebab pada intensitas cahaya 1500 lux energi cahaya yang diabsorpsi berada pada tingkat optimal untuk mendukung pertumbuhan panjang tunas yang terbaik (Fatanah, 1995 dalam Malingkas 2002).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian tentang kultur *in vitro* jaringan rumput laut, *G. verrucosa* di media berbeda (media Steril Sea Water/SSW 25 ppt, media Prevasoli ES Medium/PES, media Agrodyke/AG, dan media Conwy/CW) terhadap pertumbuhan optimal bagi kemunculan titik tumbuh (pertumbuhan thallus) eksplan rumput laut, *G. verrucosa* ialah media SSW (3,75 mata tunas) yang dikultur secara *in vitro* diikuti berturut-turut oleh media PES (1,23 mata tunas), AG (0,35 mata tunas), dan CW (0,30 mata tunas).

Dalam kultur jaringan rumput laut, *G. verrucosa* terhadap kelangsungan hidup eksplan dan pertumbuhan thallus secara *in vitro*, disarankan menggunakan media SSW 25 ppt yang

secara umum sesuai bagi eksplan rumput laut, *G. verrucosa*. Selain itu, media SSW lebih mudah untuk diperoleh.

Perlu diteliti mengenai kandungan unsur di dalam media PES yang paling spesifik merangsang perpanjangan thallus untuk ditambahkan dalam memperkaya nutrien media SSW, sehingga akan didapatkan hasil yang lebih optimal pada penggunaan media SSW 25 ppt.

DAFTAR PUSTAKA

- Akbar, S., Kurnia, B dan Istiqomah. 2001. Kandungan dan Kegunaan Rumput Laut. Balai Budidaya Laut Lampung. 42 hlm.
- Amini, S dan Parenrengi, A. 1995. Pengaruh Variasi Komposisi Pupuk terhadap Pertumbuhan Rumput Laut *Eucheuma cotonii* pada Kultur *In Vitro*. Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia 1(3):47-53.
- Anggadiredja, J.T., Zalnika, A., Purwoto, H dan Istini, S. 2006. Rumput Laut. Penebar Swadaya. Jakarta. 147 hlm.
- Ditjen Perikanan Budidaya. 2005. Petunjuk Pengendalian Penyakit Ice-Ice pada Budidaya Rumput Laut. DKP. Jakarta. 11 hlm.
- Doty, M. S. 2000. The Production and Use *Eucheuma*. Department of Botany University of Hawaii Honolulu. Hawaii. 45 pp.
- Dwidjoseputro, D. 1994. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Penerbit Djambatan. Jakarta.

- Effendi, I. 2004. Pengantar Akuakultur. Penebar Swadaya. Jakarta. 188 hlm.
- Fadhillah, S. N dan Suryana, I. 2005. Laporan PKL di BRPBAP Kabupaten Maros Sulawesi Selatan. Universitas Mulawarman. Samarinda. Hal 13.
- Gaspersz, V. 1994. Metode Perancangan Percobaan. (Untuk Ilmu-Ilmu Pertanian, Ilmu-Ilmu Teknik dan Biologi). CV Armico. Bandung. 623 hlm.
- Gunawan, L. W. 1987. Teknik Kultur Jaringan. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman. Pusat Antar Universitas (PAU) Bioteknologi IPB. Bogor. 163 hlm.
- Gunawan, L. W. 1994. Teknik Kultur *In Vitro* Dalam Hortikultura. Penebar Swadaya. Jakarta. 115 hlm.
- Hadioetomo, R. S. 1985 Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek. Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium. Gramedia. Jakarta. 103 hlm.
- Hendaryono, Daisy P. Sriyanti dan Wijayani, A. 1994. Teknik Kultur Jaringan. Kanisius. Yogyakarta. 137 hlm.
- Kuncoro, E. B. 2004. Akuarium Laut. Kanisius. Yogyakarta. 227 hlm.
- Lakitan, Benyamin. 2000. Dasar-Dasar Fisiologi Tumbuhan. Rajawali Pers. Jakarta. 203 hlm.
- Lee, R. E. 1980. Phycology. In Handbook on Commercial Seaweeds: Cultivation and Processing Part II. Yellow Sea Fisheries Research Institute China. IDRC. Canada. 309 pp.
- Liao, I.C., H. M. Su and J.H. Lin. 1983 Larvae foods for *Penaeid* Prawns. In M.C. Vey J. P and J. R Moore (eds) CRC Handbook of Mariculture, Crustacean Aquaculture. Volume I. CRT Press Inc. Boca Raton. Florida. pp 43-69.
- Malingkas, R. 2002. Perbanyak Benih Rumput Laut *Gracilaria verrucosa* (H) Papefus Melalui Kultur *In Vitro* pada Berbagai Media Kultur serta Aplikasinya. Tesis. Program Pascasarjana Sistem-Sistem Pertanian. Universitas Hasanudin. Ujung Pandang. 83 Hal.
- Nugroho, A dan Sugito, H. 1996. Teknik Kultur Jaringan. Penebar Swadaya. Jakarta. 71 hlm.
- Nugroho, L. H dan Sumardi, I. 2004. Biologi Dasar. Penebar Swadaya. Jakarta. 144 hlm.
- Parenrengi, A dan Amini, S. 1994. Kultur Rumput Laut *Gracilaria verrucosa* Secara *In Vitro* pada Berbagai Panjang Eksplan. Jurnal Penelitian Budidaya Pantai 1(2):29-33.
- Parenrengi, A dan Sulaeman. 2004. Mengenal Rumput Laut, *Kappaphycus alvarezii*. Makalah BRPBAP Maros. Sulawesi Selatan. 11 Hal.
- Poncomulyo, T., Maryani, H dan Kristiani, L. 2006. Budidaya dan Pengolahan Rumput Laut.

- Agromedia Pustaka. Jakarta. 67 hlm.
- Rosmiati, Suryati, E dan Tenriulo, A. 2005. Sterilisasi Eksplan pada Kultur Jaringan Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii*. Makalah BRPBAP Maros. Sulawesi Selatan. 9 hlm.
- Suryati, E., Rosmiati., Parenrengi., A dan Tenriulo, A. 2007. Kultur Jaringan Rumput Laut (*Gracilaria sp*) dari Sumber Tallus yang Berbeda Lokasi. Jurnal Riset Akuakultur 2(2):143-147.
- Suryati, E., Sulaeman., Parenrengi, A dan Rosmiati. 2005. Teknik Perbanyak Benih Rumput Laut, *Gracillaria verrucosa* Melalui Teknik Kultur Jaringan. BRPBAP Maros. Sulawesi Selatan. 28 hlm.
- Susanto, A. B., dan A. Mucktiany. 2004. Studi Kasus Budidaya *Gracilaria* di Bekasi. (Makalah disampaikan pada Forum Rumput Laut Nasional di Mataram-NTB pada tanggal 29 Juni-1 Juli 2004). 10 hlm.
- Winarno, F. G. 1990. Teknologi Pengolahan Rumput Laut. Pustaka Sinar Harapan. Jakarta. 112 hlm.
- Welsh, J. R. 1991. Dasar-Dasar Genetika dan Pemuliaan Tanaman. (Terjemahan J.P Moge). Erlangga. Jakarta. Hal 206-207.
- Yusnita. 2003. Kultur Jaringan. Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien. Agromedia Pustaka. Jakarta. 80 hlm.