

Tersedia online di: <http://ejournal-balitbang.kkp.go.id/index.php/jra>

PENGARUH FREKUENSI PEMBERIAN *Moina* sp. SEBAGAI PAKAN AWAL PADA PEMELIHARAAN LARVA IKAN GABUS *Channa striata* DENGAN SISTEM AIR HIJAU

Adang Saputra^{*)}, Dedi Jusadi^{*)#}, Muhammad Agus Suprayudi^{*)}, Eddy Supriyono^{*)}, dan Mas Tri Djoko Sunarno^{*)}

^{*)} Departemen Budidaya, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor
Jl. Rasamala, Kampus IPB, Darmaga, Bogor 16680

^{*)} Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar dan Penyuluhan Perikanan
Jl. Sempur No. 1, Bogor 16445

(Naskah diterima: 11 April 2018; Revisi final: 8 Oktober 2018; Disetujui publikasi: 8 Oktober 2018)

ABSTRAK

Ikan gabus *Channa striata* merupakan salah satu komoditas ikan air tawar yang memiliki nilai ekonomis tinggi. Kendala dalam pengembangan budidaya ikan gabus adalah tingginya tingkat kematian pada stadia pemeliharaan larva. Tingginya kematian pada stadia larva karena kecukupan jumlah pakan dan nutrisi pakan awal yang tidak optimum. Tujuan percobaan adalah menentukan frekuensi pemberian *Moina* sp. yang tepat sebagai pakan awal pada pemeliharaan larva ikan gabus pada sistem air hijau (dengan menambahkan *Chlorella* sp.). Penelitian dirancang dengan rancangan acak lengkap. Perlakuan yang diberikan adalah frekuensi pemberian *Moina* sp. per hari sebagai pakan awal: A. enam kali tanpa pemberian *Chlorella* sp. (kontrol), B. enam kali + *Chlorella* sp., C. empat kali + *Chlorella* sp., dan D. dua kali + *Chlorella* sp. Hasil penelitian menunjukkan pemberian pakan awal dari jenis *Moina* sp. pada pemeliharaan larva ikan gabus pada sistem air hijau dengan frekuensi pemberian dua, empat, dan enam kali dalam sehari memberikan performa sintasan (93,42%-94,29%) dan pertumbuhan tidak berbeda secara nyata ($P > 0,05$). Frekuensi pemberian *Moina* sp. sebanyak dua kali sehari merupakan perlakuan yang efektif untuk sintasan dan pertumbuhan larva ikan gabus pada pemeliharaan dengan sistem air hijau.

KATA KUNCI: larva ikan gabus; frekuensi pemberian pakan; *Moina* sp.; sintasan; pertumbuhan; air hijau

ABSTRACT: *Effects of different feeding frequencies using Moina sp. as an initial food on growth and survival of snakehead Channa striata larvae reared in green water system. By: Adang Saputra, Dedi Jusadi, Muhammad Agus Suprayudi, Eddy Supriyono, and Mas Tri Djoko Sunarno*

Snakehead fish *Channa striata* is one of the highly-valued freshwater fish commodity. However, its aquaculture development is hampered by a high mortality during larval stage rearing. This high mortality is suspected to be caused by insufficient quantity and quality of food. The purpose of this study was to determine the appropriate feeding frequency using *Moina* sp. as an initial food for snakehead fish larvae reared in a green water system (*Chlorella* sp.). A completely randomized design was arranged for this experiment where the treatments consisted of different feeding frequencies of *Moina* sp. given to the larvae as follows: A) six times a day without the addition of *Chlorella* sp. (control); B) six times a day with the addition of *Chlorella* sp.; C) four times a day with the addition of *Chlorella* sp.; and D) two times a day with the addition of *Chlorella* sp. The results of the experiment showed that the survival rate (93.42%-94.29%) and growth of the larvae reared in the green water system with were not significantly different ($P > 0.05$). However, this study suggested that feeding frequency of two times per day was sufficient to support an optimum growth and survival of snakehead larvae reared in a green water system.

KEYWORDS: larvae snakehead fish; feeding frequency; *Moina* sp.; survival; growth; green water

Korespondensi: Departemen Budidaya, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor. Jl. Rasamala, Kampus IPB, Darmaga, Bogor 16680, Indonesia.
Tel. + 62 251 8622909; 8622911
E-mail: siflounder@gmail.com; dedidj@apps.ipb.ac.id

PENDAHULUAN

Ikan gabus *Channa striata* termasuk ikan air tawar yang mempunyai nilai ekonomis tinggi sebagai ikan konsumsi dalam bentuk segar maupun olahan (Kusmini *et al.*, 2016), serta kandungan albuminnya yang mampu mempercepat proses penyembuhan luka setelah proses operasi (Wahab *et al.*, 2015). Tingginya tingkat kematian selama stadia larva menjadi kendala dalam pengembangan budidaya ikan gabus (Amornsakun *et al.*, 2011). Keberhasilan pemeliharaan larva ikan akan menentukan keberhasilan kegiatan pendederan dan pembesaran ikan gabus. Salah satu faktor yang diduga penyebab tingginya kematian larva ikan gabus adalah akibat penyediaan dan nutrisi pakan awal yang tidak mencukupi. Hasil penelitian Amornsakun *et al.* (2011) menunjukkan bahwa pakan awal terbaik untuk larva ikan gabus adalah *Moina* sp.

Penyediaan pakan awal yang tidak sesuai menyebabkan kematian pada larva ikan baik pada lingkungan alami maupun pada wadah budidaya (Yúfera & Darias, 2007). Kondisi ini menghambat perkembangan ontogenik, sehingga menurunkan aktivitas berenang dan nafsu makan larva ikan (Kestemont *et al.*, 2007). Kekurangan nutrisi pakan dapat menyebabkan kelainan morfologi dan perlambatan pertumbuhan (Nhu *et al.*, 2010; Bonaldo *et al.*, 2011), serta memengaruhi proses perkembangan larva ikan white sturgeon *Acipenser transmontanus* (Lee *et al.*, 2014).

Strategi pemberian pakan awal yang tepat merupakan kunci keberhasilan dalam pemeliharaan larva ikan. Menurut Blaxter & Ehrlich (1974), begitu cadangan pakan endogen habis maka larva melakukan transisi ke pakan eksogen untuk menjamin sintasan dan pertumbuhannya. Pakan eksogen yang diberikan pada umumnya pakan alami misalnya naupli *Artemia* sp. pada larva *Octopus vulgaris* (Iglesias *et al.*, 2006), naupli kopepoda (Lindley *et al.*, 2011), dan alga hijau (Lazo *et al.*, 2000). Pada larva ikan gabus pakan awal yang diberikan adalah *Moina* sp. (Amornsakun *et al.*, 2011). Permasalahan yang dihadapi dalam pemanfaatan *Moina* sp. adalah cepatnya degradasi nutrisi pada tubuh *Moina* sp. jika pada wadah pemeliharaan ketersediaan makanan tidak mencukupi (Das *et al.*, 2007). Degradasi nutrisi pada *Moina* sp. berdampak terhadap rendahnya nutrisi yang diterima larva ikan (Adeyemo *et al.*, 1994).

Salah satu alternatif untuk menyediakan *Moina* sp. berkualitas baik bagi larva ikan gabus adalah melalui aplikasi "sistem air hijau" (*green water system*) yaitu dengan penambahan mikroalga pada media pemeliharaan larva ikan. Alternatif lainnya adalah melalui pemberian *Moina* sp. dengan frekuensi yang

tepat pada pemeliharaan larva ikan gabus. Menurut Neori (2011), mikroalga hijau seperti *Chlorella* sp. memiliki peran penting dalam menyediakan nutrisi bagi zooplankton dalam sistem budidaya. Penggunaan mikroalga hijau sebagai sistem air hijau mampu menyediakan protein dan lemak yang cukup tinggi sebagai sumber nutrisi untuk pakan alami (Islam *et al.*, 2017). Hasil penelitian Bouchnak *et al.* (2014) menunjukkan *Moina macrocopa* dan *Moina micrura* mampu memanfaatkan *Chlorella* sp. sebagai sumber nutrisi dan mampu meningkatkan kandungan nutrisi dari kedua jenis *Moina* tersebut. Penelitian terkait frekuensi pemberian pakan awal sudah dilakukan, antara lain pada larva ikan spotted seatrout *Cynoscion nebulosus* (Manley *et al.*, 2015), larva ikan black sea bass *Centropristis striata* (Russo *et al.*, 2017), dan larva amazonian fish *Pyrrhulina brevis* Steindachner, 1876 (Veras *et al.*, 2014). Frekuensi pemberian naupli *Artemia* enam kali dalam satu hari mampu meningkatkan pertumbuhan yang lebih cepat pada larva uropean mudminnow *Umbra krameri* (Demény *et al.*, 2014). Frekuensi pemberian pakan empat kali sehari memberikan pengaruh terbaik untuk mendukung pertumbuhan dan sintasan larva ikan black sea bass *Centropristis striata* (Russo *et al.*, 2017), enam kali sehari mampu meningkatkan pertumbuhan larva ikan spotted seatrout *Cynoscion nebulosus* (Manley *et al.*, 2015). Namun frekuensi pemberian pakan awal yang tepat untuk pemeliharaan larva ikan gabus belum tersedia informasinya.

Indikator pertumbuhan larva ikan dalam keadaan optimum di antaranya pH dan konsentrasi Ca^{2+} cairan tubuh. Nilai pH dan konsentrasi Ca^{2+} cairan tubuh merefleksikan proses metabolisme dan proses fisiologis (Kwong *et al.*, 2014), serta pertumbuhan pada stadia larva (Tataje *et al.*, 2015). Perubahan gradien pH cairan tubuh memengaruhi perubahan sistem hormonal (Furukawa *et al.*, 2011), stres (Mai *et al.*, 2010), dan transpor aktif ion Na^+ , H^+ , dan Cl^- (Evans *et al.*, 2005). Apabila pH dan Ca^{2+} cairan tubuh dalam keadaan tidak optimum memberikan pengaruh terhadap aktivitas enzim (Mai *et al.*, 2010), pertumbuhan (Kakizawa *et al.*, 1996) dan sintasan (Wilson *et al.*, 1999).

Perkembangan aktivitas enzim pencernaan dapat merefleksikan efektivitas saluran pencernaan dalam memanfaatkan pakan, sehingga dapat digunakan sebagai indikator status nutrisi pada perkembangan larva (Chen *et al.*, 2007). Menurut Wang *et al.* (2006), jenis enzim utama untuk mencerna makanan adalah protease, amilase, dan lipase. Menurut Micale *et al.* (2006), pada kondisi saluran pencernaan larva belum berkembang, sumber makanan larva bertumpu pada pakan alami seperti pada larva ikan chinese longsnout

catfish *Leiocassis longirostris* (Günther) selama sepuluh hari (Liu *et al.*, 2012), larva ikan butter catfish *Ompok bimaculatus* (Bloch) selama 7-17 hari (Pradhan *et al.*, 2014), larva ikan white sea bream *Diplodus sargus* selama 2-13 hari (Guerreiro *et al.*, 2010), dan larva ikan southern flounder (*Paralichthys lethostigma*) selama 11-23 hari (Cynthia *et al.*, 2009).

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan frekuensi pemberian *Moina* sp. sebagai pakan awal yang tepat pada pemeliharaan larva ikan gabus dengan sistem air hijau. Evaluasi dilakukan pada pertumbuhan dan sintasan larva ikan gabus yang dipelihara selama 15 hari.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat

Percobaan dilaksanakan di Laboratorium Basah Nutrisi dan Teknologi Pakan, Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar dan Penyuluhan Perikanan, Bogor. Percobaan dilaksanakan pada tahun 2007, selama 15 hari masa pemeliharaan.

Wadah Pemeliharaan

Sebanyak 12 buah akuarium kaca ukuran 40 cm x 40 cm x 40 cm, dengan ketinggian air 10 cm (volume air 16 L) digunakan sebagai wadah percobaan. Air yang digunakan berasal dari sumur yang telah diendapkan selama dua hari. Setiap akuarium dilengkapi pemanas elektrik kapasitas 100 watt dan di-*setting* pada suhu 30°C untuk mendapatkan suhu air sekitar 29°C. Masing-masing wadah dilengkapi aerasi yang bersumber dari aerator. Sisa pakan dan feses dibersihkan menggunakan teknik sifon. Selama percobaan tidak dilakukan pergantian air hanya menambah sesuai jumlah air yang berkurang karena penyifonan.

Ikan Uji

Larva ikan gabus yang digunakan berasal dari penijahan satu populasi induk generasi ke-2 (G-2) sebanyak tiga pasang (tiga jantan dan tiga betina) dengan ukuran rata-rata 300 g/induk. Setelah larva ikan gabus berumur dua hari dari menetas dengan bobot $0,42 \pm 0,08$ g dan panjang $5,42 \pm 0,24$ mm diambil secara acak, selanjutnya dimasukkan ke dalam wadah percobaan. Padat tebar dalam wadah percobaan adalah 50 ekor/L (800 ekor/wadah) (Amornsakun *et al.*, 2011).

Rancangan Percobaan

Percobaan dirancang menggunakan rancangan acak lengkap dengan empat perlakuan dan tiga kali ulangan. Perlakuan yang diberikan adalah frekuensi pemberian *Moina* sp. sebagai pakan awal, yaitu: A. enam kali dalam

sehari tanpa penambahan *Chlorella* sp. (kontrol); B. enam kali dalam sehari + *Chlorella* sp.; C. empat kali dalam sehari + *Chlorella* sp.; dan D. dua kali dalam sehari + *Chlorella* sp.

Pemberian *Moina* sp. dan *Chlorella* sp.

Moina sp. yang digunakan berasal dari kolam budidaya ikan lele milik masyarakat di Parung, Kabupaten Bogor. Sebelum digunakan sebagai pakan awal, *Moina* sp. dipelihara selama dua hari pada wadah berukuran 4.000 L yang sudah diberi *Chlorella* sp. Jumlah dan waktu pemberian *Moina* sp. disajikan pada Tabel 1. *Chlorella* sp. yang digunakan merupakan hasil kultur massal secara terkontrol dengan kepadatan $4,3 \times 10^9$ sel/mL sebagai media sistem air hijau. Pemberian *Chlorella* sp. dilakukan dua kali dalam sehari yaitu pukul 07.00 WIB dan pukul 13.00 WIB sebanyak 250 mL setiap pemberian/wadah.

Parameter Uji

Data kematian larva ikan gabus dicatat setiap hari untuk menghitung sintasan pada akhir pemeliharaan (Huisman, 1987). Pengukuran bobot individu dan panjang total pada akhir percobaan dilakukan terhadap 30 ekor benih ikan gabus dari masing-masing wadah percobaan. Bobot individu diukur menggunakan timbangan digital dengan ketelitian dua desimal, sedangkan panjang total diukur menggunakan *millimeter block*. Sebanyak 10 ekor larva ikan gabus dari masing-masing perlakuan dikumpulkan menjadi satu (komposit/pool) kemudian digerus menggunakan mortar dan diambil cairan tubuhnya melalui proses sentrifugasi 7.000 rpm selama 10 menit. Selanjutnya cairan tubuh tersebut digunakan untuk pengukuran pH dan kalsium cairan tubuh dan diukur menggunakan pH-meter (*Thermo Scientific pH bench*) dan Ca-meter dengan ketelitian dua desimal.

Proses pengukuran aktivitas enzim dilakukan dengan mengambil larva ikan gabus secara acak sebanyak tiga ekor (bobot larva sekitar 2 g/ekor) dari masing-masing wadah percobaan pada akhir pemeliharaan. Selanjutnya larva ikan gabus ditimbang dan dihomogenisasi (1 g/10 mL) dalam *buffer* dingin yang mengandung Tris-HCl 41-50 mM; CaCl₂ 20 mM dengan pH 7,5; dan disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C. Supernatan diambil kemudian disimpan pada *freezer* -80°C untuk dianalisis total protein dan aktivitas enzimnya. Konsentrasi protein terlarut dalam sampel ditentukan dengan menggunakan albumin bovine serum sebagai standar (Bradford, 1976).

Aktivitas amilase dihitung berdasarkan Worthington (1991) menggunakan pati sebagai substrat. Larutan pati 1% dalam 0,02 M Na₂HPO₄ dan

Tabel 1. Waktu dan jumlah pemberian *Moina* sp. pada pemeliharaan larva ikan gabus selama penelitian
 Table 1. Feeding time and amount of *Moina* sp. fed to snakehead larvae rearing during the experiment

| Perlakuan Treatments | Waktu (jam) Time (hours) | Jumlah pemberian <i>Moina</i> sp. (Ind./akuarium/hari)/Number of amount <i>Moina</i> sp. (Ind./aquarium/days) | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------|-----------------------------|---|---------|---------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 |
| A | 06.00 | 667 | 933 | 1,200 | 3,467 | 5,333 | 5,200 | 7,467 | 7,333 | 8,533 | 8,667 | 9,333 | 10,000 | 10,667 | 11,333 | 12,000 |
| | 09.00 | 667 | 933 | 1,200 | 3,467 | 5,333 | 5,200 | 7,467 | 7,333 | 8,533 | 8,667 | 9,333 | 10,000 | 10,667 | 11,333 | 12,000 |
| | 12.00 | 667 | 933 | 1,200 | 3,467 | 5,333 | 5,200 | 7,467 | 7,333 | 8,533 | 8,667 | 9,333 | 10,000 | 10,667 | 11,333 | 12,000 |
| | 13.00 | 667 | 933 | 1,200 | 3,467 | 5,333 | 5,200 | 7,467 | 7,333 | 8,533 | 8,667 | 9,333 | 10,000 | 10,667 | 11,333 | 12,000 |
| | 18.00 | 667 | 933 | 1,200 | 3,467 | 5,333 | 5,200 | 7,467 | 7,333 | 8,533 | 8,667 | 9,333 | 10,000 | 10,667 | 11,333 | 12,000 |
| B | 06.00 | 667 | 933 | 1,200 | 3,467 | 5,333 | 5,200 | 7,467 | 7,333 | 8,533 | 8,667 | 9,333 | 10,000 | 10,667 | 11,333 | 12,000 |
| | 09.00 | 667 | 933 | 1,200 | 3,467 | 5,333 | 5,200 | 7,467 | 7,333 | 8,533 | 8,667 | 9,333 | 10,000 | 10,667 | 11,333 | 12,000 |
| | 12.00 | 667 | 933 | 1,200 | 3,467 | 5,333 | 5,200 | 7,467 | 7,333 | 8,533 | 8,667 | 9,333 | 10,000 | 10,667 | 11,333 | 12,000 |
| | 13.00 | 667 | 933 | 1,200 | 3,467 | 5,333 | 5,200 | 7,467 | 7,333 | 8,533 | 8,667 | 9,333 | 10,000 | 10,667 | 11,333 | 12,000 |
| | 18.00 | 667 | 933 | 1,200 | 3,467 | 5,333 | 5,200 | 7,467 | 7,333 | 8,533 | 8,667 | 9,333 | 10,000 | 10,667 | 11,333 | 12,000 |
| C | 06.00 | 133,333 | 186,667 | 240,000 | 693,333 | 1,066,667 | 1,040,000 | 1,493,333 | 1,466,667 | 1,706,667 | 1,733,333 | 1,866,667 | 2,000,000 | 2,133,333 | 2,266,667 | 2,400,000 |
| | 11.00 | 133,333 | 186,667 | 240,000 | 693,333 | 1,066,667 | 1,040,000 | 1,493,333 | 1,466,667 | 1,706,667 | 1,733,333 | 1,866,667 | 2,000,000 | 2,133,333 | 2,266,667 | 2,400,000 |
| | 16.00 | 133,333 | 186,667 | 240,000 | 693,333 | 1,066,667 | 1,040,000 | 1,493,333 | 1,466,667 | 1,706,667 | 1,733,333 | 1,866,667 | 2,000,000 | 2,133,333 | 2,266,667 | 2,400,000 |
| | 21.00 | 133,333 | 186,667 | 240,000 | 693,333 | 1,066,667 | 1,040,000 | 1,493,333 | 1,466,667 | 1,706,667 | 1,733,333 | 1,866,667 | 2,000,000 | 2,133,333 | 2,266,667 | 2,400,000 |
| D | 06.00 | 266,667 | 373,333 | 480,000 | 1,386,667 | 2,133,333 | 2,080,000 | 2,986,667 | 2,933,333 | 3,413,333 | 3,466,667 | 3,733,333 | 4,000,000 | 4,266,667 | 4,533,333 | 4,800,000 |
| | 21.00 | 266,667 | 373,333 | 480,000 | 1,386,667 | 2,133,333 | 2,080,000 | 2,986,667 | 2,933,333 | 3,413,333 | 3,466,667 | 3,733,333 | 4,000,000 | 4,266,667 | 4,533,333 | 4,800,000 |

Keterangan: Frekuensi pemberian *Moina* sp. dalam sehari: A. enam kali tanpa penambahan *Chlorella* sp. (kontrol); B. enam kali + *Chlorella* sp.; C. empat kali + *Chlorella* sp.; dan D. dua kali + *Chlorella* sp.

Remarks: Feeding frequency of *Moina* sp. per day: A) six times a day without *Chlorella* sp. (control); B) six times a day with *Chlorella* sp.; C) four times a day with *Chlorella* sp.; and D) two times a day with *Chlorella* sp.

0,006 M *buffer* NaCl (pH 6,9) diinkubasi menggunakan ekstrak enzim selama empat menit pada suhu 95°C. Sebanyak 0,5 mL larutan asam dinitrosalisilat (DNS) 1% ditambahkan dan dipanaskan selama lima menit. Setelah larutan asam dinitrosalisilat mendidih, sebanyak 5 mL akuades ditambahkan pada campuran dan absorban kemudian diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm. Blanko disiapkan sama seperti untuk contoh, namun tanpa penambahan ekstrak enzim. Maltose sebanyak 0,3-5 µmol/mL digunakan sebagai pembentuk kurva standar. Aktivitas spesifik α-amilase didefinisikan sebagai 1 µg maltose yang diproduksi per menit.

Aktivitas lipase dihitung menggunakan emulsi minyak zaitun sebagai substrat dan Tris-HCl sebagai *buffer* sesuai dengan metode Borlongan (1990). Uji aktivitas enzim dilakukan dengan menambahkan 1 mL ekstrak enzim kasar ke dalam 1 mL substrat dalam 1,5 mL *buffer* yang mengandung Tris-HCl 0,1 M pada pH 8,0. Campuran tersebut diinkubasi selama enam jam pada suhu 37°C. Selanjutnya reaksi enzim dihentikan dengan penambahan 3 mL etilalkohol 95%. Proses selanjutnya adalah dititrasi dengan 0,01 N NaOH. Thymolphthalein 0,9% (w/v) dalam etanol digunakan sebagai indikator. Pembuatan blanko dilakukan dengan cara yang sama kecuali sampel ekstrak enzim kasar. Satu unit aktivitas enzim lipase (U) didefinisikan sebagai volume (mL) 0,01 N NaOH yang diperlukan untuk menetralkan asam lemak yang dilepas dari substrat selama enam jam inkubasi. Aktivitas protease dikuantifikasi dengan menggunakan kasein sebagai substrat (Asgari *et al.*, 2013). Lebih lanjut, 200 µL ekstrak enzim kasar dicampur dengan 200 µL substrat (1% larutan kasein dalam 60 mM HCl) dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C. Reaksi dihentikan dengan menggunakan 1 mL larutan 5% asam trikloroasetat, diamkan selama 30 menit, selanjutnya tabung disentrifuse pada kecepatan 5.000 rpm selama 20 menit pada suhu 4°C. Sebanyak 0,5 µL supernatan diinkubasi menggunakan 0,5 M NaOH (1 mL) dan reagen Folin-Ciocalteu (0,3 mL) selama 10 menit pada suhu 25°C, selanjutnya absorban dari supernatan diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 720 nm. Kurva standar yang digunakan adalah kurva standar tirosin 0-50 µg/mL. Satu unit protease didefinisikan sebagai sejumlah µg Tirosin yang dirilis per menit per mL pada suhu 37°C.

Analisis Data

Data hasil perhitungan dianalisis menggunakan analisis variansi (ANAVA) dengan aplikasi program MINITAB 16 dan software Microsoft Excel 2013 untuk menampilkan grafik. Apabila hasilnya berbeda nyata, maka dilanjutkan dengan uji Duncan. Data yang dianalisis secara statistik kuantitatif meliputi:

sintasan, bobot akhir, panjang total, pH cairan tubuh, kalsium cairan tubuh, dan aktivitas enzim.

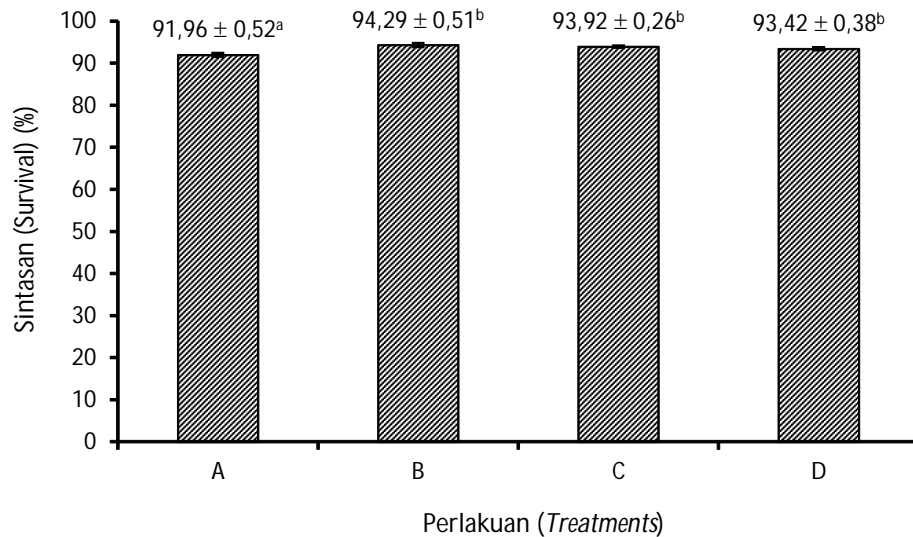
HASIL DAN BAHASAN

Hasil perhitungan terhadap sintasan larva ikan gabus yang dipelihara pada sistem air hijau menunjukkan frekuensi pemberian pakan tidak memberikan pengaruh secara nyata ($P > 0,05$). Perhitungan sintasan dilakukan secara visual melalui penghitungan larva ikan gabus yang hidup pada akhir pemeliharaan. Sintasan larva ikan gabus sesuai perlakuan adalah: A. $91,96 \pm 0,52\%$; B. $94,29 \pm 0,51\%$; C. $93,92 \pm 0,26\%$; dan D. $93,42 \pm 0,38\%$ (Gambar 1).

Manajemen pemberian pakan termasuk didalamnya aplikasi frekuensi pemberian pakan memiliki peranan penting dalam menentukan keberhasilan pemeliharaan larva ikan (Villarroel *et al.*, 2011). Hasil penelitian menunjukkan frekuensi pemberian pakan berbeda tidak memberikan pengaruh nyata terhadap sintasan larva ikan gabus yang dipelihara pada sistem air hijau ($P > 0,05$); namun berbeda sangat nyata dengan kontrol ($P < 0,05$). Kondisi ini menunjukkan pemeliharaan larva ikan gabus yang diberi air hijau cukup diberi pakan awal sebanyak dua kali dalam sehari. Hasil ini sesuai dengan hasil penelitian Nhu *et al.* (2010) dan Goddard (1996) yang menyatakan bahwa kecukupan nutrisi dalam pakan awal menjadi penentu terhadap peningkatan sintasan dan pertumbuhan larva ikan yang dipelihara.

Penambahan *Chlorella* sp. dalam wadah pemeliharaan larva ikan gabus sebagai asupan nutrisi bagi *Moina* sp. berdampak terhadap peningkatan kualitas *Moina* sp. Peningkatan kualitas nutrisi *Moina* sp. melalui penambahan *Chlorella* sp. mampu mempertahankan performa *Moina* sp. dalam kondisi prima. Kondisi ini akan meningkatkan performa sintasan dan pertumbuhan larva ikan gabus. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Kibria *et al.* (2001) di mana peningkatan kualitas *Moina australiensis* mampu meningkatkan sintasan larva ikan silver perch *Bidyanus bidyanus*. Lebih lanjut Martin *et al.* (2006) menyatakan bahwa pemberian *Moina micrura* dengan penambahan alga mampu meningkatkan sintasan postlarva udang putih *Litopenaeus schmitti*.

Pola pertambahan bobot individu larva ikan gabus yang dipelihara pada sistem air hijau terus meningkat dari awal sampai hari ke-15 (Gambar 2A). Bobot individu larva ikan gabus yang dipelihara pada sistem air hijau dengan frekuensi pemberian pakan dua kali dalam sehari relatif lebih tinggi dibandingkan perlakuan lainnya. Bobot akhir larva ikan gabus paling rendah diperoleh pada pemeliharaan tanpa pemberian air hijau (kontrol).



Keterangan: Frekuensi pemberian *Moina* sp. dalam sehari selama penelitian: A. enam kali tanpa penambahan *Chlorella* sp. (kontrol); B. enam kali + *Chlorella* sp.; C. empat kali + *Chlorella* sp. dan D. dua kali + *Chlorella* sp. Angka yang diikuti huruf superskrip yang sama menunjukkan tidak adanya perbedaan yang nyata ($P > 0,05$)

Remarks: Daily feeding frequency of *Moina* sp. to snakehead fish larvae during the experiment A) six times a day without *Chlorella* sp. (control); B) six times a day with *Chlorella* sp.; C) four times a day with *Chlorella* sp.; and D) two times a day with *Chlorella* sp. Numbers followed by the same superscript letter indicates no significant difference ($P > 0.05$)

Gambar 1. Sintasan larva ikan gabus *C. striata* yang dipelihara selama 15 hari.
Figure 1. Survival of snakehead fish *C. striata* larvae after 15 days rearing period.

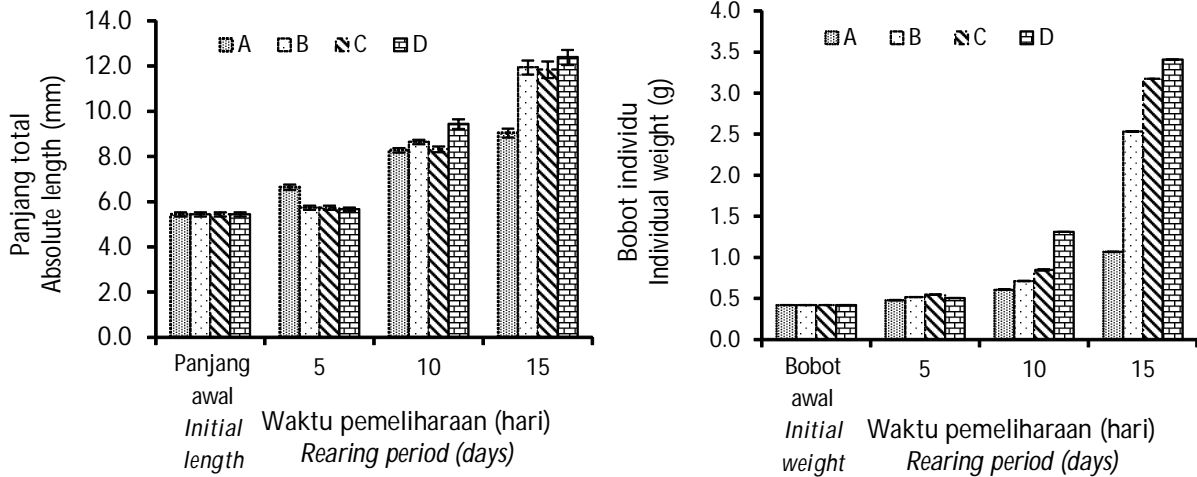
Frekuensi pemberian *Moina* sp. sebanyak enam kali sehari tanpa penambahan *Chlorella* sp. memberikan pertambahan bobot relatif paling rendah dibandingkan perlakuan lainnya. Kondisi ini menunjukkan *Moina* sp. kehabisan nutrisi karena dipelihara pada kondisi tidak terdapat bahan organik, bakteri atau alga sebagai sumber makanannya. Sehingga dari sisi nutrisi, *Moina* sp. pada kondisi tersebut memiliki kandungan nutrisi yang rendah. Status nutrisi *Moina* sp. berdampak terhadap status nutrisi larva ikan gabus yang berperan sebagai predatornya. Kondisi ini berdampak secara langsung terhadap pertambahan bobot larva ikan gabus. Pertambahan bobot larva ikan gabus untuk perlakuan selain kontrol mengalami kenaikan secara signifikan diduga karena *Moina* sp. pada perlakuan ini telah memanfaatkan *Chlorella* sp. sebagai sumber nutrisi. Hasil ini sesuai pendapat Lee *et al.* (2014) dan Adeyemo *et al.* (1994) yang menyatakan pertumbuhan larva ikan sangat dipengaruhi oleh kualitas pakan awal yang baik.

Derajat keasaman (pH) cairan tubuh larva ikan gabus tidak berbeda nyata antar perlakuan ($P > 0,05$) seperti tertera pada Gambar 3A. Kondisi ini menunjukkan frekuensi pemberian pakan dua, empat,

dan enam kali dalam sehari tidak berpengaruh secara nyata terhadap pH cairan tubuh larva ikan gabus selama diberi air hijau. Hasil perhitungan kalsium cairan tubuh larva ikan gabus tidak berbeda secara nyata ($P > 0,05$) seperti terlihat pada Gambar 3B. Kondisi ini menunjukkan frekuensi pemberian pakan tidak berpengaruh secara nyata terhadap kalsium cairan tubuh larva ikan gabus selama diberi air hijau.

Frekuensi pemberian *Moina* sp. tidak memberikan pengaruh nyata terhadap pH dan kalsium cairan tubuh larva ikan gabus di akhir masa pemeliharaan ($P > 0,05$). Nilai pH cairan tubuh larva ikan gabus berkisar antara 4,45-9,67 sedangkan kalsium cairan tubuh berkisar antara 150-9.083 mg/L. Kondisi ini merefleksikan proses metabolisme dan proses fisiologis larva ikan gabus berjalan dengan optimum. Terlihat dari performa sintasan dan pertumbuhan larva ikan gabus dalam keadaan optimum. Menurut Barton *et al.* (1987) dan Li *et al.* (2014), apabila ikan mengalami stres dapat menyebabkan kematian pada larva ikan yang dipelihara.

Pemberian pakan dengan frekuensi yang berbeda memberikan pengaruh nyata terhadap aktivitas lipase ($P < 0,05$). Performa larva ikan gabus yang dipelihara

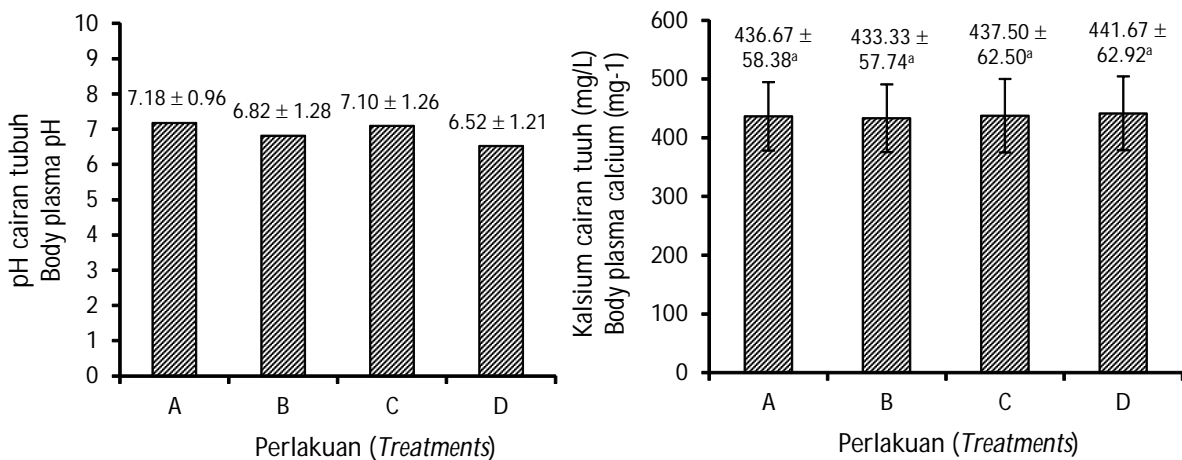


Keterangan: Frekuensi pemberian *Moina* sp. dalam sehari selama penelitian: A. enam kali tanpa penambahan *Chlorella* sp. (kontrol); B. enam kali + *Chlorella* sp.; C. empat kali + *Chlorella* sp., dan D. dua kali + *Chlorella* sp.

Remarks: Daily feeding frequency of *Moina* sp. to snakehead fish larvae during the experiment: A) six times a day without *Chlorella* sp. (control); B) six times a day with *Chlorella* sp.; C) four times a day with *Chlorella* sp.; and D) two times a day with *Chlorella* sp.)

Gambar 2. Pola pertumbuhan larva ikan gabus selama 15 hari masa pemeliharaan; (A) panjang total, (B) bobot individu.

Figure 2. Growth pattern of snakehead fish larvae during 15 days rearing period; (A) absolute length, (B) individual weight.



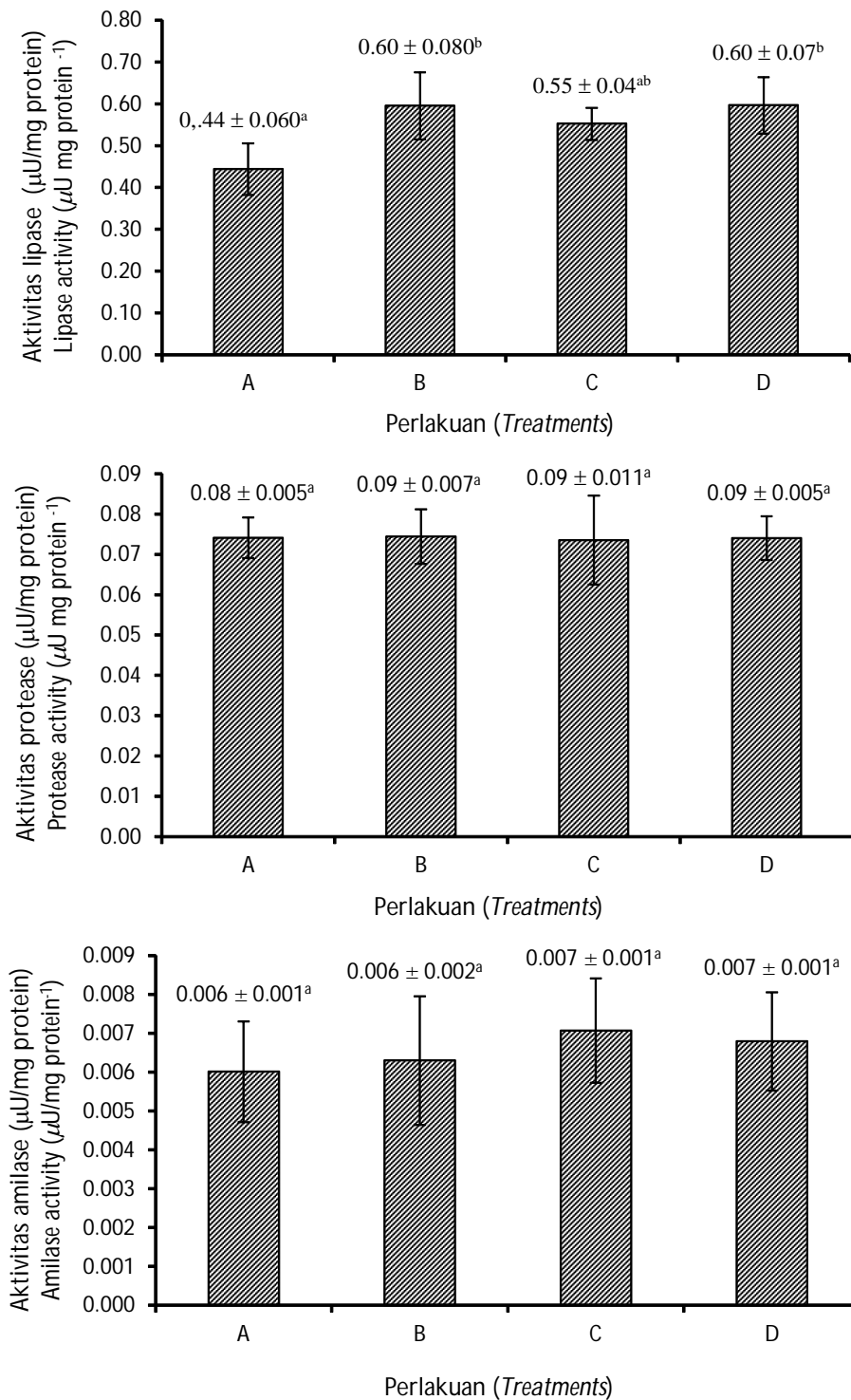
Keterangan: Frekuensi pemberian *Moina* sp. dalam sehari selama penelitian: A. enam kali tanpa penambahan *Chlorella* sp. (kontrol); B. enam kali + *Chlorella* sp.; C. empat kali + *Chlorella* sp., dan D. dua kali + *Chlorella* sp.

Angka yang diikuti huruf superskrip yang sama menunjukkan tidak adanya perbedaan yang nyata ($P > 0,05$).

Remarks: Daily feeding frequency of *Moina* sp. to snakehead fish larvae during the experiment: A) six times a day without *Chlorella* sp. (control); B) six times a day with *Chlorella* sp.; C) four times a day with *Chlorella* sp.; and D) two times a day with *Chlorella* sp. Numbers followed by the same superscript letter indicates no significant difference ($P > 0.05$)

Gambar 3. (A) pH cairan tubuh larva ikan gabus *C. striata* dan (B) kalsium cairan tubuh larva ikan gabus *C. striata* yang dipelihara selama 15 hari.

Figure 3. (A) body plasma pH of snakehead fish *C. striata* larvae and (B) body plasma calcium of snakehead fish *C. striata* larvae after 15 days rearing period.



Keterangan: Frekuensi pemberian *Moina* sp. dalam sehari selama penelitian: A. enam kali tanpa penambahan *Chlorella* sp. (kontrol); B. enam kali + *Chlorella* sp.; C. empat kali + *Chlorella* sp. dan D. 2 kali + *Chlorella* sp. Angka yang diikuti huruf superskrip yang sama menunjukkan tidak adanya perbedaan yang nyata ($P > 0,05$)

Remarks: Daily feeding frequency of *Moina* sp. to snakehead fish larvae during the experiment: A) six times a day without *Chlorella* sp. (control); B) six times a day with *Chlorella* sp.; C) four times a day with *Chlorella* sp.; and D) two times a day with *Chlorella* sp. Numbers followed by the same superscript letter indicates no significant difference ($P > 0.05$)

Gambar 4. Aktivitas lipase, protease, dan amilase ($\text{mU}/\text{mg protein}$) larva ikan gabus *C. striata* yang dipelihara selama 15 hari.

Figure 4. Lipase, protease, and amylase ($\text{mU}/\text{mg protein}$) activity in snakehead *C. striata* larvae 15 days rearing period.

tanpa air hijau dengan frekuensi pemberian pakan enam kali memiliki aktivitas lipase $0,44 \pm 0,06$ mU/mg protein; sedangkan aktivitas lipase larva ikan gabus yang dipelihara pada air hijau dengan frekuensi pemberian pakan enam, empat, dan dua kali sehari berturut-turut: $0,60 \pm 0,08$; $0,55 \pm 0,04$; dan $0,60 \pm 0,06$ mU/mg protein (Gambar 4). Hasil ini menggambarkan aktivitas lipase dipengaruhi secara nyata oleh pemberian *Chlorella* sp. namun tidak dipengaruhi oleh frekuensi pemberian *Moina* sp.

Aktivitas protease larva ikan gabus yang dipelihara pada sistem air hijau dengan berbagai frekuensi pemberian pakan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) (Gambar 4). Larva ikan gabus yang dipelihara tanpa air hijau dengan frekuensi pemberian pakan enam kali sehari aktivitas proteasenya relatif paling rendah dibandingkan yang diberi air hijau. Kondisi ini menggambarkan aktivitas enzim protease larva ikan gabus yang dipelihara pada air hijau tidak dipengaruhi oleh frekuensi pemberian pakan dua, empat, dan enam kali sehari.

Hasil perhitungan aktivitas amilase larva ikan gabus yang tidak diberi air hijau ($0,006 \pm 0,001$ mU/mg protein) lebih rendah dibandingkan dengan yang diberi air hijau. Aktivitas amilase larva ikan gabus yang dipelihara pada air hijau dengan berbagai frekuensi pemberian pakan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) (Gambar 4). Frekuensi pemberian *Moina* sp. berbeda tidak memberikan pengaruh nyata terhadap aktivitas enzim lipase, protease, dan amilase larva ikan gabus ($P > 0,05$) namun pemberian *Chlorella* sp. memberikan pengaruh nyata terhadap aktivitas lipase larva ikan gabus ($P < 0,05$). Aktivitas protease berkisar antara 0,084-0,086 mU/mg protein sedangkan amilase berkisar antara 0,006-0,007 mU/mg protein. Berbeda dengan aktivitas protease dan amilase, aktivitas lipase dipengaruhi oleh frekuensi pemberian *Moina* sp. Berdasarkan kondisi tersebut, seluruh protein, lemak, dan karbohidrat yang terdapat dalam *Moina* sp. dapat dicerna dengan baik dan digunakan untuk memenuhi kebutuhan energi dan pembentukan jaringan bagi larva ikan gabus. Kondisi ini sesuai dengan penelitian Ribeiro *et al.* (1999) yang menyatakan bahwa aktivitas lipase pada ikan *Solea senegalensis* 2-8 kali lebih tinggi dibandingkan dengan aktivitas amilase. Tingginya aktivitas lipase pada awal perkembangan larva ikan menunjukkan proses pemanfaatan butir lemak (*oil globe*) yang terdapat pada kuning telur dan pola kenaikan aktivitas lipase akan diikuti penurunan aktivitas protease sampai kemudian mencapai titik konstan (Cahu & Zambonino-Infante, 1994).

KESIMPULAN

Pemberian pakan awal dari jenis *Moina* sp. pada pemeliharaan larva ikan gabus yang diberi air hijau (*Chlorella* sp.) dengan frekuensi pemberian pakan dua, empat, dan enam kali dalam sehari memberikan performa sintasan (93,4%-94,3%) dan pertumbuhannya tidak berbeda nyata. Frekuensi pemberian *Moina* sp. dua kali sehari sebagai pakan awal pada pemeliharaan larva ikan gabus dengan sistem air hijau paling efisien untuk sintasan dan pertumbuhan larva.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai dari Anggaran Balai Riset Budiaya Air Tawar dan Penyuluhan Perikanan, Tahun Anggaran 2017.

DAFTAR ACUAN

- Adeyemo, A.A., Oladosu, G.A., & Ayinla, A.O. (1994). Growth and survival of fry of African catfish species, *Clarias gariepinus* Burchell, *Heterobranchus bidorsalis* Geoffery and *Heteroclarias* reared on *Moina dubia* in comparison with other first feed sources. *Aquaculture*, 119, 41-45.
- Amornsakun, T., Sriwatana, W., & Promkaew, P. (2011). Feeding behaviour of snake head fish *Channa striatus* larvae. *Songklanakrin Journal of Science and Technology*, 33, 665-670.
- Asgari, R., Rafiee, G., Eagderi, S., Noori, F., Agh, N., Poorbagher, H., & Gisbert, E. (2013). Ontogeny of the digestive enzyme activities in hatchery produced beluga *Huso huso*. *Aquaculture*, 417, 33-40.
- Barton, B.A., Schreck, C.B., & Barton, L.D. (1987). Effects of chronic cortisol administration and daily acute stress on growth, physiological conditions, and stress responses in juvenile rainbow trout. *Dis. Aquat. Org.*, 2, 173- 185.
- Blaxter, J.H.S. & Ehrlich, K.F. (1974). Changes in behaviour during starvation of herring and plaice larvae. The early life history of fish. Berlin: *Springer-Verlag*, p. 575-588.
- Bonaldo, A., Parma, L., Badiani, A., Serratore, P., & Gatta, P.P. (2011). Very early weaning of common sole *Solea solea* L. larvae by means of different feeding regimes and three commercial microdiets: Influence on performances, metamorphosis development and tank hygiene. *Aquaculture*, 321, 237-244.
- Borlongan, I.G. (1990). Studies on the digestive lipases of milkfish, *Chanos chanos*. *Aquaculture*, 89, 315-325.

- Bouchnak, R., Christian, E., & Steinberg, V. (2014). Algae diets and natural xenobiotics impact energy allocation in cladocerans II. *Moina macrocopa* and *Moina micrura*. *Limnologica-Ecology and Management of Inland Waters*, 44, 23-31.
- Bradford, M.M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal. Biochem.*, 72, 248-254.
- Cahu, C.L. & Zambonino-Infante. (2004). Substitution of live food by formulated diets in marine fish larvae. *Aquaculture*, 200, 161-180.
- Chen, B.N., Qin, J.G., Carragher, J.F., Clarke, S.M., Kumar, M.S., & Hutchinson, W.G. (2007). Deleterious effects of food restrictions in yellowtail kingfish *Seriola lalandi* during early development. *Aquaculture*, 271, 326-335.
- Cynthia K., Faulk, G., & Holt, J. (2009). Early weaning of southern flounder, *Paralichthys lethostigma*, larvae and ontogeny of selected digestive enzymes. *Aquaculture*, 296, 213-218.
- Das, S.K., Tiwari, V.K., Venkateshwarlu, G., Reddy, A.K., & Chettri, J.K. (2007). Growth, survival and fatty acid composition of *Macrobrachium rosenbergii* (de Man, 1879) post larvae fed HUFA-enriched *Moina micrura*. *Aquaculture*, 269, 464-475.
- Demény, F., Trenovszki, M.M., Tatár, S., Sipos, S., Urbányi, B., & Müller, T. (2014). Effect of feeding frequency on the growth of the european mudminnow larvae *Umbra krameri* WALBAUM, 1792 reared in controlled conditions. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 20, 670-674.
- Evans, D.H., Piermarini, P.M., & Choe, K.P. (2005). The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid base regulation, and excretion of nitrogenous waste. *Journal of Physiology Reverse*, 85, 97-177.
- Furukawa, F., Watanabe, S., Inokuchi, M., & Kaneko, T. (2011). Responses of gill mitochondria-rich cells in mozambique tilapia exposed to acidic environments (pH 4.0) in combination with different salinities. *Comparative Biochemistry Physiology*, 158, 468-476.
- Goddard, S. (1996). Feed management in intensive aquaculture. New York (US): Chapman and Hall, 194 pp.
- Guerreiro, I., de Vareilles, M., Pousão-Ferreira, P., Rodrigues, V., & Ribeiro, L. (2010). Effect of age at weaning on digestive capacity of white seabream *Diplodus sargus*. *Aquaculture*, 300, 194-205.
- Huisman, E.A. (1987). The principles of fish culture production. Departement of Aquaculture. Wageningen Agricultural University. Netherland, 311 pp.
- Iglesias, J., Fuentes, L., Sánchez, J., Otero, J.J., Moxica, C., & Lago, M.J. (2006). First feeding of *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797 pralarvae using *Artemia*: Effect of prey size, prey density and feeding frequency. *Aquaculture*, 261, 817-822.
- Islam, H., Alamin, M., Hasan, M.S., Mondal, S., & Hossain, M.M.M. (2017). Fish culture in indoor-tank using green water technology. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 5, 2498-2502.
- Kakizawa, S., Kaneko, T., & Hirano, T. (1996). Elevation of plasma somatolactin concentrations during acidosis in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *J. Exp. Biol.*, 199, 1043-1051.
- Kestemont, P., Xueliang, X., Hamza, N., Maboudou, J., & Toko, I.I. (2007). Effect of weaning age and diet on pikeperch larviculture. *Aquaculture*, 264, 197-204.
- Kibria, Nugegoda, Fairclough, Lam, & Bradley. (2001). Utilization of wastewater grown zooplankton: Nutritional quality of zooplankton and performance of silver perch *Bidyanus bidyanus* (Mitchell 1838) *Teraponidae* fed on wastewater grown zooplankton. *Aquaculture Nutrition*, 5, 221-227.
- Kusmini, I.I., Gustiano, R., Prakoso, V.A., & Ath-thar, M.H.F. (2016). Perbenihan dan budidaya ikan gabus. Jakarta: Penebar Swadaya, 76 hlm.
- Kwong, R.W.M., Kumai, Y., & Perry, S.F. (2014). The physiology of fish at low pH: the zebrafish as a model system. *The Journal of Experimental Biology*, 217, 651-662.
- Lazo, J.P., Dinis, M.T., Holt, G.J., Faulk, C., & Arnold, C.R. (2000). Co-feeding microparticulate diets with algae: toward eliminating the need of zooplankton at first feeding in larval red drum *Sciaenops ocellatus*. *Aquaculture*, 188, 339-351.
- Lee, S., Wang, Y., Hung, S.S.O., Strathe, A.B., Fangué, N.A., & Fadel, J.G. (2014). Development of optimum feeding rate model for white sturgeon *Acipenser transmontanus*. *Aquaculture*, 433, 411-420.
- Li, X.F., Tian, H.Y., Zhang, D.D., Jiang, G.Z., & Liu, W.B. (2014). Feeding frequency affects stress, innate immunity and disease resistance of juvenile blunt snout bream *Megalobrama amblycephala*. *Fish & Shellfish Immunology*, 38, 80-87.
- Lindley, L.C., Phelps, R.P., Davis, D.A., & Cummins, K.A. (2011). Salinity acclimation and free amino acid enrichment of copepod nauplii for first-feeding of larval marine fish. *Aquaculture*, 318, 402-406.
- Liu, B., Zhu, X., Lei, W., Yang, Y., & Xie, S. (2012). Effects of different weaning strategies on survival

- and growth in chinese longsnout catfish *Leiocassis longirostris* Günther larvae. *Aquaculture*, 364, 13-18.
- Mai, W.J., Yan, J.L., Wang, L., Zheng, Y., Xin, Y., & Wang, W.N. (2010). Acute acidic exposure induces p53-mediated oxidative stress and DNA damage in tilapia *Oreochromis niloticus* blood cells. *Aquatic Toxicology*, 100, 271-281.
- Manley, C.B., Rakocinski, C.F., Lee, P.G., & Blaylock, R.B. (2015). Feeding frequency mediates aggression and cannibalism in larval hatchery-reared spotted seatrout, *Cynoscion nebulosus*. *Aquaculture*, 437, 155-160.
- Martin, L., Arenal, A., Fajardo, J., Pimentel, E., Hidalgo, L., Pacheco, M., Garcia, C., & Santiesteban, D. (2006). Complete and partial replacement of *Artemia* nauplii by *Moina micrura* during early post-larval culture of white shrimp *Litopenaeus schmitti*. *Aquaculture Nutrition*, 12, 89-96.
- Micale, V., Garaffo, M., Genovese, L., Spedicato, M.T., & Muglia, U. (2006). The ontogeny of the alimentary tract during larval development in common pandora *Pagellus erythrinus* L. *Aquaculture*, 251, 354-365.
- Neori, A. (2011). "Green water" microalgae: The leading sector in world aquaculture. *Journal of Applied Phycology*, 23, 143-149.
- Nhu, V.V., Dierckens, K., Nguyen, H.T., Hoang, T.M.T., & Sorgeloos, P. (2010). Effect of early co-feeding and different weaning diets on the performance of cobia *Rachycentron canadum* larvae and juveniles. *Aquaculture*, 305, 52-58.
- Pradhan, P.K., Jena, J., Mitra, G., Sood, N., & Gisbert, E. (2014). Effects of different weaning strategies on survival, growth and digestive system development in butter catfish *Ompok bimaculatus* (Bloch) larvae. *Aquaculture*, 424, 120-130.
- Ribeiro, R., Zambonino-Infante, J.L., Cahu, C., & Dinis, M.T. (1999). Development of digestive enzymes in larvae of *Solea senegalensis*, Kaup 1858. *Aquaculture*, 179, 465-473.
- Russo, D.J., Watanabe, W.O., Kinsey, S.T., & Seaton, P.J. (2017). Effects of feeding frequency of live prey on larval growth, survival, resistance to hyposalinity stress, Na⁺/K⁺ ATPase activity, and fatty acid profiles in black sea bass *Centropristis striata*. *Aquaculture*, 470, 56-67.
- Tataje, D.A.Y., Baldisserotto, B., & Filho, E.Z. (2015). The effect of water pH on the incubation and larviculture of curimatá *Prochilodus lineatus Valenciennes, 1837* (Characiformes: Prochilodontidae). *Neotropical Ichthyology*, 13, 179-186.
- Veras, G.C., Brabo, M.F., Dias, J.A., Abe, H.A., Nunes, M.P., & Murgas, L.D.S. (2014). The effect of photoperiod and feeding frequency on larval of the amazonian ornamental fish *Pyrrhulina brevis* (Steindachner, 1876). *Aquaculture Research*, p. 1-7.
- Villarreal, M., Alavriño, J.M.R., & López-Luna, J. (2011). Effect of feeding frequency and one day fasting on tilapia *Oreochromis niloticus* and water quality. *Israel Journal Aquaculture Bamidgeh*, 63, 609-715.
- Wahab, S.Z., Kadir, A.B., Hussein, N.H., Omar, J., Yunus, R., Baie, S., Noor, N.M., Hassan, I.I., Mahmood, W.H., Razak, A.B., & Yusoff, W.Z. (2015). The effect of *Channa striatus* (Haruan) extract on pain and wound healing of post-lower segment caesarean section women. *Ev-Based Comp. Alt. Med.*, 15, 1-7.
- Wang, C., Xie, S., Zhu, X., Lei, W., Yang, Y., & Liu, J. (2006). Effects of age and dietary protein level on digestive enzyme activity and gene expression of *Pelteobagrus fulvidraco* larvae. *Aquaculture*, 254, 554-562.
- Wilson, R.W., Wood, C.M., Gonzalez, R.J., Patrick, M.L., Bergman, H.L., Narahara, A., & Val, A.L. (1999). Ion and acid-base balance in three species of amazonian fish during gradual acidification of extremely soft water. *Physiol. Biochem. Zool.*, 72, 277-285.
- Worthington. (1991). *Enzymes, the physics and chemistry of life*. New York: *Simon and Schuster Publisher*, p. 171-173.
- Yúfera, M. & Darias, M.J. (2007). The onset of exogenous feeding in marine fish larvae. *Aquaculture*, 268, 53-63.