

## POTENSI ENERGI SELULER BENIH IKAN LELE, *Clarias batrachus* L. PADA BERBAGAI TINGKAT PEMBERIAN PAKAN DAN SUHU MEDIA

Amin Setiawan<sup>1</sup> dan Ukun MS Soedjanaatmadja<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Padjadjaran,  
Jln. Raya Bandung-Sumedang KM 21 Jatinangor 40600.

<sup>2</sup>Jurusan Kimia FMIPA Universitas Padjadjaran, Jln. Singaperbangsa 2 Bandung 40133  
E-mail: ukun\_28@unpad.ac.id.

### ABSTRAK

Potensi energi seluler yang tersedia untuk metabolisme dalam suatu organisme dapat diukur dari muatan energi adenilat (MEA) yang dihitung dari konsentrasi ATP, ADP dan AMP-nya. Tinggi-rendahnya nilai MEA memiliki korelasi yang sangat penting untuk memantau proses pertumbuhan dari organisme hidup. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui keragaman potensi energi seluler (MEA) pada benih ikan lele *Clarias batrachus* L., sebagai respons terhadap keragaman pemberian pakan berupa *Daphnia* (dengan tingkat pemberian 0,0; 33,3; 66,7 dan 100% dari kebutuhan pakan harian maksimalnya); masing-masing pada suhu kamar, 20, 24, 28 dan 32°C selama 16 hari. ATP, ADP dan AMP dari masing-masing kelompok perlakuan diekstraksi dan dianalisis dengan metode yang dikembangkan oleh Ivanovicy (1981). Hasil penelitian menunjukkan bahwa peningkatan pemberian pakan disertai dengan peningkatan MEA yang merupakan cerminan potensi energi seluler, dan nilai MEA cenderung menurun dengan meningkatnya suhu. Benih ikan lele dalam kondisi defisiensi nutrisi dengan pertumbuhan negatif mempunyai nilai rata-rata MEA antara 0,47 sampai 0,58, sedangkan benih ikan lele dengan pertumbuhan positif mempunyai nilai rata-rata MEA di atas 0,78.

Kata kunci: Potensi energi, tingkat pemberian pakan, suhu media, benih ikan lele

## POTENCY OF CELLULAR ENERGY OF CATFISH FRY *Clarias batrachus* L. ON THE VARIOUS FEEDING RATES AND MEDIUM TEMPERATURE

### ABSTRACT

Available potency of cellular energy for metabolism of an organism could be measured from adenylate energy charge (AEC) that could be calculated from its ATP, ADP and AMP concentrations. The AEC values have very important correlation to monitoring growth process of life organism. The objective of this research was to find out variability of MEA of catfish, *Clarias batrachus* L., fry as response to various feeding rates (0.0, 33.3, 6.7 and 100% of maximum daily requirement) at room temperature, 20, 24, 28 and 32°C, respectively, during a period of 16 days. ATP, ADP and AMP from each treatment groups were extracted and analyzed by the method that has been developed by Ivanovicy (1981). Results of experiment showed that increasing in feeding rates were followed by increasing in the AEC as measure of potency of cellular energy, and the AEC values tend to decrease on higher temperatures. Catfish fry in nutritional efficiency condition and in negative growth has average of the AEC from 0.47 to 0.58, while catfish fry in positive growth has average of the AEC value above 0.78.

Keywords: Adenylate energy charge, feeding rates, medium temperature, catfish fry.

---

### PENDAHULUAN

Potensi energi yang tersedia untuk metabolisme dalam suatu organisme dapat diukur dari muatan energi adenilat (MEA) (Atkinson, 1968), yang dihitung dari konsentrasi-konsentrasi adenin nukleotida: ATP, ADP, AMP (Ivanovici, 1981). Studi untuk mempelajari potensi energi yang tersedia untuk metabolisme pada ikan masih

amat terbatas, antara lain telah dipelajari pada embrio *rainbow trout*, *Salmo gairdneri* (Terner, 1968) dan pada *Oreochromis alcalicus grahami* (Johnston *et al.*, 1983).

Hasil penelitian Johnston *et al.* (1983) yang mempelajari pengaruh suhu media terhadap konsentrasi-konsentrasi adenilat pada *Oreochromis alcalicus grahami* menunjukkan bahwa MEA cenderung menurun dengan meningkatnya suhu

media, meskipun nilai-nilainya tetap tinggi. MEA dalam ikan tersebut (berbobot badan 12,8 g) pada suhu 20, 28 dan 35-37 °C berturut-turut adalah 0,95, 0,88 dan 0,84. Sebelumnya penelitian lain yang telah dilakukan Turner (1968) pada embrio rainbow trout, *Salmo gairdneri*, yang disimpan pada suhu 15 °C. Rasio konsentrasi ATP/ADP/AMP adalah 13 : 1 : 2,4 sehingga dapat diperoleh nilai MEA sebesar 0,83. Nilai ini tidak jauh berbeda (0,85), yang diperoleh dari konsentrasi komponen-komponen sistem adenilat dalam sel hidup (Atkinson, 1968).

Penggunaan MEA untuk mengukur status pertumbuhan dari komunitas mikroba alami telah diuji oleh Wiebe dan Bancroft (1975). Dengan menggunakan mikroba (*Enterobacter aerogenes* dan *Pseudomonas aerogenes*) yang dikultur di laboratorium dan mikroba dari air laut Atlantik dan dari contoh sedimen pantai teruji bahwa MEA dapat menunjukkan status metabolik, baik komunitas maupun spesies. Pada saat mikroba tumbuh di laboratorium (suhu 25°C) nilai MEA mencapai 0,80. Apabila pertumbuhan menurun karena menurunnya pasokan energi, nilai MEA turun menjadi 0,70, dan pada fase pertumbuhan stasioner nilai MEA turun lagi menjadi 0,60. Ivanovici (1980), berdasarkan atas hasil studi yang intensif pada moluska, mengemukakan bahwa nilai MEA di atas 0,80 dapat dianggap sebagai petunjuk kondisi lingkungan yang optimal. Berdasarkan informasi-informasi yang diperoleh dari penelitian-penelitian terdahulu tampak bahwa suhu media dan pasokan energi mempengaruhi potensi energi seluler (MEA), dan pertumbuhan hanya mungkin terjadi apabila MEA mempunyai nilai 0,80 atau lebih (Chapman *et al.*, 1971).

Penelitian di laboratorium ini dirancang untuk mengetahui keragaman potensi energi seluler (MEA) benih ikan lele, *Clarias batrachus* L., sebagai respons terhadap keragaman pemberian pakan (pasokan energi) dan suhu media.

## BAHAN DAN METODE

### Benih Ikan

Benih ikan lele (*Clarias batrachus* L.) yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari hasil penetasan telur yang diperoleh dari induk yang telah disiapkan, dan benihnya dirawat dalam bak-bak beton pada suhu kamar selama satu minggu. Sejak empat hari setelah menetas, ikan diberi makan *ad libitum* berupa *Daphnia* hidup yang diperoleh dari bak kultur khusus. Sampai saat akan digunakan dalam percobaan, benih ikan untuk selanjutnya dipelihara dalam bak *fiberglass* silinder pada suhu kamar.

### Wadah Percobaan dan Suhu Media

Percobaan dilaksanakan dalam wadah (stoples) plastik yang masing-masing mempunyai volume 3,5 liter dengan garis tengah 18,0 cm dan tinggi 17,5 cm.

Setelah dibersihkan, dikeringkan dan direndam selama 72 jam, wadah-wadah percobaan diisi air setinggi 15 cm. Wadah-wadah yang telah berisi air ditempatkan dalam lima bak *fiberglass* silinder (bergaris tengah 1,0 m dengan kedalaman air 0,25 m) menurut lima perlakuan suhu yang berbeda (20, 24, 28, 32°C dan suhu kamar) dan diulang tiga kali. Alat pengatur udara (*air conditioner*) 0,5 PK digunakan untuk memperoleh suhu media dalam wadah di bawah suhu kamar, sedangkan untuk membuat keragaman suhu di atas suhu kamar digunakan alat pemanas otomatis (*automatic water heater*). Wadah-wadah percobaan tanpa alat pemanas dengan suhu kamar (25–27°C) digunakan sebagai pembanding hasil keempat suhu percobaan lainnya.

### Rancangan Pemberian Pakan Harian

Perancangan pemberian pakan harian yang sesuai dengan kebutuhannya diawali dengan penentuan kebutuhan pakan harian maksimal berbagai ukuran benih ikan pada berbagai suhu media yang ditentukan dalam dua percobaan terpisah. Percobaan pertama dirancang untuk menentukan pola hubungan antara kebutuhan pakan harian dengan bobot badan pada berbagai suhu media, sedangkan percobaan kedua dirancang untuk menduga laju pertumbuhan harian benih ikan dan relasinya dengan bobot badan pada berbagai suhu media yang akan digunakan untuk menduga perubahan harian bobot badan. Penggabungan hasil percobaan-percobaan ini memberi kemungkinan bagi benih ikan pada berbagai suhu media memperoleh pakan dalam jumlah dan saat yang tepat sesuai dengan dinamika perubahan kebutuhan pakan harian maksimalnya yang sejalan dengan perubahan harian bobot badannya. Pendugaan kebutuhan pakan harian maksimal, frekuensi dan selang waktu pemberian pakan dalam sehari, berbagai ukuran benih ikan pada berbagai suhu media dilakukan dengan menggunakan metode pergerakan pakan dalam saluran pencernaan yang didasarkan atas data kuantitatif laju pengosongan perut (Elliott dan Persson, 1978; Windell, 1979).

Berdasarkan atas hasil percobaan-percobaan terpisah di atas dibuat rancangan pemberian pakan harian dengan tingkat yang berbeda yang bertumpu pada kebutuhan harian ikan, dan dalam kondisi yang dirancang mendekati situasi di alam. Pemberian pakan kumulatif benih ikan dan

rancangan perlakuannya selama delapan dan 16 hari tertera pada Tabel 1.

### Penentuan Respons Benih Ikan

Untuk memperoleh respons yang jelas dari benih ikan lele terhadap keragaman tingkat pemberian pakan pada berbagai suhu media, benih ikan lele berumur 10 hari dengan bobot rata-rata 41,5 mg dipelihara dalam 60 wadah (12 wadah tiap bak *fiberglass* silinder) dengan kepadatan 120 ekor/wadah. Setelah diaklimasi dan diadaptasikan dengan kondisi barunya, 12 wadah tiap bak *fiberglass* yang terbagi menjadi tiga kompartemen sebagai ulangan, benih ikan memperoleh pakan berupa *Daphnia* berukuran 2,0 mm dengan tingkat pemberian pakan yang berbeda, yakni 0,0, 33,3, 66,7 dan 100% dari kebutuhan pakan harian maksimalnya masing-masing. Jumlah pakan, frekuensi dan selang waktu pemberian pakan dalam sehari untuk setiap suhu media dan setiap bobot badan ditentukan berdasarkan hasil percobaan yang telah dilakukan secara terpisah.

Tabel 1. Rancangan pemberian pakan harian kumulatif benih ikan lele, *Clarias batrachus* L., pada berbagai suhu media selama 8 dan 16 hari

Suhu media (°C)	Rancangan pemberian pakan harian (persen maksimal)	Jumlah kumulatif pakan yang diberikan (mg)	
		8 hari	16 hari
20	0,0	0,00	0,00
	33,3	74,60	288,88
	67,7	149,21	577,77
	100,0	223,81	866,65
24	0,0	0,00	0,00
	33,3	129,08	534,10
	67,7	258,18	1078,19
	100,0	387,27	1617,29
28	0,0	0,00	0,00
	33,3	176,10	721,64
	67,7	352,21	1443,29
	100,0	528,94	2164,93
32	0,0	0,00	0,00
	33,3	194,65	807,65
	67,7	389,29	1615,30
	100,0	583,94	2422,95
Kamar	0,0	0,00	0,00
	33,3	149,03	627,76
	67,7	298,11	1255,52
	100,0	447,16	1883,28

Pengambilan 15 ekor contoh ikan untuk analisis dilakukan setiap empat hari sekali, sampai percobaan berakhir setelah 16 hari. Contoh ikan ditimbang, dimasukkan ke dalam sedotan plastik, dibekukan dengan nitrogen cair dan disimpan dalam tabung penyimpanan contoh (*sample carrier*)

pada suhu -180°C sampai saatnya dianalisis untuk mencegah degradasi enzimatis (Munro and Fleck, 1966). Analisis biokimiawi yang dilakukan di laboratorium mencakup penentuan muatan energi adenilat (MEA, *adenylate energy charge*) melalui analisis konsentrasi metabolit yang meliputi penentuan ATP, ADP dan AMP.

Ekstraksi dan analisis ATP, ADP dan AMP dilakukan dengan mengikuti metode yang dikembangkan oleh Ivanovici (1981). Penentuan konsentrasi metabolit ini didasarkan atas oksidasi reduksi NAD secara enzimatis dan hasilnya dianalisis dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 340 nm. Seluruh pengujian dilakukan dua kali (*duplo*) dan konsentrasi metabolit adenin nukleotida dinyatakan dalam  $\mu\text{mol g}^{-1}$  bobot badan basah.

Muatan energi adenilat (MEA) diperoleh dari rasio molar metabolit dan dihitung dengan mengikuti persamaan (Johnston *et al.*, 1983; Mathews & Van Holde, 1990; Nelson & Cox, 2008):

$$\text{MEA} = \frac{[\text{ATP}] + 0,5 [\text{ADP}]}{[\text{ATP}] + [\text{ADP}] + [\text{AMP}]}$$

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Potensi energi seluler, yang tercermin dari rata-rata muatan energi adenilat (MEA), pada berbagai tingkat pemberian pakan dan suhu media selama penelitian disajikan dalam Tabel 2. sedangkan perkembangan MEA selama percobaan dapat dilihat dalam Tabel 3.

Tabel 2. Rata-rata muatan energi adenilat (MEA) benih ikan lele, *Clarias batrachus* L., pada berbagai tingkat pemberian pakan dan suhu media selama penelitian

Tingkat Pemberian Pakan (persen maksimal)	Suhu media, 0°C/MEA				
	20	24	28	32	Kamar
0,0	0,58	0,55	0,48	0,50	0,47
33,3	0,95	0,89	0,82	0,80	0,84
67,7	0,93	0,87	0,81	0,78	0,83
100,0	0,95	0,89	0,82	0,80	0,84

Hasil percobaan menunjukkan bahwa pada setiap suhu aklimasi peningkatan pemberian pakan sampai dengan 33% kebutuhan pakan harian maksimal diikuti dengan peningkatan MEA, namun sebaliknya, peningkatan suhu diikuti dengan penurunan MEA.

Tingkat pemberian pakan di atas 33,3% tampaknya tidak mengakibatkan keragaman MEA yang mencolok. Benih ikan lele dengan pertumbuhan negatif dari tingkat pemberian pakan nol mempunyai nilai MEA yang berkisar antara 0,47 sampai 0,58, sedangkan benih ikan lele dengan pertumbuhan positif mempunyai nilai MEA di atas 0,78.

Tabel 3. Muatan energi adenilat benih ikan lele, *Clarias batrachus* L., pada berbagai tingkat pemberian pakan dan suhu media selama penelitian

Suhu (°C)	Tk. Pemb. Pakan (persen maksimal)	Umur, hari/MEA			
		14	18	22	26
20	0,0	0,66	0,50	-	-
	33,3	0,98	0,93	0,93	0,96
	67,7	0,96	0,97	0,92	0,88
	100,0	0,96	0,97	0,93	0,94
24	0,0	0,61	0,50	-	-
	33,3	0,92	0,86	0,94	0,85
	67,7	0,87	0,89	0,84	0,85
	100,0	0,92	0,85	0,89	0,90
28	0,0	0,51	0,46	-	-
	33,3	0,83	0,81	0,78	0,86
	67,7	0,80	0,81	0,84	0,79
	100,0	0,83	0,85	0,81	0,80
32	0,0	0,52	0,49	-	-
	33,3	0,80	0,82	0,78	0,80
	67,7	0,77	0,78	0,81	0,78
	100,0	0,82	0,81	0,79	0,79
Kamar	0,0	0,47	0,47	-	-
	33,3	0,86	0,84	0,85	0,82
	67,7	0,83	0,84	0,83	0,81
	100,0	0,88	0,85	0,81	0,82

Tabel 4 di bawah ini menunjukkan konsentrasi ATP, ADP dan AMP serta adenilat total yang ditentukan pada suhu kamar dan 32 °C, masing-masing dua ulangan. Kondisi tanpa pakan dapat menurunkan konsentrasi dan mengurangi kemampuan untuk mensintesis ATP. Penurunan dan ketidakmampuan ini semakin meningkat dengan meningkatnya suhu. Di lain pihak konsentrasi AMP pada kondisi tanpa pakan justru lebih tinggi daripada dalam kondisi dengan pakan. Kedua fenomena tersebut mengakibatkan ikan dalam kondisi tanpa pakan tidak dapat mempertahankan nilai normal MEA. Oleh sebab itu, tampaknya ketidakmampuan ikan untuk tumbuh, bahkan kemudian diikuti kematian, pada kondisi tanpa pakan disebabkan oleh rendahnya nilai MEA intraselulernya. Dalam kondisi dengan pakan, konsentrasi ATP menurun sedangkan konsentrasi AMP meningkat dengan meningkatnya suhu. Oleh karenanya nilai MEA dalam kondisi dengan pakan cenderung lebih rendah pada suhu tinggi. Akan tetapi pada setiap suhu perlakuan, nilai MEA dalam kondisi dengan pakan, relatif konstan. Dalam konteks sel hidup hal ini terjadi karena sistem adenilat secara tepat berperan stoichiometris sebagai perantara-energi.

Adenin nukleotida (ATP, ADP dan AMP) terkait erat dengan semua sekuen metabolik dari sel hidup. Jumlah energi yang tersedia untuk proses-proses metabolik yang untuk sementara disimpan dalam sistem adenilat berkorelasi linier dengan muatan energi dari pool adenilat (Atkinson and Walton, 1967; Lodish *et al.*, 2007).

Tabel 4 Konsentrasi ATP, ADP, AMP dan Adenilat Total (E) yang ditentukan pada suhu kamar dan suhu 32°C, penentuan dilakukan masing-masing dua ulangan.

Suhu	K (%) Maks	Umur (hari) ATP (µmol/mg)				Umur (hari) ADP (µmol/mg)				Umur (hari) AMP (µmol/mg)				Umur (hari) E (µmol/mg)			
		14	18	22	26	14	18	22	26	14	18	22	26	14	18	22	26
Kamar	(0)	0,40	0,33	--	--	0,62	0,53	--	--	0,48	0,40	--	--	1,50	1,26	--	--
	33	1,95	2,19	2,23	2,05	0,35	0,39	0,42	0,39	0,17	0,24	0,22	0,29	2,47	2,83	2,87	2,73
	67	2,69	2,71	2,85	2,98	0,49	0,45	0,61	0,57	0,34	0,32	0,32	0,47	3,52	3,48	3,78	4,02
	100	3,47	4,04	3,68	3,89	0,44	0,57	0,67	0,67	0,27	0,47	0,59	0,59	4,18	5,08	4,95	5,15
32°C	(0)	0,37	0,31	--	--	0,54	0,70	--	--	0,32	0,34	--	--	1,23	1,36	--	--
	33	1,56	1,76	1,75	1,58	0,57	0,43	0,55	0,43	0,18	0,21	0,29	0,24	2,31	2,40	2,60	2,24
	67	2,15	2,30	2,45	2,21	0,63	0,62	0,54	0,60	0,40	0,34	0,37	0,40	3,18	3,27	3,37	3,21
	100	3,05	2,93	3,15	3,47	0,63	0,65	0,72	0,81	0,42	0,44	0,58	0,62	4,10	4,03	4,45	4,91

Kurva-kurva respons aktivitas sebagai fungsi dari muatan energi telah diperoleh untuk beberapa enzim. Enzim-enzim pengatur sekuen-sekuen yang meregenerasi ATP sangat aktif pada tingkat muatan energi rendah dan aktivitas menurun tajam apabila muatan energi meningkat sampai 0,75. Sebaliknya, enzim-enzim pengatur sekuen-sekuen biosintetik atau sekuen lainnya yang mengkonsumsi ATP memperlihatkan aktivitas yang rendah pada tingkat muatan energi rendah, dan aktivitas meningkat tajam pada nilai muatan di atas 0,75. Kedua jenis kurva ini cenderung berpotongan pada muatan energi 0,85. Apabila pola respons yang diamati secara *in vitro* ini mencerminkan tingkah laku enzim secara *in vivo*, maka muatan energi dalam sel kiranya akan stabil pada muatan sekitar 0,85 (Atkinson, 1968). Nilai MEA di atas 0,78 yang terdapat pada benih ikan lele dalam percobaan ini dengan pertumbuhan positif tidak berbeda jauh dari nilai 0,85 dari Atkinson (1968), bahkan hampir sama dengan nilai 0,80 dari Chapman, *et al.* (1971). Tingginya MEA pada ikan dengan pertumbuhan positif juga ditemukan pada *Oreochromis alkalicus grahamsi* di Kenya (Johnston, *et al.*, 1983).

Nilai MEA berkisar dari 0 sampai 1, dan dalam berbagai organisme berkorelasi dengan status pertumbuhan atau kondisi fisiologis dan keragaman kondisi lingkungan misalnya yang terjadi pada mikroorganisme (Chapman, *et al.*, 1971), pada tumbuhan: (Simmonds dan Dumbroff, 1974), pada moluska (Ivanovici, 1980) dan pada mamalia (Ridge, 1972). Korelasi MEA dengan nilai tinggi (0,8–0,9) dengan kondisi lingkungan optimal, dan nilai MEA rendah dengan kondisi lingkungan yang kurang cocok (Ivanovici, 1980) memberikan petunjuk bahwa pengukuran MEA dapat memberikan ukuran padat-nilai, terpadu dan obyektif dari status fisiologis suatu organisme (Ivanovici, 1980; Wiebe and Bancroft, 1975).

Premis dasar dari MEA adalah bahwa suatu organisme mencoba mempertahankan rasio seluler tertentu antara ATP terhadap ADP dan AMP dan rasio ini bergantung kepada status atau fase pertumbuhan (Atkinson, 1971). Chapman, *et al.* (1971) mendemonstrasikan bahwa beragam organisme, baik eukariot maupun prokariot, pada dasarnya mempertahankan rasio MEA yang sama dalam fase pertumbuhan yang sama. Sel-sel yang aktif tumbuh dan membelah diri mempunyai rasio MEA antara 0,80–0,95; sel-sel pada fase pertumbuhan stasioner mempertahankan rasio 0,60; dan sel-sel pada fase istirahat mempunyai rasio di bawah 0,50. Bahkan lebih jauh disimpulkan bahwa pertumbuhan hanya dapat terjadi pada nilai MEA di atas 0,80, kehidupan dapat dipertahankan bila nilai MEA antara 0,80

dan 0,50, dan sel akan mati pada nilai MEA di bawah 0,50. Menurut Simmonds dan Dumbroff (1974) hilangnya kemampuan hidup pada nilai MEA di bawah 0,50 tampaknya terjadi karena nilai MEA di bawah 0,50 akan mengakibatkan disintegrasi seluler yang mematikan. Hasil percobaan ini menunjukkan konsistensi dengan nilai-nilai MEA yang disimpulkan Chapman, *et al.* (1971) meski kematian benih ikan lele terjadi pada nilai MEA antara 0,48 dan 0,58.

## KESIMPULAN

Respons benih ikan lele terhadap keragaman konsumsi energi dan suhu media tercermin dalam potensi energi seluler yang merupakan ukuran potensi energi yang tersedia untuk metabolisme. Muatan energi adenilat (MEA) benih ikan lele bernilai rendah (< 0,58) pada kondisi defisiensi nutrisi dan bernilai tinggi (> 0,78) selama proses pertumbuhan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Atkinson, D.E. 1968. The energy of adenylate pool as regulatory parameter. Interaction with feedback modifiers. *Biochemistry*, 7(11): 4030–4034.
- Atkinson, D.E. 1971. Adenine nucleotide as stoichiometric coupling agents in metabolism and as regulatory modifiers: the adenylate energy charge, p. 1–21. In: H. J. Vogel (ed.). *Metabolic Regulation*. Academic Press, Inc., New York.
- Atkinson, D.E., & Walton, G.M. 1967. Adenosine triphosphate conservation in metabolic regulation. Rat liver citrate cleavage enzyme. *Chemistry*, 242: 3239–3241.
- Chapman, A.G., Fall, L. & Atkinson, D.E. 1971. Adenylate energy charge in *Escherichia coli* during growth and starvation. *J. Bacteriology*, 108: 1072–1088.
- Elliott, J.M., & Persson, L. 1978. The estimation of daily rates of food consumption By Fish. *J. Anim. Ecol.*, 47: 977–991.
- Ivanovici, A.M. 1980. The adenylate energy charge in the estuarine mollusk, *Pyrazus Ebenicus*. Laboratory studies of responses to salinity and temperature. *Comp. Biochem. Physiol.*, 66A: 43–55.
- Ivanovici, A.M. 1981. A method for extraction and analysis of adenine nucleotides for determination of adenylate energy charge in molluscan tissues. CSIRO, Div. of Fish and

- Oceanography. Report No. 118. Cronulla, NSW.
- Johnston, I.A., Eddy, F.B., & Maloiy, G.M.O. 1983. The effects of temperature on muscle pH, adenylate and phosphogen concentrations in *Oreochromis alcalicus grahami*, a fish adapted to an alkaline hot spring. *J. Fish. Biol.*, 23: 717-724.
- Lodish, H., Berk, A., Kaiser, C.A., Krieger, M., Scott, M.P., Bretscher, A., Poloegh, H., & Matsudaira, P., 2007. *Molecular Cell Biology*. Sixth Edition. W.H. Freeman and Company. New York.
- Mathews, C.K., & Van Holde, K.E., 1990. *Biochemistry*. The Bunjamin/Cumming Publishing Company Inc. Redwood City. California.
- Munro, H.N. & Fleck, A. 1966. The determination of nucleic acids, p. 113-176. Dalam D. Glick (ed.), *Method of biochemical analysis*, Vol. XIV. Interscience Publishers, Inc., New York, N. Y.
- Nelson, D.L. & Cox, M.M. 2008. *Lehninger Principles of Biochemistry*. Fifth Edition. W.H. Freeman and Company. New York.
- Ridge, W. 1972. Hypoxia and the energy charge of the cerebral adenylate pool. *Biochem. J.*, 127: 351-355.
- Simon, J.A. & Dumbroff, E.B. 1974. High energy charge as a requirement for axis elongation in response to gibberellic acid and kinetin during stratification of *Acer saccharum* seeds. *Plant Physiol.*, 53: 91-95.
- Terner, C. 1968. Studies of metabolism embryonic development. III. Glycogenolysis and gluconeogenesis in trout embryo. *Comp. Biochem. Physiol.*, 25: 941-950.
- Wiebe, W.J. & Bancroft, K. 1975. Use of the adenylate energy charge ratio to measure growth state of natural microbial communities. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 172: 2112-2115.
- Windell, J.T. 1978. Digestion and daily ration of fishes. In: S. D. Gerking (ed.), *Ecology of Freshwater Fish Production*. Blackwell Sci. Publ., Oxford, p. 159-183.