

**PEMANFAATAN HASIL FERMENTASI AMPAS KECAP DAN KOTORAN AYAM
MENGUNAKAN *Aspergillus niger* SEBAGAI PAKAN ALTERNATIF
IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*)**

Sunarto¹, Ratna Setyaningsih², Eny Achriliana Rizki³
^{1,2,3}Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Sebelas Maret, Surakarta

Email korespondensi : rm.sunarto@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian pembuatan pakan dari bahan ampas kecap dan kotoran ayam bertujuan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan pada pertambahan berat, panjang dan laju pertumbuhan harian ikan nila setelah pemberian pakan dengan komposisi yang berbeda, adanya *Escherichia colidan Salmonella* pada bahan pakan hasil fermentasi dan nilai protein pakan ikan nila yang berupa campuran pelet dengan hasil fermentasi ampas kecap dan kotoran ayam pada perbandingan komposisi berbeda.

Rancangan penelitian yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan yang diberikan yaitu perlakuan 100% pelet komersial, ampas kecap dan kotoran ayam difermentasi menggunakan 1% *A. niger* dengan komposisi 70% ampas kecap dengan 30% kotoran ayam, kemudian dibuat menjadi 3 pakan substitusi yaitu campuran 15% bahan fermentasi dengan 85% pelet komersial, 30% bahan fermentasi dengan 70% pelet komersial, dan 45% bahan fermentasi dengan 55% pelet komersial.

Hasil analisis statistik ANOVA terhadap pertambahan panjang dan berat menunjukkan ada beda nyata sedangkan laju pertumbuhan harian ikan nila menunjukkan tidak ada beda nyata. Pertambahan berat dan panjang tertinggi ikan nila terdapat pada komposisi pakan 70% pelet komersial dengan 30% bahan fermentasi. Bahan fermentasi ampas kecap dan kotoran ayam tidak tercemar *E. colidan Salmonella*. Hasil analisis protein dari pakan dengan komposisi 100% pelet komersial, 15% bahan fermentasi, 30% bahan fermentasi, dan 45% bahan fermentasi berturut-turut yaitu 33,36%, 16,56%, 15,84%, dan 13,61%. Semakin banyak penambahan bahan fermentasi pada pakan protein semakin menurun. Nilai laju pertumbuhan ikan nila berturut-turut yaitu, 0,21 gr/hari, 0,24 gr/hari, 0,22 gr/hari dan 0,22 gr/hari.

Kata kunci: Fermentasi, Ampas kecap, kotoran ayam, *Aspergillus niger*, pakan alternatif ikan nila.

PENDAHULUAN

Salahsatu jenis ikan konsumsi yang berpeluang untuk dibudidayakan adalah ikan nila (*Oreochromis niloticus*). Ikan nila termasuk ikan omnivora, sangat responsif terhadap pelet buatan, bahkan terhadap hijauan sekalipun. Sumber protein utama yang sering digunakan pada pembuatan pelet adalah tepung ikan dan kedelai, yang bersaing dengan pangan dan pakan ternak. Untuk mengurangi konsumsi pelet komersial upaya-upaya pembuatan pakan alternatif telah diteliti bahkan berasal dari bahan buangan.

Ampas kecap merupakan limbah yang dalam jumlah banyak dapat mengganggu lingkungan karena mengeluarkan bau yang tidak enak. Menurut Mairizal (1991), pada proses pembuatan kecap sebagian protein kedelai terdapat pada kecap dan sisanya tertinggal dalam ampas kecap. Ampas kecap tersebut kandungan nutrisinya masih cukup baik. Tekstur kasar ampas tersebut sulit untuk dimanfaatkan secara langsung sebagai pakan, sehingga untuk menjadi bahan baku pakan, ampas kecap harus diolah dahulu. Selain ampas kecap, kotoran ayam juga merupakan produk yang masih mengandung komponen nutrisi yang berasal dari sisa makanan di dalam saluran pencernaan yang belum sempat dicerna atau diserap oleh tubuh. Bahan-bahan limbah tersebut untuk dapat dicerna dengan mudah dan aman harus diolah melalui proses-proses tertentu. Salah satu proses tersebut yaitu dengan fermentasi. Fermentasi dapat menghilangkan zat yang

bersifat racun, serta meningkatkan nutrisi pada bahan pakan. Untuk mempercepat fermentasi pada umumnya ditambahkan mikroorganisme seperti fungi dan bakteri.

Kotoran ayam sebagai bahan tambahan dalam pakan ikan perlu dicampur dengan bahan pakan lainnya seperti tepung ikan, tepung kedelai dan lain sebagainya (Andini dkk., 2000). Penelitian terdahulu oleh Jamila dkk., (2009) mengenai pembuatan pakan dengan menggunakan kotoran ayam sebagai salah satu bahan membuktikan bahwa kotoran ayam tanpa perlakuan fermentasi mengandung protein sebesar 9,97%. Penelitian lain yang dilakukan oleh Pamungkas dkk., (2012) mengenai pemanfaatan lumpur kotoran ayam petelur yang tidak difermentasi, membuktikan bahwa kotoran kering ayam petelur mengandung protein 12,69%, sedangkan kotoran yang telah difermentasi menggunakan kapang *A. niger* memiliki kandungan protein 15,31%. Penelitian-penelitian tersebut membuktikan bahwa ampas kecap dan kotoran ayam masih dapat dimanfaatkan sebagai tambahan bahan pakan. Kedua bahan tersebut diformulasikan pada komposisi yang seimbang untuk menjadi bahan pakan sehingga dapat mengurangi konsumsi pelet komersial dan bermanfaat bagi pertumbuhan ikan nila.

MATERI DAN METODE

Penelitian dilaksanakan pada bulan November 2012 hingga April 2013 di Laboratorium Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Makanan Ternak Jurusan Peternakan Universitas Sebelas Maret Surakarta dan Jl. Halilintar Ketingan Surakarta.

1. Alat

Penelitian menggunakan peralatan vortex, petri disk, tabung reaksi, erlemeyer, kolam terpal, jarring ikan, aerator, hemasitometer, inkubator, *blender*, ember, timbangan, mikropipet, mikroskop, pH meter, DO meter, dan meteran.

2. Bahan

Penelitian menggunakan bahan-bahan ampas kecap dari pabrik kecap, kotoran ayam dari peternakan ayam rumah tangga, pelet komersial, *Aspergillus niger* dari Laboratorium Bioteknologi PAU Universitas Gajah Mada Yogyakarta, 120 ekor ikan nila berukuran panjang \pm 4-5 cm, air secukupnya, *methylene blue* (MB), media *potato dextrose broth* (PDB), *potato dextrose agar* (PDA), *lactose broth* (LB), *eosin methylene blue agar* (EMBA) dan *Salmonella-Shigella agar* (SSA).

A. Rancangan Percobaan

1. Pembuatan Pakan dan Analisis Nutrisi

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap terdiri dari perlakuan kontrol dan 3 perlakuan pada pembuatan pakan. Perbandingan konsentrasi perlakuan sebagai berikut:

kontrol= 100 % pellet

fermentasi= 70 % ampas kecap + 30 % kotoran ayam + 1 % *A.niger*

Tabel 1. Konsentrasi campuran bahan-bahan fermentasi dengan pelet komersial

Perlakuan	Formulasi Fermentasi (%)	Pelet (%)
kontrol (P0)	0	100
P1	15	85
P2	30	70
P3	45	55

2. Pemeliharaan ikan

Pemeliharaan ikan nila dilakukan dengan menggunakan 4 kolam terpal ukuran 1 m x 0,5 m, tiap-tiap kolam diisi 30 ekor nila jantan dengan panjang tubuh \pm 4-5 cm. Dilakukan perlakuan pada masing-masing kolam dengan pakan kontrol (P0), P1, P2 dan P3. Pengambilan 3 sampel dilakukan secara acak dari setiap perlakuan untuk diukur pertumbuhannya selama 8 minggu.

B. Cara Kerja

1. Pembuatan inokulum *Aspergillus niger*

Pembenihan inokulasi dilakukan pada PDA secara streak dengan menggunakan ose inokulasi di dalam cawan petri secara aseptik di *laminar air flow*. Mikroba diinkubasi pada suhu $\pm 30^{\circ}\text{C}$ selama 120 jam. Sesudah spora terlihat berwarna hitam, inokulum disiapkan dengan cara dicelupkan 1 ose spora ke dalam PDB yang ditutup dengan kapas kemudian diinkubasi pada suhu $\pm 30^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam di ruang aseptik hingga tampak keruh.

Suspensi spora sebanyak 0,1-0,5 ml dari PDB yang telah homogen diambil menggunakan mikropipet lalu diteteskan pada hemasitometer tepat pada lekukan ke-5 pada tepi kaca penutup hemasitometer dan mengalirkan suspensi hingga memenuhi ruang hemasitometer secara kapiler. Hemasitometer diamati di mikroskop dan jumlah spora pada setiap kotak pada sudut kotak kecil dan kotak tengah yang berukuran 1 mm^2 dihitung (Benazir dkk., 2010).

2. Fermentasi Ampas Kecap dan Kotoran Ayam

Ampas kecap sebanyak 303,289 gram dihaluskan, 129,981 gram kotoran ayam dan 1 % *A. niger* lalu dicampur dan menambah air $\pm 19,26\text{ mL}$ campuran dimasukkan ke dalam wadah serta menghomogenkan dengan mengaduknya secara berkala. Inkubasi di tempat yang ternaung dengan suhu $27-30^{\circ}\text{C}$ selama 4 hari. Campuran tersebut diaduk setiap 2 hari sekali untuk meratakan aerasi. Campuran dikeringkan di dalam oven hingga kelembapan mencapai $\pm 30\%$ (Purwadaria., 1993).

3. Uji *Escherichia coli* dan *Salmonella sp.*

Uji praduga bakteri *E. coli* dan *Salmonella* dilakukan pada formula yang telah di fermentasi (sebelum dicampur dengan pelet dan sesudah dicampurkan pelet). Uji *E. coli* dilakukan dengan media EMBA diinkubasi pada suhu $35-37^{\circ}\text{C}$ selama 24-48 jam, kemudian dianalisis berdasarkan kenampakan warna koloni. Jika terdeteksi adanya *E. coli*, maka dilakukan inkubasi pada suhu 60°C selama 20 menit (Badan Pengawas Obat dan Makanan, 2008). Uji praduga bakteri *Salmonella* dilakukan dengan menumbuhkan hasil fermentasi ampas kecap dan kotoran ayam pada media *Samonella-shigella Agar* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

4. Pembuatan dan Analisis Nutrisi Pakan

Pakan hasil fermentasi pelet dicampurkan lalu ditambah sedikit air sampai kadar airnya cukup serta tercampur rata, setelah itu campuran dikeringkan dan dibentuk menjadi pakan serbuk. Sebanyak 100 gram dari masing-masing sampel dan dianalisis nutrisi pakan di Laboratorium Fakultas Pertanian UNS. Analisis nutrisi dilakukan untuk mengetahui kandungan protein dan karbohidrat pakan.

5. Pemeliharaan Ikan

Setiap perlakuan diujikan pada 30 ekor nila dengan panjang tubuh $\pm 4-5\text{ cm}$ dengan ukuran kolam $1\text{ m} \times 0,5\text{ m}$ dan tinggi air kolam $\pm 40\text{ cm}$. Pakan diberikan sebanyak 3% dari bobot ikan, dengan frekuensi pemberian pakan tiga kali sehari yaitu pada pukul 08.00, 12.00 dan 16.00 WIB (Rukhmana, 1997). Berat ikan dan panjang tubuh ikan serta laju pertumbuhan harian diukur perminggu.

6. Analisis Pertumbuhan Ikan Nila

a. Pengukuran pertumbuhan ikan nila

1. Berat ikan nila ditimbang menggunakan timbangan
2. Panjang total ikan diukur menggunakan mistar dan meteran dari ujung kepala sampai pelipatan pangkal sirip ekor

b. Laju pertumbuhan harian (G) ikan menurut Fuad (1996), rumus:

$$G = \frac{\ln Wt - \ln W0}{t}$$

keterangan: Wt = berat akhir ikan (gram)
Wo = berat awal ikan (gram)
t = lama waktu pemeliharaan (hari)

c. Derajat Kelangsungan Hidup

$$S = \frac{N_t}{N_o} \times 100\%$$

keterangan: S = derajat kelangsungan hidup
N_t = jumlah ikan di akhir penelitian
N_o = jumlah ikan di awal penelitian

(Effendi, 1979)

7. Uji Parameter Lingkungan

Selama penelitian berlangsung dilakukan pengukuran parameter kualitas air setiap minggu pada waktu pukul 08.00-11.00 WIB. Parameter yang diukur meliputi faktor pH, suhu dan DO. Pengukuran parameter tersebut dilakukan menggunakan DO meter dan pH meter.

C. Analisis Data

Data dianalisis secara statistik dengan menggunakan analisis sidik ragam (ANOVA) pada taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) untuk mengetahui bedanya (nilai signifikan) masing-masing perlakuan. Selanjutnya dilakukan analisis uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) taraf uji 5% untuk mengetahui letak perbedaan antar perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 2. Uji *E. coli* dan *Salmonella* pada bahan hasil fermentasi

Pakan	<i>E.coli</i>	<i>Salmonella</i>
85% pelet komersial + 15% bahan fermentasi	—	—
70% pelet komersial + 30% bahan fermentasi	—	—
55% pelet komersial + 45% bahan fermentasi	—	—

Tabel 2 menunjukkan hasil uji pendugaan pada sampel dihasilkan sampel negatif dari bakteri-bakteri tersebut. Hal ini dapat terjadi karena proses fermentasi dan sterilisasi yang dilakukan sehingga dapat membunuh bakteri patogen.

Tabel 3. Persentase kandungan protein dan karbohidrat pakan dari masing-masing komposisi

komposisi	Parameter Uji	
	Protein total (% wb)	Karbohidrat (% wb)
kontrol 100% pelet komersial	33,36	47,03
85% pelet + 15% bahan fermentasi	16,56	60,68
70% pelet + 30% bahan fermentasi	15,84	60,68
55% pelet + 45% bahan fermentasi	13,61	62,78

Hasil uji nutrisi pada pakan kontrol dan pakan buatan (Tabel 2), semakin banyak penambahan bahan fermentasi dalam pakan maka akan semakin menurun kandungan proteinnya. Hal ini menunjukkan bahwa pakan buatan yang terdiri dari campuran hasil fermentasi dengan pelet komersial mempunyai kandungan protein yang lebih rendah daripada 100% pelet komersial yang biasa digunakan. Untuk kandungan karbohidrat pakan 100% pelet memiliki kandungan paling rendah. Meningkatnya kandungan karbohidrat salah satunya disebabkan oleh penambahan tapioka sebagai perekat sehingga meningkatkan kandungan karbohidrat dan menurunkan kandungan protein,

karena tapioka merupakan tepung yang sebagian besar terdiri dari karbohidrat, sehingga dapat menurunkan konsentrasi protein pakan.

Pemberian pakan yang dilakukan selama 8 minggu menunjukkan bahwa terjadi perubahan terhadap berat dan panjang (Tabel 3) dan laju pertumbuhan ikan (Tabel 4). Terdapat penambahan berat dan panjang ikan nila selama penelitian. Pemberian pakan substitusi hasil fermentasi antara ampas kecap, kotoran ayam dan *A. niger* tidak memberikan efek buruk terhadap pertumbuhan, walaupun terjadi penurunan kandungan protein total dan peningkatan kandungan karbohidrat.

Tabel 4. Pertambahan berat dan panjang ikan nila selama 8 minggu pemberian pakan buatan

perlakuan	rata-rata pertambahan berat (gram)	rata-rata pertambahan panjang (cm)
kontrol 100% pelet komersial	$\pm 12,9852^b$	$\pm 8,7248^c$
85% pelet + 15% bahan fermentasi	$\pm 12,3411^a$	$\pm 8,6643^b$
70% pelet + 30% bahan fermentasi	$\pm 14,000^d$	$\pm 8,7832^d$
55% pelet + 45% bahan fermentasi	$\pm 13,225^c$	$\pm 8,7248^a$

Hasil analisis statistik ANOVA dengan taraf kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$) untuk faktor berat memiliki beda nyata antar perlakuan. Analisis lanjutan yaitu Duncan Multiple Range Test menunjukkan letak perbedaan pertambahan berat dan panjang untuk masing-masing yaitu, pertambahan berat tertinggi dimiliki oleh perlakuan pakan dengan 30% bahan fermentasi. Posisi kedua dimiliki oleh pakan dengan 45% bahan fermentasi. Posisi ketiga dimiliki oleh perlakuan kontrol 100% pelet komersial. Sedangkan nilai terendah dimiliki oleh perlakuan pakan dengan 15% bahan fermentasi.

Dari hasil analisis ANOVA dengan taraf kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$) untuk faktor panjang memiliki beda nyata antar perlakuan. Sedangkan hasil analisis DMRT, dilihat dari perlakuan konsentrasi pakan untuk pertumbuhan panjang menunjukkan bahwa nilai tertinggi dimiliki oleh pakan dengan konsentrasi 30% bahan fermentasi, posisi kedua dimiliki oleh pakan dengan konsentrasi 100% pelet komersial, posisi ketiga dimiliki oleh pakan dengan konsentrasi 15% bahan fermentasi, sedangkan posisi terendah dimiliki oleh pakan dengan konsentrasi 45% bahan fermentasi.

Tabel 5. Laju pertumbuhan harian (G) ikan nila setelah pemberian pakan buatan selama 8 minggu

Perlakuan	Nilai G gr/hari
kontrol 100% pelet komersial	0,22
85% pelet + 15% bahan fermentasi	0,21
70% pelet + 30% bahan fermentasi	0,24
55% pelet + 45% bahan fermentasi	0,22

Laju pertumbuhan harian ikan nila dengan komposisi pakan bervariasi berkisar 0,21-0,24 gr/hari (Tabel 4). Hasil analisis statistik menggunakan ANOVA dengan taraf kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$) menunjukkan bahwa laju pertumbuhan harian dari masing-masing perlakuan tidak berbeda nyata.

Tabel 6. Derajat kelangsungan hidup (S) ikan nila dengan pemberian pakan buatan selama 8 minggu

Perlakuan	S (%)
kontrol 100% pelet komersial	83
85% pelet + 15% bahan fermentasi	93
70% pelet + 30% bahan fermentasi	97
55% pelet + 45% bahan fermentasi	93

Hasil analisis statistik menggunakan ANOVA dengan taraf kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$) menunjukkan bahwa derajat kelangsungan hidup dari masing-masing perlakuan tidak berbeda nyata. Hasil pengukuran, menunjukkan nilai derajat kelangsungan hidup terendah terjadi pada kolam perlakuan kontrol 100% pelet komersial, untuk perlakuan 85% pelet + 15% bahan fermentasi dan 55% pelet + 45% bahan fermentasi memiliki hasil yang sama. Sedangkan derajat kelangsungan hidup tertinggi di miliki oleh perlakuan 70% pelet + 30% bahan fermentasi (Tabel 5).

Tabel 7. Parameter lingkungan kolam ikan nila selama 8 minggu

perlakuan	pH	Suhu (°C)	DO (ppm)
kontrol 100% pelet komersial	7,13	27,00	2,78
85% pelet + 15% pakan fermentasi	7,12	27,10	2,65
70% pelet + 30% pakan fermentasi	7,10	27,02	2,76
55% pelet + 45% pakan fermentasi	7,05	27,07	2,68

Hasil pengukuran pH pada masing-masing perlakuan tidak terlihat perbedaan. Suhu selama 6 minggu berkisar antara 6-7. Menurut Kordi dan Tancung (2007), ikan dapat mengalami pertumbuhan yang optimal pada pH 6,5-9,0, sehingga pada kondisi pH selama penelitian berada pada kondisi pH optimal bagi pertumbuhan ikan nila.

Hasil pengukuran parameter kualitas suhu air kolam dari setiap perlakuan berada pada suhu antara 25°C sampai 28°C. Hal ini menunjukkan bahwa keadaan suhu pada perlakuan termasuk pada suhu optimal bagi pertumbuhan ikan nila. Sesuai dengan pernyataan Amri, (2009), bahwa suhu optimum bagi perkembangan dan pertumbuhan ikan nila adalah 25-30°C.

Pada penelitian ini kandungan oksigen terlarut rata-rata adalah 2 mg/l. Kandungan oksigen tersebut masih berada pada batas minimal. Hal ini sesuai dengan peraturan Dirjen Perikanan (1991) yang menyatakan bahwa kandungan oksigen minimal untuk ikan nila yaitu 2-4 mg/l. Ikan nila merupakan jenis ikan yang memiliki toleransi tinggi terhadap perubahan lingkungan perairan, namun kualitas air dalam wadah budidaya harus tetap dikelola dengan baik agar pertumbuhannya tetap optimal (Monalisa dan Minggawati, 2010).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pembahasan dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Terdapat beda nyata pada pertambahan berat dan panjang sedangkan laju pertumbuhan harian tidak terdapat beda nyata dengan pemberian komposisi pakan yang berbeda pada ikan nila. Pertambahan berat dan panjang tertinggi ikan nila terdapat pada komposisi pakan 70% pelet komersial dengan 30% bahan fermentasi.
2. Pakan hasil fermentasi tidak mengandung bakteri *E. coli*, dan *Salmonella*.
3. Pakan dengan konsentrasi 100% pelet komersial mengandung 33,36% protein, pakan dengan 15% bahan fermentasi mengandung 16,56% protein, pakan dengan

30% bahan fermentasi mengandung 15,84% protein dan pakan dengan 45% bahan fermentasi mengandung 13,61% protein.

DAFTAR PUSTAKA

- Amri, K. 2009. *Budidaya Ikan Nila Secara Intensif*. Jakarta: Gramedia.
- Andini, Harsojo, L. S., Rosalina, S. H. dan Suwirma, S. 2000. Limbah Agroindustri dan Peternakan Ayam sebagai Pakan Tambahan Ikan Nila. *Risalah Pertemuan Ilmiah Penelitian dan Pengembangan Teknologi Isotop dan Radiasi*.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan. 2008. Pengujian Mikrobiologi Pangan. *InfoPOM*. 2(9): 1-11.
- Benazir, J. F., Suganthi, R., Hari, A., Kumar, V. R., Aswanthi, M. P., Niraimathi, G., Mala, M. K., Sukanya, S. dan Shanti, R. 2010. Bioutilization of Agroindustrial Waste in Solid State Fermentation by *Aspergillus niger* for The Production of Protease. *Asiatic Journal Biotech Res.* 2 (04): 422-435.
- Jamila, F.K., Tangdilintin dan Astuti, R. 2009. Kandungan Protein Kasar dan Serat Kasar pada Feses Ayam yang Difermentasi dengan *Lactobacillus sp.* Prosiding. *Seminar Nasional*. Bogor: Teknologi Peternakan dan Veteriner.
- Kordi, M.G.H. dan Tancung, A.B. 2007. *Pengelolaan Kualitas Air*. Jakarta: PT Rineka Cipta.
- Mairizal. 1991. Penggunaan Ampas Tahu dalam Ransum Broiler. *Poulti Indonesia*. hal 1-6.
- Monalisa, S. S. dan Minggawati, I. 2010. Kualitas Air yang Mempengaruhi Pertumbuhan Ikan Nila (*Oreochromis sp.*) di Kolam Beton dan Terpal. *Jurnal of Tropical Fisheries*. Vol 5 (2): 526-530.
- Pamungkas, G. S., Sutarno. dan Mahajeno, E. 2012. Fermentasi Lumpur Digestat Kotoran Ayam Petelur dengan Kapang *Aspergillus niger* untuk Sumber Protein pada Ransum Ayam. *Bioteknologi*. 9 (1): 1-9.
- Purwadaria, T., Haryati, T., Sinurat, A. P., Darma, J. dan Pasaribu, T. 1995. *In vitro* Nutrient of Coconut Meal Fermented with *Aspergillus niger* NRLL 337 at Different Enzymatic Incubation Temperatures. *II Conference on Agricultural Biotechnology*. Jakarta 13-15 June 1995.
- Rukmana, R. 1997. *Ikan Nila*. Yogyakarta: Kanisius.