

Aktivitas Protease dan Kadar Protein Tubuh Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) pada Kondisi Puasa dan Pemberian Pakan Kembali

Wieka Mahalida Hanum, Untung Susilo, dan Slamet Priyanto
Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto
Jl. Dr. Soeparno No. 63 Telp. (0281) 638794, Grendeng Purwokerto 53122
Email korespondensi: susilo.utg@gmail.com

Diterima Nopember 2012 disetujui untuk diterbitkan Januari 2013

Abstract

Three treatments and four replications in randomised completely design were conducted to reveal the protease activity and body protein content on catfish, *Clarias gariepinus*, under starvation and refeeding conditions. The result showed that the protease activity has no significant different ($P>.05$) in first week, but has significant different ($P<.05$) in second week after treatment. Body protein content has significant different ($P<.05$) in first and second weeks after treatment. We concluded that the protease activity and body protein content decreased at deprivation, but increased after two weeks refeeding.

Key words: catfish, protease, protein content, refeeding, starvation

Abstrak

Tiga perlakuan dan empat ulangan dalam rancangan acak lengkap telah diterapkan untuk mengetahui aktivitas protease dan kadar protein tubuh ikan lele, *Clarias gariepinus*, dibawah kondisi pemuasaan dan pemberian pakan kembali. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas protease tidak memperlihatkan perbedaan signifikan ($P>.05$) pada minggu pertama, tetapi memperlihatkan perbedaan yang signifikan ($P<.05$) pada minggu kedua setelah perlakuan. Kadar protein tubuh juga menunjukkan perbedaan signifikan baik pada minggu pertama maupun kedua setelah perlakuan. Kesimpulan, aktivitas protease dan kadar protein tubuh ikan lele mengalami penurunan, tetapi meningkat kembali setelah dua minggu pemberian pakan.

Kata kunci: ikan lele, protease, kadar protein, pemberian pakan kembali, pemuasaan

Pendahuluan

Protein yang dikonsumsi ikan sebelum dapat digunakan oleh tubuh terlebih dahulu akan mengalami proses pemecahan secara kimiawi didalam sistem pencernaannya agar terbentuk senyawa-senyawa yang lebih sederhana dan mudah diserap. Pencernaan protein di dalam saluran digesti dilakukan oleh enzim pencernaan yang secara umum disebut protease. Protease yang umumnya disekresi oleh pankreas akan memecah protein menjadi komponen yang lebih sederhana yaitu asam amino. Asam amino hasil proses digesti merupakan senyawa organik yang siap diserap tubuh dan digunakan untuk berbagai keperluan, diantaranya membangun protein tubuh ikan.

Perubahan asupan protein sebagai akibat perubahan strategi

pemberian pakan akan berefek pada perubahan fisiologis ikan, diantaranya perubahan aktivitas protease dan kadar protein tubuh ikan. Diantara strategi pemberian pakan yang seringkali berefek pada perubahan fisiologi ikan adalah penerapan pemuasaan dan pemberian pakan kembali pada ikan selama periode tertentu pemeliharaan.

Penelitian terdahulu berkaitan dengan penerapan pemuasaan dan pemberian pakan kembali terhadap beberapa aspek fisiologi ikan, telah dilakukan diantaranya terhadap perubahan status hormon tiroid pada ikan lele kanal *Ictalurus punctatus* (Gaylord *et al.*, 2001), perubahan laju metabolisme dan profil darah pada ikan kerapu bebek, *Cromileptes altivelis* (Yuwono *et al.*, 2005; Simanjuntak & Yuwono, 2006), dan ikan bandeng, *Chanos chanos* (Yuwono *et al.*, 2006),

aktivitas enzim digesti pada ikan *sea bream*, *Sparus aurata* (Eroldoğan *et al.*, 2008).

Studi pada ikan lele dumbo dan ikan nila juga telah menunjukkan adanya perubahan aktivitas enzim digesti ketika ikan mengalami periode pemuasaan singkat dan pemberian pakan kembali (Cho *et al.*, 2008; Afiyah *et al.*, 2009). Namun demikian, apakah terdapat perbedaan perubahan aktivitas protease dan kadar protein tubuh ikan lele dumbo bila periode pemuasaan berbeda dari penelitian sebelumnya, perlu untuk dikaji.

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui aktivitas protease dan kadar protein tubuh ikan lele dumbo yang dihadapkan pada kondisi pemuasaan dan pemberian pakan kembali.

Materi dan Metode

Penelitian dilakukan lima bulan (Juli 2011- November 2011) di Laboratorium Fisiologi Hewan Fakultas Biologi dan Laboratorium Riset Unsoed. Ikan lele dumbo dengan ukuran berat tubuh rata-rata $7,77 \pm 1,18$ g/ekor, yang diperoleh dari hasil pemberian Peternak Ikan di Desa Dukuh Waluh, Kembaran, Banyumas, telah digunakan dalam penelitian ini. Sebelum digunakan dalam penelitian, ikan terlebih dahulu diaklimasi selama dua minggu di Laboratorium Fisiologi Hewan.

Penelitian dilakukan secara eksperimental dengan rancangan acak lengkap (RAL) sebagai rancangan dasarnya. Perlakuan yang dicobakan terdiri atas 3 macam perlakuan dan setiap perlakuan diulang sebanyak 4(empat) kali. Perlakuan yang dicobakan meliputi : Ikan yang tidak dipuasakan (Po), ikan dipuasakan selama dua minggu (P1) dan ikan memperoleh pakan kembali selama dua minggu (P2). Aktivitas protease dan kadar protein tubuh diukur pada minggu pertama dan kedua baik pada ikan yang tidak dipuasakan (Po), ikan yang dipuasakan (P1) maupun ikan yang dalam kondisi diberi pakan

kembali (P2). Sejumlah enam akuarium digunakan dalam penelitian ini dan tiap akuarium berisi 10 ekor ikan. Parameter yang dikur pada aktivitas protease adalah jumlah tirosin yang dihasilkan dari hidrolisis substrat yang berupa kasein. Pada ikan yang tidak dipuasakan dan yang berada pada fase pemberian pakan kembali, diberi pakan sebanyak 3 % dari berat biomasa ikan. Pakan yang diberikan berupa pelet berkadar protein 25,55 % dan diberikan sebanyak dua kali sehari.

Pada minggu pertama dan kedua dilakukan sampling untuk memperoleh organ digesti ikan dari semua perlakuan yang dicobakan. Untuk tiap akuarium dari tiap perlakuan diambil lima ekor ikan dan dilakukan *pool sample* untuk memperoleh jumlah sampel yang mencukupi.

Saluran digesti yang telah diisolasi dari tubuh ikan, selanjutnya dihancurkan dengan homogeniser listrik setelah sebelumnya sampel organ digesti dicampur dengan larutan buffer 50 mM Tris-HCl (pH 7-8)) dingin dengan rasio 1:6. Homogenat yang diperoleh lalu disentrifugasi menggunakan sentrifuse bersuhu 4 °C pada kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit, dan supernatan yang diperoleh disimpan dalam lemari pendingin bersuhu -20 °C untuk analisis aktivitas protease pada hari berikutnya. Kadar protein supernatan diukur dengan metode Lowry (Hidalgo *et al.*, 1999) dengan kasein sebagai substrat.

Pengukuran aktivitas protease dilakukan dengan metode hidrolisis kasein mengikuti metode Hidalgo *et al.* (1999). Campuran reaksi yang terdiri atas 0,5 mL kasein 1 % (w/v), 0,5 mL buffer 0,1 M Na₂HPO₄ (pH 8-9) dan 0,25 mL ekstrak enzim diinkubasikan selama 60 menit pada temperatur 37 °C. Setelah inkubasi pada campuran reaksi ditambahkan 0,75 mL TCA 8 % untuk menghentikan reaksi. Pada tabung kontrol juga diisi ekstrak enzim sebanyak 0,25 mL, buffer 0,1 M Na₂HPO₄ sebanyak 0,5 mL dan TCA sebanyak 0,75 mL, selanjutnya diinkubasikan pada suhu 37 °C selama

60 menit. Sedangkan pada tabung blanko diisi sebanyak 0,75 mL akuades, 0,5 mL buffer 0,1 M Na_2HPO_4 dan diinkubasi selama 60 menit pada suhu 37°C . Pada tabung standar diisi 0,5 mL tirosin dengan konsentrasi yang telah diketahui ($10\ \mu\text{g}$ - $250\ \mu\text{g/mL}$), akuades sebanyak 0,25 mL dan 0,5 mL buffer 0,1 M Na_2HPO_4 . Tabung standar lalu diinkubasi selama 60 menit pada temperatur 37°C , dan setelah inkubasi pada tabung standar ditambahkan sebanyak 0,75 mL TCA. Semua campuran reaksi selanjutnya disimpan dalam refrigerator selama minimal satu jam. Semua campuran reaksi baik, sampel, blanko, kontrol maupun standar selanjutnya disentrifugasi pada kecepatan 6000 rpm selama 10 menit. Campuran reaksi yang telah disentrifugasi selanjutnya diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 280 nm. Jumlah tirosin yang dihasilkan dari hidrolisis kasein oleh protease diperoleh dengan cara memplotkan kurva standar tirosin yang didapatnya. Satu unit aktivitas protease dinyatakan sebagai jumlah enzim yang diperlukan untuk mengkatalisa pembentukan $1\ \mu\text{g}$ tirosin permenit (Natalia *et al.*, 2004).

Kadar protein tubuh ikan lele dumbo diukur pada minggu pertama dan kedua pada Po, P1 dan P2. Untuk keperluan ini maka ikan sampel terlebih dahulu dikeringkan dalam oven (temperatur 60°C) selama satu minggu. Sampel ikan kering selanjutnya dihaluskan dengan blender. Tepung sampel lalu digunakan untuk analisis kadar protein proksimat. Pengukuran kadar protein dilakukan menggunakan metode mikro Kjeldahl (AOAC, 1990). Pengukuran kadar protein dilakukan di Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Makanan Ternak (INMT) Fakultas Peternakan Unsoed, Purwokerto.

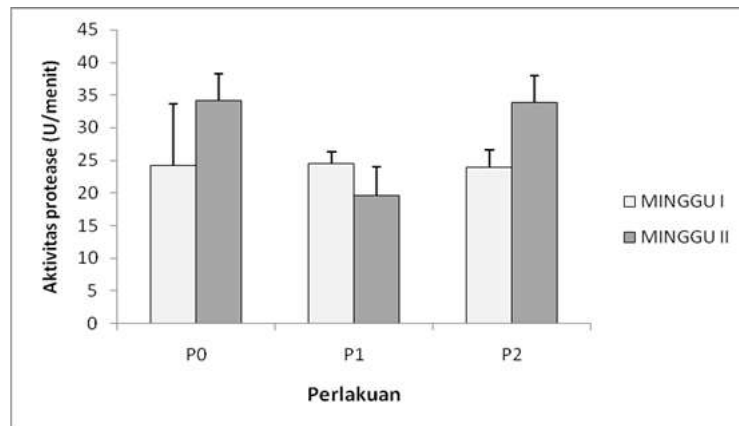
Hasil pengukuran aktivitas protease dan kadar protein tubuh yang diperoleh selama penelitian selanjutnya dilakukan analisis ragam (uji F).

Hasil dan Pembahasan

1. Aktivitas Protease

Pengamatan aktivitas protease dilakukan pada minggu pertama dan kedua untuk ikan yang tidak dipuasakan, ikan yang dipuasakan selama dua minggu dan ikan yang berada pada fase pemberian pakan kembali selama dua minggu. Rerata aktivitas protease pada ikan yang tidak dipuasakan (P0) sebesar 24,28 U/menit (minggu I) dan 34,19 U/menit (minggu II), aktivitas protease pada ikan yang dipuasakan (P1) adalah 24,55 U/menit (minggu I) dan 19,66 U/menit (minggu II), sedangkan aktivitas protease pada ikan yang berada pada fase pemberian pakan kembali (P2) adalah sebesar 23,96 U/menit (minggu I) dan 33,92 U/menit (minggu II) (Gambar 1). Hasil analisis ragam pada minggu pertama menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan diantara perbedaan strategi pemberian pakan ($P>.05$), namun demikian terdapat perbedaan yang signifikan diantara aktivitas protease ikan lele dumbo pada minggu kedua ($P<.05$). Jadi tampaknya pada minggu pertama perbedaan keberadaan pakan belum menghasilkan perbedaan aktivitas protease, dan hal ini berbeda dengan kondisi yang terjadi pada minggu kedua, perbedaan keberadaan pakan menyebabkan perbedaan yang signifikan aktivitas protease. Pada minggu pertama pemberian pakan kembali ternyata aktivitas protease ikan lele dumbo tidak mengalami peningkatan yang signifikan dibandingkan ketika berada pada fase ketiadaan pakan (Gambar 1). Fenomena berbeda dijumpai pada minggu kedua, ketiadaan pakan menyebabkan penurunan yang signifikan aktivitas protease dan aktivitas protease mengalami peningkatan yang signifikan ketika berada pada fase pemberian pakan kembali. Fenomena ini berbeda dengan yang ditemukan oleh Uys *et al.*, (1987) pada ikan yang sama, yaitu pemuasaan tidak menyebabkan penurunan yang signifikan aktivitas protease. Pada ikan patin (*Pangasius* sp.) yang dipuasakan untuk jangka waktu yang lebih pendek

juga tidak menghasilkan perubahan aktivitas protease (Susilo *et al.*, 2009).



Gambar 1. Aktivitas protease ikan lele dumbo pada perlakuan minggu I dan II
P0 : ikan tidak dipuasakan, P1: ikan dipuasakan dan P1: ikan diberi pakan kembali

Figure 1. Protease activity of catfish at first and second weeks after treatments
P0: control, P1. Starvation and P2 : refeeding

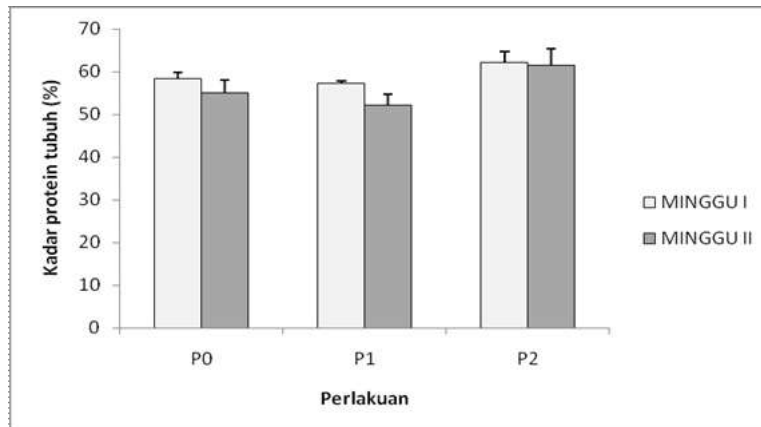
Perbedaan lama pemuasaan pada ikan diduga menjadi penyebab perbedaan hasil antara aktivitas protease minggu pertama dan kedua dan juga dengan hasil penelitian terdahulu. Penelitian pada ikan *sturgeon* (*Acipenser naccarii*) dan ikan *trout* (*Oncorhynchus mykiss*) yang dipuasakan 72 hari dan pemberian pakan kembali selama 60 hari menyebabkan perubahan yang signifikan aktivitas protease yaitu mengalami penurunan saat dipuasakan dan mengalami pemulihan ketika diberi pakan kembali (Furne *et al.*, 2008). Fenomena ini juga selaras dengan pendapat Peres *et al.* (2004) bahwa aktivitas enzim digesti dipengaruhi oleh jenis dan kuantitas pakan, pola pemberian pakan serta nilai nutrisi pakan.

Perbedaan ketersediaan pakan pada perbedaan perlakuan yang diterapkan memiliki efek pada respon fisiologi ikan yang dicerminkan oleh perubahan aktivitas protease. Umumnya enzim disekresi kaitannya dengan keberadaan pakan pada saluran digestinya, pada kondisi puasa atau tidak diberi pakan maka akan menjadikan ketiadaan senyawa penginduksi sekresi dan aktivitas enzim. Itulah mengapa pada ikan yang dipuasakan selama dua minggu

aktivitas protease mengalami penurunan yang signifikan. Pada kondisi pemberian pakan kembali, maka pakan yang berada pada saluran digesti akan bertindak sebagai penginduksi aktivitas enzim, sehingga aktivitas protease akan meningkat pada fase ini, terutama terlihat pada minggu kedua. Chong *et al.*, (2002) mengemukakan bahwa protease merupakan enzim yang akan meningkat aktivitasnya bila terdapat senyawa penginduksi, yaitu makanan dalam saluran digesti hewan.

2. Kadar Protein Tubuh

Kadar protein tubuh ikan lele diukur pada minggu pertama dan kedua pada ikan yang tidak dipuasakan, ikan yang dipuasakan selama dua minggu dan ikan yang berada pada fase pemberian pakan kemabali selama dua minggu. Kadar protein tubuh ikan yang tidak dipuasakan (P0) adalah 58,46 % (minggu I) dan 55,08 % (minggu II), kadar protein ikan yang dipuasakan (P1) adalah sebesar 57,23 % (minggu I) dan 52,17 % (minggu II), dan kadar protein tubuh ikan yang berada pada fase pemberian pakan kembali (P2) adalah sebesar 62,23 % (minggu I) dan 61,46 % (minggu II) (Gambar 2).



Gambar 2. Kadar protein tubuh lele dumbo pada minggu I dan II setelah perlakuan.
P0 : ikan tidak dipuasakan, P1: ikan dipuasakan dan P1: ikan diberi pakan kembali

Figure 2. Body protein content of catfish at first and second weeks after treatments
P0 : control, P1 : starvation and P2 : refeeding

Hasil analisis ragam kadar protein tubuh ikan lele dumbo pada minggu pertama dan kedua menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan diantara perlakuan ($P < .05$). Hal ini menunjukkan bahwa perbedaan keberadaan pakan dilingkungan hidupnya menyebabkan pula perubahan kadar protein tubuh. Ikan yang berada pada fase pemberian pakan kembali ternyata menghasilkan peningkatan kadar protein tubuh, namun demikian pemuasaan tidak menyebabkan penurunan dibandingkan dengan ikan yang tidak dipuasakan.

Fenomena berbeda dijumpai pada ikan lele kanal (*Ictalurus punctatus*) kadar protein tubuhnya mengalami penurunan pada ikan yang dipuasakan selama tiga hari (Gaylord, 2001), sedang pada penelitian ini kadar protein tubuh ikan yang dipuasakan tidak mengalami penurunan, namun mengalami peningkatan ketika ikan berada pada fase pemberian pakan kembali, baik pada minggu pertama maupun minggu kedua. Pada ikan Atlantic cod (*Godus morhua*) kadar protein yang tinggi juga dijumpai pada ikan yang berada pada fase pemberian pakan kembali setelah sebelumnya mengalami periode pemuasaan (Gildberg, 2004). Fenomena peningkatan kadar protein tubuh pada

ikan yang berada pada fase pemberian pakan kembali diduga berkaitan dengan pertumbuhan kompensasi yang terjadi pada ikan yang diberi pakan kembali setelah periode pemuasaan.

Adanya pertumbuhan kompensatori pada ikan yang memperoleh pakan kembali setelah periode pemuasaan telah banyak diteliti. Ikan nila hasil persilangan *Oreochromis mossambicus* x *O. niloticus* yang dipuasakan dalam sekali fase pemuasaan yaitu selama 1 minggu, kemudian diberi makan secara normal menunjukkan pertumbuhan kompensatori (Wang *et al.*, 2000). Fenomena yang serupa juga telah dibuktikan pada ikan karper gibel *Carassius auratus gibelio* (Xie *et al.*, 2001) dan ikan barramundi *Lates calcarifer* (Tian & Qin, 2003, 2004).

Kemampuan ikan untuk mendapatkan kembali pertumbuhannya pada fase pemberian pakan kembali setelah mengalami periode pemuasaan merupakan fenomena alami yang banyak terjadi pada ikan yang dibudidayakan. Ikan yang berada pada fase pemberian pakan kembali mempunyai kemampuan menyerap nutrien lebih tinggi dari pada ikan yang tidak dipuasakan (Yuwono *et al.*, 2001). Perlu diketahui bahwa pada saat ikan dipuasakan, protein yang terdapat

dalam otot digunakan sebagai prekursor dalam jalur glukoneogenesis, sehingga ketika ikan berada pada fase pemberian pakan kembali ikan berusaha untuk mengganti protein yang telah digunakan dan dampaknya adalah berupa peningkatan kadar protein tubuh, seperti yang terjadi pada penelitian ini.

Simpulan

Aktivitas protease ikan lele dumbo tidak mengalami perubahan pada minggu pertama, namun mengalami peningkatan aktivitas ketika ikan berada pada fase pemberian pakan kembali pada minggu kedua. Kadar protein tubuh ikan lele dumbo mengalami peningkatan ketika berada pada fase pemberian pakan kembali baik pada minggu pertama maupun minggu kedua.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terimakasih disampaikan kepada direktur I-MHERE Unsoed yang membantu pendanaan penelitian ini melalui proyek kompetitif Student Grant I-MHERE Unsoed tahun 2011.

Daftar Pustaka

- Afiyah, H.N., U. Susilo dan F. N. Rachmawati, 2012. Aktivitas Enzim Digesti dan Efisiensi Pakan pada Ikan Lele (*Clarias gariepinus*) yang Diinduksi dengan Daur Pemuaan dan Pemberian Pakan Kembali. *Makalah Seminar Nasional Taksonomi Fauna IV dan Kongres MZI I di Fakultas Biologi Unsoed Purwokerto, tgl 7-8 November 2012*.
- Cho, S. H., S. M. Lee; B. H. Park, S. C. Ji, J. Lee; J. Bae, and S. Y. Oh, 2006. Compensatory growth of Juvenile Olive Flounder, *Paralichthys olivaceus*, L., and Changes in Proximate Composition and Body Condition Indices during Fasting and after Refeeding in Summer Season. *Journal of the World Aquaculture Society*. 37, 2:168-174.
- Chong, A.S.C., R. Hashim, L. Cho-Yang and A.B. Ali, 2002. Partial Characterization and Activities of Proteases from the Digestive Tract of Discus Fish (*Symphysodon aequifasciata*). *Aquaculture*, 203 : 321-333.
- Eroldoğan, O.T., C. Suzer, O. Taşbozan, and S. Tabakoğlu, 2008. The Effects of Rate-restricted Feeding Regimes in Cycles on Digestive Enzymes of Gilthead Sea-bream, *Sparus aurata*. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 8 : 49 – 54.
- Furné, M., G.M. Gallego, M.C. Hidalgo, A.E. Morales, A. Domezain, J. Domezaine, and A. Sanz. 2008. Effect of Starvation and Refeeding on Digestive Enzyme Activities in Sturgeon (*Acipenser naccarii*) and Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*. 149(4); 420 – 425.
- Gaylord, T.G., D.S. MacKenzie, and D.M. Gatlin III, 2001, Growth performance, body composition and plasma thyroid hormone status of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) in response to short-term feed deprivation and refeeding, *Fish Physiology and Biochemistry*. 24 (1): 73-79.
- Gildberg, A. 2004. Digestive Enzyme Activities in Starved Pre-slaughter Farmed and Wild-captured, Atlantic Cod (*Gadus morhua*). *Aquaculture*. 238 : 343 – 353.
- Hidalgo, M.C., E. Urea, and A. Sanz, 1999. Comparative Study of Digestive Enzymes in Fish with Different Nutritional Habits. Proteolytic and Amylase Activities. *Aquaculture*. 170 : 267 – 283.

- Natalia, Y., R. Hashim, A. Ali, dan A. Chong, 2004. Characterization of Digestive Enzymes in a Carnivorous Ornamental Fish, the Asia Bony Tongue, *Scleropages formosus* (Osteoglossidae). *Aquaculture*. 233 : 305 – 320.
- Peres, H., C. Lim and P.H. Klesius, 2004. Growth, Chemical Composition and Resistance to *Streptococcus iniae* Challenge of Juvenile Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Fed Grade Levels of Dietary Inositol. *Aquaculture*. 235 : 423-43.
- Simanjuntak, S.B.I. & Yuwono, E., 2006, Pengaruh restriksi pakan terhadap hematologi dan histologi hati ikan kerapu bebek, *Cromileptes altivelis*. *Ichtyos, Jurnal Penelitian Ilmu-ilmu Perikanan dan Kelautan*, 5, 1: 33-36.
- Susilo, U., Yuwono, E. Dan F.N. Rachmawati, 2009. Status Fisiologi Pada Pertumbuhan Kompensatori yang Diinduksi dengan Pemuasaan Secara Periodik Untuk Optimasi Produksi Ikan Patin (*Pangasius* sp). Laporan Penelitian. Fakultas Biologi Unsoed, Purwokerto.
- Tian X. and Qin, J.G., 2003. A single phase of food deprivation provoked compensatory growth in barramundi *Lates calcarifer*, *Aquaculture*. 224: 169-179.
- Tian X. and J. G. Qin, 2004. Effects of previous ration restriction on compensatory growth in barramundi *Lates calcarifer*. *Aquaculture*. 235:273-283.
- Uys, W., T. Hecht, and M. Walters, 1987. Changes in Digestive Enzyme Activities of *Clarias gariepinus* (Pisces : Clariidae) after Feeding. *Aquaculture*. 63(1-4) : 243 -250.
- Wang, Y., Y. Cui, Y. Yang, & F. Cai, 2000. Compensatory growth in *Oreochromis mossambicus* x *O. niloticus*, reared in seawater. *Aquaculture*. 189:101-108.
- Xie, S., X. Zhu, Y. Cui, R. J. Wootton, W. Lei, & Y. Yang, 2001. Compensatory growth in the gibel carp following feed deprivation: temporal patterns in growth, nutrient deposition, feed intake and body composition. *Journal of Fish Biology*, 58: 999– 1009.
- Yuwono, E., Sukardi, P & Sulisty, I., 2005, Konsumsi dan Efisiensi Pakan pada Ikan Kerapu Bebek (*Cromileptes altivelis*) yang Dipuaskan Secara Periodik. *Berkala Penelitian Hayati*, 10 (2): 129-132.
- Yuwono, E., Sukardi, P & Sulisty, I., 2006, Efek Daur Deprivasi Pakan Terhadap Konsumsi Oksigen dan Hematologi Ikan Bandeng (*Chanos chanos*), *Aquacultura Indonesiana*, 7 (2): 101-105.
- Yuwono, E. Dan P. Sukardi. 2001. Fisiologi Hewan Air. CV Sagang Sero. Jakarta.