

KOMPOSISI KIMIA CACING KACANG (*Sipunculus nudus*) DI KABUPATEN RAJA AMPAT DAN KABUPATEN MANOKWARI

Chemical Composition of *Sipunculus nudus* in Regency Raja Ampat
and Manokwari

Juliana Leiwakabessy^{1*}, Rico R.R. Mailissa¹, Simon P.O. Leatemia¹

¹ Jurusan Perikanan, FPIK UNIPA, Manokwari, 98314, Indonesia

* Korespondensi: rljunels@gmail.com

ABSTRAK

Filum Sipuncula adalah biota laut unik, dari penampilan luarnya. Hewan ini mirip dengan cacing, sehingga diistilahkan *peanut worm*. Masyarakat pesisir Papua khususnya di Papua Barat telah memanfaatkan organisme ini sebagai bahan pangan, tetapi komposisi gizi dari spesies inu belum banyak dibahas. Penelitian dilakukan Maret-April 2014, bertujuan untuk mengetahui komposisi kimia dari *Sipuncula nudus* yang diambil dari perairan Raja Ampat dan Manokwari. Hasil menunjukkan bahwa kadar air *S. nudus* dari Kelurahan Sowi 4 Manokwari) yaitu 8.06%, kadar lemak tertinggi terdapat pada Kampung Amdui Raja Ampat) yaitu 1.70%, kadar protein tertinggi berasal dari Kampung Amdui Raja Ampat) yaitu 82.46%, karbohidrat tertinggi berasal dari Kelurahan Sowi 4 Manokwari) yaitu 7.26% dan kadar serat kasar Kelurahan Sowi 4 Manokwari) yaitu 1.05%. Sedangkan untuk kadar mineral besi dan kalsium tertinggi sampel dari Kampung Amdui Raja Ampat 11.07 Mg/100g dan kalsium sebesar 297.01Mg/100g. Sedangkan kadar mineral kalium tertinggi dari lokasi Kelurahan Sowi 4 Manokwari yaitu 207.48Mg/100g. Perbedaan ukuran panjang dan berat tidak memberikan pengaruh yang besar terhadap persentase kandungan gizi dan mineral dari *Sipunculus nudus*.

Kata kunci: Sipuncula nudus, komposisi gizi (kimia), perairan Raja Ampat, Manokwari

ABSTRACT

Phylum Sipuncula is an unique marine creature, as its external morphology. This animal like a worm, and thus its name peanut worm. Papua people live in coast nearby ate this organism as food, but its nutrition status was not yet discussed. Research was done in March-Paril 2014, with the goal of determining chemical composition of *S. nudus* taken from Raja Ampat and Manokwari. Results showed that water content *S. nudus* of Sowi 4 Manokwari) was 8.06%, highest fat content found on sample of Kampung Amdui Raja Ampat (1.70%), as well as protein (82.46%). The highest carbohydrate was in sample of Sowi 4 Manokwari (7.26%), but the fibre was in sample of Kampung Amdui Raja Ampat (11.07 Mg/100g) and 297.01Mg/100g. Other mineral such as kalium od Sowi 4 Manokwari sample was 207.48Mg/100g. The difference on size length and weight were not affect the percentage of nutrition value of *S. nudus*.

Key words : Sipuncula nudus, nutrition value (chemical content), Raja Ampat, Manokwari

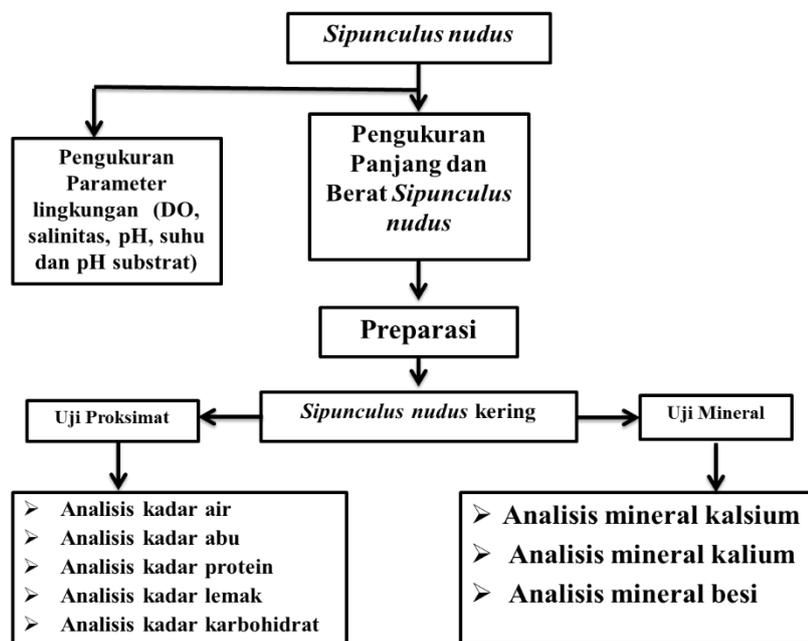
PENDAHULUAN

Papua memiliki perairan yang sangat luas, kurang lebih 750.000 km². Perairan memiliki potensi kekayaan laut yang menunjukkan keanekaragaman sumberdaya perikanan. Potensi sumberdaya perikanan yang terkandung terdiri dari potensi sumberdaya ikan, potensi sumberdaya karang, potensi sumberdaya mangrove, potensi sumberdaya lamun dan potensi sumberdaya perikanan yang dapat dimanfaatkan (Anonim, 2012). Salah satu potensi sumberdaya yang dapat dimanfaatkan adalah Sipuncula.

Filum Sipuncula adalah biota laut yang sedikit kontroversial, dari penampilan luarnya, hewan ini mirip dengan cacing. Dalam bahasa Inggris, hewan ini bahkan kerap disebut juga dengan istilah *peanut worm* karena bentuknya yang menyerupai kacang tanah (Anonim, 2009). Beberapa literatur juga menyebut hewan ini dengan sebutan *unsegmented marine worm* atau dalam bahasa Indonesia disebut cacing laut tak bersegmen (Barnes, 1987). Kehadiran Sipuncula pada ekosistem pesisir memang relatif kurang dikenal jika dibandingkan dengan cacing laut Polikaeta, sebab Polikaeta telah diketahui kegunaan dan nilai ekonomisnya, yakni sebagai bioindikator pencemaran dan pakan alami

tinggi protein bagi ikan atau udang-udangan (Fauchald, 1977 dalam Ager, 2004). Lain halnya dengan Sipuncula, sejauh ini hanya Sipuncula jenis tertentu yang telah dimanfaatkan sebagai bahan makanan, salah satunya adalah *S. nudus* (Pamungkas, 2010).

Masyarakat di Raja Ampat dan beberapa daerah pesisir lainnya di Indonesia telah memanfaatkan *S. nudus* sejak lama sebagai salah satu bahan makanan, namun belum ada informasi tentang kandungan gizi yang terkandung dalam daging *S. nudus*. Fakhurrozi (2011) mengemukakan komposisi kimia Sipuncula jenis *Xenosiphon* sp yang terdapat di Kepulauan Bangka-Belitung memiliki kandungan gizi yang tinggi. Pemanfaatan *S. nudus* oleh masyarakat juga tidak memperhatikan ukuran panjang maupun berat, oleh karena itu informasi tentang potensi komposisi kimia *S. nudus* dalam pemanfaatan sumberdaya perikanan di Papua Barat sangat diperlukan. Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui parameter lingkungan, komposisi kimia dan menentukan ukuran panjang dan berat *S. nudus* yang baik untuk dimanfaatkan berdasarkan komposisi kimia.



Gambar 1. Diagram alir penelitian kandungan gizi dan mineral *S. nudus*.

METODE PENELITIAN**Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret sampai April 2014. Lokasi pengambilan sampel berada di perairan pesisir Kam-pung Amdui, Kabupaten Raja Ampat (lokasi I) dan pesisir Kelurahan Sowi 4 Kabupaten Manokwari (lokasi II). Pengeringan sampel dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Perikanan FPPK UNIPA. Analisis kandu-

ngan gizi dan mineral dilakukan di Laboratorium Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pasca Panen Pertanian Bogor. Dia-gram alir penelitian kandungan gizi dan mineral *S. nudus* ditunjukkan dalam Gambar 1.

Bahan dan Alat

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini, seperti terlihat pada pada Tabel 1, 2 dan 3.

Tabel 1. Alat yang digunakan di lapang.

No	Alat	Manfaat
1	Kertas lakmus	Mengukur pH air
2	DO meter	Mengukur oksigen
3	pH meter	Mengukur derajat keasaman perairan
4	Thermometer	Mengukur suhu perairan
5	Soil pH dan Moisture Tester	Untuk mengukur kelembaban substrat dan pH substrat
6	Refaktometer	Untuk mengukur salinitas
7	Linggis/parang	Untuk menggali substrat
8	Baskom/toples	Wadah/tempat pengumpulan <i>S. nudus</i>
9	Kamera digital	Dokumentasi
10	Alat tulis menulis	Untuk mencatat data di lapang
11	Timbangan digital	Untuk menimbang berat sampel
12	Penggaris	Untuk mengukur panjang sampel
13	Plastik sampel	Untuk menyimpan sampel
14	GPS	Untuk memperoleh titik kordinat di lokasi penelitian

Tabel 2. Alat yang digunakan di Laboratorium.

No	Alat	Manfaat
1	Desikator	Alat untuk mendinginkan sampel setelah proses pengeringan maupun pengabuan
2	Gegep	Alat bantu untuk memegang cawan porselin
3	Oven	Untuk mengeringkan sampel
4	Timbangan analitik ketelitian 0,1 mg	Mengukur bobot sampel
5	Alat ekstraksi	Untuk mengekstraksi sampel
6	Alat destruksi	Untuk menghancurkan sampel menjadi komponen sederhana, sehingga nitrogen dalam bahan terurai dari ikatan organiknya
7	Alat destilasi	Untuk melepaskan nitrogen dalam larutan hasil destruksi
8	Labu kjehdahl	Labu/wadah khusus yang digunakan untuk proses penentuan kadar lemak
9	Labu destilat	Penampung larutan hasil destruksi
10	Pemanas/hot plate	Untuk memanaskan larutan sampel
11	Penyaring Buchner	Untuk menyaring larutan sampel
12	Gelas arloji	Wadah untuk menampung bahan bersifat korosit
13	Tanur pengabuan	Alat untuk mengabukan sampel
14	Belender	Untuk menghancurkan sampel
15	Botol timbang	Wadah untuk menimbang sampel
16	Spatula	Sendok untuk mengambil sampel

17	Buret	Alat untuk melakukan titrasi sampel
18	Corong Buchner	Penyaring larutan sampel
19	AAS (Absorption Atomic Spectrofotometer)	Alat untuk penentuan kadar mineral
20	Kertas saring whatman	Untuk memisahkan antara larutan dan <i>S. nudus</i> (sampel)
21	Gelas piala	Wadah yang digunakan pada saat pewarnaan larutan
22	Labu takar	Untuk menakar larutan tepung <i>S. nudus</i>
23	Gelas ukur	Untuk mengukur larutan kimia yang digunakan
24	Erlenmeyer	Wadah penampung larutan hasil destilat
25	Lemari pendingin	Untuk menjaga kesegaran sampel

Tabel 3. Bahan yang digunakan dalam penelitian

No	Bahan	Manfaat
1	Batu didih	Menjaga keseimbangan panas larutan
2	Es batu	Menjaga kesegaran sampel
3	H ₂ SO ₄ pekat	Sebagai pereaksi yang digunakan untuk reaksi asam-basa
4	Selenium	Menstabilkan bahan/larutan sampel
5	CuSO ₄ 5H ₂ O	Sebagai pengawet sampel
6	H ₃ BO ₃	Sebagai pengawet larutan
7	H ₂ SO ₄	Menetralkan larutan asam ke basa
8	Dietil eter	Pelarut senyawa-senyawa organik
9	HCl	Untuk titrasi penentuan kadar basa dalam larutan
10	Indicator mixture	Campuran larutan untuk penentuan kadar lemak (amonium milibdat dan amonium venadat)
11	Acetot	Pelarut larutan sampel
12	Metanol	Mendinginkan sampel setelah dikeluarkan dari oven
13	Asam nitrat	Larutan campuran untuk analisis mineral
14	Akuades	Air bebas mineral diperoleh dari resin campuran yang di destilasi sebelum dipakai
15	Larutan stok standar	Larutan baku
16	HCl pekat	Sebagai pelarut mineral mikro

Metode Penelitian

Analisis sampel dilakukan dengan metode proksimat (AOAC 2005). Analisis kandungan mineral menggunakan AAS (*Absorption Atomic Spectrofotometer*), model varian tipe spectra A 30 (AOAC 1995).

Teknik Pengambilan Sampel

Proses pengambilan contoh sampel diawali dengan pengukuran parameter lingkungan pada lokasi pengambilan sampel. Metode pengambilan sampel *S. nudus* dilakukan secara acak, dengan waktu pengambilan saat air surut pada sore hari. Sampel *S. nudus* diambil menggunakan linggis sebagai alat bantu untuk menggali (Pamungkas, 2010). Sampel yang diperoleh dari lokasi I (Kampung Amdui Raja Ampat) sebanyak 50 individu dan pada lokasi II (Kelurahan Sowi 4 Manokwari)

sebanyak 35 individu. Tiap individu sampel diukur panjang (cm) dan berat (g). Sampel dari masing-masing lokasi dikelompokkan menjadi kelompok berukuran kecil (a) dan kelompok berukuran besar (b). Sampel dibawa ke Sub Laboratorium Mikro-biologi Jurusan Perikanan FPPK UNIPA tanpa diawetkan, namun dimasukkan ke dalam *cool box* dan ditambahkan es batu agar sampel tetap segar. Selanjutnya sampel dikirim ke Laboratorium Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pasca Panen Institut Pertanian Bogor.

Prosedur Penelitian

Tahapan penelitian ini terbagi atas dua kegiatan, yaitu 1) pengukuran parameter lingkungan, panjang dan berat sampel *S. nudus*. 2) analisis komponen

kimia *S. nudus* yang terdiri atas analisis proksimat dan mineral.

Pengukuran parameter lingkungan

Bertujuan untuk mengetahui parameter lingkungan, meliputi pH substrat, oksigen terlarut (DO), suhu, pH air, dan salinitas.

Pengukuran Panjang dan Berat *S. nudus*

Panjang *S. nudus* diperoleh dengan cara mengukur panjang tubuh mulai dari bagian ujung anterior sampai posterior, tanpa bagian introvert yang terjulur keluar. Untuk berat, *S. nudus* ditimbang berat utuh dan bagian yang digunakan (tanpa isi perut). Hasil pengukuran sampel masing-masing lokasi dibagi menjadi dua kelompok yaitu kelompok *S. nudus* beru-

kurang kecil (a) dan kelompok berukuran besar (b).

Analisis komposisi kimia *S. nudus*.

Pengujian komposisi kimia ini terdiri atas uji kandungan gizi atau proksimat kadar air, kadar abu, kadar protein, kadar lemak dan karbohidrat. Selain itu dilakukan uji kandungan mineral meliputi kalsium (Ca), kalium (K), besi (Fe) dan seng (Zn) dan rendemen (Hustiany 2005). Sampel *S. nudus* dikeluarkan dari freezer, dicairkan kemudian dikeringkan menggunakan oven pada suhu 40 °C. Daging *S. nudus* yang sudah kering selanjutnya ditimbang kembali untuk mengetahui penurunan berat setelah dikeringkan. Rendemen merupakan presentase perbandingan antara bagian yang digunakan dengan berat utuh *S. nudus* segar, dengan rumus :

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat bagian yang digunakan (gram)}}{\text{Berat utuh } \textit{Sipunculusnudos} \text{ (gram)}} \times 100\%$$

Uji Proksimat (AOAC 2005)

Analisis proksimat meliputi uji kadar air dan abu dengan metode oven, uji kadar lemak menggunakan metode soxhlet, dan uji kadar protein menggunakan metode kjedahl.

Analisis kadar air (AOAC 2005)

Adapun prosedur analisis kadar air adalah sebagai berikut: kondisikan oven pada suhu yang akan digunakan hingga mencapai kondisi stabil. Cawan kosong yang akan digunakan, dikeringkan dalam oven selama 30 menit pada suhu 100-105 ° C. Cawan kosong selanjutnya didinginkan dalam desikator sekitar 30 menit dan ditimbang bobot kosong (A). Sampel yang sudah dihaluskan ditimbang sebanyak 5 g dan diletakkan dalam cawan (B), kemudian dipanaskan dalam oven pada suhu 100-105 °C selama 6 jam. Cawan kemudian didinginkan dalam desikator dan setelah dingin ditimbang kembali (C). Presentase kadar air dapat dihitung dengan rumus :

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

Keterangan:

A = berat cawan kosong (g)

B = berat cawan berisi dan sampel sebelum dioven (g)

C = berat cawan berisi sampel setelah dioven (g)

Analisis kadar abu (AOAC 2005)

Analisis kadar abu dilakukan menggunakan metode oven. Prinsipnya adalah pembakaran atau pengabuan bahan-bahan organik yang diuraikan menjadi air (H₂O) dan karbondioksida (CO₂), tetapi zat an-organik tidak terbakar. Zat anorganik ini disebut abu. Prosedur analisis kadar abu adalah sebagai berikut: cawan porselin yang kosong dipanaskan dalam oven. Cawan porselin didinginkan dalam desikator selama 30 menit dan ditimbang (A). Sampel sebanyak 5 g dimasukkan ke dalam cawan porselin dan ditimbang (B), kemudian cawan yang berisi sampel dimasukkan ke dalam oven bersuhu 550-600 °C selama 24 jam atau

sampai pengabuan sempurna yang terlihat dari abu yang berwarna putih. Setelah selesai, suhu tungku atau oven pengabuan diturunkan hingga suhu mencapai 40 °C. Cawan porselin dikeluarkan menggunakan penjepit dan dimasukkan ke dalam desikator selama 30 menit. Apabila abu belum putih benar, maka harus dilakukan pengabuan kembali. Abu dibasahi (lembapkan) dengan akuades secara bertahap, dikeringkan dengan *hot plate* dan abukan kembali pada suhu 550-600 °C sampai diperoleh berat yang konstan. Suhu pengabuan diturunkan sampai ± 40 °C lalu dipindahkan dari cawan porselin ke dalam desikator selama 30 menit, kemudian ditimbang bobotnya (C). Segera setelah dingin, kadar abu dihitung berdasarkan persamaan berikut :

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

Keterangan:

A = Berat cawan kosong (g)

B = Berat cawan berisi sampel sebelum pengabuan (g)

C = Berat cawan berisi sampel setelah pengabuan (g)

Analisis kadar protein (AOAC 2005)

Analisis kadar protein *S. nudus* kering dilakukan dengan menghitung total nitrogen yang didasarkan pada reaksi penetralan asam basa. *S. nudus* kering yang telah dihaluskan (diblender), ditimbang sebanyak 5 g kemudian dimasukkan ke dalam labu kjeldahl 100 ml, dan ditambahkan tablet kjeldahl 2 buah. Selanjutnya ditambahkan 15 ml H₂SO₄ lalu didestruksi selama ± 30 menit sampai diperoleh cairan yang berwarna hijau jernih. Cairan ini didinginkan, kemudian ditambah akuades 5 ml dan dipindahkan ke tabung destilasi, lalu dibilas dengan akuades 5-10 ml. Selanjutnya ke dalam tabung destilasi ditambahkan sebanyak 10-12 ml larutan NaOH (60 g NaOH + 5 g Na₂S₂O₃·5H₂O dalam 100 ml akuades) sampai cairan berwarna coklat kehitaman dan kemudian didestilasi. Hasil destilasi ditampung dengan gelas erlenmeyer 125 ml yang berisi 10 ml larutan H₃BO₄ dan 2-3 tetes indikator campuran metil merah dan metil biru. Hasil destilasi kemudian

dititrasi dengan larutan HCl 0,02 N sampai larutan berubah menjadi merah muda. Analisis blanko dilakukan seperti prosedur di atas tanpa menggunakan bahan yang dianalisa. Kadar protein dapat dihitung dengan rumus :

$$\text{KP} = \frac{(V_a - V_b) \text{HCl} \times \text{NHCl} \times 14.007 \times 6.25}{W \times 100} \times 100\%$$

Keterangan :

KP = Kadar Protein

V_a = ml HCl untuk titrasi sampel

V_b = ml HCl untuk titrasi blanko

N = Normalitas HCl yang digunakan

W = berat sampel

Analisis kadar lemak (AOAC 2005)

Analisis kadar lemak dilakukan dengan menggunakan prosedur dalam SNI 01-2354.3-2006. Sampel diekstrak dengan pelarut organik untuk mengeluarkan lemak dengan cara melakukan pemanasan pada suhu titik didih selama 8 jam. Pelarut organik yang mengikat lemak selanjutnya dipisahkan dengan proses penguapan (evaporasi), sehingga hasil lemak tertinggal dalam labu. Sampel lemak yang diperoleh, dihancurkan hingga homogen dan dimasukkan ke dalam wadah plastik atau gelas yang bersih dan tertutup. Jika sampel tidak langsung dianalisis, dapat disimpan dalam refrigerator atau freezer sampai saatnya untuk dianalisis. Sampel dikondisikan pada suhu ruangan dan pastikan sampel masih homogen sebelum ditimbang. Apabila terjadi pemisahan cairan dan sampel, maka diaduk dengan blender sebelum dilakukan pengamatan. Prosedur analisis lemak adalah sebagai berikut: labu alas bulat ditimbang dalam keadaan kosong (A). Homogenat sampel ditimbang sebanyak 5 g (B) dan dimasukkan ke dalam selongsong lemak (*ekstraksi timbales*). Berturut-turut dimasukkan 150 ml heksana ke dalam labu alas bulat, selongsong lemak ke dalam ekstraktor sokhlet, dan pasang rangkaian sokhlet dengan benar. Ekstraksi dilakukan pada suhu 60 °C selama 8 jam. Campuran lemak dan heksana dalam labu alas bulat di-evaporasi sampai kering.

Labu alas bulat yang berisi lemak dimasukkan ke dalam oven ber-suhu 105 °C selama kurang lebih 2 jam untuk menghilangkan sisa heksana dan air. Labu dan lemak didinginkan dalam desikator selama 30 menit. Timbang bobot labu alas bulat yang berisi lemak (C) sampai berat konstan. Kadar lemak dalam bahan pangan dapat dihitung berdasarkan persamaan berikut :

$$KL = \frac{C - B}{A} \times 100\%$$

Keterangan:

KL = kadar lemak

A = bobot contoh

B = bobot labu lemak dan labu didih

C = bobot labu lemak, batu didih dan lemak

Analisis Kadar Serat (AOAC 1995)

Perhitungan kadar serat kasar dilakukan dengan melarutkan sampel kering sebanyak 5 g dengan 100 ml H₂SO₄ 1.25 %, kemudian dipanaskan hingga mendidih dan didestruksi selama 30 menit. Selanjutnya disaring menggunakan kertas saring *Whatman* dan dengan bantuan corong Buchner. Residu hasil saringan dibilas dengan 20-30 ml air mendidih, kemudian dengan 25 ml air aseton sebanyak 3 kali. Residu didestruksi kembali, di panaskan dengan 100 ml NaOH 1.25 % selama 30 menit lalu disaring dengan cara seperti di atas dan dibilas berturut-turut dengan 25 ml H₂SO₄ 1.25 % mendidih, 2.5 ml air sebanyak tiga kali dan 25 ml alkohol. Residu beserta kertas saring dipindahkan ke cawan porselin dan dikeringkan dalam oven 130 °C selama 2 jam. Setelah dingin residu beserta cawan porselin ditimbang (A), lalu dimasukkan dalam tanur 600 °C selama 30 menit, didinginkan dan ditimbang kembali (B). Kadar serat kasar dapat dihitung dengan rumus :

$$\text{Kadar serat kasar} = \frac{w_3 - w_1}{w_2} \times 100$$

Keterangan :

W1 = bobot residu setelah dibakar dalam tanur

W1 = B - (bobot cawan);

B = bobot residu + cawan

W2 = berat contoh (g)

W3 = bobot residu sebelum dibakar dalam tanur

W3 = A - (bobot kertas saring+cawan);

A = bobot residu + kertas saring + cawan

Analisis kadar karbohidrat (AOAC 2005)

Perhitungan kadar karbohidrat dilakukan menggunakan metode *by difference* yaitu pe-ngurangan 100 % dengan jumlah dari hasil empat komponen yaitu kadar air, protein, lemak dan abu. Perhitungannya sebagai berikut:

$$\% \text{ Karbohidrat} = 100\% - (\%A + \%B + \%C + \%D)$$

Keterangan :

%A = % Air

%B = % Lemak

%C = % Protein

%D = % Abu

Analisis Mineral

Mineral yang dianalisis pada sampel *S. nudus* meliputi mineral kalsium (Ca), kali-um (K) dan besi (Fe), kemudian dianalisis dengan *Absorption Atomic Spectrofotometer* (AAS). Prinsip penentuan kadar kalsium, kalium dan seng adalah melalui proses pelarutan sampel dengan asam klorida, kemudian absorbansinya diukur dengan menggunakan AAS. Pro-sedur analisis mineral kalsium, kalium dan seng adalah sebagai berikut: sampel yang te-lah kering ditimbang sebanyak 2-5 g, kemu-dian dihancurkan dan dimasukkan ke dalam gelas beaker 100 ml yang telah dibilas dengan HCl 1 N. Sampel ditambahkan dengan 25 ml HCl 1 N dan disimpan selama 24 jam. Setelah penyimpanan, sampel dikocok dengan sheker dan disaring dengan kertas *whatman* No.1 (Yosida *et al*, 1972).

Analisis Mineral Kalsium (Ca)

Ekstrak sampel dipipet sebanyak 1 ml, ditambahkan 2 ml larutan lantanum oksida dan ditambahkan HCl 1 N sampai volume menjadi 10 ml, kemudian ditera dengan pe-nambahan akuades sampai volume menjadi 50 ml. Kemudian diukur absorbansi larutan de-ngan AAS pada

panjang gelombang 285.2 nm untuk magnesium dan 422.7 nm untuk kal-sium.

Analisis Mineral Kalium (K)

Ekstrak sampel dipipet sebanyak 2 ml dan ditambahkan HCl 1 N sampai volume menjadi 40 ml, kemudian ditera dengan pe-nambahan akuades sampai volume menjadi 50 ml. Kemudian diukur absorbansi larutan dengan AAS pada panjang gelombang 766.5 nm untuk kalium dan 213.9 nm untuk seng.

Analisis Mineral Besi (Fe)

Prinsip penentuan kadar besi adalah proses pelarutan bahan dengan larutan asam yang terdiri dari campuran asam nitrat, asam sulfat dan asam perklorat, kemudian dilan-jutkan dengan proses pemanasan. Prosedur analisis mineral besi adalah sebagai berikut: sampel yang telah kering ditimbang sebanyak 2-5 g, kemudian dihancurkan. Larutan asam campuran disiapkan yang dibuat dari HNO₃, H₂SO₄ dan HClO₄ dengan perbandingan 5:1:2. Sampel yang telah hancur ditambah 10 ml larutan asam campur lalu dipanaskan di dalam ruang asam menggunakan api kecil selama 2 jam. Api dibesarkan sampai larutan menjadi jernih. Larutan yang telah digesti didinginkan,

kemudian tambahkan akuades sampai volume 50 ml dan disaring dengan kertas saring pen-cucian asam whatman No. 1. Ekstrak sampel dipipet sebanyak 10 ml, ditambahkan 1 ml hidroquinon dan 1 ml ortophenantrolin kemu-dian ditambahkan sodium sitrat sampai pH menjadi 3.5. Larutan diencerkan dengan aku-ades sampai volume 50 ml dan dipanaskan dalam water bath selama 1 jam. Larutan deret standar diperlakukan dengan pereaksi yang sama dengan ekstrak sampel. Absorbansi diukur dengan AAS pada panjang gelombang 248.3 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kualitas Perairan

Kualitas perairan yaitu sifat dan kandu-ngan berupa materi di dalam air seperti makhluk hidup, zat, energi, maupun kom-ponen lain di dalam air (Effendi, 2007). Suatu lingkungan perairan jika didukung oleh kualitas air yang sesuai, maka akan memberi dampak baik dengan adanya ketersediaan nutrisi untuk kelangsungan hidup bagi orga-nisme di dalamnya. Hasil pengukuran bebe-rapa parameter kualitas air di kedua lokasi penelitian dapat dilihat dalam Tabel 4.

Tabel 4. Parameter lingkungan perairan pada kedua lokasi penelitian

Parameter	Satuan	Lokasi Penelitian		Rata-rata
		I	II	
Suhu	°C	31	30	30.50
DO	mg/l	6.47	5.04	5.76
pH air	-	7	7	7
Salinitas	‰	34	32	33
pH substrat	-	6.7	6.2	6.45

Keterangan: I = Kampung Amdui Raja Ampat
II = Kelurahan Sowi 4 Manokwari

Suhu rata-rata pada kedua lokasi penelitian yaitu 30.50 °C. Suhu ini termasuk dalam batas toleransi bagi pertumbuhan *S. nudus*, sesuai dengan pernyataan Sukarno (1988) bahwa suhu yang dapat ditolerir oleh makrozoobentos

dalam kehidupannya ber-kisar antara 25-36 °C. Welch (1980) dalam Retnowati (2003) menyebutkan bahwa suhu yang berbahaya bagi makrozoobentos berkisar antara 35-40°C. Rata-rata salinitas di kedua lokasi penelitian yaitu 33‰ yang

berkisar antara 32‰ sampai dengan 34%. Kisaran salinitas pada kedua lokasi penelitian sangat menunjang pertumbuhan dan kelangsungan hidup *S. nudus*. Salinitas tergolong sedikit lebih tinggi dibandingkan yang ditemukan oleh Nguyen *et al.* (2007) bahwa *S. nudus* yang terdapat di Provinsi Quang Ninh Vietnam hidup pada kisaran salinitas 20-31,5 ‰. Hutabarat dan Evans (1985) dalam Syamsurial (2011) juga menyatakan bahwa, kisaran salinitas yang masih mampu mendukung kehidupan organisme perairan, khususnya makrozoobenthos adalah 15-35 ‰.

Rata-rata oksigen terlarut pada kedua lokasi penelitian adalah 5.76 mg/l. Hasil pengukuran oksigen terlarut pada lokasi II lebih rendah dibandingkan di lokasi I. Diduga diakibatkan dari bahan organik yang berasal dari vegetasi mangrove dan limbah dari daratan yang masuk ke perairan, terdekomposisi oleh bakteri, mengakibatkan rendahnya kadar oksigen terlarut di lokasi tersebut. Hasil pengukuran kandungan oksigen terlarut sesuai dengan kisaran yang ditemukan oleh Nguyen *et al.* (2007), bahwa *S. nudus* yang terdapat di Provinsi Quang Ninh Vietnam ditemukan pada habitat dengan kadar oksigen terlarut berkisar antara 6,2-7,9 mg/l. Perairan dengan pH yang terlalu tinggi atau rendah akan mempengaruhi ketahanan hidup organisme yang hidup didalamnya (Odum, 1993). Hasil pengukuran pH air pada kedua lokasi penelitian memiliki nilai yang sama yaitu 7. pH air lebih tinggi dibandingkan pH di substrat, namun masih tergolong baik bagi kehidupan *S. nudus*. Hasil pengukuran tersebut relatif sama dengan pH air yang terdapat di Provinsi Quang Ninh Vietnam, yang merupakan habitat *S. nudus* yaitu antara 6,9-7,8 (Nguyen *et al.*, 2007). Winanto (2004) dalam Sitorus (2008) juga menyatakan bahwa kisaran pH yang cocok untuk makrozoobentos adalah 6,9-8,6.

Rendemen *S. nudus*

Berat basah *S. nudus* dari lokasi I yang berukuran kecil (a) adalah 770 g dan

untuk *S. nudus* berukuran besar (b) adalah 555 g. Berat basah ini akan mengalami penyusutan pada proses pengeringan menggunakan oven. Untuk *S. nudus* berukuran kecil (a) diperoleh 93 g berat kering dan *S. nudus* berukuran besar (b) diperoleh 66 g berat kering. Pada lokasi II, berat awal *S. nudus* berukuran kecil (a) adalah 256 g dan *S. nudus* berukuran besar (b) adalah 805 g. Berat basah *S. nudus* kemudian mengalami penyusutan saat proses pengeringan menggunakan oven. Berat *S. nudus* berukuran kecil (a) menjadi 25 g berat kering dan *S. nudus* berukuran besar (b) menjadi 79 g berat kering.

Kandungan gizi *S. nudus*

Komposisi kimia *S. nudus* yang dianalisis dalam penelitian ini meliputi protein, air, karbohidrat, lemak, serat kasar dan mineral seperti besi (Fe), kalsium (Ca) dan kalium (K) (Tabel 5 dan 6).

Kadar Protein

Berdasarkan hasil analisis kadar protein *S. nudus*, kadar protein *S. nudus* dari kedua lokasi tergolong tinggi (Tabel 5 dan Tabel 6). Dari kedua tabel di atas juga terlihat bahwa ukuran tubuh (besar dan kecil) tidak memberikan pengaruh terhadap kandungan protein yang terkandung dalam daging *S. nudus*. Kondisi ini menunjukkan bahwa *S. nudus* mempunyai nilai kandungan gizi yang baik sebagai bahan makanan, karena memiliki kadar protein yang tinggi. Khomsan (2004), menyatakan bahwa Ikan secara umum mempunyai kandungan protein sebesar 40 %, dan kadar protein yang terkandung pada ikan teng-giri sebesar 22% (Stansby, 1962 dalam Suda-riastuty, 2011). Hal ini membuktikan bahwa *S. nudus* baik untuk dimanfaatkan sebagai makanaan.

Tabel 5. Hasil analisis kandungan gizi *S. nudus* dari lokasi I

Komponen	Nilai (%)		Rata-rata (%)
	a	b	
Kadar Air	7.10	7.26	7.18
Kadar Lemak	2.21	1.19	1.70
Kadar Protein	81.76	83.15	82.46
Karbohidrat	7.02	6.58	6.80
Serat Kasar	0.92	0.91	0.92

Keterangan : a. *S. nudus* ukuran kecil (a)
b. *S. nudus* ukuran besar (b)

Tabel 6. Hasil analisis kandungan gizi *S. nudus* dari lokasi II (Kelurahan Sowi 4 Manokwari)

Komponen	Nilai (%)		Rata-rata (%)
	a	B	
Kadar Air	8.03	8.09	8.06
Kadar Lemak	1.57	1.10	1.34
Kadar Protein	81.50	80.15	80.83
Karbohidrat	6.40	8.12	7.26
Serat Kasar	1.08	1.02	1.05

Keterangan : a. *S. nudus* ukuran kecil (a)
b. *S. nudus* ukuran besar (b)

Tingginya kadar protein pada *S. nudus* diduga karena banyaknya sedimen yang mengendap pada habitat dari *S. nudus*. Adanya sedimen tersebut akan menguntungkan bagi *S. nudus* sebagai sumber makanannya. Fauzan (2009) dalam Siregar (2011) mengatakan bahwa protein, karbohidrat dan lemak merupakan bahan organik yang terendapkan dalam sedimen. Selain itu organisme yang hidup atau tinggal dalam ekosistem lamun memiliki kandungan gizi yang cukup tinggi karena lamun memiliki kandungan gizi seperti protein, karbohidrat, lemak dan serat. Hal ini diduga yang menyebabkan kandungan protein *S. nudus* yang tinggi pada kedua lokasi penelitian, karena *S. nudus* memanfaatkan sedimen sebagai sumber makanannya.

Kadar Air

Hasil analisis kadar air pada Tabel 5 dan Tabel 6, menunjukkan bahwa kadar air pada *S. nudus* dari kedua lokasi relatif sama, baik pada ukuran kecil maupun

besar. Hal ini ber-banding terbalik dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Fakhrruzi (2011), dimana kadar air pada Sipuncula jenis *Xenosiphon sp* sebesar 76.47 %. Perbedaan yang tinggi ini disebabkan oleh karena kadar air pada penelitian ini diuji pada contoh sampel kering, sedangkan pengukuran yang dilakukan oleh Fakhrruzi (2011) menggunakan contoh sampel basah.

Karbohidrat

Hasil analisis karbohidrat pada kedua lokasi penelitian tidak jauh berbeda, yaitu rata-rata 6.80 pada lokasi I dan 7.26 pada lokasi II. Kesamaan habitat pada kedua lokasi dan jenis makanan yang dimakan oleh *S. nudus* memberikan pengaruh besar terhadap kandungan karbohidrat dalam daging *S. nudus* di kedua lokasi penelitian. Kandungan karbohidrat yang terdapat pada *S. nudus* relatif lebih tinggi jika dibandingkan dengan *Xenosiphon sp* yang memiliki kandungan karbohidrat sebesar 10.02 % (Fakhrruzi,

2011). Kadar karbohidrat ini pun lebih tinggi dari kadar karbohidrat yang terkandung dalam daging ikan tenggiri yaitu sebesar 5 % (Stansby, 1962 dalam Sudariastuty, 2011). Karbohidrat merupakan sumber kalori utama bagi manusia. Dalam karbohidrat terdapat beberapa golongan yang menghasilkan serat-serat yang berguna bagi pencernaan. Karbohidrat juga memiliki peranan penting dalam menentukan karakteristik bahan makanan, misalnya dalam hal rasa, warna dan tekstur (Kamal, 1994 dalam Siregar, 2011).

Kadar Lemak

Kadar lemak lebih tinggi pada *S. nudus* yang berasal dari lokasi I yaitu sebesar 1.70 %, dibandingkan *S. nudus* dari lokasi II yaitu 1.34 %. Fakhurrozi (2011) melakukan analisis kadar lemak pada *Xenosiphon sp.*, dan menemukan kadar lemak sebesar 0.18 %. Kadar lemak dari *S. nudus* pada penelitian ini tidak terlalu tinggi, tetapi setara dengan kadar lemak yang terdapat pada ikan laut yang berkisar antara 0.1-22 %. Sehingga dapat dimanfaatkan sebagai bahan makanan tambahan yang berfungsi sebagai sumber lemak untuk men-suplai energi dalam aktivitas tubuh manusia (Ackman, 1998 dalam Siregar, 2011).

Serat Kasar

Kadar serat kasar Sipuncula dari Amdui sebesar 0.92 %, sedangkan pada lokasi penelitian II (Kelurahan Sowi 4 Manokwari) memiliki kadar serat kasar sebesar 1.05%. Serat kasar adalah semua bahan organik dalam bahan pangan yang kecernaannya rendah (Kamal, 1994 dalam Siregar, 2011). Serat kasar tersusun atas selulosa, pectin, dan lignin (Wiryadi, 2007 dalam Siregar, 2011). Serat kasar bagi manusia digunakan sebagai sumber energi utama dan lemak kasar merupakan sumber energi yang efisien dan berperan penting dalam proses metabolisme tubuh.

Mineral

Mineral adalah unsur-unsur kimia selain karbon, hydrogen, oksigen dan nitrogen yang dibutuhkan oleh tubuh. Berbagai aktivitas di dalam sel tubuh kita bergantung dari keberadaan mineral. Mineral berfungsi sebagai zat pembangun dan pengatur di dalam tubuh (Winarno, 2008 dalam Siregar, 2011). Hasil analisis mineral dari *S. nudus* pada kedua lokasi penelitian dapat dilihat pada Tabel 9 dan Tabel 10.

Tabel 7. Hasil analisis mineral dari *S. nudus* dari lokasi I

Komponen	Nilai (mg/100 g)		Rata-rata (Mg/100 g)
	A	B	
Besi (Fe)	17.61	4.52	11.07
Kalsium (Ca)	449.83	300.37	375.10
Kalium (K)	39.18	26.69	32.94

Keterangan : a. *S. nudus* ukuran kecil (a)
b. *S. nudus* ukuran besar (b)

Tabel 8. Hasil analisis mineral dari *S. nudus* dari lokasi II

Komponen	Nilai (mg/100 g)		Rata-rata (Mg/100 g)
	A	b	
Besi (Fe)	4.37	8.95	6.66
Kalsium (Ca)	144.21	449.8	297.01
Kalium (K)	198.11	216.84	207.48

Keterangan : a. *S. nudus* ukuran kecil (a)
b. *S. nudus* ukuran besar (b)

Secara alamiah unsur mineral-mineral terdapat dalam semua benda termasuk juga dalam tubuh makhluk hidup, yang berfungsi dalam proses metabolisme. Di perairan laut unsur besi (Fe), kalsium (Ca) dan kalium (K) terbentuk oleh adanya proses erosi, pembusukan makhluk hidup dan pelapukan kerak bumi, dimana proses tersebut berlangsung secara bersamaan memasuki perairan laut dan terbawa oleh arus (Effendi, 2003). Menurut Peters (1987) bahwa kecepatan arus sangat mempengaruhi kadar unsur mineral-mineral di suatu perairan. Arus membantu dalam proses pengadukan sehingga mineral-mineral yang terdapat pada perairan menyebar mengikuti kecepatan arus dan kondisi tersebut akan berlangsung secara terus menerus sehingga akan dimanfaatkan oleh organisme untuk tumbuh dan berkembang. Asupan mineral tersebut tidak hanya diserap oleh organisme pemangsa, melainkan penyerapan unsur mineral tersebut terjadi pada material dasar perairan yaitu substrat dan mikroorganisme lainnya (Siregar, 2011).

Mineral Besi (Fe)

Kadar mineral besi (Fe) dalam daging *S. nudus* dari lokasi I sebesar 11.07 mg/100 g, lebih tinggi dari *S. nudus* yang berasal dari lokasi II yaitu 6.66 mg/100 g. Kadar besi (Fe) yang terdapat pada *S. nudus* dari lokasi I menyebabkan warna kecoklatan pada tubuh *S. nudus*. Hal ini terlihat pada saat pengambilan contoh sampel dari lokasi I. Effendy (2003) mengemukakan bahwa unsur besi (Fe) dengan konsentrasi tinggi dalam suatu perairan menghasilkan warna kemerahan hingga kecoklatan pada biota di dalamnya. Kadar mineral besi yang terkandung di dalam *S. nudus* pada penelitian ini sangat tinggi, dimana berdasarkan hasil penelitian sebelumnya mengenai kandungan mineral besi pada *Xenosiphon* sp yang terdapat di kepulauan Bangka-Belitung hanya 0.98 mg/100 g (Fakhrurrozi, 2011).

Mineral Kalsium (Ca)

Kandungan Kalsium (Ca) lebih tinggi dari sampel lokasi I, sebesar 375.10 mg/100 g, dibandingkan dari lokasi II 297.01 mg/100 g. Kadar mineral kalsium yang terkandung di dalam *S. nudus* pada penelitian ini tergolong tinggi, apabila dibandingkan dengan hasil penelitian sebelumnya pada *Xenosiphon* sp di kepulauan Bangka-Belitung hanya 15.32 mg/100 g (Fakhrurrozi, 2011). Menurut Asep (1998) dalam Siregar (2011) unsur mineral kalsium (Ca) dalam biota laut sangat tergantung pada kondisi lingkungan perairan. Perbedaan Kalsium pada *S. nudus* di kedua lokasi berkaitan dengan adanya pergerakan arus di kedua lokasi penelitian. Peters (1987) mengemukakan bahwa kecepatan arus sangat mempengaruhi kadar berbagai mineral di suatu perairan.

Mineral Kalium (K)

Pada penelitian ini diperoleh hasil analisis kadar mineral kalium (K) lebih tinggi pada sampel dari lokasi II yaitu 207.48 mg/100 g, dibandingkan kadar kalium pada sampel dari lokasi I yaitu 32.94 mg/100 g.

Ukuran yang Baik untuk Dimanfaatkan

Hasil uji proksimat pada *S. nudus* dengan ukuran panjang-berat berbeda, menunjukkan hasil yang tidak berbeda jauh antara *S. nudus* yang berukuran kecil (a) dan berukuran besar (b) dari kedua lokasi penelitian (Tabel 5 sampai Tabel 8). Analisis kandungan protein *S. nudus* ukuran besar yang ditemukan di lokasi I 83.15 % dan ukuran kecil memiliki persentase protein 81.76 %. Hasil analisis kandungan protein *S. nudus* di lokasi II yang berukuran besar 80,15% dan ukuran kecil 81,5 %. Berdasarkan nilai persentase protein dari *S. nudus* yang berukuran besar dan kecil pada kedua lokasi, menunjukkan persentase kandungan protein dalam daging *S. nudus* relatif sama. Namun sebaliknya kandungan mineral *S. nudus* dari kedua lokasi pengambilan menunjukkan perbedaan yang signifikan. Analisis kandungan zat

besi, kalsium dan kalium *S. nudus* ukuran besar yang di-temukan di lokasi I masing-masing memiliki kandungan mineral besi 4.52 mg/100 g, kalsium 300.37 mg/100 g dan kalium 26.69 mg/100 g, sedangkan *S. nudus* yang berukuran kecil memiliki kandungan mineral besi, kalsium dan kalium yang lebih tinggi yaitu besi 17.61 mg/100 g, kalsium 449.83 mg/100 g dan kalium 39.18 mg/100 g. Analisis mineral besi, kalsium dan kalium pada *S. nudus* ukuran besar dari lokasi II masing-masing yaitu mineral besi 8.95 mg/100g, kalsium 449.8 mg/100 g dan kalium 216.84 mg/100 g. Sedangkan *S. nudus* yang berukuran kecil memiliki nilai kandungan zat besi, kalsium dan kalium yang lebih tinggi yaitu besi 4.37 mg/100 g, kalsium 144,21 mg/100 g dan kalium 198.11 mg/100 g. Hasil analisis kandungan proksimat dan mineral dari sampel *S.nudus* yang berukuran kecil dan besar dari kedua lokasi, dapat dimanfaatkan. Namun lebih direkomendasikan untuk memanfaatkan *S. Nudus* yang berukuran kecil (panjang antara 7-17 cm dan berat antara 36-92 g), karena kandungan mineral (besi, kalsium dan kalium) lebih tinggi dari yang berukuran besar.

KESIMPULAN

Pertumbuhan dan kelangsungan hidup *S. nudus* pada kedua lokasi penelitian sangat ditunjang oleh kualitas air yang baik dan cocok bagi *S. nudus*. Kandungan gizi *S. nudus* tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan antara kedua lokasi. Hasil uji kandungan gizi menunjukkan kadar protein yang tinggi dari daging *S. nudus* yang berasal dari kedua lokasi. Selain itu kandungan mineral yang tinggi dari daging *S. nudus* adalah kalsium (Ca) Perbedaan ukuran panjang dan berat tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap persentase proksimat, namun berbeda pada kandungan mineral (besi, kalsium dan kalium) andung dalam daging *S. nudus*.

DAFTAR PUSTAKA

- Ager O. 2004. Aquaculture, the marine life information. Network for Britain and Ireland.
- Anonim. 2009. Introduction to Sipuncula: the peanut worms. (<http://www.ucmp.berkeley.edu/sipuncula/sipuncula.html>). Diunduh tanggal 13 Oktober 2009.
- Anonim. 2012. Perairan Papua (<http://id.wikipedia.org/wiki/Perairan-Papua>). Diakses pada tanggal 15 Februari 2014.
- Barnes RD. 1987. *Invertebrate Zoology*. Edisi ke-5. Saunders College Publishing, Orlando.
- Effendi, H. 2003. *Telaah kualitas air bagi pengelolaan sumberdaya dan lingkungan perairan*. Kanisius. Yogyakarta. 258 hal.
- Fakhrurrozi Y. 2011. *Studi etnobiologi, etnoteknologi dan pemanfaatan kekuak (Xenosiphon sp) oleh masyarakat di Kepulauan Bangka-Belitung* [skripsi]. Sekolah Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Hustiany R. 2005. Karakteristik produk olahan kerupuk dan surimi dari daging ikan patin (*Pangasius sutchi*) hasil budidaya sebagai sumber protein hewani. *Media Gizi dan Keluarga* 29 (2): 66-74.
- Khomsan A. 2004. Ikan, makanan sehat dan kaya gizi, dalam peranan pangan.
- Nguyen HTT, Mai NT, Nguyen NT, Huynh DT. 2007. The distribution of Peanut-worm (*Sipunculus nudus*) in relations with geo environmental characteristics. *VNU Journal of Science, Earth Sciences* 23: 110-115.
- Pamungkas J. 2010. Sipuncula: Biota laut yang kontroversial. *Jurnal Oseana* 35 (1): 7-10.
- Peters RH. 1987. Metabolism in Daphnia, *Memorie dell'Istituto Italiano di Idrobiologia*. vol. 45 in Peters RH and Debernandi R (Eds). Pallanza Istituto Italiano di Idrobiologia. 193-243 pp.
- Retnowati DN. 2003. Struktur komunitas makrozoobenthos dan beberapa para-

- meter fisika kimia Perairan Situ Rawa Besar, Depok, Jawa Barat. [Skripsi]. Departemen Manajemen Sumberdaya Perairan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Siagian. 2001. Penuntun Praktikum Perikanan. Fakultas Perikanan Universitas Riau. Pekanbaru
- Siregar DIS. 2011. Kandungan gizi dan pemanfaatan gonad bulu babi (*Echinothrix calamaris*) yang terdapat di perairan Manokwari [skripsi]. Fakultas Peternakan, Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Negeri Papua. Manokwari.
- Sitorus D. 2008. Keanekaragaman dan distribusi bivalvia serta kaitanya faktor fisik-kimia di perairan pantai Labu kabupaten Deli Serdang. Sekolah pasca sarjana. Universitas Sumatra Utara. Medan.
- Sudariastuty E. 2011. Pengolahan ikan Tenggiri. Pusat penyuluhan kelautan dan perikanan. Jakarta.
- Sukarno. 1988. Terumbu karang buatan sebagai sarana untuk meningkatkan produktivitas perikanan di Perairan Jepara. LON-LIPI. Jakarta.
- Syamsurial, 2011. Studi beberapa indeks komunitas makrozoobenthos di hutan mangrove. [Skripsi]. Universitas Hasa-nuddin. Makasar.
- Yosida S, Forno DA, Cock JH. 1972. Laboratory manual for physiological studies of rice. International Rice Research Institute. Second Edition.