

PENGARUH BERBAGAI SUMBER KAROTENOID TERHADAP PERUBAHAN WARNA IKAN BOTIA (*Botia macracantha*)

oleh:
Syahrona Husni Nasution

ABSTRACT

The effect of different carotenoid sources on colour changes, growth, and survival rate of Botia has been studied. The fishes were reared and fed with carotenoid from carrot (1:1); krill (1:1); and astaxanthin (1:500) supplemented to the basal diet. The observation was carried out every 15 h days interval for 75 days, using Toka Colour Standard to match the change of fish colour. It shows that astaxanthin gave the highest yellow and red colour changes, followed by krill, carrot, and control respectively, whereas black colour does not differ significantly. Krill diet showed the highest growth rate of Botia body weight, then followed by astaxanthin, control, and carrot respectively. The survival rate was 96,5 %.

Keywords : Carotenoid, colour, diet, Botia.

ABSTRAK

Penelitian pengaruh pemberian karotenoid dari berbagai sumber terhadap perubahan warna, pertumbuhan, dan kelangsungan hidup ikan Botia telah dilakukan. Ikan diberi pakan dengan berbagai sumber karotenoid yang berasal dari wortel (1:1), rebon (1:1), astaxanthin (1:500) yang ditambahkan ke dalam pakan dasar. Pengamatan dilakukan setiap 15 hari selama 75 hari, standar warna yang digunakan adalah warna-warna dari Toka Colour Standard. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sumber karotenoid yang memberikan urutan perubahan warna terbaik adalah astaxanthin, rebon, wortel, dan kontrol untuk warna merah dan kuning. Sedangkan warna hitam tidak memberikan perbedaan yang nyata. Laju pertumbuhan ikan pada pakan yang ditambahkan rebon paling tinggi dibandingkan yang lain, kemudian diikuti pakan yang ditambahkan astaxanthin, kontrol, dan wortel. Kelangsungan hidup ikan selama penelitian adalah 96,5 %.

Kata kunci: Karotenoid, warna, pakan, ikan Botia

PENDAHULUAN

Ikan Botia (*Botia macracantha*) adalah salah satu jenis ikan hias asli Indonesia. Ikan ini memiliki warna yang indah dengan tiga buah garis hitam yang membujur pada tubuhnya yang kuning kemerahan, selain itu sirip dada, sirip ekor, dan sirip perut berwarna merah. Warna-warna yang mencolok pada ikan hias merupakan sesuatu yang sangat diperhatikan oleh para peternak/penggemar ikan hias karena

memiliki daya tarik tersendiri. Untuk mempertahankan warnanya yang indah ini, perlu diberikan pakan yang mendukung penampilan warnanya.

Warna ikan *Botia* sangat menarik, namun selama pemeliharaan dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti pakan, lingkungan, dan umur ikan dapat menyebabkan warna menjadi pudar (Simpson *et al.*, 1981).

Di alam warna ikan timbul disebabkan tersedianya karotenoid yang berasal dari makanan alami (Simpson *et al.*, 1981). Pada ikan yang dipelihara, sumber karotenoid yang berasal dari pakan buatan relatif sedikit, hal ini diduga berpengaruh terhadap penampakan warna ikan.

Warna pada ikan ditentukan oleh sel pigmen yang disebut kromatofor. Berdasarkan pigmen yang dikandungnya, kromatofor dibedakan menjadi melanofora (coklat/hitam), eritrofora (merah), xantofora (kuning) dan leukofora (putih). Pigmen berwarna kuning dan merah banyak terdapat dalam karotenoid. Karotenoid tidak dapat disintesa dalam tubuh hewan, sehingga harus ditambahkan ke dalam pakan. Karotenoid banyak disimpan dalam jaringan daging dan kulit (Fuji dalam Hoar & Randal, 1969).

Beberapa studi menunjukkan bahwa dengan menambahkan jenis crustacea dan sisa-sisa pengolahan crustacea dapat memicu pigmentasi pada ikan Rainbow trout (*Salmo gairdneri*), Atlantik Salmon (*S. salar*), dan Sea trout (*S. trutta*) (Saito & Regier, 1971; Ibrahim *et al.*, 1984; Torrissen, 1985; Boonyaratpalin & Phromkonthong, 1986). Alga spirulina (Choubert, 1979), dan *Antarctic krill/rebon* (*Euphausia superba*) diteliti sebagai sumber astaxanthin (Miki *et al.*, 1983; Yamaguchi *et al.*, 1983). Sedangkan minyak rebon telah berhasil digunakan untuk memperbaiki warna daging ikan *red sea bream* dan *yellowtail* (Fujita *et al.*, 1983a,b; Miki *et al.*, 1985).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian pakan yang mengandung berbagai sumber karotenoid terhadap perubahan warna, pertumbuhan, dan kelangsungan hidup ikan *Botia*. Dari penelitian ini diharapkan dapat menghasilkan kualitas/penampakan warna yang lebih kontras dan cemerlang. Penelitian ini berlangsung selama 75 hari (Nopember 1995 - Januari 1996).

BAHAN DAN METODE

Ikan *Botia* dengan bobot rata-rata 2,7 gram dipelihara pada akuarium berukuran 60x30x30 cm menggunakan sistem resirkulasi dengan kepadatan 10 ekor per akuarium. Menurut Hadiyati (1991) pemeliharaan anakan ikan *Botia* pada sistem perairan tertutup sangat cocok karena mortalitasnya nol. Selanjutnya setiap akuarium ditutup dengan plastik hitam yang berfungsi untuk mengurangi stres pada ikan terhadap lingkungan sekitarnya. Ke dalam tiap akuarium diletakkan paralon ukuran 1½ inci sepanjang ± 20 cm yang berfungsi sebagai *shelter* /naungan.

Ikan diberi pakan buatan yang diperkaya dengan berbagai sumber karotenoid; yaitu wortel dengan perbandingan 1:1, rebon 1:1 (masing-masing 500 gram wortel atau rebon dalam 500 gram pakan dasar). Sedangkan astaxanthin 1:500 (1 gram astaxanthin dalam 500 gram pakan dasar) (Satiyani *dkk.*, 1993) dan sebagai kontrol

diberikan pakan buatan tanpa penambahan sumber karotenoid.

Pemberian wortel atau rebon dengan pakan 1:1 dilakukan atas dasar sumber karotenoid yang ditambahkan tersebut masih berupa bahan kasar/*raw material*. Pada pemeriksaan pendahuluan tentang kandungan karotenoid rebon dan wortel sulit untuk mengetahui kandungan astaxanthin dalam bahan tersebut (Tabel 1). Untuk itu pada penelitian kali ini hanya melakukan pengujian pada taraf bahan kasar. Penelitian lebih lanjut akan dilakukan dengan menggunakan hasil ekstraksi masing-masing bahan.

Tabel 1. Hasil Analisis Kandungan Karotenoid Awal Menggunakan HPLC

Parameter	Kandungan Karotenoid ($\mu\text{g}/100\text{ g}$)		
		β	Total
Pakan	ttd	ttd	ttd
Wortel	10,1	1.217,7	1.227,8
Rebon	ttd	2,4	2,4
Ikan	ttd	109,4	109,4

Keterangan : ttd = tidak terdeteksi

Pakan diberikan satu kali sehari sebanyak 3-6 % bobot badan pada siang hari karena ikan botia aktif makan pada saat tersebut. Pemberian pakan satu kali sehari ini mengakibatkan pertumbuhan yang paling optimal dari segi penambahan bobot ikan (Rachmatika, 1991).

Parameter yang diamati adalah perubahan warna yang terjadi dengan menggunakan standar warna-warna dari *Toka Colour Standard* yang sudah diberi skor (nilai). Pengamatan dilakukan dengan mencocokkan warna ikan dengan warna standar oleh paling sedikit dua orang (peneliti/teknisi). Agar hasil pengamatan dapat dianalisis secara statistik, maka warna awal ikan diberi nilai nol (0), sedangkan tahap perubahan warna ke arah yang lebih kontras diberi nilai 1, 2, 3 dan seterusnya.

Hasil pengamatan perubahan warna ikan tersebut diuji dengan menggunakan analisis keragaman (*analysis of varians*, ANAVA). Rancangan percobaan yang dipergunakan adalah Rancangan Acak Blok (Sudjana, 1982) dengan empat perlakuan (pakan kontrol, pakan+wortel, pakan+rebon, dan pakan+astaxanthin) dan lima blok berupa periode pengamatan dalam selang waktu 15 hari. Sedangkan pertumbuhan ikan dianalisis berdasarkan regresi persamaan garis.

Untuk mengetahui pertumbuhan ikan, dilakukan pengukuran bobot badan sebanyak 50 % dari jumlah total. Pengamatan dilakukan setiap 15 hari. Dihitung pula kelangsungan hidup (SR) dengan cara mencatat kematian ikan apabila ada. Sebagai data penunjang diuji kandungan karotenoid ikan pada tahap awal pengamatan dan masing-masing perlakuan pada akhir penelitian dengan metode Zakaria *et al.* (1979) menggunakan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) dengan kondisi column : Bondapak Tm C₁₈, 3.9x150 mm; *Injection volume*: 100 μl ; *Mobile phase*: (*Methanol:Asetonitrile:Dichlorometane* = 50:50:15); *Flow rate*: 1.0 ml/min; *Detectore*: Shimadzu at τ 450 nm and τ 472 nm. Parameter lain yang diamati adalah kualitas air.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Warna ikan Botia terdiri atas warna merah pada sirip (dada, perut dan ekor); kuning dan hitam pada badan, sehingga penilaian terhadap perubahan warna yang terjadi dilakukan berdasarkan warna-warna tersebut. Hasil analisis keragaman (ANOVA) masing-masing perlakuan pada warna-warna tubuh ikan dapat dilihat pada Tabel 2a-d. Pada tabel tersebut ditunjukkan bahwa pada warna merah dan kuning terjadi perubahan warna yang sangat nyata (pada taraf 0,01). Sedangkan pada warna hitam masing-masing perlakuan perubahannya tidak berbeda nyata.

Tabel 2a. ANOVA Masing-masing Perlakuan pada Warna Merah Sirip Dada Ikan Botia

Sumber keragaman	dk	JK	RJK	F	F Tabel
Rata-rata	1	29,1	29,1		
Blok (hari)	4	0,1	0,03		
Perlakuan (makanan)	3	0,9	0,27	11,3	3,9
Kekeliruan	12	0,4	0,02	**	6,9
Jumlah	20	30,5			

Keterangan : ** = Sangat Berbeda Nyata
($\alpha 0,01$)

Tabel 2b. ANOVA Masing-masing Perlakuan pada Warna Merah Sirip Ekor dan Perut Ikan Botia

Sumber keragaman	dk	JK	RJK	F	F Tabel
Rata-rata	1	25,2	25,22		
Blok (hari)	4	1,5	0,37		
Perlakuan (makanan)	3	3,2	1,06	23,3	3,9
Kekeliruan	12	0,5	0,05	**	6,9
Jumlah	20	30,5			

Keterangan : ** = Sangat Berbeda Nyata
($\alpha 0,01$)

Tabel 2c. ANOVA Masing-masing Perlakuan pada Warna Kuning di Badan Ikan Botia

Sumber keragaman	dk	JK	RJK	F	F Tabel
Rata-rata	1	109,3	109,3		
Blok (hari)	4	5,4	1,3		
Perlakuan (makanan)	3	4,5	1,5	7,0	3,9
Kekeliruan	12	2,6	0,2	**	6,9
Jumlah	20	30,5			

Keterangan : ** = Sangat Berbeda Nyata
($\alpha 0,01$)

Tabel 2d. ANAVA Masing-masing Perlakuan pada Warna Hitam di Badan Ikan Botia

Sumber keragaman	dk	JK	RJK	F	F Tabel
Rata-rata	1	346,2	346,2		
Blok (hari)	4	14,9	3,7		
Perlakuan (makanan)	3	2,7	0,9	2,6	3,9
Kekeliruan	12	4,1	0,3	**	6,9
Jumlah	20	30,5			

Keterangan : ** = Sangat Berbeda Nyata
($\alpha 0,01$)

Berdasarkan hasil ANAVA di atas, dapat dikatakan bahwa terjadi perbedaan warna merah dan kuning yang sangat nyata pada masing-masing perlakuan. Perubahan warna ikan mulai terjadi pada periode pertama (selang 15 hari pengamatan) dan berfluktuasi dari periode pertama sampai periode terakhir pengamatan (Gambar 1a-d). Hal ini berkaitan dengan sifat ikan Botia. Ikan Botia tergolong ikan yang tidak terus menerus makan (*incontinuous feeder*) (Rachmatika, 1991), sehingga karotenoid yang berasal dari pakan sedikit diserap dalam tubuhnya. Secara visual teramati bahwa ikan Botia akan bersembunyi di bawah/di dalam paralon apabila tidak melakukan aktivitas mencari makan. Namun demikian pada akhir pengamatan semua ikan telah berubah warna, minimal terjadi satu tahap perubahan warna. Masing-masing perlakuan menunjukkan perbedaan kecepatan dalam perubahan warna ikan. Urutan perubahan tertinggi warna merah dan kuning pada masing-masing perlakuan adalah astaxanthin, rebon, wortel dan kontrol.

Menurut Simpson *et al.* (1981) & Latscha (1990), astaxanthin merupakan pigmen yang tergolong dalam karotenoid yang berpengaruh pada penampakan warna kuning dan merah. Pemberian astaxanthin sebagai sumber karotenoid pada pakan ikan sangat efektif untuk menghasilkan warna merah dan kuning yang lebih kontras pada tubuh ikan. Pada Gambar 1a-d tersebut, terlihat pula kecepatan perubahan warna ikan pada perlakuan astaxanthin lebih cepat dibandingkan perlakuan lainnya.

Pada Tabel 3 ditunjukkan hasil analisis kandungan karotenoid ikan Botia pada akhir penelitian. Berdasarkan tabel tersebut kandungan β dan karotenoid total tertinggi dijumpai pada perlakuan astaxanthin. Namun demikian kandungan astaxanthin tertinggi dijumpai pada perlakuan rebon.

Tabel 3. Hasil Analisis Kandungan Karotenoid pada Ikan Botia Menggunakan HPLC

Parameter yang diamati	Kandungan Karotenoid ($\mu\text{g}/100 \text{ g}$)			
	α	β	Astax	Total
Tubuh ikan Botia awal	ttd	109,4	ttd	109,4
Tubuh ikan Botia-kontrol	118,5	105,3	26,6	250,4
Tubuh ikan Botia-Wortel	116,1	257,7	86,2	510,0
Tubuh ikan Botia-Rebon	128,5	102,7	127,8*	359,0
Tubuh ikan Botia-Astax	270,3*	269,7*	95,1	635,1*

Keterangan : ttd = tidak terdeteksi * = tertinggi

Hal ini menjadikan pertanyaan mengapa perubahan warna merah dan kuning lebih tinggi terjadi pada perlakuan astaxanthin, sedangkan kandungan astaxanthinnya lebih rendah dari pada perlakuan rebon. Diduga kandungan astaxanthin pada ikan yang diekstraksi dalam perlakuan rebon, meskipun terdapat dalam jumlah lebih banyak tetapi masih berbentuk kasar (terikat dalam jaringan rebon itu sendiri) sehingga pengaruhnya terhadap perubahan warna ikan sedikit di bawah hasil perlakuan astaxanthin. Kandungan karotenoid total pada ikan dengan perlakuan wortel lebih tinggi daripada perlakuan rebon (Tabel 3), namun perubahan warna pada perlakuan wortel lebih rendah daripada perlakuan rebon (Gambar 1a-d). Hal ini diduga karotenoid hewani lebih mudah diserap oleh ikan *Botia* daripada karotenoid nabati.

Kandungan astaxanthin dan karotenoid total pada masing-masing perlakuan (kontrol, wortel, rebon dan astaxanthin) jauh lebih tinggi dibandingkan kandungan ikan sebelum diberi perlakuan. Hal di atas membuktikan bahwa astaxanthin dan karotenoid yang berasal dari pakan sebagian diendapkan dalam tubuh ikan yang merupakan sumber pigmen ikan. Peningkatan warna merah pada ikan *Botia* disebabkan oleh astaxanthin yang terdapat dalam pakan ikan. Sedangkan peningkatan warna kuning merupakan hasil pigmen lutein. Lutein pada ikan *Botia* diduga berasal dari astaxanthin. Ikan *Botia* merupakan jenis ikan yang dapat mengubah karotenoid lain seperti astaxanthin menjadi warna dasar lutein seperti kemampuan kebanyakan ikan air tawar (Tanaka *et al.*, 1976; Simpson *et al.*, 1981; dan Satiyani *dkk.*, 1993).

Pada warna hitam perubahan warna masing-masing perlakuan tidak berbeda nyata, namun demikian bukan berarti tidak terjadi perubahan warna. Perubahan warna hitam sampai dengan akhir pengamatan terjadi hingga lima tahap. Secara statistik perubahannya dianggap sama. Perubahan warna hitam diakibatkan oleh pigmen melanin yang merupakan penguraian dari metabolisme asam amino tertentu (Lagler *et al.*, 1962). Hal ini mengakibatkan warna hitam tidak berbeda karena diduga sumber asam amino pada masing-masing perlakuan relatif tinggi.

Pertumbuhan ikan *Botia* dapat dilihat dari koefisien kemiringan garis regresi masing-masing perlakuan (Gambar 2). Berdasarkan nilai koefisien kemiringan garis (Laju Pertumbuhan Harian, LPH), urutan laju pertumbuhan harian ikan *Botia* adalah sebagai berikut: rebon (0,03 g/hari), astaxanthin (0,02 g/hari), kontrol (0,02 g/hari), dan wortel (0,01 g/hari). Laju pertumbuhan ikan *Botia* yang diberi pakan dengan menambahkan rebon memberikan laju pertumbuhan yang paling tinggi. Hal ini disebabkan kandungan nutrisi pada rebon (khususnya asam lemak tak jenuh) sangat tinggi. Diet yang berasal dari lemak rebon memberikan laju pertumbuhan yang paling tinggi. Hal ini diduga berhubungan dengan kandungan total w_3 dan w_6 yang lebih tinggi dari pada diet yang lain (Husni 1992 dan 1994).

Pada pakan ditambah astaxanthin dan kontrol, laju pertumbuhannya sama. Hal ini dapat dipahami karena astaxanthin bukan termasuk dalam golongan asam lemak esensial maupun protein yang berpengaruh terhadap pertumbuhan. Sehingga pertumbuhan ikan yang diberi pakan ditambah astaxanthin sama dengan ikan yang diberi pakan kontrol. Sedangkan pada pakan yang ditambahkan wortel (1:1) laju pertumbuhannya paling rendah. Diduga penambahan wortel 1:1 pada pakan menambah kandungan karotenoid total tetapi mengurangi kandungan protein pakan tersebut. Sehingga laju pertumbuhan ikan yang diberi pakan tersebut lebih lambat

dibandingkan yang lain.

Kematian ikan selama pengamatan relatif kecil. Pada periode ketiga sampai periode terakhir pengamatan jumlah total kematian ikan hanya empat ekor. Dengan demikian nilai kelangsungan hidup (*Survival Rate*, SR) ikan Botia pada akhir pengamatan adalah 96,5%. Tingginya nilai SR dimungkinkan akibat kualitas pakan yang diberikan cukup baik karena terbukti kematian ikan terjadi dalam jumlah yang relatif kecil. Disamping itu ditunjang oleh kualitas air selama pengamatan masih dalam kondisi yang baik (Tabel 4). Pada tabel tersebut tampak bahwa kondisi Suhu, pH, Oksigen terlarut, Amoniak, dan Nitrit dalam bak pemeliharaan masih dalam ambang toleransi kehidupan ikan. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa kualitas air sangat menunjang hasil pengamatan yang diperoleh.

Tabel 4. Kisaran Kualitas Air Selama Pengamatan

Parameter	Inlet filter		Outlet filter		Bak pemeliharaan	
	minimal	maximal	minimal	maximal	minimal	maximal
Suhu ° C	28,00	30,00	28,80	30,80	28,00	29,30
pH	5,00	6,10	5,30	6,20	5,70	6,20
DO (ppm)	2,00	5,60	2,20	4,80	4,50	5,60
N-NH ₃ (ppm)	0,000087	0,000886	0,000130	0,001840	0,000152	0,001142
N-NH ₂ (ppm)	0,085	0,165	0,016	0,141	0,018	0,168

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil pengamatan didapatkan perubahan warna ikan Botia terjadi pada seluruh perlakuan pakan yang diberikan dan pada seluruh warna tubuh ikan. Pada warna merah dan kuning, pakan yang ditambahkan astaxanthin menghasilkan perubahan warna tertinggi (lebih kontras) dibandingkan pakan yang lain. Kemudian diikuti oleh pakan yang ditambahkan rebon, wortel dan kontrol. Sedangkan pada warna hitam, masing-masing perlakuan memberikan nilai perubahan warna yang sama.

Pertumbuhan ikan Botia diukur dari Laju Pertumbuhan Harian (LPH), didapatkan bahwa pada ikan yang diberi pakan dengan menambahkan rebon menghasilkan LPH tertinggi (0,03 g/hari). Sedangkan pakan kontrol dan pakan yang ditambahkan astaxanthin LPH-nya masing-masing adalah 0,02 g/hari dan terendah pada ikan yang diberi pakan yang ditambahkan wortel sebesar 0,01 g/hari.

Kematian ikan selama pengamatan relatif rendah. Hal ini didukung oleh kualitas pakan yang diberikan dan kualitas air selama penelitian. Kelangsungan hidup ikan selama penelitian adalah 96,5 %

Berdasarkan hasil analisis kandungan karotenoid didapatkan kandungan astaxanthin rebon jauh lebih tinggi dari pada wortel. Atas dasar tersebut penelitian selanjutnya akan ditentukan rebon sebagai sumber astaxanthin. Sedangkan untuk meningkatkan efektivitas perubahan warna akan dibandingkan antara rebon kasar dengan rebon hasil ekstraksi.

DAFTAR PUSTAKA

- Boonyaratpalin M. & Phromkunthong, W., 1986. Effects of Carotenoid Pigments from Different Sources on Colour Changes of Fancy carp, *Cyprinus carpio* Linn. J. Sci. Technol. 8(1):11-20.
- Choubert G. Jr., 1979. Tentative Utilization of *Spirulina* algae as a Source of Carotenoid Pigments for Rainbow trout. Aquaculture. 18:135-143.
- Fujita, T., M. Satake, S. Hikichi, M. Takeda, S. Shimeno, H. Kuwabara, W. Miki, K. Yamaguchi, and S. Konosu. 1983a. Pigmentation of Cultured Yellowtail with Krill Oil. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 49:1595-1600.
- Fujita T., M. Satake, T. Watanabe, C. Kitajima, W. Miki, K. Yamaguchi, & S. Konosu, 1983b. Pigmentation of Cultured Red Sea bream with Astaxanthin Diester Purified from Krill Oil. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 49:1855-1861.
- Hadiyati R.K., 1991. Anakan Ikan Botia pada Sistem Perairan Tertutup. Prosiding Seminar Hasil Penelitian dan Pengembangan Sumber Daya Hayati 1990/1991. Pusat Penelitian dan Pengembangan Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. 177-181.
- Hoar W.S. & D.J. Randall. 1969. Fish Physiology: Reproduction and Growth Bioluminescence, Pigments, and Poisons. Vol. III. Academic Press, New York, A Subsidiary of Harcourt Brace Jovanovich Publisher. 307-353.
- Husni S., 1992. Effect of Polyunsaturated Fatty Acid on Growth of *Penaeus japonicus* Juvenile. Biologi Perairan Darat, BIO AIR No. 4. Balitbang Biologi Perairan, Pusat Penelitian dan Pengembangan Limnologi - Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Bogor. 27-32.
- _____, 1994. Korelasi Kandungan Asam Lemak W6 dan W3 pada Pakan dan Udang. LIMNOTEK, Perairan Darat Tropis. Pusat Penelitian dan Pengembangan Limnologi - Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Bogor. 2(1):29-32.
- Ibrahim A., C. Shimizu, & M. Kono, 1984. Pigmentation of Cultured Red sea bream (*Chrysophrys major*) using Astaxanthin from Antarctic krill (*Euphausia superba*), and a Mysid (*Neomysis* sp.). Aquaculture. 38:45-57.
- Lagler, K.F.; J.E. Bardach & R.R. Miller. 1962. Ichthyology: The Study of Fishes. John Willey and Sons, Inc. New York. 421 pp.
- Latscha, T. 1990. Carotenoids, Their Nature and Significance in Animal Feeds. F. Hoffman, La Roche Ltd. Basel Switzerland. 110 pp.

- Miki W.; N. Toriu; T. Kondo; M. Murakami; K. Yamaguchi; S. Konosu; M. Satake; & T. Fujita. 1983. The Stability of Carotenoid Pigments in the Antarctic krill (*Euphausia superba*). Bull.Jpn.Soc.Sci.Fish. 49:1417-1420.
- Miki W.; K. Yamaguchi; S. Konosu; T. Takane; M. Satake; T. Fujita; H. Kuwabara; S. Shimano; & M. Takeda. 1985. Origin of Tunaxanthin in The Integument of Yellowtail (*Seriola quinqueradiata*). Comp.Biochem.Physiol. 80B:195-201.
- Rachmatika I., 1991. Pengaruh Frekuensi Pemberian Pakan Cacing Tubifex untuk *Botia macracantha* dalam Sistem Aliran Tertutup. Prosiding Seminar Hasil Penelitian dan Pengembangan Sumber Daya Hayati 1990/1991. Pusat Penelitian dan Pengembangan Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. 183-187.
- Saito A. & L.W. Regier. 1971. Pigmentation of Brook trout (*Salvelinus fontinalis*) by Feeding Dried Crustacean Wastes. J.Fish.Res.Board Can. 28:509-512.
- Satiyani D., S. Sumastri, & O. Komarudin. 1993. Peningkatan Kualitas warna Ikan Botia dengan Astaxanthin dalam Pakan Buatan. Prosiding Seminar Hasil Penelitian Perikanan Air Tawar 1992/1993. Balai Penel.Perik.Air Tawar, Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan, Balitbang Pertanian. 253-256.
- Simpson K.L., T. Katayama & C.O. Chichester. 1981. Carotenoid in Fish Feed, *In: Carotenoid as Colorants and Vitamin A Precursors*, Academic Press, Publishers, New York-San Francisco. Sterba G. 1983. The Aquarist's Encyclopedia, Blankford Books Ltd., Dorset, England. 102-103.
- Sudjana M.A. 1982. Disain dan Analisis Eksperimen. Penerbit Tarsito, Bandung. 285 p.
- Tanaka Y., T. Katayama, K.L. Simpson, & C.O. Chichester., 1976. The Biosynthesis of Astaxanthin and The Metabolism of Carotenoid in Goldfish. Bull.Jpn.Soc.Sci.Fish. 42(8):885-891.
- Torrissen O.J., 1985. Pigmentation of Salmonids: Factor Affecting Carotenoid Deposition in Rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Aquaculture. 46:133-142.
- Yamaguchi K., W. Miki, N. Toriu, Y. Kondo, M. Murakami, S. Konosu, M. Satake, & T. Fujita. 1983. The Composition of Carotenoid Pigments in the Antarctic krill (*Euphausia superba*). Bull.Jpn.Soc.Sci.Fish. 49:1411-1415.
- Zakaria M. & K. Simpson. 1979. Use of Reversed Phase High Performance Liquid Chromatographic Analysis for the Determination of Provitamin A Carotenes in Tomatoes. J. Chromat. 176:109-117.