

Pengaruh *Bacillus thuringiensis israelensis* Sebagai Larvasida Vektor Demam Berdarah Dengue (DBD) Terhadap Ikan Guppy (*Poecilia reticulata*)

Nita Apriyani^{1*}, Endah Setyaningrum², G. Nugroho Susanto²

¹⁻² Jurusan Biologi – FMIPA Universitas Lampung

Email ^{1*} : Nitaapriyani010497@gmail.com

Jln. Soemantri Brojonegoro No.1 Bandar Lampung 35145 Indonesia

Diterima : 12 Maret 2019 – Disetujui : 01 September 2019

© 2019 Jurusan Biologi FMIPA Universitas Halu Oleo Kendari

ABSTRAK

Penyakit tular vektor merupakan salah satu masalah kesehatan masyarakat yang utama di Indonesia, diantaranya penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD) yang ditularkan oleh *Aedes aegypti*. Untuk mengurangi efek negatif insektisida, dewasa ini pemberantasan vektor diupayakan dengan penggunaan agen biologi yaitu menggunakan *Bacillus thuringiensis israelensis* (*Bti*) yang lebih ramah lingkungan dan tidak menyebabkan resisten vektor. Selain harus efektif membunuh larva nyamuk, *Bti* juga harus tidak membahayakan biota perairan lainnya yang sehabitat seperti ikan Guppy (*Poecilia reticulata*). Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh *Bti* terhadap mortalitas ikan Guppy sebagai organisme non target vektor DBD. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Zoologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Dilaksanakan pada Desember – Februari 2019. Metode penelitian yang digunakan adalah eksperimental skala laboratoris berupa Rancangan Acak Lengkap (RAL) yaitu konsentrasi *Bti* sebagai perlakuan dengan empat kali ulangan. Perlakuan yang diuji yaitu kontrol (tidak diberi *Bti*), dan pemberian *Bti* dengan konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 pmm, dan 100 ppm. Hasil penelitian menunjukkan pemberian *Bti* pada konsentrasi berbeda tidak berpengaruh terhadap kematian ikan Guppy dan tidak berpengaruh secara signifikan terhadap pertumbuhan berat total ikan Guppy.

Kata kunci : Demam Berdarah Dengue (DBD), *Bacillus thuringiensis israelensis*, ikan Guppy.

PENDAHULUAN

Jumlah kasus demam berdarah di Indonesia cenderung meningkat dari tahun ke tahun. Meningkatnya angka demam berdarah tersebut disebabkan oleh sulitnya pengendalian penyakit yang ditularkan oleh *Aedes aegypti*. Usaha penanggulangan umumnya melalui *fogging*, insektisida kimiawi, dan musuh alami, namun belum menunjukkan hasil yang nyata karena jumlah kasus DBD masih selalu meningkat. Selain itu penggunaan bahan kimia secara berlebihan akan menyebabkan resistensi nyamuk, pencemaran lingkungan, serta kematian hewan bukan sasaran (Direktorat Jenderal P2PL, 2006).

Dalam memilih metode pengendalian vektor yang paling tepat, pertimbangan harus diberikan untuk ekologi lokal dan perilaku spesies target. Salah satu metode pengendalian vektor meliputi kontrol kimia. Karena larvasida adalah racun, maka penggunaannya harus mempertimbangkan dampak terhadap lingkungan dan organisme bukan sasaran termasuk ikan. Oleh karena itu, upaya pengendalian dikembangkan melalui pengendalian biologis dengan menggunakan bio agen, yaitu menggunakan bakteri entomopatogen *Bacillus thuringiensis israelensis* yang dikenal dengan nama *Bti*.

Penggunaan *Bti* sebagai larvasida vektor DBD di perairan yang juga merupakan habitat bagi ikan, salah satunya adalah ikan Guppy (*Poecilia reticulata*). Di alam, ikan

Guppy dapat mudah ditemukan di kolam, parit dan sungai kecil. Ikan Guppy merupakan salah satu ikan hias yang banyak dibudidayakan di Indonesia karena memiliki daya adaptasi yang tinggi, hal ini menjadi keuntungan tersendiri bagi para pembudidaya karena tidak memiliki banyak kendala dalam melakukan kegiatan budidaya.

Daya tarik ikan Guppy terletak pada warnanya yang indah dan ukurannya yang kecil sehingga banyak orang yang tertarik untuk menjadikan ikan Guppy sebagai hewan peliharaan sekaligus hiasan di rumah. Selain itu, ikan Guppy menjadi salah satu komoditi ekspor karena variasi warna yang menarik pada bagian ekornya (Nixon dan Sitanggang, 2004).

Saat ini *Bti* sudah dikembangkan menjadi salah satu biolarvasida yang potensial, selain harus efektif membunuh jentik nyamuk, juga harus tidak membahayakan makhluk hidup lain yang hidup pada habitat yang sama seperti misalnya ikan Guppy. Penelitian tentang pengaruh racun *Bti* terhadap organisme bukan sasaran belum banyak dilakukan. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh *Bacillus thuringiensis israelensis* (*Bti*) sebagai larvasida vektor DBD terhadap ikan Guppy.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Zoologi II Jurusan Biologi, Fakultas Matematika

dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung pada bulan Desember - Februari 2019.

Alat dan Bahan. Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain bejana plastik, tabung reaksi, aerator, pH meter, gelas ukur, thermometer, refraktometer, kertas lebel, alat tulis, sarung tangan dan masker. Sedangkan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Larvasida *Bti* dengan merek dagang Bactivec SL, Ikan Guppy (*Poecilia reticulata*), air bersih, pellet dan bycline.

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental skala laboratoris dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) 6 perlakuan meliputi 1 perlakuan sebagai kontrol tanpa pemberian *Bti* dan 5 perlakuan penambahan *Bti* dengan konsentrasi yang berbeda antara lain 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 4 kali.

Prosedur Penelitian. Persiapan Wadah dan Hewan Uji. Wadah yang digunakan adalah bejana plastik volume 5 liter sebanyak 24. Sebelum digunakan bejana plastik terlebih dahulu dicuci dengan *baycline* hingga bersih dan dikeringkan selama 24 jam. Bejana disusun sesuai letak pot-pot percobaan kemudian diisi dengan air bersih hingga volume 2,5 liter kemudian diendapkan selama 1 hari. Ikan Guppy yang digunakan dalam penelitian memiliki berat 1,5 – 2,0

gram sebanyak 480 ekor yang dibeli ditempat budidaya ikan Guppy dan selanjutnya ikan Guppy diaklimatisasi terlebih dahulu selama dua hari agar dapat menyesuaikan dengan kondisi lingkungan yang baru dan hari selanjutnya ikan Guppy ditebar sebanyak 20 ekor per bejana. Pakan yang berikan berupa pakan buatan dan pakan alami dan pemberian dilakukan setiap hari pada pagi dan sore hari.

Perlakuan dilakukan dengan pemberian larvasida *Bti* (Bactivec SL) dengan perlakuan P0 (Kontrol) tidak diberikan larvasida *Bti*, perlakuan P1 diberi larvasida *Bti* sebanyak 20 ppm, perlakuan P2 diberi larvasida *Bti* sebanyak 40 ppm, perlakuan P3 diberi *Bti* sebanyak 60 ppm, perlakuan P4 diberi *Bti* sebanyak 80 ppm, dan perlakuan P5 diberi *Bti* sebanyak 100 ppm. Penelitian ini dilakukan secara bersamaan dan diamati jumlah kematian ikan Guppy setiap 24 jam selama interval waktu 7 hari.

Data yang diperoleh dalam penelitian ini antara lain persentase mortalitas, rerata pertumbuhan berat, dan kondisi kualitas air pemeliharaan ikan Guppy. Data persentase rerata pertumbuhan berat yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan software SPSS 16 dengan analisis ragam (*One Way ANOVA*) dengan taraf 0,05. Sedangkan untuk persentase mortalitas dan kualitas air dijelaskan secara deskriptif.

Penentuan mortalitas dilakukan dengan menghitung jumlah ikan pada awal dikurangi jumlah ikan pada akhir pemeliharaan.

$$\% M = \frac{(N_0 - N_t)}{N_0} \times 100\%$$

Keterangan :

M = Mortalitas (%)

N₀ = Jumlah ikan awal pemeliharaan (ekor)

N_t = Jumlah ikan akhir pemeliharaan (ekor)

Pertumbuhan berat mutlak adalah selisih berat total tubuh ikan pada akhir oemeliharaan dan awal

pemeliharaan. Pertumbuhan ikan Guppy dapat dilakukan perhitungan sebagai berikut :

$$W_m = W_t - W_o$$

Keterangan :

BT = Berat Total (gram)

W_t = Berat rata-rata ikan Guppy pada akhir pengamatan (gram)

W_o = Berat rata-rata ikan Guppy pada awal pengamatan (gram)

t = Waktu antar pengamatan

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Persentase Mortalitas Ikan Guppy (*Poecilia reticulata*)

Pengamatan tentang mortalitas ikan Guppy dilakukan setiap 24 jam dalam interval waktu 7 hari dapat dilihat pada tabel 1.

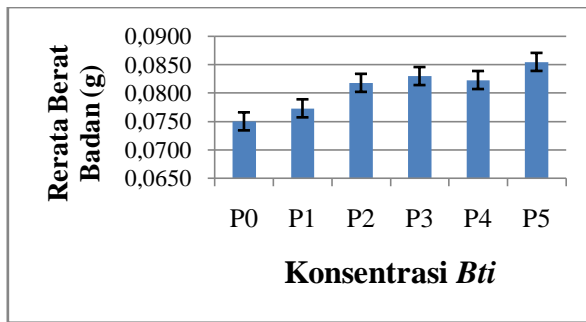
Tabel 1 . Data persentase mortalitas ikan Guppy pada setiap perlakuan

| No. | Perlakuan | Jumlah Ikan Guppy (Ekor) | | Mortalitas (%) |
|-----|--------------|--------------------------|-------|----------------|
| | | Awal | Akhir | |
| 1. | P0 (Kontrol) | 20 | 20 | 0% |
| 2. | P1 (20 ppm) | 20 | 20 | 0% |
| 3. | P3 (40 ppm) | 20 | 20 | 0% |
| 4. | P4 (60 ppm) | 20 | 20 | 0% |
| 5. | P5 (80 ppm) | 20 | 20 | 0% |
| 6. | P6 (100 ppm) | 20 | 20 | 0% |

Berdasarkan hasil pengamatan diperoleh bahwa pengaruh *Bti* terhadap persentase mortalitas ikan Guppy pada masing-masing konsentrasi adalah 0%, artinya pemberian *Bti* pada media pemeliharaan ikan Guppy tidak menyebabkan kematian.

2. Pertumbuhan Berat Ikan Guppy (*Poecilia reticulata*) setelah 7 hari pengamatan

Berdasarkan hasil pengamatan selama 7 hari, maka diperoleh hasil pertumbuhan tertinggi ikan Guppy pada konsentrasi *Bti* 100 ppm yaitu 0,0855 gr. Selanjutnya diikuti oleh konsentrasi 60 ppm, 80 ppm, 40 ppm dan 20 ppm. Pertumbuhan terendah pada kontrol yaitu 0.0750 gr. Selengkapnya dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Grafik rerata pertumbuhan berat ikan Guppy

Meskipun rerata pertumbuhan berat ikan Guppy pada setiap perlakuan berbeda, namun hasil uji statistik menyatakan bahwa pemberian *Bti* tidak berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan berat ikan Guppy. Data selengkapnya dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Pertumbuhan rata-rata ikan Guppy setelah dipelihara tujuh hari

| Perlakuan | Mean \pm SE |
|--------------|----------------------------------|
| P0 (Kontrol) | 0,0750 \pm 0,0015 ^a |
| P1 (20 ppm) | 0,0773 \pm 0,0048 ^a |
| P2 (40 ppm) | 0,0818 \pm 0,0038 ^a |
| P3 (60 ppm) | 0,0830 \pm 0,0016 ^a |
| P4 (80 ppm) | 0,0823 \pm 0,0041 ^a |
| P5 (100 ppm) | 0,0855 \pm 0,0025 ^a |

Keterangan : Angka-angka pada kolom yang diikuti huruf yang sama berarti tidak berbeda nyata pada uji BNT 5%

3. Pengukuran Kualitas Air

Selama pengamatan mortalitas dan pertumbuhan berat ikan Guppy, juga dilakukan pengukuran dan pengamatan terhadap kualitas air. Air merupakan media penting guna mendukung kehidupan ikan. Berdasarkan hasil pengukuran kualitas air selama penelitian, maka

kualitas air selama penelitian masih dalam kondisi dapat ditolerir oleh ikan Guppy (Suhu 26 °C - 28 °C , pH 7-8).

Pada tabel 3 terlihat pada setiap perlakuan suhu air berkisar antara 26 °C - 28 °C. Perbedaan suhu terjadi karena adanya perbedaan suhu antara pagi, sore dan malam hari. Kisaran suhu air selama penelitian ini dianggap sangat baik dan sesuai. Selain itu, diperoleh kisaran pH antara 7,4 – 7,8. Kisaran tersebut masih sangat layak untuk pertumbuhan dan kelangsungan hidup ikan Guppy selama penelitian.

Tabel 3. Pengukuran parameter kualitas air media pemeliharaan

| Perlakuan | Parameter Kualitas Air | |
|---|------------------------|-----------|
| | Suhu (°C) | pH |
| P0 (Kontrol) | 26 °C - 28 °C | 7,6 – 7,7 |
| P1 (20 ppm) | 26 °C - 28 °C | 7,5 – 7,8 |
| P2 (40 ppm) | 26 °C - 28 °C | 7,5 – 7,8 |
| P2 (60 ppm) | 26 °C - 28 °C | 7,5 – 7,8 |
| P4 (80 ppm) | 26 °C - 28 °C | 7,5 – 7,7 |
| P5 (100 ppm) | 26 °C - 28 °C | 7,4 – 7,6 |
| <i>Standar Baku Mutu Budidaya ikan air tawar (PP nomor 82 tahun 2001)</i> | | |
| | 25 °C – 32 °C | 6 - 9 |

PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian *Bti* dengan konsentrasi berbeda tidak menyebabkan kematian pada ikan Guppy. Menurut Bahagiawati (2002) racun yang dimiliki *Bti* akan aktif bila bereaksi dengan kondisi basa di dalam usus tengah serangga (spesifik untuk ordo *Diptera*). Toksin ini akan mengakibatkan terbentuknya lubang di usus sehingga mengganggu

keseimbangan osmotik dan mengalami lisis yang menyebabkan serangga mati. Sedangkan untuk hewan non serangga (termasuk ikan) tidak menyebabkan kematian. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan dari WHO (2016) bahwa *Bti* bersifat tidak toksik dan tidak patogen terhadap spesies bukan sasaran seperti cacing, ikan, burung, dan spesies lain yang hidup di dalam air.

Christensen (1990) menyatakan bahwa dalam penelitian laboratorium, tidak menemukan efek *Bti* pada beberapa ikan air tawar seperti ikan hidung tembaga / bluegill (*Lepomis macrochirus*), *Cyprinodon variegates*, dan ikan trot pelangi (*Onchorhynchus mykiss*) saat paparan $1.3 - 1.7 \times 10^{10}$ cfu/g.

Selain itu, tidak adanya mortalitas pada ikan Guppy diduga disebabkan oleh toksin *Cry* yang dimiliki *Bti* sebenarnya merupakan protoksin, yang harus diaktifkan terlebih dahulu sebelum memberikan efek negatif. Aktivasi toksin *Cry* dilakukan oleh protease usus sehingga terbentuk toksin aktif. Toksin tersebut tidak larut pada kondisi normal sehingga tidak membahayakan hewan lain. Namun, pada kondisi pH tinggi (basa) seperti yang ditemui pada usus nyamuk, yaitu di atas 9, toksin tersebut akan aktif (Bahagiawati, 2002).

Penelitian Achille *et al* (2010) menyatakan bahwa daya bunuh *Bti* paling tinggi dalam waktu paparan 4 hari dan apabila lebih dari itu toksin yang dihasilkan bakteri akan mengendap di dasar tempat. Waktu paparan yang lama atau lebih dari 4 hari akan menyebabkan efektifitas

Bti menurun, hal ini disebabkan karena ketersediaan nutrisi bakteri pada air menurun, maka populasi bakteri juga akan menurun. Akan tetapi, berdasarkan hasil penelitian ikan Guppy tetap hidup sampai hari ke-tujuh. Hal tersebut menandakan toksik *Bti* tidak memberikan efek pada ikan Guppy.

Selain itu, tidak adanya ikan Guppy yang mati atau bahkan sakit diduga ikan Guppy telah beradaptasi dengan baik terhadap kondisi lingkungan pada media yang diberi *Bti* dan pengontrolan kualitas air juga dilakukan secara teratur agar ikan Guppy tetap terjaga. Hal ini sesuai dengan Mulyani *et al* (2014) yang menyatakan bahwa rendahnya tingkat kematian ikan sangat bergantung pada daya adaptasi ikan terhadap lingkungan, status kesehatan ikan, padat tebar, dan kualitas air yang cukup mendukung kehidupan ikan.

Berdasarkan pengamatan tidak adanya mortalitas ikan Guppy, maka selanjutnya dilakukan pengukuran tentang pertumbuhan berat. Hasil pengamatan didapatkan bahwa perlakuan konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, dan 60 ppm mengalami rerata pertumbuhan yang meningkat. Pada 80 ppm rerata pertumbuhan berat ikan Guppy mengalami penurunan dan naik kembali pada 100 ppm. Hasil Uji statistik menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$) dari parameter pertumbuhan berat ikan Guppy.

Adanya pertumbuhan berat ikan Guppy diduga pemberian pakan selama penelitian sesuai untuk kehidupan ikan Guppy. Pakan yang digunakan berupa pakan buatan

dalam bentuk pelet dan pakan alami berupa cacing sutra yang ukurannya disesuaikan dengan bukaan mulut ikan Guppy. Sesuai dengan Widyati (2009), pertumbuhan ikan erat kaitannya dengan ketersediaan protein dalam pakan, karena protein merupakan sumber energi bagi ikan dan nutrisi yang sangat dibutuhkan ikan untuk pertumbuhan.

Selain itu, proses pemberian pakan pada ikan Guppy dilakukan secara *ad-libitum* yang bertujuan untuk memberikan persediaan pakan secara berlebih agar ikan Guppy tidak kekurangan pakan sehingga kemungkinan terjadi kematian akibat kekurangan makanan dapat dicegah, hal ini sesuai dengan Dani *et al* (2004) yang menyatakan bahwa pemberian pakan secara *ad-libitum* bertujuan untuk penyediaan pakan secara berlebih agar tidak kekurangan pakan sehingga kematian yang merupakan masalah utama dalam budidaya ikan dapat dicegah.

Kualitas air yang diukur selama penelitian ini adalah suhu dan derajat keasaman (pH). Kisaran suhu yang didapat selama 7 hari pengamatan adalah 26 °C - 28 °C. Kisaran suhu tersebut masih dalam kisaran toleransi hidup ikan Guppy. Menurut Sukmara (2008) kisaran toleransi suhu untuk kehidupan ikan Guppy adalah 25,6 °C-33,4 °C.

Suhu memiliki peran penting terhadap kelangsungan hidup bagi biota perairan, terutama ikan Guppy. Menurut Effendie (2003) menyatakan bahwa suhu air mempunyai pengaruh besar terhadap pertukaran zat atau metabolisme makhluk hidup diperaian. Selain itu, semakin tinggi

suhu perairan maka semakin cepat perairan tersebut mengalami kejenuhan akan oksigen. Suhu juga mempengaruhi pertumbuhan dan nafsu makan ikan, oleh karena itu ikan mempunyai suhu optimum tertentu untuk proses kehidupannya. pH air yang diperoleh selama pengamatan berkisar 7,4 – 7,8, kisaran tersebut masih berada dalam kisaran yang dapat mendukung kehidupan ikan Guppy. Hal ini sesuai dengan pernyataan Sukmara (2008) bahwa pH optimum untuk pemeliharaan ikan Guppy berkisar antara 7-8.

Nilai pH dapat menunjukkan kualitas suatu perairan sebagai lingkungan hidup bagi ikan Guppy yang berperan dalam menentukan produktifitas primer. Derajat keasaman (pH) yang rendah akan menyebabkan keasaman meningkat, jika hal itu terjadi dapat mengakibatkan menurunnya selera makan ikan (Putri, 2009). Perubahan pH yang terlalu besar dan terjadi terus menerus dapat memperlambat pertumbuhan bahkan kematian ikan.

Parameter kualitas air merupakan salah satu parameter yang sangat penting dalam kegiatan budidaya perairan. Air sebagai media pemeliharaan harus dapat mendukung kehidupan organisme perairan karena bila air yang dimasukkan kedalam kolam adalah air yang tercemar atau kualitas airnya buruk maka ikan akan mengalami pertumbuhan yang terhambat.

Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian larvasida *Bacillus thuringiensis*

israelensis tidak berpengaruh terhadap mortalitas ikan Guppy (*Poecilia reticulata*) sehingga dapat digunakan untuk memberantas nyamuk vektor DBD yang sehabitat dengan ikan Guppy.

Daftar Pustaka

- Achille, G. N. Cristophe, H. S., and Yilian, L. 2010. *Effect of Bacillus thuringiensis var. israelensis (H-14) on Culex, Aedes and Anopheles larvae*. Journal of Stem Cell.
- Bahagiawati. 2002. Penggunaan *Bacillus thuringiensis* sebagai Bioinsektisida. Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Bogor.
- Cristensen, K. P. 1990. *Vecto Bac technical material (Bacillus thuringiensis variety israelensis): Infectivity and pathogenity to bluegill sunfish (Lepomis mrochirus) during a 32-day static renewal test*. Springborn Laboratories Inc. Wareham, Massachussets.
- Cetinkaya, F.T. 2002. *Isolation of Bacillus thuringiensis and investigation of its crystal protein genes*. Turki.
- Dani, P. N. 2004. Komposisi Pakan Buatan Untuk Meningkatkan Pertumbuhan dan Kandungan Protein Ikan Tawes (*Puntius javanicus*). Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Direktorat Jenderal P2PL. 2006. Informasi Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan. Departemen Kesehatan RI. Jakarta.
- Effendie, H. 2003. *Telaah Kualitas Air Bagi Pengelolaan Sumber Daya dan Lingkungan Perairan*. Kanasius. Yogyakarta.
- Hofte, H. dan H. R. Whiteley. 1989. *Insecticidal Crystal Protein of Bacillus thuringiensis*. Microbial. Rev. Entomol. 12 : 287-322.
- Kordj, M.G.H.K. dan A.B. Tancung. 2007. *Pengelolaan Kualitas Air dalam Budidaya perairan*. PT. Rineka Cipta. Jakarta.
- Milne, R. AZ. Ge, De Rivers dan D.H. Dean. 1990. *Specificity of Insecticidal Crystal Proteins : Implication for Industrial Standardization*. American Chemical Society. Washington DC.
- Mulyani, Y. S., Yulisman dan M. Fitriani. 2014. *Pertumbuhan dan Efisiensi Pakan Ikan Nila (Oreochromis niloticus) yang Dipuaskan Secara Periodik*. Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya. Palembang.
- Nelson, J. S. 1984. *Fishes of The World*. John Willey and Sons. Inc. New York.
- Sukmara. 2008. *Sex Reversal pada Ikan Gapi (Poecilia reticulata) Secar Perendaman Larva dalam Larutan Madu 5 ml/l*. Skripsi. Departemen Budidaya Perairan Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Susanto, H. 1990. *Budidaya Ikan Guppy*. Kanisisus. Yogyakarta.
- Tacon, A. 1987. *The Nutrition and Feeding of Farmed Fish and Shrimp. A Training Manual (2) Nutrient Source and Composition*. FAO. Brasilia.

- Widyati, W. 2009. Kinerja Pertumbuhan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Diberi Berbagai Dosis Enzim Cairan Rumen pada Pakan Berbasis Daun Lamtorogung (*Leucaena leucophala*). Teknologi dan_____
- Manajemen Perikanan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- World Health Organization. 2016. *Monitoring and managing insecticide resistance in Aedes mosquito populations: Interim guidance for entomologists*. WHO Press. Geneva.