

# PENGARUH KADAR KROMIUM PAKAN YANG BERBEDA TERHADAP RETENSI PROTEIN, PERTUMBUHAN DAN KESEHATAN IKAN NILA, *Oreochromis niloticus*

(The Effect of Dietary Chromium Level on the Protein Retention, Growth and Fish Health of Tilapia, *Oreochromis niloticus*)

Ing Mokoginta<sup>1</sup>, Vemmi Sri Agustiani<sup>1</sup> dan Nur Bambang Priyo Utomo<sup>1</sup>

## ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi pengaruh kromium ( $\text{Cr}^{+3}$ ) pakan serta kadar optimumnya terhadap retensi protein, pertumbuhan dan kesehatan ikan. Empat macam pakan yang isonitrogen dan isokalori dengan kadar  $\text{Cr}^{+3}$  yang berbeda yaitu 0.0, 1.33, 2.23 dan 3.96 ppm telah digunakan dalam penelitian ini. Lima belas ekor ikan dengan bobot rata-rata  $9.05 \pm 0.03 \text{ g/ekor}$  dipelihara dalam setiap akuarium (volume air 63 l). Ikan diberi pakan tiga kali sehari secara *at satiation* selama 49 hari. Hasil penelitian memperlihatkan bahwa kadar protein tubuh pada akhir penelitian sama antar perlakuan. Kadar lemak tubuh menurun sejalan dengan naiknya kadar  $\text{Cr}^{+3}$  pakan; sebaliknya kadar karbohidrat tubuh menurun. Retensi protein dan efisiensi pakan sama antar perlakuan. Total eritrosit dan hematokrit sama antar perlakuan, namun total leukosit dari ikan yang mendapat pakan  $\text{Cr}^{+3}$  2.23 ppm menghasilkan nilai yang paling rendah. Dapat disimpulkan bahwa kadar  $\text{Cr}^{+3}$  yang berbeda dapat mempengaruhi nilai retensi protein, pertumbuhan relatif dan kesehatan ikan nila, *Oreochromis niloticus* dengan kadar terbaik 2.23 ppm.

**Kata kunci:** ikan nila, *Oreochromis niloticus*, kromium pakan, retensi protein, pertumbuhan, kesehatan ikan.

## ABSTRACT

The experiment was conducted to evaluate the effect of  $\text{Cr}^{+3}$  on the protein retention through dietary carbohydrate efficiency, growth and fish health. Four experiment diets with isonitrogen and isocalorie have different level of  $\text{Cr}^{+3}$ , 0.0, 1.33, 2.23, and 3.96 ppm were used in this experiment. Fifteenth fish with mean body weight of  $9.05 \pm 0.03 \text{ g}$  were cultured in each aquarium (63 l water volume). Fish fed on the experimental diets three times daily, at satiation for 49 days. Results showed that the protein level of the body was the same between treatments; however the lipid level decreased and the carbohydrate level increased as the dietary  $\text{Cr}^{+3}$  level increased. Body protein deposition and relative growth of the fish also increased as the dietary  $\text{Cr}^{+3}$  level increased. The protein retention and feed efficiency between treatments are the same. The total erythrocyte and haematocrite are the same between treatments; however fish fed on the diet 2.23 ppm  $\text{Cr}^{+3}$  produced the lowest total leucocyte. It was concluded that 2.23 ppm  $\text{Cr}^{+3}$  was the optimum level of  $\text{Cr}^{+3}$  in the diet tilapia, *Oreochromis niloticus*.

**Key words:** tilapia, *Oreochromis niloticus*, dietary chromium, protein retention, growth, fish health.

## PENDAHULUAN

Karbohidrat pakan adalah sumber energi murah yang dapat bertindak sebagai *Protein Sparing Effect* sehingga protein pakan dapat dihemat untuk pertumbuhan. Secara umum, ikan mempunyai kemampuan yang lebih rendah dibandingkan hewan darat dalam memanfaatkan karbohidrat pakan. Demikian pula pemanfaatan karbohidrat pakan berbeda bergantung pada spesies ikan; ukuran ikan; dan jenis serta tingkat karbohidrat pakan (Furuichi, 1988; Tung dan Shiao, 1991; Wilson, 1994; Mokoginta *et al.*, 2004).

Rendahnya kemampuan memanfaatkan karbohidrat pakan antara lain berkaitan dengan rendahnya kemampuan mencerna karbohidrat pakan dan kemampuan sel memanfaatkan hasil cerna karbohidrat, yaitu glukosa. Kemampuan yang rendah dalam memanfaatkan glukosa darah oleh sel sebagai energi metabolisme diduga berkaitan dengan bioaktivitas dan kapasitas kinerja insulin, serta jumlah reseptor aktif insulin yang kurang optimum (Wilson, 1994; Vincent, 2000).

Faktor toleransi glukosa (*glucose tolerance factor*, GTF) yang akhir-akhir ini dikenal sebagai kromodulin berperan dalam meningkatkan potensi kinerja insulin dalam memobilisasi glu-

<sup>1</sup> Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.

kosa ke dalam sel, memacu glikogenesis, lipogenesis dan transfer asam amino kedalam sel melalui peningkatan sensitivitas reseptor insulin (Vincent, 2000; Cefalu *et al.*, 2002). Naiknya aktifitas insulin akan mempercepat masuknya glukosa ke dalam sel untuk segera dimanfaatkan, terutama dikatabolisme sebagai sumber energi (Vincent, 2000; Matthews *et al.*, 2001; Cefalu *et al.*, 2002).

Telah diketahui pula bahwa kromodulin adalah suatu oligopeptida yang penting dalam metabolisme karbohidrat dan lipid secara normal, mengandung kromium trivalen (Watanabe *et al.*, 1997; Vincent, 2000; Cefalu *et al.*, 2002). Jadi, adanya pemberian kromium dalam pakan diharapkan akan meningkatkan pemanfaatan karbohidrat pakan sehingga protein pakan dapat dihemat untuk sintesis protein tubuh yang selanjutnya akan meningkatkan pertumbuhan ikan. Selain itu ikan yang diberi pakan yang mengandung kromium pada dosis optimum ternyata lebih tahan terhadap pengaruh stres lingkungan, antara lain suhu (Hastuti, 2004).

Hasil penelitian Subandiyono (2004) dan Hastuti (2004) pada ikan gurami menunjukkan bahwa kadar optimum Cr<sup>+3</sup> pakan adalah 1.5 ppm; sedangkan pada ikan patin, *Pangasius hypophthalmus*, adanya pemberian Cr<sup>+3</sup> pakan sampai 3.96 ppm tidak meningkatkan retensi protein dan pertumbuhan ikan. Hal ini menunjukkan bahwa setiap spesies ikan mempunyai kebutuhan yang berbeda terhadap dosis Cr<sup>+3</sup> pakan.

Penelitian ini dilakukan untuk menentukan dosis optimum Cr<sup>+3</sup> pakan yang akan menghasilkan retensi protein, pertumbuhan dan kesehatan ikan yang terbaik bagi ikan nila, *Oreochromis niloticus*.

## BAHAN DAN METODE

### Pakan Penelitian

Empat macam pakan dengan kadar protein dan energi sama tetapi kadar Cr<sup>+3</sup> berbeda digunakan dalam penelitian ini. Cr<sup>+3</sup> ditambahkan pada pakan dalam bentuk kromium - ragi. Kadar Cr<sup>+3</sup> pakan adalah 0.0, 1.5, 3.0, dan 4.5 ppm, namun setelah pakan dianalisa kadar Cr<sup>+3</sup> menjadi 0.0, 1.33, 2.23, dan 3.96 ppm. Untuk menghilangkan pengaruh ragi pada perlakuan 0.0 ppm Cr<sup>+3</sup> maka pakan 0.0 ppm Cr<sup>+3</sup> tetap diberi ragi dengan kadar yang sama dengan perlakuan

lainnya. Komposisi proksimat, energi dan Cr<sup>+3</sup> pakan disajikan pada tabel 1.

**Tabel 1. Komposisi Proksimat, Energi dan Cr<sup>+3</sup> Pakan (% Bobot Kering).**

Komposisi Proksimat	Kadar Cr <sup>+3</sup> (ppm) Pakan			
	0.0	1.33	2.23	3.96
Protein	32.73	32.4	32.93	32.8
Lemak	7.5	7.27	7.39	7.28
Abu	10.73	10.62	10.37	10.91
Karbohidrat	49.04	49.71	49.31	49.01
Energi (DE Kcal/Kg)	2979.2	2965.4	2984.0	2962.9
Cr <sup>+3</sup> (ppm)	0.0	1.33	2.23	3.96

Pakan dibuat dalam bentuk pelet dengan kadar air berturut-turut 7.67, 7.64, 7.41, dan 8.20%. Pakan dibuat seminggu sekali dan disimpan dalam freezer sebelum digunakan.

### Pemeliharaan Ikan dan Pengumpulan Data

Ikan yang digunakan adalah ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang berasal dari petani ikan di Bogor dengan bobot awal rata-rata  $9.05 \pm 0.03$  gram. Ikan diadaptasi terhadap kondisi laboratorium sebelum digunakan untuk penelitian selama seminggu. Setelah masa adaptasi, ikan dipuaskan sehari, lalu ditimbang dan dimasukkan ke dalam setiap akuarium (50 cm x 35 cm x 35 cm; volume air 63 liter) sebanyak 15 ekor. Ikan diberi pakan tiga kali sehari, secara *at satiation* selama 49 hari. Untuk menjaga kualitas air agar tetap baik, air diganti 50-75% per hari. Selama penelitian suhu air 29-30 °C; pH 6.28-6.85; oksigen terlarut 6.05-6.42 ppm.

Pada hari ke 49 ikan dipuaskan lalu pada hari ke 50 ikan ditimbang. Contoh ikan sebanyak 5 ekor dari ikan pada awal penelitian, dan dari setiap perlakuan pada akhir penelitian diambil untuk analisa proksimat, guna perhitungan retensi protein dan lemak. Jumlah pakan yang diberikan dan dimakan ikan dicatat untuk perhitungan efisiensi pakan. Untuk mendapatkan gambaran tentang status kesehatan ikan maka pada akhir penelitian juga dilakukan pengambilan darah ikan untuk menghitung eritrosit, leukosit dan hematokrit. Ikan yang diambil adalah 5 ekor per perlakuan.

### Analisis Statistik

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap dengan empat perlakuan dan tiga

ulangan. Perbedaan perlakuan dianalisis dengan ANOVA dan dilanjutkan dengan uji Tukey (Steel dan Torrie, 1993). Data yang dievaluasi adalah pertambahan protein tubuh; retensi protein dan lemak; pertumbuhan relatif, efisiensi pakan dan kelangsungan hidup serta data eritrosit, leukosit dan hematokrit. Komposisi proksimat dan Cr<sup>+3</sup> tubuh dievaluasi secara deskriptif.

### Analisis Kimia

Analisis proksimat dilakukan terhadap contoh pakan dan tubuh ikan (AOAC, 1984). Analisis Cr<sup>+3</sup> dilakukan terhadap pakan dan tubuh ikan di akhir penelitian (modifikasi Takeuchi, 1988).

Untuk menghitung leukosit dan hematokrit digunakan metode Anderson dan Siwicki (1993). Contoh darah diencerkan dengan larutan Turk sebanyak 20 kali, lalu sel leukosit dihitung dalam haematisometer dengan bantuan mikroskop. Hematokrit diukur dari prosentase endapan sel darah dari contoh darah yang telah disentrifuse dengan kecepatan 2500 rpm selama 10 menit dalam kapiler hematokrit. Pengukuran eritrosit dilakukan dengan mengikuti metode Wedemeyer dan Yasutake (1977). Contoh darah diencerkan dengan larutan Hayem sebanyak 100 kali, selanjutnya sel eritrosit dihitung dalam haematisometer.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil

Tabel 2 menyajikan komposisi proksimat dan Cr<sup>+3</sup> tubuh ikan pada akhir penelitian.

**Tabel 2. Komposisi Proksimat (%) Bobot Kering) dan Kadar Cr<sup>+3</sup> (ppm) Tubuh Ikan di Akhir Penelitian.**

Komposisi	Kadar Cr <sup>+3</sup> (ppm) Pakan			
	0.0	1.33	2.23	3.96
Kadar air	71.53±1.00	72.02±1.73	74.31±0.81	71.29±1.02
Protein	52.44±1.83	51.52±0.15	51.87±0.28	51.02±0.16
Lemak	27.31±2.50	27.02±0.88	24.33±1.54	21.52±1.11
Abu	17.60±2.10	14.58±2.16	14.22±1.15	15.58±0.94
Karbohidrat	2.65±14.61	6.82±2.72	9.59±2.35	11.88±0.21
Cr <sup>+3</sup> tubuh	0.39±0.28	3.45±2.90	3.66±1.82	4.50±0.41

Keterangan : n = 5 ekor

Kadar air dan protein tubuh antar perlakuan tidak berbeda. Naiknya kadar Cr<sup>+3</sup> pakan

akan menaikkan penyimpanan Cr<sup>+3</sup> pada tubuh ikan. Pengaruh kadar Cr<sup>+3</sup> pakan jelas terlihat pada kadar lemak dan karbohidrat tubuh. Kadar lemak tubuh cenderung menurun sejalan dengan naiknya kadar Cr<sup>+3</sup> pakan; namun sebaliknya kadar karbohidrat tubuh semakin tinggi dengan naiknya kadar Cr<sup>+3</sup> pakan.

Tabel 3 menyajikan data eritrosit, leukosit dan hematokrit darah diakhir penelitian yang menggambarkan status kesehatan ikan.

**Tabel 3. Total Eritrosit (x1000 sel/mm<sup>3</sup>), Leukosit (x1000 sel/mm<sup>3</sup>) dan Hematokrit (%) Darah di Akhir Penelitian.**

	Kadar Cr <sup>+3</sup> (ppm) pakan			
	0.0	1.33	2.23	3.96
Eritrosit	1612.0±202.9 <sup>b</sup>	1740.0±491.1 <sup>a</sup>	1914.0±722.0 <sup>a</sup>	1676.0±431.7 <sup>a</sup>
Leukosit	64.1±14.2 <sup>a</sup>	61.5±14.7 <sup>a</sup>	29.8±6.1 <sup>b</sup>	65.6±1.1 <sup>a</sup>
Hematokrit	26.28±3.25 <sup>a</sup>	24.98±4.38 <sup>a</sup>	25.66±2.73 <sup>a</sup>	26.07±2.87 <sup>a</sup>

Keterangan: Huruf yang sama pada baris yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan; n = 5 ekor, (p<0,05)

Total eritrosit dan hematokrit antar perlakuan sama, tetapi total leukosit dari pakan dengan kadar Cr<sup>+3</sup> 2.23 ppm adalah yang terendah.

Selanjutnya Tabel 4 menyajikan data konsumsi pakan; pertambahan protein tubuh; retensi protein dan lemak; pertumbuhan relatif; dan efisiensi pakan.

**Tabel 4. Konsumsi Pakan (KP), Pertambahan Protein Tubuh (PT), Retensi Protein (RP) dan Lemak (RL), Pertumbuhan Relatif (PR), Efisiensi Pakan (EP).**

Parameter	Kadar Cr+3 ( ppm ) pakan			
	0.0	1.33	2.23	3.96
KP (g)	921.70±75.78 <sup>ab</sup> <sup>b</sup>	1040.27±81.02 <sup>a</sup>	1049.70±43.44 <sup>a</sup>	1061.47±10.07 <sup>a</sup>
PT (g)	101.95±2.82 <sup>a</sup>	116.78±13.99 <sup>ab</sup>	119.30±16.94 <sup>ab</sup>	131.97±2.86 <sup>b</sup>
RP (%)	36.78±3.21 <sup>a</sup>	37.43±2.05 <sup>a</sup>	38.43±4.45 <sup>a</sup>	39.02±2.51 <sup>a</sup>
RL (%)	93.76±5.06 <sup>ab</sup>	98.62±6.24 <sup>b</sup>	85.41±6.74 <sup>ab</sup>	81.03±5.88 <sup>a</sup>
PR (%)	498.40±40.82 <sup>a</sup>	597.38±71.19 <sup>ab</sup>	630.11±63.84 <sup>ab</sup>	644.23±31.74 <sup>b</sup>
EP (%)	73.22±3.74 <sup>a</sup>	78.03±3.65 <sup>a</sup>	81.42±5.17 <sup>a</sup>	82.38±3.33 <sup>a</sup>

Keterangan: Huruf yang sama pada baris yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan; n = 5 ekor; (p<0,05).

Tingkat kelangsungan hidup semua perlakuan sama yaitu 100 %. Dari Tabel 4 terlihat bahwa KP, RP, dan EP sama antar perlakuan, namun PT dan PR tertinggi dijumpai pada pakan 3.96 ppm Cr<sup>+3</sup>, walaupun PT dan PR perlakuan pakan 1.33; 2.23 ppm Cr<sup>+3</sup> relatif sama dengan 3.96 ppm.

## Pembahasan

Pakan yang digunakan pada penelitian ini adalah isonitrogen dan isoenergi hanya berbeda dalam kadar Cr<sup>+3</sup> sehingga jumlah pakan yang dikonsumsi ikan sama antar perlakuan. Perbedaan kadar Cr<sup>+3</sup> pakan ternyata mempengaruhi kadar lemak dan karbohidrat tubuh dalam penelitian ini. Kadar kabohidrat tubuh menggambarkan kadar glikogen. Kadar lemak tubuh semakin rendah dengan kadar Cr<sup>+3</sup> pakan. Sebaliknya kadar kaborhidrat (dalam hal ini glikogen) semakin tinggi sejalan dengan naiknya kadar Cr<sup>+3</sup> pakan. Kadar protein dan air tubuh ikan relatif sama antar perlakuan. Seperti telah diketahui bahwa Cr<sup>+3</sup> merupakan bagian dari kromodulin, dan kromodulin ini dapat mengaktifkan reseptor insulin yang selanjutnya akan mengefektifkan kerja insulin terhadap sel-sel jaringan tubuh. Insulin merupakan hormon anabolisme yang memacu transfer glukosa darah dan asam amino ke dalam sel (Vincent, 2000; Cefalu *et al.*, 2002).

Selanjutnya glukosa di dalam sel dapat digunakan sebagai sumber energi, dikonversi menjadi glikogen di hati dan jaringan otot atau dikonversi menjadi lemak di hati dan jaringan adiposa (Mertz, 1993; Groff dan Gropper, 2000). Dari Tabel 3 terlihat bahwa adanya Cr<sup>+3</sup> yang semakin tinggi akan memacu aktivitas insulin, yang selanjutnya akan lebih memacu sintesis glikogen dari lemak. Hal ini ditunjukkan oleh kadar karbohidrat (glikogen) tubuh yang semakin tinggi dan kadar lemak yang semakin rendah. Adanya penyimpanan glikogen yang semakin tinggi menjelaskan bahwa glukosa darah yang masuk ke sel-sel jaringan tubuh akibat naiknya efektifitas kerja insulin tersebut semakin tinggi yang berarti energi yang tersedia dalam sel akan semakin tinggi; sebagian disimpan sebagai glikogen dan sebagian lagi digunakan sebagai sumber energi. Naiknya ketersediaan energi dari karbohidrat ini memberi peluang sebagian besar protein (asam amino) pakan digunakan untuk sintesis protein tubuh. Hal ini terlihat pada pertambahan protein tubuh (Tabel 4) yang semakin tinggi dengan naiknya Cr<sup>+3</sup> pakan, walaupun nilai retensi proteinnya sama antar perlakuan. Retensi protein merupakan rasio antara pertambahan bobot protein tubuh dan bobot protein pakan yang dimakan. Pertambahan protein tubuh sebanding dengan protein pakan yang dimakan sehingga dalam penelitian ini re-

tensi protein antar perlakuan sama. Naiknya pertambahan protein tubuh sejalan dengan naiknya kadar Cr<sup>+3</sup> pakan akan menghasilkan pertumbuhan relatif yang semakin tinggi pula. Pertumbuhan relatif tertinggi terdapat pada pakan 3.96 ppm Cr<sup>+3</sup>, walaupun pertumbuhan relatif perlakuan 2.23 ppm Cr<sup>+3</sup> masih sama dengan 3.96 ppm. Naiknya pertumbuhan relatif dengan semakin tingginya kadar Cr<sup>+3</sup> pakan pada penelitian ini belum diikuti oleh naiknya efisiensi pakan yang nyata.

Dari Tabel 3 terlihat bahwa total eritrosit dan hematokrit antar perlakuan sama, tetapi total leukosit terendah terdapat pada pakan 2.23 ppm Cr<sup>+3</sup>. Rendahnya total leukosit ini menggambarkan tingkat kesehatan ikan yang lebih tinggi dari perlakuan lainnya. Hal ini ditemui pula pada ikan gurami (*Oosphronemus gouramy*), dimana dengan pemberian Cr<sup>+3</sup> sebanyak 1.5 ppm dihasilkan total leukosit yang lebih rendah dibandingkan pakan yang kurang atau berlebih dari 1.5 ppm. Hal ini menggambarkan bahwa tingkat kesehatan ikan pada pemberian Cr<sup>+3</sup> 1.5 ppm lebih tinggi dari perlakuan lainnya (Hastuti, 2004).

Berdasarkan evaluasi terhadap berbagai parameter yang digunakan pada penelitian ini maka dapat disimpulkan bahwa kadar Cr<sup>+3</sup> sebanyak 2.23 ppm merupakan kadar optimum yang dapat diberikan dalam pakan ikan nila.

## PUSTAKA

- Anderson, D. P. dan A. K. Siwicki. 1993. **Basic Haematology and Serology for Fish Health Programs**. Second Symposium on Diseases in Asian Aquaculture "Aquatic Animal Health and the Environment". Phuket, Thailand, p. 1-24.
- Cefalu, W. T., Z. Q. Wang, X. H. Zhang, L. C. Baldor, and J. C. Russel. 2002. **Oral Chromium Picolinate Improved Carbohydrate and Lipid Metabolism and Enhances Skeletal Muscle Glut-4 Translocation in Obese, Hyperinsulinemic (JCR-LA Corpus-lent) rats**. J. Nutr., 132 : 1107-1114.
- Furuichi, M. 1988. **Fish Nutrition**, p. 1-78. In: **Fish Nutrition and Mariculture**. T. Watanabe (ed). JICA, Tokyo Univ. Fish.
- Groff, J. L. and S. S. Gropper. 2000. **Advanced Nutrition and Human Metabolism**. 3<sup>rd</sup> ed. Wadsworth-Thomson Learning, Belmont, USA, 584 pp.
- Hastuti, S. 2004. **Respons Fisiologis Ikan Gurami (*Oosphronemus gouramy*, Lac.) yang Diberi Pakan Mengandung Kromium-Ragi Terhadap Penurunan Suhu Lingkungan**. Disertasi, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. 104 hal.

- Matthews, J. O., A. D. Higbie, L. L. Southern, D. F. Coombs, T. D. Bidner, and R. L. Odgaard. 2003. **Effect of Chromium Propionate and Metabolizable Energy on Growth, Carcass Traits, and Pork Quality of Growing-Finishing Pigs.** J. Anim. Sci., 81 : 191-196.
- Mertz, W. 1993. **Chromium in Human Nutrition:** A review. J. Nutr., 123: 626-633.
- Mokoginta, I., T. Takeuchi, A. Hadadi and J. Dedi. 2004. **Different Capabilities in Utilizing Dietary Carbohydrate by Fingerling and Subadult Giant Gourami, *Osphronemus gouramy*.** Fish. Scien. 70: 996-1002.
- Steel, R. G. D. dan J. H. Torrie. 1993. **Prinsip dan Prosedur Statistik** (terjemahan). PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta. 748 hal.
- Subandiyono. 2004. **Efisiensi Pemanfaatan Karbohidrat Melalui Suplementasi Kromium Ragi dalam Pakan Ikan Gurami (*Osphronemus gouramy*, Lac.).** Disertasi, SPs, Institut Pertanian Bogor. 89 hal.
- Takeuchi, T. 1988. **Laboratory Work, Chemical Evaluation of Dietary Nutritions.** In: **Fish Nutrition and Mariculture**, T. Watanabe (ed). JICA, Tokyo Univ. Fish.
- Tung, P. H. and S.Y. Shiao. 1991. **Effect of Meal Frequency on Growth Performance of Hybrid Tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*, Fed Different Carbohydrate Diets.** Aquaculture, 92: 343-350.
- Vincent, J. B. 2000. **The Biochemistry of Chromium.** J. Nutr., 130: 715-718.
- Watanabe, T., V. Kiron, S. Satoh. 1997. **Trace mineral in Fish Nutrition.** Aquaculture, 151: 185-207.
- Wedemeyer, C. D and W. T. Yasutake. 1977. **Clinical Methods for The Assessment Stress on Fish Health.** Technical Paper of The U.S. Fish and Wildlife Service, Vol. 89. U.S. Department of The Interior Fish and Wildlife Service, Washington, D.C. USA, 18 pp.
- Wilson, R. P. 1944. **Utilization of Dietary Carbohydrate by Fish.** Aquaculture, 124: 67-80.