

KULTUR JARINGAN RUMPUT LAUT *KAPPAPHYCUS ALVAREZII* DENGAN METODE EMBRIOGENESIS SOMATIK

BETARI ATHIYAH IRAWATI¹⁾, RANGGA IDRIS AFFANDI²⁾*

Program Studi Budidaya Perairan Fakultas Pertanian Universitas Mataram

¹⁾tariathiyahft@gmail.com, ²⁾ranggaidrissaffandi@unram.ac.id (corresponding)

ABSTRAK

Rumput laut (*seaweed*) merupakan komoditas unggulan perikanan budidaya yang produksinya terbesar diantara komoditas unggulan lainnya. Salah satu rumput laut yang banyak dibudidayakan di Indonesia ialah rumput laut jenis *Kappaphycus alvarezii*. Rumput laut *Kappaphycus alvarezii* ialah salah satu komoditas utama perikanan budidaya yang banyak dibudidayakan karena teknologi produksinya relatif murah dan mudah, serta penanganan pasca panen relatif sederhana. Salah satu permasalahan yang terdapat dalam budidaya rumput laut ialah penggunaan bibit rumput laut dengan kualitas yang kurang baik. Salah satu upaya untuk meningkatkan produksi rumput laut adalah dengan menggunakan bibit yang berkualitas yaitu bibit hasil kultur jaringan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui langkah kerja, mengidentifikasi masalah serta mengidentifikasi tingkat keberhasilan dari kegiatan kultur jaringan pada rumput laut *Kappaphycus alvarezii* sehingga dikemudian dapat tercapai hasil produksi yang maksimal. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret-Mei 2023 yang bertempat di Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara, Jawa Tengah. Hasil yang didapatkan yaitu kegiatan kultur jaringan *Kappaphycus alvarezii* meliputi persiapan air laut, sterilisasi alat dan bahan, pembuatan pupuk pes, persiapan media, seleksi dan aklimatisasi indukan, sterilisasi dan pemotongan eksplan, penanaman eksplan, induksi kalus, regenerasi kalus menjadi mikropropagul, regenerasi mikropropagul menjadi planlet, dan perlu dilakukan manajemen kualitas air untuk menunjang keberhasilan kultur jaringan rumput laut.

Kata kunci: *Kappaphycus alvarezii*, Kultur Jaringan, Embriogenesis Somatik

ABSTRACT

Seaweed is a leading aquaculture commodity with the largest production among other leading commodities. One of the seaweed that is widely cultivated in Indonesia is Kappaphycus alvarezii. Kappaphycus alvarezii is one of the main aquaculture commodities which is widely cultivated because its production technology is relatively cheap and easy, and post-harvest handling is relatively simple. One of the problems in seaweed cultivation is the use of poor quality seaweed seeds. One of the efforts to increase seaweed production is to use quality seeds, namely tissue culture. The aim of this research is to determine work steps, identify problems and identify the level of success of tissue culture activities on Kappaphycus alvarezii seaweed so that maximum production results can then be achieved. This research was carried out in March-May 2023 at the Center for Brackish Water Aquaculture Fisheries (BBPBAP) Jepara, Central Java. The results obtained were Kappaphycus alvarezii tissue culture activities including sea water preparation, sterilization of tools and materials, making paste fertilizer, media preparation, selection and acclimatization of broodstock, sterilization and cutting of explants, planting explants, callus induction, regeneration of callus into micropropagules, regeneration of micropropagules into plantlets, and water quality management needs to be carried out to support the success of seaweed tissue culture.

Kata kunci: *Kappaphycus alvarezii*, Tissue Culture, Somatic Embryogenesis

PENDAHULUAN

Rumput laut (*seaweed*) merupakan komoditas unggulan perikanan budidaya yang produksinya terbesar diantara komoditas unggulan lainnya (Nuslan et al., 2019). Hal ini dikarenakan usaha budidaya rumput laut sangat mudah dilakukan, teknologinya sederhana, bibit banyak tersedia di alam, dan waktu pemeliharaan relatif singkat. Selain itu, usaha ini menguntungkan karena biaya operasionalnya murah, harga produk yang kompetitif, dan pangsa pasar terbuka lebar (Andriyani et al., 2019). Salah satu rumput laut yang banyak dibudidayakan di Indonesia ialah rumput laut jenis *Kappaphycus alvarezii*. Rumput laut *Kappaphycus alvarezii* ialah salah satu komoditas utama

perikanan budidaya yang banyak dibudidayakan karena teknologi produksinya relatif murah dan penanganan pasca panen relatif sederhana (Failu et al., 2016). *Kappaphycus alvarezii* merupakan komoditas unggulan dibidang perikanan dan kelautan serta memiliki nilai ekonomis penting sebagai penghasil karagenan berupa kappa karagenan yang dimanfaatkan sebagai *emulsifier*, *gelling*, *binding agent*, *thickener*, *stabilizer*, *pharmaceutical*, kosmetik, formulasi *printing* dan tekstil (Wulandari et al., 2019). Pada awalnya *Kappaphycus alvarezii* dinamakan *Eucheuma cottonii* kemudian berubah nama menjadi *Kappaphycus alvarezii* karena karagenan yang dihasilkan termasuk fraksi Kappa-carragenan (Rivai et al., 2020).

Keberhasilan budidaya rumput laut bergantung pada beberapa faktor yaitu antara lain pemilihan bibit (kualitas bibit, karakteristik bibit), teknik budidaya (kedalaman, jarak tanam, bobot bibit) serta pemilihan lokasi yang sesuai (Fadilah & Pratiwi, 2020). Salah satu permasalahan yang terdapat dalam budidaya rumput laut ialah penggunaan bibit rumput laut dengan kualitas yang kurang baik. Bibit rumput laut yang kualitasnya kurang baik berasal dari budidaya secara berulang kali, sehingga mengakibatkan pertumbuhan rumput laut yang lambat dan mudah terserang penyakit. Penggunaan bibit rumput laut yang kualitasnya kurang baik mengakibatkan produksi rumput laut kurang maksimal. Salah satu upaya untuk meningkatkan produksi rumput laut adalah dengan menggunakan bibit yang berkualitas yaitu bibit hasil kultur jaringan (Supiandi et al., 2020). Kultur jaringan pada rumput laut adalah kultur eksplan (*fragmen thallus*) secara aksenik dalam media air laut *artificial* yang diberi zat pengatur tumbuh (ZPT) dan zat pengkaya yang dapat memberikan efek regenerasi (Shara et al., 2023). Kementerian Kelautan dan Perikanan (KKP) bekerjasama dengan SEAMEO BIOTROP Bogor telah melakukan kerjasama untuk peningkatan kualitas bibit rumput laut *Eucheuma cottonii* atau yang sering juga disebut *Kappaphycus alvarezii* melalui teknik kultur jaringan pada tahun 2011. Rumput laut yang dihasilkan melalui teknik kultur jaringan mempunyai kelebihan dan keunggulan mampu dibudidayakan di perairan yang keruh, mampu tetap hidup pada salinitas rendah dan tetap bertahan terhadap curah hujan tinggi (Awaluddin et al., 2016).

Kultur jaringan rumput laut *Kappaphycus alvarezii* dilakukan dengan metode embriogenesis somatik yaitu suatu proses saat sel somatik (baik haploid maupun diploid) berkembang membentuk tumbuhan baru melalui tahap perkembangan embrio yang spesifik tanpa melalui fusi gamet. Pada teknik embriogenesis somatik ini, sel-sel somatik mengalami pembelahan sel dan membentuk embrio yang sama dengan embrio zigotik, di mana embrio memiliki struktur biopolar yang terdiri atas jaringan meristem tunas dan meristem akar. Embriogenesis somatik sangat potensial karena teknik ini dapat mengubah sel somatik dari talus menjadi sel embrio biopolar (mempunyai bakal tunas dan akar). Beberapa kelebihan embrio somatik antara lain berasal dari individu sel (satu sel somatik) sehingga penyeragaman dan pemurnian tanaman regenerasi lebih mudah. Teknik ini dilakukan dengan menginduksi tumbuhan kalus dari potongan talus (Andriyani & Kartamiharja, 2019).

Berdasarkan uraian di atas, maka perlu adanya penerapan teknologi budidaya rumput laut jenis *Kappaphycus alvarezii* melalui kultur jaringan dengan metode embriogenesis somatik untuk peningkatan produksinya. Oleh karena itu tujuan penelitian ini adalah mengetahui langkah kerja, mengidentifikasi masalah serta mengidentifikasi tingkat keberhasilan dari kegiatan kultur jaringan pada rumput laut *Kappaphycus alvarezii*. Selain itu, tujuan lainnya guna kebermanfaatan ilmunya dikemudian hari, sehingga tercapainya hasil produksi yang maksimal untuk Indonesia.

Rumusan Masalah

Dari uraian latar belakang di atas, dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

1. Bagaimana metode dan tahapan kultur jaringan rumput laut *Kappaphycus alvarezii* dengan metode embriogenesis somatik?
2. Bagaimana permasalahan yang muncul ketika kultur jaringan rumput laut *Kappaphycus alvarezii* dengan metode embriogenesis somatik?

Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah agar dapat memberikan gambaran yang jelas mengenai metode dan tahapan kultur jaringan rumput laut *Kappaphycus alvarezii* dengan metode embriogenesis somatik untuk peningkatan produksinya serta memahami permasalahan yang sering muncul.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada Maret-Mei 2023 di Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara, Jawa Tengah. Metode penelitian yang digunakan yaitu metode deskriptif dan pengamatan lapang (survei). Penelitian deskriptif yaitu penelitian yang dilakukan untuk mengetahui nilai variabel mandiri, baik satu variabel atau lebih (independen) tanpa membuat perbandingan, atau menghubungkan dengan variabel yang lain. Berdasarkan pengertian tersebut dapat disimpulkan bahwa penelitian deskriptif dilakukan dengan cara mencari informasi berkaitan dengan gejala yang ada, dijelaskan dengan jelas tujuan yang akan diraih, merencanakan bagaimana

melakukan pendekatannya, dan mengumpulkan berbagai macam data sebagai bahan untuk membuat laporan. Penelitian survei merupakan salah satu metode penelitian yang bertujuan untuk memperoleh gambaran umum tentang karakteristik populasi yang digambarkan oleh sampel. Penelitian survei dapat dilakukan diberbagai bidang antara lain, ekonomi, bisnis, politik, pemerintah, sosiologi, pendidikan, maupun pada bidang-bidang rumpun saintek. Data-data yang diperoleh selama penelitian ini dianalisis secara deskriptif, yaitu menjabarkan semua kegiatan yang dilakukan secara jelas dan rinci yang didukung dengan studi pustaka sehingga dapat memberikan informasi yang jelas dan lengkap (Ningsih & Affandi, 2023).

Perhitungan pertumbuhan bobot mutlak mengacu dari Elrifadah et al. (2021), yaitu:

$$W = W_t - W_0$$

Keterangan:

W = Pertambahan berat rumput laut (gr)

W_t = Berat akhir rumput laut pada waktu ke-t (gr)

W₀ = Berat awal rumput laut (gr)

Perhitungan laju pertumbuhan spesifik (SGR) mengacu dari Maulizar et al. (2019), yaitu:

$$SGR = (\ln W_t - \ln W_0)/t \times 100\%$$

Keterangan:

SGR = *Specific Growth Rate* atau laju pertumbuhan spesifik (%/hari)

W_t = Berat tubuh rata-rata akhir pemeliharaan (gr)

W₀ = Berat tubuh rata-rata awal pemeliharaan (gr)

t = Waktu pemeliharaan (hari).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Persiapan Air Laut

Air laut yang digunakan di Laboratorium Kultur Jaringan BBPBAP Jepara diambil 10 meter dari garis pantai yang ditampung dan diendapkan selama 24 jam di bak tandon dengan menggunakan pompa air laut, sedangkan bak tandon berada di samping laboratorium. Air laut yang digunakan untuk kegiatan kultur jaringan rumput laut *Kappaphycus alvarezii* adalah air laut yang sudah steril. Sterilisasi air laut dilakukan dengan beberapa penyaringan. Pertama air laut yang berasal dari laut asli disaring dengan menggunakan kapas dan waring yang dibalut pada pipa, setelah itu air laut difilter.

Sterilisasi Alat dan Bahan

Pada kegiatan kultur jaringan rumput laut memerlukan alat yang digunakan dalam menunjang kegiatan, diantaranya yaitu persiapan alat kultur, botol kultur, cawan petri, gelas ukur, selang aerasi, beker gelas, dan botol selai terlebih dahulu dicuci dengan air tawar menggunakan sabun cair dan ditambahkan 3 tetes cuka. Penggunaan cuka pada pencucian alat memiliki fungsi untuk menghilangkan kerak pupuk yang menempel pada botol yang susah untuk dibersihkan dan dapat membuat botol lebih tahan lama dan tidak cepat rusak. Alat kultur berupa scapel, pinset, pipit tetes, gunting, dan spatula dapat dicuci menggunakan sabun saja karena jika dicuci menggunakan cuka, alat kultur berupa alumunium akan cepat berkarat karena cuka mengandung sifat asam dan menghasilkan ion hidrogen yang membuat besi lebih mudah berkarat karena mengalami reaksi oksidasi berupa korosi.

Untuk botol kultur setelah dicuci siap untuk diisi media kultur berupa air laut dan untuk peralatan yang berbahan kaca dimasukkan ke dalam autoklaf menggunakan mode 3 dengan suhu 121°C selama 1-2 jam, sedangkan bahan yang disterilisasi yaitu air laut yang digunakan sebagai media pemeliharaan kultur dan disterilkan menggunakan autoklaf, sehingga kualitas dan kuantitas media memberikan daya dukung optimal bagi kelangsungan hidup rumput laut. Untuk sterilisasi air laut di autoklaf menggunakan mode 2 dengan suhu 121°C konstan selama 20 menit (Kurnianingsih et al., 2020).

Pembuatan Pupuk PES

Pupuk PES (*Provasoli Enriched Seawater*) merupakan pupuk buatan dengan komposisi lengkap, memiliki sumber fosfor dan nitrogen yang cukup, sehingga diharapkan dapat mengurangi aplikasi pupuk yang digunakan (Yuliana et al., 2017).

Pembuatan Larutan Stok Iron-EDTA

Disiapkan 150 ml aquades di dalam labu ukur 250 ml. Aquades dilarutkan dengan $\text{Na}_2\text{EDTA}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, lalu ditambahkan dengan $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dengan komposisi sesuai Tabel 1. Selanjutnya dihomogenkan dengan *magnetic stirrer*, lalu ditambahkan aquades hingga mencapai volume 250 ml setelah itu dimasukkan ke dalam botol *reagent* lalu dimasukkan ke dalam *refrigerator*.

Tabel 1. Komposisi Larutan Stok Iron-EDTA

No	Komponen Bahan	Kuantitas (g)
1	$\text{Na}_2\text{EDTA}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,2103
2	$\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,1755

Pembuatan Larutan Stok Trace Metals

Disiapkan 50 ml aquades didalam labu ukur 100 ml. Ditambahkan komponen secara bertahap dengan EDTA terlebih dahulu, lalu ditambahkan larutan selanjutnya sedangkan komposisi sesuai Tabel 2. Dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* dan ditambahkan aquades sampai mencapai volume 100 ml kemudian dihomogenkan lagi. Masukkan larutan kedalam botol *reagent*, kemudian simpan di dalam *refrigerator*.

Tabel 2. Komposisi Larutan Stok Trace Metals

No	Komponen Bahan	Kuantitas (g)
1	$\text{Na}_2\text{EDTA}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,274
2	$\text{FeCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,0484
3	H_3BO_3	1,1439
4	$\text{MnSO}_4\cdot \text{H}_2\text{O}$	0,1624
5	$\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,0220
6	$\text{CoSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,0048

Pembuatan Larutan Stok Thiamine (Vitamin B1)

Siapkan 50 ml aquades dalam labu ukur dengan ukuran 100 ml. Masukkan 100 mg Thiamine ke dalam aquades lalu aduk hingga homogen menggunakan *magnetic stirrer*, kemudian tambahkan aquades hingga volume mencapai 100 ml.

Pembuatan Larutan Stok Biotin

Siapkan 50 ml aquades dalam labu ukur dengan ukuran 100 ml. Masukkan 1 mg biotin ke dalam aquades kemudian aduk hingga menggunakan *magnetic stirrer* hingga homogen, lalu tambahkan aquades hingga volume mencapai 100 ml.

Pembuatan Larutan Stok Cyanobalamin (Vitamin B12)

Siapkan 50 ml aquades dalam labu ukur dengan ukuran 100 ml. Masukkan 1 mg Vitamin B12 ke dalam aquades kemudian aduk hingga homogen menggunakan *magnetic stirrer*, setelah itu tambahkan aquades hingga volume mencapai 100 ml.

Pembuatan Larutan Stok PES

Siapkan larutan stok yang dibutuhkan, kemudian siapkan 500 ml aquades di dalam labu ukur 1000 ml. Komponen ditambahkan sesuai dengan Tabel 3. Dihomogenkan menggunakan *hot plate stirrer*, lalu ditambahkan aquades sampai mencapai volume 1000 ml. Larutan PES disterilisasi menggunakan *vacuum pump*. Larutan PES yang telah disterilisasi dimasukkan ke dalam botol *reagent* yang telah dibungkus dengan aluminium foil, lalu simpan ke dalam *refrigerator*.

Tabel 3. Komponen Pupuk PES

No	Komponen Bahan	Kuantitas (g)
1	Tris base	5,0 g
2	NaNO_3	3,3 g
3	$\text{Na}_2\beta\text{-glycerolphosphat}$	0,5 g
4	Larutan stok <i>Iron-EDTA</i>	250 ml
5	Larutan stok <i>trace metals</i>	25 ml
6	Larutan stok Thiamine	0,5 ml
7	Larutan stok Biotin	0,5 ml
8	Larutan stok Cynocaabalamin (Vit. B12)	1 ml

Persiapan Media

Pembuatan Media PES Padat P0

Berikut ini adalah langkah-langkah dalam pembuatan Media PES padat P0 sebanyak 500 ml:

1. Siapkan air laut steril yang telah disaring dan di *autoclave* sebelumnya, lalu saring air laut steril tersebut menggunakan *vacuum pump*
2. Masukkan air laut steril dari *vacuum pump* ke dalam erlenmeyer dengan menggunakan gelas ukur hingga volume mencapai 4,88 ml, tutup menggunakan aluminium foil dan diikat menggunakan karet gelang
3. Panaskan dan aduk air laut menggunakan *magnetic stirrer* dengan menjalankan *hotplate* dan *stirrer*
4. Apabila air laut sudah mulai panas, tambahkan *bacto agar* sebanyak 4,5 gr sebelum mendidih hingga teraduk sampai berwarna jernih dan homogen. Tutup kembali menggunakan aluminium foil. Setelah mendidih, media tersebut disterilisasi dengan *autoclave* menggunakan mode 1 di suhu 121°C
5. Keluarkan media dari *autoclave*, kemudian didinginkan di atas *magnetic stirrer* dengan kecepatan standar
6. Setelah media tersebut mulai terasa hangat, pindahkan ke *laminar air flow*, lalu tambahkan 10 ml pupuk PES steril dan tutup kembali dengan menggunakan aluminium foil, aduk dengan *magnetic stirrer* sampai homogen
7. Media siap dituang ke dalam botol selai sebagai media kultur yang telah disterilisasi sebelumnya, proses penuangan media berlangsung di dalam *laminar air flow*
8. Diamkan media di dalam untuk diangin-anginkan selama 20 menit, kemudian dinyalakan sinar UV (*ultraviolet*)
9. Tutup media PES padat P0 menggunakan plastik *wrapping* dan ikat dengan karet gelang agar media tersebut tidak terkontaminasi, media PES padat P0 disimpan di ruang sub kultur hingga saat digunakan.

Pembuatan Media PES Padat P1

Berikut ini adalah langkah-langkah dalam pembuatan Media PES padat P1 sebanyak 500 ml:

1. Siapkan air laut steril yang telah disaring dan di *autoclave* sebelumnya dan saring air laut steril tersebut menggunakan *vacuum pump* sebanyak 1 kali
2. Masukkan air laut steril yang telah disaring ke dalam erlenmeyer dengan menggunakan gelas ukur hingga volume mencapai 4,88 ml kemudian tutup menggunakan aluminium foil dan ikat dengan karet gelang
3. Panaskan dan aduk air laut tersebut menggunakan *magnetic stirrer* dengan menjalankan fungsi *hot plate* dan *stirrer*
4. Tambahkan 1,25 ml hormon IAA + 0,5 ml hormon BAP. Sambil diaduk menggunakan *magnetic stirrer* hingga larutan homogen
5. Jika air laut sudah mulai panas tambahkan *bacto agar* 4,5 gr sebelum mendidih dan aduk hingga berwarna jernih dan homogen. Tutup kembali menggunakan aluminium foil. Setelah mendidih, larutan media tersebut disterilisasi di *autoclave* menggunakan mode 1 dengan suhu 121°C dengan waktu 20 menit
6. Keluarkan larutan media dari *autoclave*, kemudian dinginkan di atas *magnetic stirrer* dengan menjalankan fungsi *magnetic stirrer* kecepatan standar
7. Setelah larut media tersebut diamkan hingga hangat, bawalah ke *laminar air flow*. Kemudian tambahkan 10 ml pupuk PES steril dan tutup kembali larutan media menggunakan aluminium foil, aduk dengan *magnetic stirrer* hingga homogen
8. Setelah itu, larutan media siap dituangkan ke dalam botol selai sebagai media kultur yang telah disterilisasi dengan *autoclave* sebelumnya. Proses penuangan larutan media berlangsung di dalam *autoclave*
9. Diamkan media PES padat P1 di *laminar air flow* selama ± 20 menit untuk diangin-anginkan kemudian nyalakan sinar UV selama ± 30 menit
10. Tutup media PES padat P1 menggunakan *plastik wrapping* dan ikat dengan karet gelang agar media tersebut tidak terkontaminasi, media PES padat P1 disimpan di ruang sub kultur hingga saat digunakan.

Seleksi Indukan

Tahap selanjutnya yang harus dilakukan yaitu seleksi indukan rumput laut *Kappaphycus alvarezii*. Indukan rumput laut yang berasal dari Pulau Karimunjawa, Kabupaten Jepara, Jawa Tengah dengan memperhatikan kriteria yang baik seperti tallus segar, rimbun, warna cerah, tidak berlumut dan bebas dari penyakit seperti yang disajikan pada Gambar 1. Hal ini sesuai dengan pernyataan Yuliana et al. (2017) bahwa rumput laut yang memiliki kriteria baik yaitu memiliki ukuran yang besar, bersih, segar dan bebas dari penyakit yang menyerang rumput laut pada umumnya.



Gambar 1. Indukan Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii*

Aklimatisasi Indukan

Indukan rumput laut selanjutnya dipindahkan untuk diaklimatisasi di dalam laboratorium dalam kondisi semi steril. Rumput laut langsung dicuci bersih menggunakan air laut steril, kotoran yang masih menempel pada rumput laut dibersihkan secara perlahan dengan melarutkan 3 tetes sabun cair dengan air laut steril kemudian indukan tersebut dimasukkan ke dalam larutan untuk disterilisasi. Lendir yang menempel pada rumput laut dibersihkan secara halus dan dibilas sebanyak 2-3 kali (Nurfajri & Nasmia, 2023). Setelah bersih, rumput laut dimasukkan ke dalam toples kaca yang berisi air laut dengan salinitas 28 ppt.

Kultur rumput laut disimpan pada rak kultur yang diberi penyinaran lampu dengan intensitas cahaya 1500 lux. Pertumbuhan rumput laut dipengaruhi oleh intensitas cahaya yang diterima. Lamanya penyinaran diatur selama 12 jam menyala merupakan respon terbaik terhadap pertumbuhan *Kappaphycus alvarezii* dan 12 jam padam dengan menggunakan timer dengan temperatur ruangan 22-25°C (Hartini, 2019). Proses aklimatisasi indukan di laboratorium berlangsung selama 6 minggu, media kultur diganti setiap satu kali seminggu.

Sterilisasi dan Pemotongan Eksplan

Sterilisasi eksplan merupakan proses untuk mendapatkan eksplan thallus yang bebas dari mikroorganisme atau steril. Eksplan yang disterilisasi adalah bagian thallus rumput laut yang telah dikultur semi steril di laboratorium. Pemotongan eksplan dilakukan dengan cara memotong bagian dari thallus rumput laut dengan panjang 1-2 cm dan memotong sedikit bagian tengah eksplan agar rambut-rambut putih atau kalus dapat muncul pada bagian tengah tersebut dengan menggunakan scapel dilakukan secara hati-hati agar tidak melukai bagian cabang indukan lainnya, eksplan yang digunakan diambil dari hasil seleksi dari kultur semi steril yang berumur 2 bulan kemudian eksplan thallus dibilas dengan air laut steril sebanyak 2 kali.

Menurut Fadel et al. (2013), rumput laut yang dijadikan eksplan dicuci bersih dengan air laut, dan dipilih bagian thallus yang masih segar dan tidak terdapat luka, diutamakan jaringan yang masih muda sedang tumbuh aktif. Thallus yang sudah dipotong-potong tersebut kemudian disebut sebagai eksplan. Selanjutnya eksplan dimasukkan ke dalam botol selai dengan volume air laut 100 ml yang berisi sabun kemudian botol selai ditutup menggunakan aluminium foil lalu di homogenkan selama 3 menit. Hal ini dilakukan untuk membersihkan kotoran yang menempel pada eksplan, selanjutnya bilas eksplan terlebih dahulu dengan menggunakan air laut steril sampai benar-benar bersih, hal ini dilakukan setiap kali setelah dilakukan pembilasan pada eksplan, lalu eksplan dimasukkan ke dalam botol selai yang berisikan air laut sebanyak 100 ml kemudian tutup dengan aluminium foil lalu homogenkan kembali selama 3 menit ulangi cara tersebut sebanyak 3 kali.

Selanjutnya masuk pada proses sterilisasi eksplan menggunakan iodine 10 ml, hal ini dilakukan untuk dua hal. Pertama, untuk mencegah pembesaran luka pada eksplan dan yang kedua untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada eksplan agar eksplan benar-benar steril, untuk proses sterilisasi ini sama dengan proses sterilisasi sebelumnya, dihomogenkan selama 3 menit akan tetapi proses sterilisasi dengan menggunakan iodine hanya dilakukan satu kali dan menggunakan botol selai, kemudian untuk proses pembilasannya dengan melakukan cara kerja seperti sebelumnya (Satriani et al., 2017).

Penanaman Eksplan

Penanaman eksplan yang sudah disterilkan akan berlangsung di dalam *laminar air flow*. Selanjutnya buka plastik yang menutupi botol selai, angkat satu persatu potongan eksplan ke atas tisu steril untuk dikeringkan agar sisa-sisa kotoran yang masih menempel pada eksplan hilang dan dipastikan benar-benar bersih. Langkah berikutnya adalah memasukkan potongan eksplan ke dalam botol selai yang sudah berisi media agar. Dalam proses penanaman eksplan tetap harus berada di dalam *laminar air flow* agar tidak terkontaminasi oleh bakteri ataupun kotoran lainnya. Setelah selesai proses penanaman, botol selai ditutup kembali dengan plastik dan diikat dengan karet gelang kemudian dipindahkan ke rak kultur.

Induksi Kalus

Kultur jaringan rumput laut dengan menggunakan teknik induksi kalus banyak digunakan untuk propagasi klon dan perbaikan mutu genetik untuk mendukung ketersediaan benih yang kontinyu dan berkualitas (Mulyaningrum et al., 2012). Thallus yang telah ditanam dan diamati selama 2 minggu apabila tidak terkontaminasi oleh bakteri atau jamur, maka digunakan untuk induksi kalus. Proses induksi kalus menggunakan media PES padat P1 yang telah ditambahkan hormon ZPT (Zat Pengatur Tumbuh) dalam merangsang pertumbuhan kalus. Eksplan yang telah diuji sterilisasi dibawa ke *laminar air flow* dengan menyalakan blower dan lampu untuk dilakukan transfer media. Permukaan dan ujung thallus dibersihkan lalu ditanam di media PES padat P1 (media induksi kalus). Media induksi kalus tersebut disimpan pada rak kultur, dengan suhu ruangan 22°C, intensitas cahaya 1500 lux dengan lama penyinaran 12 jam nyala dan 12 jam padam (Sulistiani & Yani, 2014).

Proses induksi kalus berlangsung selama 2 bulan, pada proses ini dilakukan pergantian media paling lama 2 minggu sekali. Apabila pergantian media lambat akan berpengaruh terhadap pertumbuhan kalus dan mengakibatkan kematian eksplan. Pembentukan kalus pada eksplan paling cepat terjadi pada hari ke 14 setelah ditanam di media induksi kalus. Eksplan yang belum menunjukkan pertumbuhan kalus setelah lebih dari 28 hari penanaman sebagian besar berubah warna menjadi putih. Kalus umumnya tumbuh pada ujung eksplan bekas pertumbuhan kalus pada permukaan kulit eksplan dan bagian tengah eksplan (Sulistiani & Yani, 2014). Awal pertumbuhan kalus ditandai dengan pembengkakan eksplan dan diikuti dengan munculnya kalus yang kelihatan putih pada bagian ujung serta di permukaan eksplan. Pembengkakan pada eksplan menandakan bahwa eksplan telah merespon media yang diberikan. Media tersebut diserap eksplan sebagai nutrisi untuk pertumbuhan kalus yang selanjutnya akan ditandai dengan tahapan perbanyakan sel. Pertumbuhan kalus dipengaruhi oleh adanya penambahan hormon IAA (*Indol Acetic Acid*) yang mengandung auksin dan BAP (*Benzyl Amino Purin*) yang mengandung sitokinin sebagai zat pengatur tumbuh pada media induksi kalus.

Regenerasi Kalus Menjadi Mikropropagul

Proses regenerasi kalus menjadi mikropropagul berlangsung selama 2-3 bulan dengan 2 tahap yaitu perkembangan di media PES padat dan di media PES cair. Kalus filamen yang berkembang menjadi kalus embriogenik dipotong dan dipisahkan dengan eksplan kemudian dikultur di media PES padat tanpa zat pengatur tumbuh. Sebelum melakukan pemotongan, langkah awal yang dilakukan adalah membuat media kultur tanpa media PES (*Provasoli's Enriched Seawater*) 1 hari sebelum melakukan pemotongan. Walaupun pada media PES padat sudah dapat menginduksi mikropropagul, tetapi masih dalam jumlah yang relatif sedikit. Setelah 60 hari di media PES padat kalus disubkultur ke media PES cair untuk menginduksi terbentuknya mikropropagul dalam jumlah yang banyak. Media PES cair berisi air laut steril yang ditambahkan pupuk PES dengan dosis 10 ml/liter air laut. Media kultur ditempatkan pada *rotary shaker*, kemudian *dishaker* selama ± 60 hari (2 bulan) hingga terbentuk mikropropagul dan dilakukan penggantian media seminggu sekali. Kalus berkembang dengan cepat berdiferensiasi membentuk mikropropagul pada media PES cair. Setelah dikultur selama 1 bulan kalus tersebut mulai membentuk mikropropagul berbentuk bulat. Struktur berbentuk bulat ini merupakan bagian *holdfast* dari rumput laut. Setelah 2 bulan di media PES cair, mikropropagul telah mengalami germinasi. Dimana selain telah terbentuk *holdfast*, rumput laut mulai membentuk thallus dengan panjang 5 mm - 1 cm.

Regenerasi Mikropropagul Menjadi Planlet

Pada tahap ini berlangsung selama 2 - 3 bulan yang bertujuan menumbuhkan mikropropagul yang dihasilkan dari tahap sebelumnya menjadi propagul atau planlet yang siap diaklimatisasi secara *ex vitro* di akuarium. Mikropropagul di media PES cair yang ditempatkan pada *rotary shaker*, disubkultur ke botol kultur ukuran 1 liter yang berisi media PES cair selama 1 bulan. Botol media yang telah diisi mikropropagul ditutup menggunakan plastik yang diikat dengan karet gelang kemudian dibawa ke ruang kultur. Selanjutnya pada proses kultur diberikan aerasi dengan menggunakan aerator (*air pump*). Kemudian setelah 1 minggu media diganti dengan media baru (Sulistiani & Yani, 2014). Botol kultur diletakkan pada rak kultur dengan menambahkan tisu dibagian bawah botol media kultur untuk mengurangi getaran pada botol akibat getaran dari aerator. Plastik penutup tiap botol dilubangi menggunakan scapel selebar diameter selang aerasi untuk meminimalisir terjadinya kontaminasi. Media kultur disimpan di ruang kultur dengan temperatur ruangan 22-23°C dengan intensitas cahaya 1500 lux dengan lama penyinaran 12 jam padam dan 12 jam menyala. Setelah mencapai umur 6 minggu mikropropagul berkembang menjadi propagul atau planlet yang ditandai dengan meningkatnya panjang thallus hingga mencapai 10-15 mm, begitupun dengan diameter thallus menjadi lebih besar mencapai 1,5 mm. Kemudian planlet tersebut disubkultur ke botol *reagent* ukuran 1 liter.

Manajemen Kualitas Air

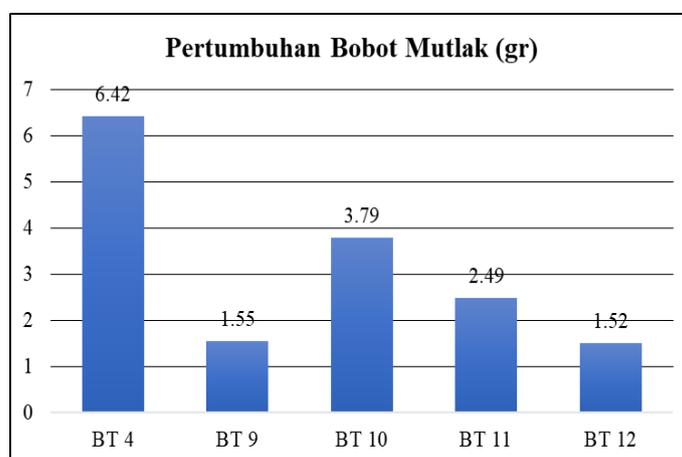
Pengukuran kualitas air meliputi salinitas, suhu, dan pH perlu dilakukan karena merupakan faktor penting dalam pertumbuhan rumput laut yang dikultur. Menurut Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan (2013) pertumbuhan rumput laut dipengaruhi oleh dua faktor, dimana faktor internal yaitu jenis, strain/galur, bagian thallus,

dan umur bibit sedangkan faktor eksternal yaitu suhu, salinitas, cahaya matahari, kedalaman, pergerakan air, pasang surut, curah hujan, substrat, oksigen terlarut, pH, dan unsur hara. Sebelum dilakukan rekultur, kualitas air diukur terlebih dahulu dimana diketahui salinitas adalah 28-33 ppt, suhu berkisar antara 20-21°C dan pH berkisar antara 6,8-7,2. Sedangkan setelah rekultur, media air laut yang baru juga diukur kualitas airnya didapatkan salinitas yaitu 28 ppt, suhu berkisar antara 22-26°C, dan pH berkisar antara 7-8.

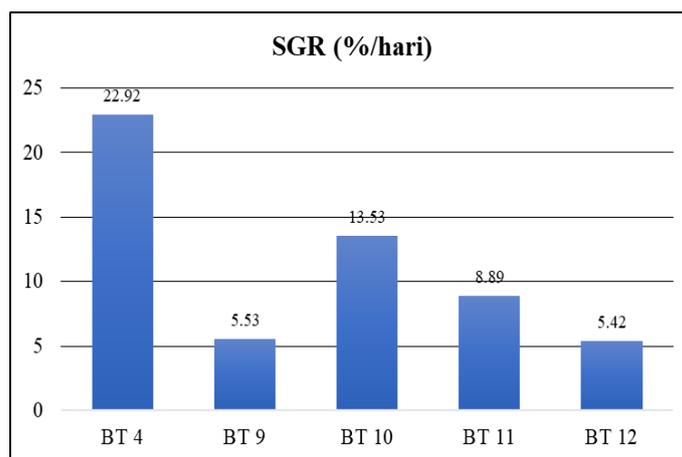
Kualitas air yang dilakukan pada pengukuran tersebut tergolong masih baik dalam budidaya *Kappaphycus alvarezii*. Menurut Harwinda et al. (2018) bahwa *Kappaphycus alvarezii* dapat tumbuh dengan baik pada salinitas berkisar antara 28-34 g/L. Namun kenaikan salinitas yang terlalu ekstrim dapat berpengaruh buruk terhadap rumput laut *Kappaphycus alvarezii* hingga mengalami kematian. Hal ini dapat disebabkan oleh evaporasi air laut sehingga volumenya menurun dan salinitas meningkat. *Kappaphycus alvarezii* memiliki suhu toleransi antara 24-36°C (Aris et al., 2021). Suhu berpengaruh dalam proses fisiologi rumput laut yaitu fotosintesis dan respirasi, serta untuk proses metabolisme sehingga dapat mempengaruhi pertumbuhan rumput laut tersebut. Menurut Ruslaini (2016), nilai kisaran pH yang baik berkisar antara 6-9 untuk pertumbuhan rumput laut. Derajat keasaman (pH) merupakan faktor lingkungan kimia air laut yang turut menentukan baik buruknya pertumbuhan rumput laut.

Pertumbuhan

Data yang diamati yaitu 5 buah sampel botol kultur mikropropagul dengan kode BT 4, BT 9, BT 10, BT 11, dan BT 12. Hasil pengamatan pertumbuhan dari kelima sampel tersebut meliputi pertumbuhan bobot mutlak yang dapat dilihat pada Gambar 2 dan laju pertumbuhan spesifik (SGR) yang dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 2. Pertumbuhan Bobot Mutlak *Kappaphycus alvarezii*



Gambar 3. Laju Pertumbuhan Spesifik *Kappaphycus alvarezii*

Berdasarkan data di atas dapat diketahui bahwa mikropropagul yang diamati mengalami kenaikan bobot berturut-turut untuk mikropropagul sendiri selama 1 bulan pertama tidak ditimbang untuk mengetahui bobotnya dikarenakan mikropropagul tersebut masih dalam tahap aklimatisasi, pada *sampling* ke-4 sudah dapat ditimbang bobot mikropropagul tersebut yang dari awal pengamatan sampai akhir pengamatan bobot semakin bertambah. Adapun bobot mutlak dari mikropropagul dengan nomor botol BT 4, BT 9, BT 10, BT 11, dan BT 12 berturut-turut sebesar 6,42 gr, 1,55 gr, 3,79 gr, 2,49 gr, dan 1,52 gr. Kemudian untuk hasil laju pertumbuhan spesifik dari mikropropagul dengan nomor botol BT 4, BT 9, BT 10, BT 11, dan BT 12 berturut-turut sebesar 22,92%/hari, 5,53%/hari, 13,53%/hari, 8,89%/hari, dan 5,42%/hari.

Menurut Mapparimeng et al. (2019) bahwa selain faktor cuaca dan parameter kualitas perairan yang mempengaruhi pertumbuhan rumput laut, pertumbuhan rumput laut juga disebabkan perbedaan laju fotosintesis dalam satu rumpun rumput laut. Pertumbuhan thallus yang semakin tinggi mengakibatkan terjadinya kompetisi antar thallus dalam satu rumpunnya dalam mendapatkan cahaya matahari dan penyerapan unsur hara semakin besar. Awaluddin et al. (2016) menambahkan bahwa media yang digunakan dalam kultur jaringan harus memiliki kandungan nutrisi yang dapat mencukupi kebutuhan nutrisi rumput laut, sehingga penyerapannya menjadi optimal. Hal ini diperkuat oleh Nurfajri & Nasmia (2023), bahwa ketercukupan unsur hara serta adanya hormon pertumbuhan yang seimbang dapat menyebabkan pertumbuhan rumput laut semakin baik.

Laju pertumbuhan spesifik adalah persentase pertumbuhan perhari rumput laut *K. alvarezii* yang dihitung selama masa pemeliharaan. Pertumbuhan rumput laut relatif cepat dikarenakan thallus pada rumput laut lebih sedikit dan tidak terlalu rimbun membuat rumput laut memperoleh nutrisi dan cahaya matahari yang lebih besar sehingga pertumbuhan rumput laut meningkat dan berkembang lebih cepat. Selain itu sinar matahari yang optimal dimanfaatkan sebagai energi untuk berfotosintesis sehingga dapat meningkatkan kemampuan rumput laut untuk memperoleh unsur hara dan nutrisi. Pertumbuhan rumput laut juga dipengaruhi oleh arus untuk membawa zat hara dan nutrisi di perairan, zat hara dan nutrisi terperangkap pada tiap thallus rumput laut untuk proses pertumbuhan seoptimal mungkin. Laju pertumbuhan rumput laut *K. alvarezii* optimal pertumbuhannya jika diatas 3% per hari (Ikhsan et al., 2022).

PENUTUP

Simpulan

Simpulan yang didapat yaitu kegiatan kultur jaringan rumput laut *Kappaphycus alvarezii* dengan metode embriogenesis somatik diawali dengan pemotongan eksplan sekitar 0,5-2 cm dan dikultur secara aseptik. Media yang digunakan merupakan media cair dan media agar. Pada kultur dengan media cair yaitu air laut steril dan pupuk PES akan dilakukan rekultur setiap 1 minggu sekali dan akan dilakukan pengecekan kualitas air berupa pH, suhu, dan salinitas. Pengukuran berat rumput laut dilakukan setiap 1 minggu sekali untuk melihat perkembangan rumput laut. Rekultur dilakukan untuk membersihkan endapan pupuk yang berada pada sela-sela planlet yang sudah mengeras. Permasalahan yang muncul dalam kegiatan kultur jaringan rumput laut *Kappaphycus alvarezii* dengan metode embriogenesis somatik yaitu *human error*. Hal ini dapat berupa ketidak sterilan saat melakukan proses kultur sehingga mikroorganisme dapat masuk dan mengkontaminasi eksplan. Selain itu, masuknya mikroorganisme dapat disebabkan oleh lubang tempat masuknya selang terlalu lebar sehingga udara dari luar yang mungkin mengandung mikroorganisme dapat masuk. Lubang tersebut juga dapat menyebabkan penguapan atau evaporasi air laut sehingga kadar salinitas meningkat. Keadaan lain yang terjadi yaitu kurangnya pasokan udara dari aerasi karena kapasitas blower dalam menyuplai udara lemah dan tidak merata. Hal tersebut dapat menyebabkan eksplan menumpuk dan menempel di dinding botol sehingga penyerapan nutrisi menjadi terhambat.

Saran

Saran yang dapat diberikan adalah dalam melakukan semua tahapan kultur jaringan rumput laut *Kappaphycus alvarezii* dengan metode embriogenesis somatik harus berhati-hati dan teliti agar mendapatkan hasil kultur jaringan yang berkualitas bagus. Penelitian selanjutnya juga dapat melakukan kultur jaringan rumput laut jenis lain dengan metode embriogenesis somatik.

DAFTAR PUSTAKA

- Andriyani, W. M., & Kartamiharja, U. K. A. (2019). Scalling Up Bibit Rumput Laut, *Kappaphycus alvarezii* dengan Kultur Jaringan. *Jurnal Sains Teknologi Akuakultur*, 3, 1–9. <https://core.ac.uk/download/pdf/267827173.pdf>
- Andriyani, W. M., Kartamiharja, U. K. A., & Dwiyanto, F. S. (2019). Dampak Sosial Ekonomi Pengembangan Budidaya Rumput Laut Kultur Jaringan di Desa Agel, Kabupaten Situbondo. *Jurnal Penyuluhan Perikanan Dan Kelautan*, 13(3), 243–263. <https://doi.org/10.33378/jppik.v13i3.197>
- Aris, M., Muchdar, F., & Labenua, R. (2021). Study of Seaweed *Kappaphycus alvarezii* Explants Growth in the Different Salinity Concentrations. *Jurnal Ilmiah Perikanan Dan Kelautan*, 13(1), 97–105. <https://doi.org/10.20473/jipk.v13i1.19842>
- Awaluddin, Badraeni, Azis, H. Y., & Tuwo, A. (2016). Perbedaan Kandungan Karaginan dan Produksi Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii* antara Bibit Alam dan Bibit Hasil Pengayaan. *Maspari Journal*, 1(1), 65–70.
- Elrifadah, Marlida, R., & Effendi, R. (2021). ANALISIS PERTUMBUHAN DAN TINGKAT KELANGSUNGAN HIDUP IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) DENGAN PEMBERIAN PAKAN PELET DARI SUMBER

- YANG BERBEDA. *ZIRAA'AH MAJALAH ILMIAH PERTANIAN*, 46(1), 89–96. <https://doi.org/10.31602/zmip.v46i1.3567>
- Fadel, A. H., Gerung, G. S., Suryati, E., & Rumengan, I. F. M. (2013). The effects of stimulant growth hormones on tissue culture of seaweed *Kappaphycus alvarezii* in vitro. *AQUATIC SCIENCE & MANAGEMENT*, 84(Mei), 77. <https://doi.org/10.35800/jasm.0.0.2013.2282>
- Fadilah, S., & Pratiwi, D. A. (2020). Peningkatan Pertumbuhan Rumput Laut *Halymenia* sp. melalui Penentuan Jarak Tanam Rumpun. *Jurnal Perikanan Universitas Gadjah Mada*, 22(1), 37. <https://doi.org/10.22146/jfs.48254>
- Failu, I., Supriyono, E., & Suseno, S. H. (2016). Peningkatan kualitas karagenan rumput laut *Kappaphycus alvarezii* dengan metode budidaya keranjang jaring. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 15(2), 124. <https://doi.org/10.19027/jai.15.2.124-131>
- Hartini. (2019). *TEKNIK PEMBIBITAN RUMPUT LAUT*. Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia.
- Harwinda, F. K., Satyantini, W. H., & Masithah, E. W. (2018). The effects of salinity and temperature shock on *Kappaphycus alvarezii* seaweed spores release. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 137(1), 012019. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/137/1/012019>
- Ikhsan, F., Irawan, H., & Wulandari, R. (2022). Laju Pertumbuhan Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii* Varietas Hijau dan Coklat Pada Metode Budidaya yang Berbeda. *Intek Akuakultur*, 6(1), 82–91.
- Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan. (2013). *Teknik Penanaman Rumput Laut*. Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia.
- Kurnianingsih, R., Ghazali, M., Rosidah, S., Muspiah, A., Astuti, S. P., & Nikmatullah, A. (2020). Pelatihan Teknik Dasar Kultur Jaringan Tumbuhan. *JMM (Jurnal Masyarakat Mandiri)*, 4(5), 888–896. <https://doi.org/10.31764/jmm.v4i5.3049>
- Mapparimeng, Liswahyuni, A., Permatasari, A., Fattah, N., & Aminullah. (2019). LAJU PERTUMBUHAN RUMPUT LAUT (*Gracilaria* sp) DENGAN POLA RAK BERTINGKAT DI TAMBAK KELURAHAN SAMATARING KECAMATAN SINJAI TIMUR KABUPATEN SINJAI. *Jurnal Agrominansia*, 4(1), 71–82.
- Maulizar, M., E-rahimi, S. A., Hasri, I., Dewiyanti, I., & Nurfadillah, N. (2019). Pengaruh Variasi Periode Penyinaran (Fotoperiode) Terhadap Pertumbuhan dan Kelangsungan Hidup Benih Ikan Depik *Rasbora tawarensis*. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kelautan Dan Perikanan Unsyiah*, 4(2), 74–81.
- Mulyaningrum, S. R. H., Nursyam, H., Risjani, Y., & Parenrengi, A. (2012). Regenerasi Filamen Kalus Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii* dengan Formulasi Zat Pengatur Tumbuh yang Berbeda. *Jurnal Penelitian Perikanan*, 1(1), 52–60. www.jpp.ub.ac.id
- Ningsih, O., & Affandi, R. I. (2023). TEKNIK PEMBESARAN KEPITING BAKAU (*SCYLLA* SP.) DENGAN SISTEM APARTEMEN. *GANEK SWARA*, 17(3), 840–848. <https://doi.org/10.35327/gara.v17i3.520>
- Nurfajri, A. T., & Nasmia, N. (2023). Penggunaan Pupuk Conway Pada Media Kultur Terhadap Pertumbuhan Bibit Rumput Laut *Eucheuma cottonii*. *Journal of Marine Research*, 12(1), 19–26. <https://doi.org/10.14710/jmr.v12i1.35769>
- Nuslan, Ola, L. O. La, & Riani, I. (2019). STRATEGI PEMASARAN RUMPUT LAUT MENUJU KEBERLANJUTAN USAHA DAN KEUNTUNGAN (STUDI KASUS DESA LANGERE KECAMATAN BONEGUNU KABUPATEN BUTON UTARA). *J. Sosial Ekonomi Perikanan FPIK UHO*, 4(2), 155–160.
- Rivai, A. A., Syam, H., Rauf, R. F., & Jamaluddin. (2020). Pengaruh Umur Panen terhadap Produksi Rumput Laut *Eucheuma cottonii* di Kabupaten Takalar saat Musim Timur. *Jurnal Pendidikan Teknologi Pertanian*, 6(2), 361–371.
- Ruslaini. (2016). Kajian Kualitas Air Terhadap Pertumbuhan Rumput Laut (*Gracilaria verrucosa*) Di Tambak Dengan Metode Vertikultur. *Octopus: Jurnal Ilmu Perikanan*, 5(2), 522–527.
- Satriani, G. I., Meidie, A., Handayani, S., & Suryati, E. (2017). KULTUR JARINGAN RUMPUT LAUT (*Gracilaria verrucosa*) DI MEDIA BERBEDA TERHADAP PERTUMBUHAN THALLUS. *Jurnal Harpodon Borneo*, 10(1), 37–45. <http://jurnal.borneo.ac.id/index.php/harpodon/article/view/187>
- Shara, Cinnawara, H. T., Baso, H. S., & Muchlis, A. M. (2023). PENGARUH PENGGUNAAN BIBIT RUMPUT LAUT *Eucheuma cottonii* HASIL KULTUR JARINGAN BERDASARKAN UMUR PANEN BERBEDA TERHADAP KANDUNGAN KARAGENAN. *Fisheries of Wallacea Journal*, 4(1), 56–66. <https://medium.com/@arifwicaksanaa/pengertian-use-case-a7e576e1b6bf>
- Supiandi, M., Cokrowati, N., & Rahman, I. (2020). PENGARUH PERBEDAAN JARAK TANAM TERHADAP PERTUMBUHAN RUMPUT LAUT (*Eucheuma cottonii*) HASIL KULTUR JARINGAN DENGAN METODE PATOK DASAR DI PERAIRAN GERUPUK. *Jurnal Perikanan Unram*, 10(2), 158–166. <https://doi.org/10.29303/jp.v10i2.206>
- Wulandari, N. S., Pramesti, R., & Susanto, A. B. (2019). Analisis Parameter Fisika dan Kimia Karaginan *Kappaphycus alvarezii* Doty 1985 (Florideophyceae : Solieriaceae) Dengan Variasi Ekstraksi dari Perairan Bluto. *Journal of Marine Research*, 8(4), 409–415. <https://doi.org/10.14710/jmr.v8i4.25275>

Yuliana, Salam, M. A., Tambaru, E., Andriani, I., & Lideman. (2017). Pengaruh Lama Perendaman bibit dalam Larutan Pupuk Provasoli's Terhadap Laju Pertumbuhan *Euclima spinosum* J. Agardh Secara In Vitro. *Jurnal Rumput Laut Indonesia*, 2(2), 51–57.
http://djpen.kemendag.go.id/app_frontend/admin/docs/publication/6201390367517.pdf