

## Uji selektivitas fraksi $R_f < 0,5$ ekstrak MeOH biji putat air (*Barringtonia racemosa*) terhadap ikan mujair (*Oreochromis mossambicus*)

### *The selectivity of $R_f < 0.5$ fraction of MeOH extract of putat air kernel's (*Barringtonia racemosa*) on tilapia (*Oreochromis mossambicus*)*

Musri Musman\*<sup>1</sup>, Sofia<sup>2</sup>, Adli Waliul Perdana<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Ilmu Kelautan, Koordinatorat Kelautan dan Perikanan, <sup>2</sup>Fakultas Kedokteran, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh 23111; \*Email korespondensi: ulonmus@yahoo.com

**Abstract.** The objective of the present study was to evaluate the selectivity of the  $R_f < 0.5$  fraction of MeOH extract of putat air kernels (*Barringtonia racemosa*) on golden snail (*Pomacea canaliculata*) and tilapia (*Oreochromis mossambicus*). The research was conducted on November 2011 to February 2012 at Chemical Laboratory of Teacher Training and Education Faculty and Marine Chemical Laboratory of Coordinatorate of Marine and Fisheries of Syiah Kuala University. Thin-layer chromatography was used as the separation technique towards component compounds in the extract samples. The research was used five levels concentration of  $R_f < 0.5$  fraction of MeOH solution (20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm) with three repetitions. Mortality rates of golden snails and tilapia were detected when they were exposure to  $R_f < 0.5$  fraction of MeOH extract of *B. racemosa* kernels. The data were analyzed by Probit, and selectivity value (S) was calculated by Feng and Wang formula. The results revealed that  $R_f < 0.5$  fraction of MeOH extract of putat air kernels was selective to golden apple snails.

**Key words:** Thin-layer chromatography, mortality, Probit, and moluscida

**Abstrak.** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui selektivitas fraksi  $R_f < 0,5$  ekstrak MeOH biji putat air (*Barringtonia racemosa*) terhadap keong mas (*Pomacea canaliculata*) dan ikan mujair (*Oreochromis mossambicus*). Penelitian telah dilakukan pada bulan November 2011 sampai Februari 2012 di Laboratorium Kimia FKIP dan Laboratorium Kimia Laut Koordinatorat Kelautan dan Perikanan Universitas Syiah Kuala. Kromatografi lapis tipis digunakan sebagai teknik pemisahan komponen senyawaan dalam ekstrak cuplikan. Penelitian ini menggunakan lima konsentrasi  $R_f < 0.5$  MeOH yaitu 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm dengan tiga kali ulangan. Data mortalitas keong mas dan ikan mujair yang diperoleh dari hasil pemberian fraksi  $R_f < 0,5$  ekstrak MeOH biji *B. racemosa* dianalisa dengan program Probit, sedangkan harga selektivitas (S) diolah menggunakan formula Feng dan Wang. Penelitian ini mengindikasikan bahwa fraksi  $R_f < 0,5$  ekstrak MeOH biji putat air selektif sebagai moluskosida terhadap keong mas.

**Kata kunci:** Kromatografi lapis tipis, kematian, Probit, dan moluskosida

## Pendahuluan

Keong mas (*Pomacea canaliculata*) pada awal masuknya ke Indonesia untuk hewan hias dalam akuarium (Hendarsih dan Kurniawati, 2009). Hewan ini sangat rakus sehingga membutuhkan biaya yang besar untuk memeliharanya dan berkembang biak sangat cepat. Namun saat ini keong mas dapat dijumpai dengan mudah dialam bebas dan hewan ini menjadi hama utama padi yang sangat merugikan para petani (Damborenea *et al.*, 2006).

Sejak hama keong mas ini merebak, banyak cara sudah dilakukan untuk mengendalikan hama tersebut baik secara mekanik seperti pemasangan perangkap telur maupun biologis dengan memungut langsung telur dan keong mas. Petani-petani juga telah menggunakan pestisida sintesis di sawah untuk mengendalikan hama ini. Dalam penerapan di bidang pertanian, ternyata tidak semua pestisida sintesis yang digunakan efektif membunuh hewan sasaran. Sa'id (1994) menyatakan kurang lebih hanya 20% pestisida mengenai sasaran sedangkan 80% tidak efektif dan masuk dan terakumulasi dalam tanah. Residu pestisida sintesis ini dapat memberikan efek samping, seperti terjadi pencemaran lingkungan dan dapat menyebabkan kematian ikan-ikan dan hewan ternak lainnya di sawah (Suripto, 2009).

Saat ini para pakar mulai meneliti tumbuhan-tumbuhan yang dapat dijadikan pestisida alami untuk mencegah terjadinya pencemaran lingkungan yang disebabkan oleh pestisida sintetis. Beberapa tumbuhan tropis telah terbukti mengandung senyawa anti moluska yang biasa disebut moluskosida. Kelompok senyawa asal tumbuhan yang telah teridentifikasi aktif moluskosida adalah golongan saponin, tanin, alkaloid, dan flavonoid (Musman, 2009; Hui-Chi Huang *et al.*, 2003). *Barringtonia racemosa* atau putat air merupakan salah satu tumbuhan tropis yang mengandung senyawa moluskosida dan telah diuji terhadap organisma keong mas (Musman, 2010). Biji tumbuhan ini mengandung saponin dan flavonoid (Ojewole *et al.*, 2005; Gowri *et al.*, 2009). Dua senyawa ini memberikan efek yang signifikan terhadap kematian keong mas (Musman, 2010).

Pada penelitian ini dilakukan pengujian selektivitas  $R_f < 0,5$  dari ekstrak MeOH biji *B. racemosa* kepada organisma lain yang ada di ekosistem sawah, salah satunya ikan mujair. Pemilihan ikan mujair dikarenakan ikan mujair sering didapati hidup di areal persawahan terutama di saluran irigasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui selektivitas fraksi  $R_f < 0,5$  dari ekstrak metanol biji putat air (*Barringtonia racemosa*) terhadap keong mas (*Pomacea canaliculata*) yang dibandingkan dengan ikan mujair (*Oreochromis mossambicus*). Hasil penelitian ini diharapkan dapat

memberi informasi tentang penggunaan fraksi  $R_f < 0,5$  ekstrak MeOH dari biji *B. racemosa* sebagai racun keong mas (*Pomacea canaliculata*) yang dibandingkan dengan ikan mujair (*Oreochromis mossambicus*).

## Bahan dan Metode

### Lokasi dan waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia FKIP Universitas Syiah Kuala dan Kimia Laut Koordinator Kelautan dan Perikanan Universitas Syiah Kuala. Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan November 2011 sampai Februari 2012.

### Pengumpulan organisme uji

Organisma uji yang digunakan adalah keong mas (*Pomacea canaliculata*) yang diperoleh dari persawahan di desa Tandjung Selamat, Aceh Besar dan ikan mujair (*Oreochromis mossambicus*) diperoleh dari Desa Penteut, Lhokseumawe. Keong mas yang digunakan sebanyak 180 individu dengan panjang cangkang 2–3 cm, sedangkan ikan mujair yang digunakan sebanyak 180 ekor dengan panjang total 3–4 cm.

### Hidrolisa ekstrak MeOH biji *B. racemosa*

Ekstrak MeOH sebanyak 7,77 g dihidrolisa dengan 70 mL larutan HCl 4,87 M selama 3 jam, lalu didinginkan, kemudian ditambahkan larutan NaOH 40% sebanyak 37,5 mL pada larutan tersebut. Produk hidrolisa diekstraksi dengan 600 mL  $\text{CHCl}_3$ , kemudian dievaporasi lapisan  $\text{CHCl}_3$  dengan *rotary evaporator*. Produk hidrolisa diperoleh sebanyak 0,62 g.

### Penentuan pelarut untuk hasil hidrolisa

Bilah pralapis silika gel disiapkan dengan ukuran 5 cm x 1 cm sebanyak 3 (tiga) bilah. Garis awal dan garis akhir dibuat pada bilah yang telah disiapkan sebelumnya. Kelarutan produk hidrolisa diuji dengan tiga pelarut tunggal yaitu Diklorometana, Metanol, dan Etil asetat. Produk hidrolisa yang telah dilarutkan kemudian ditotolkan pada garis awal dengan pipet kapiler. Wadah kromatografi diisi dengan salah satu pelarut tunggal, kemudian wadah kromatografi ditutup selama 2 menit untuk menjenuhkannya dengan pelarut, kemudian tutup wadah kromatografi dibuka. Bilah pralapis silika gel yang telah ditotolkan produk hidrolisa dimasukkan ke dalam wadah kromatografi dengan menyangga pada dinding wadah kromatografi. Bilah pralapis silika gel yang tercelup ke pelarut tidak boleh melewati garis awal. Wadah kromatografi ditutup. Pengembangan pralapis silika gel dilakukan hingga pelarut mencapai garis akhir. Tutup wadah kromatografi dibuka dan bilah pralapis silika gel dikeluarkan. Bilah pralapis silika gel dikeringkan dengan *hair dryer*. Bilah pralapis silika gel yang telah kering tersebut disinari dengan sinar UV untuk melihat bercak noda, lalu bercak noda ditandai dan dicatat warnanya. Keterpisahan noda diperiksa atas fraksi-fraksi berdasarkan nilai  $R_f$ . Bilah pralapis silika gel yang telah ditandai nodanya disemprot dengan larutan kromatogenik ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ). Kemudian bilah tersebut dipanaskan di atas *hot plate* hingga muncul bercak berwarna, dan bercak warna tersebut ditandai dan dihitung nilai  $R_f$ -nya.

### Fraksinasi produk hidrolisa

Pralapis silika gel disiapkan dengan ukuran 20x20 cm<sup>2</sup>. Garis awal dan garis akhir dibuat dengan pensil pada pralapis silika gel. dilarutkan sebanyak 0,62 g produk hidrolisa dalam pelarut metanol. Produk hidrolisa yang telah dilarutkan ditotolkan pada garis awal. Pelarut yang telah disiapkan dituang ke dalam wadah kromatografi. Pada penelitian ini pelarut yang baik untuk fraksinasi produk hidrolisa adalah etil asetat. Fraksinasi dilakukan hingga pelarut mencapai garis akhir, setelah pelarut mencapai garis akhir pralapis silika gel dikeluarkan. Pralapis silika gel dikeringkan dengan *hair dryer*. Pralapis yang telah kering tersebut disinari dengan sinar UV untuk melihat bercak noda. Bercak noda ditandai dan dicatat warnanya, kemudian ditentukan nilai  $R_f$  pada masing-masing bercak noda. Pralapis silika gel dipotong dibagikan kanannya seukuran 20x1 cm<sup>2</sup> (akan digunakan sebagai rujukan kromatogenik).

Selanjutnya bilah pralapis silika gel disemprot dengan larutan kromatogenik, lalu dipanaskan di atas *hot plate*, kemudian ditandai bercak yang muncul dan dihitung masing-masing nilai  $R_f$ -nya. Bercak yang muncul pada bilah dibandingkan dengan pralapis silika gel dengan cara ditandai sesuai bercak pita yang muncul pada bilah. Silika gel sesuai dengan zona pita yang telah ditandai dikerok dan dipisahkan kerokan silika gel yang memiliki harga  $R_f < 0,5$  dengan kerokan silika gel yang memiliki harga  $R_f \geq 0,5$  dalam gelas kimia. Selanjutnya masing-masing kerokan silika gel direndam dalam pelarut etil asetat, kemudian disaring campuran dengan kertas saring Whatman No. 1. Larutan yang diperoleh dikeringkan dengan *rotary evaporator*. Komponen ber- $R_f < 0,5$  ditimbang. Hasil yang diperoleh digunakan sebagai cuplikan uji selektivitas.

### Prosespencampuran ekstrak dalam wadah uji

Wadah uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah akuarium berukuran 45 cm x 30 cm x 35 cm sebanyak 36 unit. Ketinggian air dari dasar wadah adalah 10 cm (Musman, 2010). Ekstrak MeOH biji *B. racemosa* fraksi  $R_f < 0,5$  dibuat dalam beberapa larutan konsentrasi yaitu 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm serta kontrol. Akuarium kaca diatur dalam 2 kelompok (keong mas dan ikan mujair) yang terdiri masing-masing 6 akuarium. Setiap kelompoknya dilakukan tiga kali ulangan. Setiap akuarium kemudian diisi sebanyak 10 individu keong mas dan 10 ekor untuk ikan mujair. Organisma yang akan diuji terlebih dahulu diaklimatisasi selama 30 menit agar organisme uji merasa nyaman dan dapat bergerak bebas. Kelima jenis larutan konsentrasi tersebut kemudian dituangkan sebanyak 100 mL ke dalam masing-masing akuarium yang telah berisi organisme uji (Musman *et al.*, 2012).

### Pengamatan kondisi dan mortalitas organisme uji

Pengujian keaktifan biologi ini dilakukan berdasarkan kaedah yang dianjurkan oleh FAO (Reish and Oshida, 1987). Pengamatan dilakukan setelah penuangan larutan ekstrak ke dalam akuarium organisme uji. Pengamatan ini dilakukan untuk mengetahui mortalitas organisme uji setelah 48 jam pemberian ekstrak. Mortalitas keong mas ditandai

dengan keluarnya cairan lendir melalui celah *operculum* atau kakunya pergerakan *operculum* bila ditekan ke arah dalam (Musman, 2004). Ikan mujair yang terkena racun gejalanya hampir sama dengan ikan lainnya seperti yang dinyatakan Rudyanti dan Ekasari (2009) bahwa ikan yang terkena racun dapat diketahui dengan gerakan yang hiperaktif, mengelepar, lumpuh sehingga kemampuan ikan untuk beradaptasi semakin berkurang dan akhirnya menyebabkan kematian.

#### Analisa Data

Data mortalitas keong mas dan ikan mujair yang diperoleh karena pemberian ekstrak MeOH biji *B. racemosa* fraksi  $R_f < 0,5$  dianalisa dengan program Probit (Finney, 1971). Menurut Feng and Wang (1984), nilai  $LC_{50}$  yang diperoleh digunakan untuk menghitung nilai selektivitas (S) melalui formula:

$$S = LC_{50} \text{ ikan mujair} / LC_{50} \text{ keong mas}$$

Kreteria terhadap nilai S adalah, jika nilai  $S > 1$  berarti ekstrak uji merupakan racun yang selektif terhadap keong mas, dan jika nilai  $S \leq 1$  berarti ekstrak uji merupakan racun yang tidak selektif terhadap keong mas.

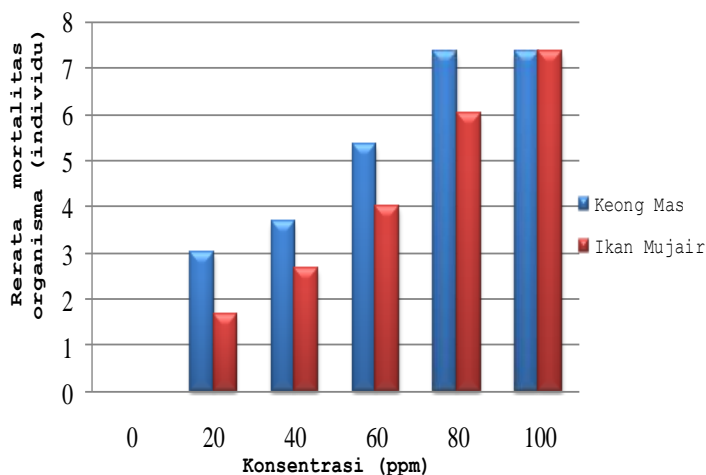
#### Hasil dan Pembahasan

Data rerata mortalitas keong mas dan ikan mujair setelah diberi perlakuan fraksi  $R_f < 0,5$  ekstrak MeOH biji *B. racemosa* dengan menggunakan konsentrasi yang berbeda ditunjukkan pada Gambar 1. Nilai  $LC_{50}$  yang telah diperoleh dari masing-masing organisme uji digunakan untuk menghitung nilai selektivitas fraksi  $R_f < 0,5$  dari ekstrak MeOH biji *B. racemosa*. Nilai selektivitas yang diperoleh adalah sebesar 1,36.

Pengamatan secara visual pada keong mas menunjukkan bahwa keong mas yang berada di akuarium kontrol masih terlihat aktif bergerak dan menempel di kaca akuarium. Pengamatan visual pada keong mas ini sesuai dengan pernyataan Yati (2006) bahwa keong mas (*P. canaliculata*) pada perlakuan kontrol tetap aktif bergerak dan merayap di dasar akuarium. Keong mas yang berada di akuarium yang telah diberikan larutan uji fraksi  $R_f < 0,5$  ekstrak MeOH biji *B. racemosa* terlihat menarik kaki mereka ke dalam cangkangnya melalui *operculum* tidak lama setelah racun dimasukkan. Tindakan keong mas ini dilakukan untuk menghindari tubuhnya terkontaminasi oleh racun fraksi  $R_f < 0,5$  dari ekstrak MeOH biji *B. racemosa*. Keong mas merupakan hewan yang sangat rakus (Hendarsih dan Kurniawati, 2009), keinginan untuk terus makan inilah yang menyebabkan keong mas membuka kembali *operculum*-nya untuk bergerak mencari makanan. Keaktifan keong mas bergerak untuk mencari makanan berakibat pada seringnya terjadi kontak kaki dengan bahan moluskosida (Musman, 2009). Untuk mengurangi kontak lebih lanjut permukaan tubuhnya dengan moluskosida, keong mas mengeluarkan lendir. Namun pembentukan lendir dalam jumlah yang berlebihan ini, dapat menghambat proses pernapasannya dan mengakibatkan kematian (Musman *et al.*, 2012). Data mortalitas yang telah diperoleh dari kedua organisme uji diolah dengan menggunakan program Probit untuk mengetahui nilai  $LC_{50}$ . Hasil  $LC_{50}$  yang diperoleh tertera pada Tabel 1. Musman (2010) menyatakan bahwa kematian yang tinggi pada keong mas disebabkan oleh senyawa saponin dan flavonoid yang memberikan efek biologis pada keong mas. Hadirnya saponin dalam badan air menyebabkan terhambatnya proses pernafasan pada keong mas (Musman, 2009).

Tabel 1. Nilai  $LC_{50}$  organisme uji

Organisma Uji	Nilai $LC_{50}$ [ppm]
Keong mas	46,76
Ikan mujair	64,06



Gambar 1. Diagram batang rerata mortalitas sampel uji keong mas dan ikan mujair terhadap konsentrasi (ppm).

Pengamatan secara visual terhadap ikan mujair setelah larutan uji dipajan ialah ikan mujair terlihat bergerak dengan cepat dan tidak teratur di dalam akuarium seperti berputar-putar. Hal ini menandakan larutan uji sangat cepat larut di dalam air. Ikan mujair yang terkena racun menjadi tidak teratur pergerakannya, kehilangan keseimbangan dan cenderung berada di dasar. Racun fraksi  $R_f < 0,5$  ekstrak MeOH biji *B. racemosa* masuk ke dalam tubuh ikan mujair melalui insang. Ikan mujair mati karena telah terakumulasi racun dalam tubuh ikan dan terhambatnya reaksi serta fungsi sistem saraf dalam tubuh ikan mujair (Rahmanpiu, 2007). Peristiwa ini berbanding terbalik dengan kondisi ikan mujair yang berada di akuarium kontrol. Ikan mujair yang berada di akuarium kontrol terlihat tenang dan bebas bergerak.

Pengamatan dalam penelitian ini berlangsung selama 2x24 jam. Jangka waktu ini dikategorikan sebagai jenis *bioassay* periode waktu pendek (Reish dan Oshida, 1987). Pemajanan fraksi  $R_f < 0,5$  dari ekstrak MeOH biji *B. racemosa* terhadap organisma uji menunjukkan pengaruh mortalitas terhadap organisma uji dari waktu ke waktu selama masa penelitian. Hal ini menandakan bahwa struktur senyawa toksikan dimaksud tidak mengalami deformasi selama berada di dalam air. Apabila terjadi deformasi struktur suatu toksikan, sifat biologi pada racun tersebut akan hilang dan tidak dapat memberikan efek mematikan bagi organisma uji dalam kurun waktu pengujian (Musman, 2010).

Pengaruh konsentrasi larutan uji fraksi  $R_f < 0,5$  dari ekstrak MeOH biji *B. racemosa* terhadap mortalitas organisma uji keong mas dan ikan mujair terlihat dengan jelas. Angka mortalitas yang didapat dari organisma uji berbanding lurus dengan konsentrasi larutan uji yang diberikan. Hal ini menandakan bahwa semakin tinggi konsentrasi larutan uji yang dipajani maka semakin tinggi pula mortalitas organisma uji yang mati dalam kurun waktu penelitian.

Nilai selektivitas fraksi  $R_f < 0,5$  dari ekstrak MeOH biji *B. racemosa* yang diperoleh dari perbandingan  $LC_{50}$  ikan mujair terhadap  $LC_{50}$  keong mas adalah 1,36. Harga selektivitas ini menunjukkan bahwa fraksi  $R_f < 0,5$  dari ekstrak MeOH biji *B. racemosa* memiliki selektivitas yang tinggi. Hasil ini menunjukkan bahwa sifat racun fraksi  $R_f < 0,5$  dari ekstrak MeOH biji *B. racemosa* ini sangat selektif terhadap organisma uji keong mas, karena pada batasan harga konsentrasi tertentu ekstrak ini sudah mampu membunuh organisma yang menjadi sasaran uji pada penelitian ini, yaitu keong mas, akan tetapi tidak banyak membunuh organisma yang bukan sasaran utama, yaitu ikan mujair.

## Kesimpulan

Pemberian fraksi  $R_f < 0,5$  ekstrak MeOH biji *B. racemosa* menyebabkan kematian terhadap organisma uji.  $LC_{50}$  fraksi  $R_f < 0,5$  dari ekstrak MeOH biji *B. racemosa* terhadap keong mas adalah 46,76 ppm dan 64,06 ppm untuk ikan mujair. Nilai selektivitas fraksi  $R_f < 0,5$  dari ekstrak MeOH biji *B. racemosa* adalah 1,36. Fraksi  $R_f < 0,5$  dari ekstrak MeOH biji *B. racemosa* menunjukkan sifat biologisnya sebagai moluskosida keong mas.

## Daftar Pustaka

- Damborenea, C., F. Brusa. and A. Paola. 2006. Variation in worm assemblages associated with *Pomacea canaliculata* (Caenogastropoda, Ampullariidae) in sites near the Rio de la Plata estuary. Argentina. *Biocell* (Mendoza), 3(3): 457-468.
- Feng, H. T., T. C. Wang. 1984. Selectivity of insecticides to *Plutella xylostella* (L.) and *Apanteles plutellae*. *Plant Prot. Bull.*, 26: 275-284.
- Finney, D. J. 1971. Probit analysis. 3<sup>rd</sup> edition. Cambridge University Press, Cambridge.
- Gowri, P. M., S. V. Radhakrishnan, S. J. Basha, A. V. Sarma, J. M. Rao. 2009. Oleanane-type isomeric triterpenoids from *Barringtonia racemosa*. *Journal of Natural Products*, 72(4): 791-795.
- Hendarsih, S., N. Kurniawati. 2009. Keong mas dari hewan peliharaan menjadi hama utama padi sawah. Balai Besar Penelitian Tanaman Padi, Subang, Jawa Barat.
- Hui-Chi Huang, Liao Sin-Chung, ChangFang-Rong, Kuo Yao-Haur, W. Yang-Chang. 2003. Moluscicidal saponins from *Sapindus mukorossi*, Inhibitory Agents of Golden Apple Snail, *Pomacea canaliculata*. *Journal Agriculture Food Chem.*, 51(17): 49 16-19.
- Musman, M. 2004. Effect of methanol extract of fruit of penteut (*Barringtonia asiatica*) to mortality of golden snail (*Pomacea canaliculata*). *Jurnal Natural*, 4(2): 9-11.
- Musman, M. 2009. The potency of penteut ie (Acehnese, *Barringtonia racemosa* (L. Spreng) as molluscicide of *Pomacea* species (Ampullariidae), Abidin ddk.(eds.), Understanding Disaster and Environmental Issues with Science and Engineering towards Sustainable Development. Proceeding of the International Conference on Natural and Environmental Sciences 2009 (ICONES '09). Banda Aceh, 6-8 May 2009.
- Musman, M. 2010. Toxicity of *Barringtonia racemosa* (L.) kernel eextract on *Pomacea canaliculata* (Ampullariidae). *Tropical Life Science Research*, 21(2): 41-50.
- Musman, M., S. Karina, K. Melanie. 2012. Uji selektivitas ekstrak etil asetat (EtOAc) biji putat air (*Barringtonia racemosa*) terhadap keong mas (*Pomacea canaliculata*) dan ikan lele lokal (*Clarias batracus*). *Depik*. 1(1):27-31.
- Ojewole, J. A. O., N. Nundkumar, C. O. Adewunmi. 2005. Molluscicidal, cercariacidal, larvacidal and antiplasmodial properties of *Barringtonia racemosa* fruit and seed extracts. *BLACPMA*, 3(5): 88-92.
- Rahmanpiu. 2007. Toksisitas ekstrak buah pandita (*Anamirta cocculus*) terhadap bioindikator ikan mujair (*Tilapia mosambica*) pada pemeliharaan udang windu (*Penaeus monodon*). *Gema Pendidikan*. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan. Universitas Haluoleo, Kendari.
- Reish, D. L., P. S. Oshida. 1987. Manual of methods in aquatic environment Research: Part 10 – Short-term Static Bioassay. *FAO Fisheries Technical Paper* 247, Rome.
- Rudiyanti, S., A. D. Ekasari. 2009. Pertumbuhan dan survival rate ikan mas (*Cyprinus carpio Linn*) pada berbagai konsentrasi pestisida regent 0,3 g. *Jurnal Saintek Perikanan*, 5(1): 39-47.
- Sa'id, E. G. 1994. Dampak negatif pestisida, sebuah catatan bagi kita semua. *Agrotek*, 2(1): 71-72.
- Suripto. 2009. Selektivitas anti moluska dari tanaman jayanti {*Sesbania sesban* (L.) Merr.}. *Jurnal Biol. Trop.*, 10(1): 24-32.
- Yati, N. 2006. Aktivitas moluskisida ekstrak biji teh (*Camelia sinensis*) (THEACEAE) terhadap keong mas (*Pomacea canaliculata*) (Mesogastropoda: Ampullariidae). Laporan penelitian, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan. Fakultas Pertanian. Universitas Padjajaran, Bandung.