

Pengaruh Pemberian Auksin Sintetik Asam Naftalena Asetat Terhadap Pertumbuhan Mikroalga (*Nannochloropsis oculata*)

Hismarto Bahua.*, Yusuf Hendrawan, Rini Yulianingsih

Jurusan Keteknikian Pertanian - Fakultas Teknologi Pertanian - Universitas Brawijaya
Jl. Veteran, Malang 65145

*Penulis Korespondensi, Email: martobahua@yahoo.com

ABSTRAK

Mikroalga (*Nannochloropsis oculata*) adalah salah satu mikroorganisme bersel satu yang termasuk dalam kelas Eustigmatophyceae yang dikenal sebagai marine chlorella dan umumnya dibudidayakan di pembenihan ikan sebagai pakan rotifer. *Nannochloropsis oculata*. Mempunyai peranan penting dalam suatu kegiatan pembenihan karena kandungan nutrisinya yang tinggi. Pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian auksin sintetik asam naftalena asetat terhadap laju pertumbuhan mikroalga (*Nannochloropsis oculata*). Masing – masing perlakuan yaitu A0 (tanpa penambahan auksin asam naftalena asetat), A2 (auksin asam naftalena asetat 2 ppm), A4 (auksin sintetik asam naftalena asetat 4 ppm), A6 (auksin sintetik asam naftalena asetat 6 ppm), A8 (auksin sintetik asam naftalena asetat 8 ppm). Hasil penelitian menunjukkan pertumbuhan populasi *Nannochloropsis oculata* mencapai kenaikan puncak hari ke- 6 pada A6 (1.1096×10^6 sel/ml), A8 (1.0043×10^6 sel/ml), A0 (0.8713×10^6 sel/ml), A2 (0.8868×10^6 sel/ml) dan A4 (0.9049×10^6 sel/ml). Dari masing – masing perlakuan dosis pemberian auksin sintetik asam naftalena asetat, A0 menghasilkan rata – rata laju pertumbuhan maksimal (μ_{maks}) *Nannochloropsis oculata* sebesar (0.203827 sel/ml/hari); A2 sebesar (0.227957 sel/ml/hari); perlakuan A4 sebesar (0.240584 sel/ml/hari); Perlakuan A6 sebesar (0.269752 sel/ml/hari); dan perlakuan A8 sebesar (0.249212 sel/ml/hari). Hal ini menunjukkan bahwa dengan pemberian dosis auksin sintetik asam naftalena asetat yang berbeda akan memberikan laju pertumbuhan maksimum (μ_{maks}) populasi *Nannochloropsis oculata* yang berbeda pula.

Kata kunci : *Nannochloropsis oculata*, asam naftalena asetat, laju pertumbuhan

The Effect of The Syntethic Auxin Naphthalene Acetic Acid on The Growth of Microalgae (*Nannochloropsis oculata*)

ABSTRACT

Microalgae (*Nannochloropsis oculata*) are one-celled microorganisms which belongs to a class known as marine Eustigmatophyceae chlorella and generally cultivated in hatchery fish as feed rotifers. *Nannochloropsis oculata*. Have an important role in a seeding activity because of high nutritional content. In this study aims to determine the effect of the synthetic auxin naphthalene acetic acid on the rate of growth of microalgae (*Nannochloropsis oculata*). Each treatment are A0 (without the addition of auxin naphthalene acetic acid), A2 (auxin naphthalene acetic acid 2 ppm), A4 (naphthalene acetic acid synthetic auxin 4 ppm), A6 (naphthalene acetic acid synthetic auxin 6 ppm), A8 (auxin synthetic naphthalene acetic acid 8 ppm). The results showed population growth *Nannochloropsis oculata* reach the peak increase at day 6 on A6 (1.1096×10^6 cells / ml), A8 (1.0043×10^6 cells / ml), A0 (0.8713×10^6 cells / ml), A2 (0.8868×10^6 cells / ml) and A4 (0.9049×10^6 cells / ml). Of each treatment dose addition of naphthalene acetic acid synthetic auxin, A0 generates an average maximum growth rate (μ_{maks}) *Nannochloropsis oculata* of (0.203827 cells/ml/day); A2 by (0.227957 cells/ml/day); treatment of A4 (0.240584 cells/ml/day); treatment of A6 (0.269752 cells/ml/day); and treatment of A8 (0.249212 cells/ml/day). This suggests that the administration of different doses of naphthalene acetic acid synthetic auxin will give maximum growth rate (μ_{maks}) different population of *Nannochloropsis oculata*.

Keywords: *Nannochloropsis oculata*, naphthalene acetic acid, growth rate

PENDAHULUAN

Kondisi perairan Indonesia yang sangat potensial perlu terus dikembangkan untuk mencapai kesejahteraan rakyat. Potensi lahan pengembangan budidaya laut di Indonesia juga cukup besar yaitu 80,929 ha, dengan potensi produksi mencapai 46.734.300 ton/tahun. Mikroalga merupakan salah satu pakan alami bagi ikan. Mikroalga yang melimpah dapat membuat pertambahan kelimpahan ikan juga. Selain itu mikroalga juga dapat meminimalisir jumlah biaya produksi dalam budidaya ikan karena pakan yang digunakan merupakan pakan yang berharga murah dan memiliki tingkat kandungan protein yang tinggi sehingga dapat meningkatkan pertumbuhan yang lebih tinggi pada ikan tersebut.

Mikroalga merupakan tanaman yang paling efisien dalam menangkap dan memanfaatkan energi matahari dan CO₂ untuk keperluan fotosintesis. Pertumbuhan dan perkembangan tanaman tinggi ini dipengaruhi oleh zat pengatur tumbuh penting seperti sitokinin dan auksin. Interaksi dan perimbangan antara zat pengatur tumbuh yang diberikan dalam media dan yang diproduksi oleh sel secara endogen, menentukan arah perkembangan suatu kultur. Penambahan auksin atau sitokinin eksogen merupakan *triggerring factor* untuk proses-proses yang tumbuh dan morfogenesis (Taiz and Zieger, 2002).

Salah satu jenis pakan alami yang banyak dibudidayakan, terutama pada pembenihan ikan adalah *Nannochloropsis oculata*. Pertumbuhan *Nannochloropsis oculata* erat kaitannya dengan ketersediaan unsur makro dan unsur mikro. Unsur N merupakan unsur dasar yang sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan *Nannochloropsis oculata* karena dibutuhkan dalam jumlah paling banyak dibandingkan unsur lainnya (Fay, 1983 dalam Handayani, 2003). Pertumbuhan dan perkembangan berlangsung secara terus-menerus tergantung pada hasil asimilasi, hormon dan substansi pertumbuhan serta lingkungan yang mendukung (Gardner *et al.*, 1991).

Terkait dengan hal tersebut, berbagai usaha telah dilakukan dalam upaya meningkatkan pertumbuhan pakan alami, baik metode budidaya maupun penambahan berbagai substansi pertumbuhan. Salah satunya adalah penggunaan hormon tumbuh untuk meningkatkan pertumbuhan pakan alami yakni melalui kepadatan populasinya. Bentuk aplikasinya adalah dengan menambahkan zat pengatur tumbuh yaitu Asam Naftalena Asetat atau dikenal dengan NAA merupakan auksin sintetik yang sering digunakan dalam kultur jaringan tanaman. Auksin merupakan salah satu hormon tanaman yang dapat mendukung proses fisiologi seperti pertumbuhan, pembelahan dan diferensiasi sel serta sintesa protein (Darnell *et al.*, 1986). Auksin memiliki kemampuan mendorong pembelahan sel dengan cara mempengaruhi dinding sel. Penelitian Adinda dkk. (2012), menjelaskan bahwa *Nannochloropsis sp* mulai dibudidayakan dengan memanfaatkan zat pengatur tumbuh tanaman atau yaitu Asam-2,4-Diklorofenoksiasetat yang merupakan auksin sintetik. Pemberian auksin ini diharapkan dapat meningkatkan kepadatan pertumbuhan mikroalga dan dapat mempercepat masa panen. Sehingga tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui pengaruh penambahan auksin sintetik terhadap pertumbuhan mikroalga dengan menggunakan auksin sintetik Asam Naftalena Asetat. Pemberian Auksin sintetik yang berbeda diharapkan dapat meningkatkan kepadatan mikroalga.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah mikroskop untuk mengamati jumlah kepadatan mikroalga, toples sebagai wadah pertumbuhan mikroalga, gelas ukur untuk mengukur volume, *hand counter* untuk menghitung kepadatan, aerator untuk penyuplai udara, termometer untuk mengukur suhu, pipet tetes untuk mengambil sampel, *pH meter* untuk mengukur nilai pH media tumbuh, lampu neon 40 watt sebagai pencahayaan untuk fotosintesis, *haemocytometer* media menghitung jumlah kepadatan mikroalga, Refraktometer berfungsi untuk mengukur salinitas media tumbuh. Sedangkan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Nannochloropsis oculata* sebagai obyek penelitian, Auksin Sintetik Asam Naftalena Asetat sebagai zat pendukung pertumbuhan, pupuk *Walne* sebagai media tumbuh mikroalga dan air akuades sebagai air steril untuk pengenceran.

Metode Penelitian

Sterilisasi

Air laut yang akan digunakan untuk kultur disterilisasi menggunakan larutan khlorin. Air laut terlebih dahulu disaring dengan kapas yang diletakkan dalam corong air, kemudian disterilkan dengan khlorin 60 ppm selama 24 jam. Sisa-sisa bau khlorin dapat dihilangkan dengan menggunakan Na Thiosulfat 20 ppm. Air laut yang sudah steril disimpan dalam wadah yang tidak tembus cahaya dan tertutup rapat. Peralatan kultur yang akan digunakan dicuci sampai bersih kemudian dibilas air tawar dan dikeringkan. Peralatan yang terbuat dari kaca tahan panas harus ditutup dengan kapas dan kasa, kemudian peralatan tersebut dibungkus dengan aluminium foil. Setelah peralatan terbungkus, disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Peralatan yang tidak tahan panas disterilkan dengan larutan klorin 150 ppm selama 24 jam, kemudian peralatan tersebut dibilas dengan air tawar hingga bersih dan bau khlorin hilang.

Persiapan Pembuatan Stok Larutan Asam Naftalena Asetat

Asam Naftalena Asetat yang digunakan masih berbentuk bubuk yang kemudian akan diubah menjadi bentuk larutan. Konsentrasi larutan asam naftalena asetat yang digunakan dalam penelitian ini adalah 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm dan 8 ppm dengan volume penggunaan 1 ml/L. Proses pembuatan stok larutan asam naftalena asetat dimulai dengan penimbangan asam naftalena asetat sebanyak 200 mg lalu dilarutkan dalam 100 ml aquades. Larutan asam naftalena asetat kemudian dimasukkan kedalam erlenmeyer sambil disaring dengan kertas saring. Erlenmeyer yang berisi larutan asam naftalena asetat kemudian ditutup dengan aluminium foil lalu disterilkan menggunakan autoclave kemudian dipindahkan ke gelas ukur sesuai dengan konsentrasi yang telah dibuat. Pembuatan larutan asam naftalena asetat untuk kultur *Nannochloropsis oculata* menggunakan rumus (Rosales, 1982) sebagai berikut :

$$Q = \frac{V}{P} \times K$$

Keterangan :

Q = berat bahan yang dilarutkan (mg, gram)

V = volume pelarut/aquades (ml, L)

P = volume penggunaan dalam media kultur (ml/L)

K = Konsentrasi larutan asam naftalena asetat yang akan digunakan (ppm)

Persiapan Media Pertumbuhan dan Mikroalga

Mengkultur *Nannochloropsis oculata* dengan kepadatan 1×10^5 sel/ml. Menyiapkan toples volume 2 liter sebanyak 5 buah yang telah dicuci hingga bersih dan dikeringkan. Media kultur yang digunakan dalam penelitian adalah air laut (30 ppt) sebanyak 0,5 liter yang dimasukkan kedalam 5 toples kaca kemudian masing masing ditambahkan pupuk Walne dengan konsentrasi 1 ml. Selanjutnya, media kultur diberi tanda perlakuan dan diletakkan di rak kultur lalu diberi aerasi dan siap dimasukkan bibit *Nannochloropsis oculata* dengan kepadatan 1×10^5 sel/ml.

Pencampuran

Pencampuran dilakukan setelah media telah siap untuk dijadikan tempat tumbuh kembang *Nannochloropsis oculata*. Setelah *Nannochloropsis oculata* telah dimasukkan media yang telah berisi pupuk walne, kemudian auksin sintetik asam naftalena asetat ditambahkan sesuai dengan dosis masing-masing wadah yaitu A0 (tanpa penambahan auksin sintetik asam naftalena asetat), A2 (dengan penambahan auksin sintetik asam naftalena asetat 2 ppm), A4 (dengan penambahan auksin sintetik asam naftalena asetat 4 ppm) A6 (dengan penambahan

auksin sintetik asam naftalena asetat 6 ppm), A8 (dengan penambahan auksin sintetik asam naftalena asetat 8 ppm) .

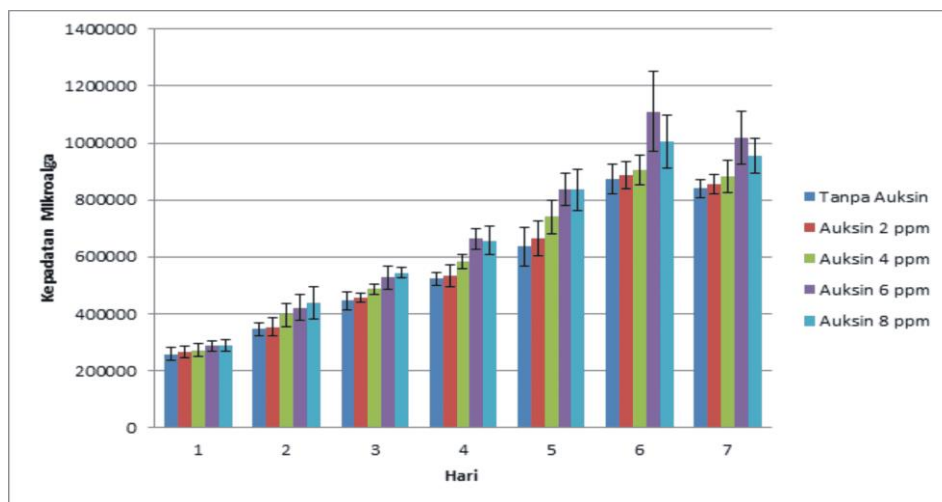
Pengambilan data

Pengambilan data penelitian meliputi pengambilan data jumlah kepadatan mikroalga, pH media, suhu media dan salinitas media. Untuk pengambilan data kepadatan mikroalga *Nannochloropsis oculata* dilakukan setiap hari pada pukul 08.00 wib, pukul 14.00 wib dan pukul 20.00 wib. Sedangkan data besarnya pH, salinitas dan suhu dilakukan setiap hari sekali.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kepadatan Populasi *Nannochloropsis oculata*

Hasil pengamatan kepadatan harian populasi *Nannochloropsis oculata* selama penelitian untuk masing-masing perlakuan memiliki kecenderungan peningkatan seiring dengan bertambahnya hari. Histogram rata-rata kepadatan Populasi *Nannochloropsis oculata* antar perlakuan dapat dilihat pada Gambar 1.



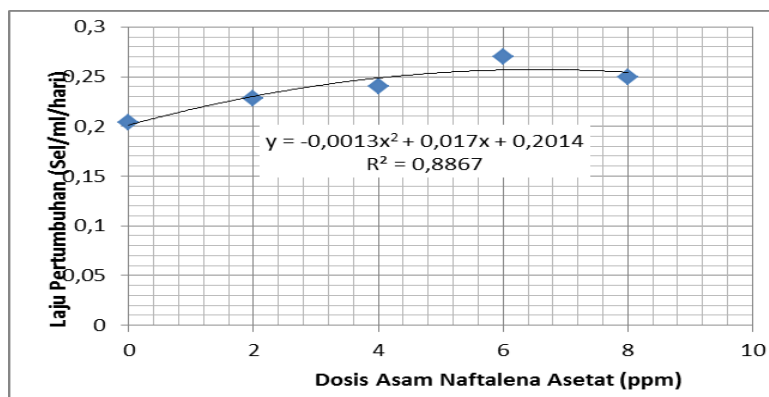
Gambar 1. Histogram rata-rata Kepadatan *Nannochloropsis oculata* selama 7 hari

Berdasarkan pengamatan pertambahan kepadatan harian populasi *Nannochloropsis oculata* selama 7 hari pada Gambar 1 diatas menunjukkan bahwa kepadatan populasi *Nannochloropsis oculata* memiliki kepadatan yang baik di setiap perlakuan. Pada awal penelitian kepadatan *Nannochloropsis oculata* yang diberikan di setiap perlakuan yaitu sebesar 1×10^5 sel/ml. Pada hari ke- 1 sampai hari ke-3 pertambahan jumlah sel relatif masih kecil, hal ini disebabkan jumlah sel *Nannochloropsis oculata* pada pertumbuhannya masih memerlukan adaptasi dengan lingkungannya yang baru, kemudian berkembang biak sesuai dengan kondisi lingkungan tersebut.

Hal ini sesuai dengan (Fogg, 1987) sel fitoplankton membutuhkan waktu untuk menyesuaikan diri dengan kondisi lingkungan yang baru. Setelah mengalami fase lag, pada hari ke- 4 sampai hari ke-6 diperkirakan memasuki fase eksponensial (periode puncak) dimana perkembangan sel *Nannochloropsis oculata* mengalami pertumbuhan puncak. Selanjutnya pada hari ke- 7 merupakan fase kematian dimana terjadi penurunan jumlah populasi mikroalga. Pertumbuhan yang cepat ini didukung oleh ketersediaan nutrien pada medium walne yang cukup, selain itu ditunjang oleh penambahan zat pendukung pertumbuhan asam naftalena asetat.

Laju Pertumbuhan *Nannochloropsis oculata*

Berdasarkan perhitungan ANOVA menggunakan hipotesis uji yaitu model kuadratik penambahan dosis asam naftalena asetat yang berbeda dengan laju pertumbuhan maksimal (μ_{maks}), diketahui bahwa nilai F hitung lebih besar daripada F tabel sehingga dapat disimpulkan bahwa model kuadratik penambahan dosis asam naftalena asetat yang berbeda dengan laju pertumbuhan maksimal (μ_{maks}) adalah signifikan. Selain itu, diperoleh pula koefisien determinasi (R^2) = 0.8867, artinya 88.67% dari varian penambahan Asam Naftalena Asetat yang berbeda dapat dijelaskan oleh perubahan dari laju pertumbuhan maksimal seperti yang ditunjukkan oleh grafik pada Gambar 2.

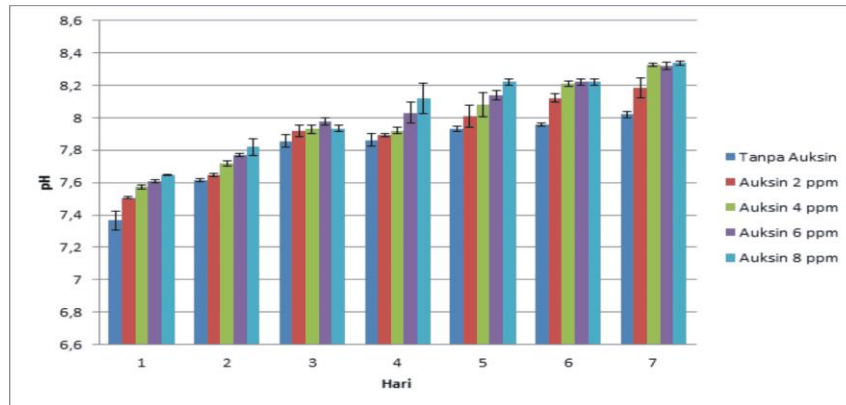


Gambar 2. Grafik rata-rata laju pertumbuhan *Nannochloropsis oculata* terhadap dosis asam naftalena asetat yang diberikan

Berdasarkan Gambar 2 diatas, dapat dilihat bahwa tanpa penambahan asam naftalena asetat menghasilkan laju pertumbuhan maksimal (μ_{maks}) populasi *Nannochloropsis oculata* sebesar 0.203827 sel/ml/hari. Jika dosis penambahan asam naftalena asetat ditambah menjadi 2 ppm maka menghasilkan laju pertumbuhan maksimal (μ_{maks}) populasi *Nannochloropsis oculata* sebesar 0.227957 sel/ml/hari. Peningkatan laju pertumbuhan *Nannochloropsis oculata* ini juga terus terjadi sampai penambahan asam naftalena asetat 6 ppm (0.269752 sel/ml/hari). Namun jika penambahan asam naftalena asetat mencapai 8 ppm, maka terjadi penurunan laju pertumbuhan sebesar 0.249212 sel/ml/hari. Hal ini menunjukkan bahwa dengan pemberian dosis asam naftalena asetat yang berbeda akan memberikan laju pertumbuhan maksimal (μ_{maks}) populasi *Nannochloropsis oculata* yang berbeda pula.

Kadar pH

Hasil analisa sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan dosis yang berbeda memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap pH media kultur. Hal ini terlihat dari $F_{5\%} < F_{hitung}$ dimana $10,128 < 64,764$. Sehingga pengaruh dari penambahan tersebut dapat mempengaruhi hasil dari pH media kultur. Untuk mengetahui hubungan antara dosis yang berbeda dengan pH media kultur maka dilakukan analisis regresi. Dari hasil perhitungan analisis regresi didapatkan hubungan linier antara dosis terhadap pH media kultur dengan persamaan $y = 7.824 + 0.030x$. Selain itu, diperoleh pula koefisien determinasi (R^2) = 0.956, artinya 95.6% dari varian penambahan dosis yang berbeda dapat dijelaskan oleh perubahan pH dari laju pertumbuhan maksimal. Histogram perubahan pH selama 7 hari dapat dilihat pada Gambar 3.

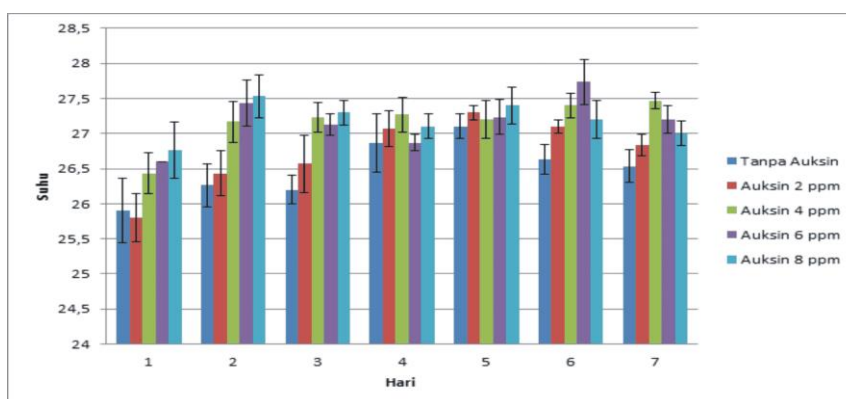


Gambar 3. Histogram perubahan pH selama 7 hari

Berdasarkan Gambar 3 diatas dapat dilihat bahwa pada penelitian didapatkan rata-rata pH antara 7.3 – 8.4 pada semua perlakuan. Di mana pada hasil penelitian diperoleh secara keseluruhan rata-rata pH per hari meningkat seiring peningkatan konsentrasi Asam Naftalena Asetat. Kenaikan pH diduga karena seiring dengan adanya proses pemanfaatan nitrogen dari unsur – unsur pupuk dari pupuk walne oleh *Nannochloropsis oculata* dan adanya auksin Asam Naftalena Asetat yang mampu menghasilkan nitrogen. Sesuai dengan pendapat (Morel, 1983), pada kisaran pH 7 – 9 terdapat dua kemungkinan pemanfaatan nitrogen dari nutrient dalam medium oleh sel mikroalga, yaitu pemanfaatan nitrogen dalam bentuk nitrat dan ammonium.

Suhu

Suhu merupakan salah satu faktor terpenting dalam mikroalga pada sistem *Batch*. Di mana suhu harus terjaga agar mikroalgadapat tumbuh optimal. Hasil analisa sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan dosis yang berbeda memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap suhu media kultur. Hal ini terlihat dari $F_{5\%} < F_{hitung}$ dimana $10,128 < 13,362$. Sehingga pengaruh dari penambahan tersebut dapat mempengaruhi hasil dari suhu media kultur. Untuk mengetahui hubungan antara dosis yang berbeda dengan suhu media kultur maka dilakukan analisis regresi. Dari hasil perhitungan analisis regresi didapatkan hubungan linier antara dosis terhadap suhu media kultur dengan persamaan $y = 26.588 + 0.091x$. Selain itu, diperoleh pula koefisien determinasi (R^2) = 0.817, artinya 81.7% dari varian penambahan dosis yang berbeda dapat dijelaskan oleh perubahan suhu dari laju pertumbuhan maksimal. Histogram perubahan suhu selama 7 hari dapat dilihat pada Gambar 4.



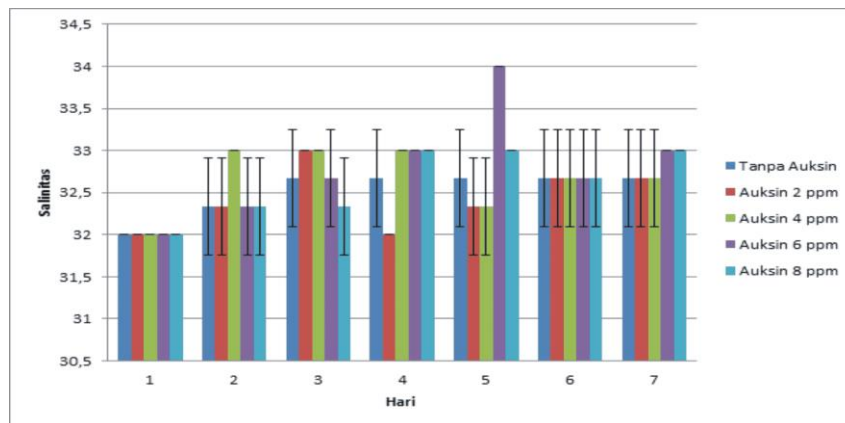
Gambar 4. Histogram perubahan suhu selama 7 hari

Berdasarkan Gambar 4, suhu rata – rata berkisar antara 25 °C – 27 °C dan pada tabel data suhu menunjukkan bahwa suhu cenderung berubah – ubah relatif tidak konstan.

Pengambilan data suhu pada waktu pagi hari suhu cenderung naik, pada waktu siang suhu berubah lebih tinggi dan pada waktu malam hari suhu cenderung turun. Secara keseluruhan berturut – turut suhu meningkat seiring dengan meningkatnya pula populasi *Nannochloropsis oculata*. Hal ini mungkin disebabkan peningkatan kepadatan populasi dari mikroorganisme pada media kultur yang menyebabkan peningkatan suhu media juga.

Salinitas

Pada penelitian diperoleh keseluruhan rata-rata salinitas antara 32 –34 ppt pada semua perlakuan. Di mana pada hasil penelitian diperoleh secara keseluruhan rata-rata salinitas meningkat sesudah hari pertama dan cenderung stabil pada hari selanjutnya. Histogram perubahan salinitas selama 7 hari dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Histogram perubahan salinitas selama 7 hari

Untuk mengetahui hubungan antara dosis yang berbeda dengan salinitas media kultur maka dilakukan analisis regresi. Dari hasil perhitungan analisis regresi didapatkan hubungan non linier antara dosis terhadap salinitas media kultur dengan persamaan polynomial $y = 32.521 - 0.170x + 0.078x^2 - 0.007x^3$. Selain itu, diperoleh pula koefisien determinasi ($Adj. R^2$) = 0.975, artinya terdapat 97.5% dari varian penambahan dosis yang berbeda dapat menjelaskan perubahan salinitas.

KESIMPULAN

Pemberian variasi perlakuan dengan konsentrasi yang berbeda dari Auksin Sintetik Asam Naftalena Asetat dapat berpengaruh positif terhadap pertumbuhan *Nannochloropsis oculata*, dengan semakin banyak atau semakin besar dosis auksin asam naftalena asetat yang diberikan maka akan semakin meningkat pula pertumbuhan dari *Nannochloropsis oculata*. Pemberian auksin sintetik asam naftalena asetat dengan konsentrasi 6 ppm menghasilkan kepadatan sel tertinggi yaitu $1,109 \times 10^6$ sel/ml yang diperoleh pada hari keenam setelah perlakuan.

DAFTAR PUSTAKA

- Adinda A, Alamsjah A dan Rahardja Boedi. 2012. Pengaruh Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh (Asam-2,4-Diklorofenoksiasetat) terhadap Pertumbuhan *Nannochloropsis Oculata*. Tesis. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Darnell, J., H. Lodish and H. Baltimore. 1986. Molecular Cell Biology. Scientific American Books, Inc. New York.

- Fogg GE. 1987. *Algal Cultures and Phytoplankton Ecology*. The University of Wisconsin Press, Madison
- Gardner, F.P., R.B. Pearce, and R. L. Mitchell. 1991. *Fisiologi Tanaman Budidaya*. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Handayani, L. 2003. *Pertumbuhan Spirulina platensis Yang Dipupuk Dengan Pupuk Komersil Dan Kotoran Puyuh Pada Konsentrasi Berbeda*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Morel, T. 1983. *Chlorella*. In Borowitzka MA, Borowitzka LJ (Eds). *Micro-algal Biotechnology*. Cambridge University Press. Cambridge.
- Rosales, M. 1982. Preparation of Various Culture Media and Stock Solutions. SEAFDEC Aquaculture Department. In: R. D. Guerrero and C. T. Villegas (Eds). *Report of the Training Course on Growing Food Organism for Fish Hatcheries*. Tigbauan, Iloilo, Philippines.
- Taiz, L and E. Zieger. 2002. *Plant Physiology* 3rd edition. Sinauer Associates. Sunderland, p: 426