

Suplementasi *crude* enzim cairan rumen domba pada pakan berbasis sumber protein nabati dalam memacu pertumbuhan ikan nila (*Oreochromis niloticus*)

[Liquid rumen crude enzyme supplementation in the plant protein based diet on growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)]

M. Agus Suprayudi✉, Wastu Dimahesa, Dedi Jusadi, Mia Setiawati, Juli Ekasari

Departemen Budi Daya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB

✉ Jln. Agatis Kampus IPB Dramaga, 16680 Bogor

e-mail: agus_kikit@yahoo.com

Diterima: 17 Mei 2011; Disetujui: 13 Desember 2011

Abstrak

Penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi pengaruh suplementasi *crude* enzim cairan rumen pada pakan berbasis protein nabati terhadap kinerja pertumbuhan ikan nila (*Oreochromis niloticus*). Ikan yang digunakan dalam penelitian ini adalah juwana ikan nila yang berukuran $6,10 \pm 0,49$ g. Ikan dipelihara dalam akuarium berukuran $35 \times 40 \times 50$ cm³ dengan kepadatan delapan ekor per akuarium, yang dilengkapi dengan sistem resirkulasi selama 54 hari. Ikan diberi pakan sampai kenyang dengan frekuensi tiga kali sehari. Empat macam pakan yang digunakan dalam penelitian ini memiliki kadar protein dan energi yang sama yakni 28% dan 4.050 kkal GE kg⁻¹ dan berbeda pada jumlah penambahan *crude* enzim cairan rumen domba (*crude enzyme*) yakni 0 ml kg⁻¹ (pakan A), 200 ml kg⁻¹ (pakan B), 400 ml kg⁻¹ (pakan C) dan 600 ml kg⁻¹ (pakan D). Konsumsi pakan, efisiensi pakan, laju retensi protein, retensi lemak, pertumbuhan harian, dan kelangsungan hidup digunakan sebagai parameter yang diuji. Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap dengan empat perlakuan dan setiap perlakuan diulang tiga kali. Hasil penelitian ini memperlihatkan bahwa penambahan *crude* enzim cairan domba memberi pengaruh yang nyata terhadap efisiensi pakan, retensi protein dan retensi lemak ikan nila ($p < 0,01$). Adapun nilai kelangsungan hidup, laju pertumbuhan spesifik dan konsumsi pakan terlihat tidak berbeda akibat adanya penambahan *crude* enzim tersebut. Penambahan enzim sebanyak 200 ml kg⁻¹ memberikan hasil yang terbaik terhadap kinerja pertumbuhan ikan nila.

Kata penting: *crude* enzim, *Oreochromis niloticus*, pertumbuhan, protein nabati.

Abstract

This research was conducted to evaluate the effect of supplementation of crude enzyme from rumen fluid in the natural protein-based diet for the growth performance of Nile tilapia. The weight average of Nile tilapia juvenile which used in this research was 6.10 ± 0.49 g. The fish were reared in the aquarium with measuring $35 \times 40 \times 50$ cm³ with a density of eight fish per aquarium for 54 days. Aquariums equipped with recirculation system. Fish were fed *ad libitum* three times a day. Four types of feed that used in this research have the similar protein content (28% and 4,050 kcal GE kg⁻¹). All feed were supplemented with different level of crude enzyme namely 0 ml kg⁻¹ (diet A), 200 ml kg⁻¹ (diet B), 400 ml kg⁻¹ (diet C) and 600 ml kg⁻¹ (diet D). Food consumption, feed efficiency, protein retention rate, lipid retention, daily growth, and survival rate were used as parameters tested. Research design was complete randomized block design with four treatments and each of the treatment with three replications. Research results showed that supplementation of crude enzyme from rumen fluid have significant effect on feed efficiency, protein retention and lipid retention of Nile tilapia ($p < 0.01$). The effect of crude enzyme supplementation was not significant on survival rate, specific growth and feed consumption, but supplementation of 200 ml kg⁻¹ crude enzyme showed the best effect on the growth performance of Nile tilapia.

Keywords: crude enzyme, *Oreochromis niloticus*, growth, plant protein.

Pendahuluan

Pada budi daya ikan air tawar secara intensif, pakan buatan memiliki kontribusi biaya produksi terbesar yakni dapat mencapai 50-60% (Rana *et al.*, 2009; CIFA, 2011). Harga pakan sangat ditentukan oleh bahan baku penyusun pakan. Selama ini pakan ikan umumnya masih ber-

tumpu pada tepung ikan, hasil sampingan dari kegiatan peternakan, tepung daging dan tulang sebagai sumber protein utama. Penurunan produksi tepung ikan dan meningkatnya permintaan tepung ikan menyebabkan terjadinya peningkatan harga tepung ikan secara signifikan (Hernandez *et al.*, 2008). Oleh karena itu perlu dicari ba-

han pakan alternatif untuk menggantikan atau mengurangi penggunaan tepung ikan. Kriteria yang harus dipenuhi bahan pakan alternatif tersebut adalah memiliki nutrisi yang dibutuhkan ikan dalam jumlah yang cukup, lebih murah, bahan baku tersedia dalam jumlah besar, tidak berkompetisi dengan kebutuhan manusia dan terjamin kontinuitasnya.

Hasil sampingan agroindustri umumnya dapat memenuhi kriteria tersebut karena tersedia dalam jumlah besar, tidak berkompetisi dengan kebutuhan manusia, kontinuitasnya terjamin dan harga yang relatif murah. *Distiller Dried Grains With Solubles* (DDGS) dan *Palm Kernel Meal* (PKM) adalah hasil sampingan agroindustri yang memenuhi kriteria tersebut. DDGS adalah hasil sampingan pada proses pembuatan bioetanol yang sebagian besar berasal dari jagung. PKM adalah hasil sampingan pada proses pembuatan minyak kelapa sawit.

Pemanfaatan PKM dan DDGS sebagai bahan baku pakan dibatasi penggunaannya, karena kandungan serat kasar yang tinggi yakni berkisar antara 18,27-20,79% (Hertrampf & Pascual, 2000). Selanjutnya dikemukakan bahwa DDGS dapat berfungsi sebagai sumber protein maupun energi. Hambatan ini dikarenakan ikan tidak memiliki kemampuan untuk mencerna serat. Jika kandungan serat pada pakan lebih dari 10% maka dapat mengurangi pemanfaatan nutrisi yang ada di dalam pakan (Halver, 2002).

Salah satu usaha untuk mengatasi pencernaan serat yang rendah adalah penggunaan enzim eksogen untuk menghidrolisis serat tersebut. *Crude* enzim domba merupakan salah satu kompleks enzim yang memiliki aktivitas selulase dan hemiselulase sebesar $362,7 \pm 12,80$ dan $528,6 \pm 29,03$ IU ml⁻¹menit⁻¹) (Agarwal, 2003). Diharapkan penggunaan enzim yang berasal dari isi rumen dapat menghidrolisis serat kasar dalam

pakan yang menggunakan bahan nabati berserat tinggi, sehingga ketersediaan nutrisi dalam pakan menjadi lebih tinggi yang pada akhirnya akan meningkatkan pertumbuhan ikan. Berangkat dari latar belakang di atas, penelitian ini ditujukan untuk mengkaji efektifitas penambahan *crude* enzim yang terkandung dalam cairan rumen pada pakan berbasis sumber protein nabati untuk benih ikan nila.

Bahan dan metode

Ekstraksi crude enzim

Cairan rumen yang diambil diusahakan selalu dalam kondisi dingin; selanjutnya cairan rumen disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 20 menit pada suhu 4 °C. Cairan (*supernatant*) yang terbentuk dapat diambil sebagai sumber *crude* enzim (Agarwal, 2003).

Pakan uji

Pakan yang digunakan pada penelitian ini memiliki kandungan protein dan energi yang sama yakni 30% dan 400 kkal 100 g⁻¹ pakan, namun berbeda dalam penambahan *crude* enzim ke dalam pakan. Pakan A tidak dilakukan penambahan enzim, sedangkan pakan B, C, dan D ditambahkan enzim masing-masing sebesar 200, 400, dan 600 ml kg⁻¹ pakan. Pakan yang sudah dicampur *crude* enzim cairan rumen difermentasikan selama 24 jam sebelum dibuat menjadi pelet. Keseluruhan komposisi pakan dan hasil analisis proksimatnya disajikan pada Tabel 1.

Pemeliharaan ikan dan pengumpulan data

Hewan uji yang digunakan adalah ikan nila *Oreochromis niloticus* yang berasal dari Sempur, Bogor dengan bobot rata-rata awal $6,10 \pm 0,49$ g dan ditebar dengan kepadatan delapan ekor dalam akuarium berukuran 35x40x50 cm³ dengan volume air 60 l. Akuarium ditata mem-

Tabel 1. Komposisi pakan perlakuan (%)

Bahan Baku	Perlakuan			
	A (0)	B (200)	C (400)	D (600)
Hewani : <i>Poultry by product meal</i> (PBM)	8	8	8	8
Nabati : <i>Distiller Dried Grains Soluble</i> (DDGS), tepung bungkil kelapa sawit, tepung bungkil kedelai & <i>pollard</i>	88,7	88,7	88,7	88,7
Minyak ikan dan jagung	1	1	1	1
Vitamin dan mineral mix	0,3	0,3	0,3	0,3
<i>Feed additive</i>	1,5	1,5	1,5	1,5
<i>Carboxy methyl cellulose</i>	0,5	0,5	0,5	0,5
Ekstrak <i>crude</i> enzim (ml kg ⁻¹)	0	200	400	600
TOTAL (%)	100	100	100	100
Proksimat pakan (% bobot kering)				
Protein	29,02	29,71	29,43	33,24
Lemak	10,36	10,46	10,56	10,62
Bahan ekstrak tanpa nitrogen (BETN)	36,98	37,75	36,31	29,19
Abu	8,29	7,95	7,83	8,25
Serat kasar	10,88	9,84	9,57	9,45
GE (kkal 100 g ⁻¹ pakan)*	405,1	415,0	405,5	405,8

*GE = gross energi protein 5,4 kkal g⁻¹, lemak 9,1 kkal g⁻¹, BETN 4,1 kkal g⁻¹ (Watanabe, 1988)

bentuk suatu sistem resirkulasi yang dilengkapi dengan filter fisik berupa zeolit dan kapas; sedangkan filter biologi berupa *bioball* dan satu buah bak fiber sebagai tandon.

Ikan dipelihara selama 54 hari dan dilakukan sampling bobot biomassa awal dan akhir. Pakan diberikan hingga kenyang (*ad libitum*) dengan frekuensi pemberian tiga kali sehari yakni pukul 08.00 WIB, pukul 12.00 WIB, dan pukul 16.00 WIB. Jumlah konsumsi pakan (JKP) diperoleh dengan menghitung jumlah pakan yang dikonsumsi setiap hari.

Analisis kimia

Analisis proksimat yang dilakukan meliputi analisis protein, lemak, kadar air, kadar abu, dan serat kasar. Analisis proksimat dilakukan terhadap bahan penyusun pakan, pakan uji, tubuh awal dan akhir ikan. Analisis protein dilakukan dengan metode Kjeldahl, analisis lemak pakan menggunakan metode ekstraksi dengan alat Soxhlet, analisis lemak ikan menggunakan metode Folch, kadar air dengan metode pengeringan

alam oven pada suhu 110±1 °C, kadar abu dengan pemanasan dalam tanur bersuhu 600 °C, dan serat kasar menggunakan metode pelarutan contoh dengan asam dan basa kuat. Analisis proksimat ini dilakukan dengan metode Takeuchi (1988).

Parameter uji

Jumlah konsumsi pakan ditentukan dengan menimbang pakan yang diberikan pada ikan uji setiap hari selama percobaan dilakukan. Pada akhir percobaan, pakan yang telah diberikan dijumlahkan dan dikurangi sisa pakan yang telah dikeringkan menjadi data konsumsi pakan. Laju sintasan (SR) dihitung berdasarkan persamaan yang dikemukakan Huisman (1987), yaitu:

$$SR (\%) = \frac{N_t}{N_0} \times 100$$

Ket.: N_t= jumlah ikan pada akhir penelitian (ekor);
N₀= Jumlah ikan pada awal penelitian (ekor).

Laju pertumbuhan spesifik ikan uji dihitung berdasarkan persamaan yang dikemukakan oleh Huisman (1987), yaitu:

$$\alpha = \left(\sqrt{\frac{W_t}{W_0}} - 1 \right) \times 100$$

Ket.: α = laju pertumbuhan spesifik (%); W_t = rata-rata bobot individu pada waktu akhir pemeliharaan (g); W_0 = rata-rata bobot individu pada waktu awal pemeliharaan (g); t = lama waktu pemeliharaan (hari).

Efisiensi pakan dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$EP = \left\{ \frac{[(W_t + D) - W_0]}{F} \right\} \times 100$$

Ket.: EP = Efisiensi pakan (%); F = jumlah pakan yang diberikan selama pemeliharaan (g); W_0 = biomassa ikan pada awal pemeliharaan (g); D = bobot ikan yang mati selama pemeliharaan (g); W_t = biomassa ikan pada waktu akhir pemeliharaan (g)

Nilai retensi lemak dihitung berdasarkan persamaan Takeuchi (1988), yaitu:

$$RL = \left\{ \frac{[F - I]}{L} \right\} \times 100$$

Ket.: RL = retensi lemak (%); F = jumlah lemak tubuh ikan pada akhir pemeliharaan (g); I = jumlah lemak tubuh ikan pada awal pemeliharaan (g); L = jumlah lemak yang dikonsumsi ikan (g).

Nilai retensi protein dihitung berdasarkan persamaan Takeuchi (1988) :

$$RP = \left\{ \frac{[F - I]}{P} \right\} \times 100$$

Ket.: RP = retensi protein (%); F = jumlah protein tubuh ikan pada akhir pemeliharaan (g); I = jumlah protein tubuh ikan pada awal pemeliharaan (g); P = jumlah protein yang dikonsumsi ikan (g).

Penelitian ini menggunakan rancangan percobaan berupa rancangan acak lengkap dengan tiga ulangan. Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan SPSS 16,0. Analisis ragam dilakukan pada tingkat kepercayaan 95%; sedangkan untuk melihat perbedaan perlakuan maka dilakukan uji lanjut dengan uji *Duncan*.

Hasil

Hasil penelitian mengenai sintasan, efisiensi pakan, retensi protein dan lemak serta laju pertumbuhan disajikan pada Tabel 2. Data me-

ngeni kelangsungan hidup memperlihatkan bahwa tidak ada perbedaan kelangsungan hidup antara ikan yang diberi pakan dengan dan tanpa *crude* enzim ($P > 0,05$). Hal yang sama juga terjadi pada nilai laju pertumbuhan spesifiknya. Berdasarkan data jumlah pakan yang dikonsumsi terlihat bahwa ikan yang diberi pakan tanpa penambahan enzim mengkonsumsi pakan lebih besar dibandingkan ikan yang diberi pakan dengan penambahan enzim (Pakan B, C, dan D) ($p < 0,05$), namun tidak ada perbedaan mengenai jumlah pakan yang dikonsumsi.

Selanjutnya data tentang efisiensi pakan dan retensi protein ikan yang diberi pakan tanpa penambahan enzim (66,7% dan 29,6%; pakan A; Tabel 2) lebih rendah jika dibandingkan dengan ikan yang diberi pakan dengan penambahan enzim (pakan B, C, dan D), namun perbedaan dosis enzim memberikan pengaruh yang nyata terhadap efisiensi pakan dan retensi protein ($p < 0,05$).

Nilai retensi lemak ikan yang diberi pakan D sama dengan ikan nila yang diberi pakan B, namun lebih tinggi jika dibandingkan dengan ikan yang diberi pakan C dan A. Ikan yang diberi pakan A memiliki nilai retensi lemak terendah dibandingkan semua perlakuan ($p < 0,05$).

Pembahasan

Penggunaan pakan berbasis bahan nabati tanpa penambahan *crude* enzim (pakan A) menyebabkan ikan mengonsumsi pakan yang lebih besar dibandingkan dengan yang diberi pakan dengan penambahan enzim. Perlakuan penambahan *crude* enzim 200 ml kg^{-1} , 400 ml kg^{-1} , dan 600 ml kg^{-1} tidak memberikan pengaruh yang berbeda pada jumlah konsumsi pakan ($p > 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa penambahan *crude* enzim pada pakan berperan dalam meningkatkan ketersediaan energi dan nutrisi dalam pakan

Tabel 2. Nilai rata-rata Jumlah konsumsi pakan (JKP), laju pertumbuhan spesifik (LPS), efisiensi pakan (EP), retensi protein (RP), retensi lemak (RL), dan laju sintasan (SR) serta simpangan bakunya selama 54 hari pemeliharaan

Parameter Uji	Pakan			
	A	B	C	D
Sintasan (%)	91,7 ± 7,2 ^a	87,5 ± 0 ^a	91,7 ± 7,22 ^a	100 ± 0 ^a
EP (%)	66,7 ± 2,12 ^a	74,0 ± 1,27 ^b	73,2 ± 1,65 ^b	75,1 ± 1,91 ^b
LPS (%)	3,6 ± 0,07 ^a	3,5 ± 0,21 ^a	3,6 ± 0,08 ^a	3,6 ± 0,33 ^a
RP (%)	29,6 ± 1,42 ^a	36,8 ± 1,25 ^b	38,4 ± 0,84 ^b	39,5 ± 2,74 ^b
RL (%)	33,7 ± 1,63 ^a	41,4 ± 4,64 ^{bc}	36,4 ± 0,77 ^b	40,9 ± 2,79 ^c
KP (g)	353,0 ± 2,8 ^a	338,0 ± 10,1 ^b	331,0 ± 14,9 ^b	340 ± 2,1 ^b

Keterangan:

Huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan pengaruh perlakuan yang berbeda nyata $p < 0,05$.

Nilai yang tertera merupakan nilai rata-rata ± simpangan baku.

melalui proses hidrolisis bahan makanan. Ikan makan untuk memenuhi kebutuhan energi, metabolisme basal dan metabolisme aktif (Jobling, 1994). Oleh karena itu jika kebutuhan energinya sudah terpenuhi maka ikan akan berhenti makan. Penambahan enzim dalam pakan (Pakan B, C, dan D) berbasis sumber protein nabati diduga akan meningkatkan ketersediaan energi dalam pakan.

Gatlin *et al.* (2007) menyatakan bahwa pakan berbasis nabati akan dihadapkan pada kendala ketersediaan energi yang lebih rendah dibandingkan dengan sumber hewani. Hal itu disebabkan pakan berbasis nabati banyak mengandung serat dan zat anti nutrisi yang berdampak pada rendahnya ketersediaan energi dalam pakan. Ikan memiliki keterbatasan dalam hal mencerna selulosa. Sebagian besar nutrisi penghasil energi baik protein, lemak dan karbohidrat diselubungi oleh selulosa, sehingga sulit dimanfaatkan oleh ikan. Adanya enzim rumen domba yang berisi kompleks enzim berupa selulase dan hemiselulase akan menghidrolisis selulosa dan hemiselulosa yang ada pada tanaman sehingga nutrisi penghasil energi dalam pakan dapat dimanfaatkan (Lee *et al.*, 2002).

Makanan yang telah dimakan oleh ikan akan dicerna menjadi senyawa yang dapat diserap

dan selanjutnya mengalami metabolisme. Energi dan nutrisi yang dimetabolisme ini sebagian akan digunakan untuk perawatan, kebutuhan basal dan sisanya akan disimpan di dalam tubuh yang dapat dilihat dari nilai retensi protein maupun retensi lemak (Suprayudi *et al.*, 1999). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa nilai retensi protein dan retensi lemak ikan yang diberi pakan dengan penambahan *crude* enzim (pakan B, C, dan D) lebih tinggi dibandingkan dengan ikan yang diberi pakan tanpa penambahan enzim. Hal yang sama juga ditunjukkan oleh Goda *et al.* (2007) bahwa penggunaan protein nabati yang berasal dari kedelai dan *gluten* jagung sebagai sumber protein pada ikan nila memiliki nilai retensi protein yang lebih rendah. Penambahan *crude* enzim cairan domba diduga banyak mengandung kompleks enzim yang dihasilkan oleh mikroflora yang berperan menghancurkan serat dan zat anti nutrisi yang banyak terdapat pada bahan baku pakan nabati sehingga ketersediaan nutrisi menjadi meningkat (Lee *et al.*, 2002). Selain enzim selulase dan hemiselulase, *crude* enzim cairan domba juga mengandung enzim protease dan enzim lipase (Agarwal 2003; Lee *et al.*, 2002).

Kamra (2005) menyatakan bahwa mikroba-mikroba rumen mensekresikan enzim-enzim

pencernaan ke dalam cairan rumen untuk membantu mendegradasi partikel makanan. Adanya kompleks enzim tersebut akan menghidrolisis selulosa yang melindungi protein dan lemak dalam sel tanaman. Selanjutnya keberadaan ekso-genus protease dan lipase akan membantu ikan dalam menghidrolis protein dan lemak. Ketersediaan protein dan lemak pakan akan meningkat sehingga proporsi protein dan lemak yang diretensi dalam tubuh juga meningkat.

Nilai efisiensi pakan dalam penelitian ini memperlihatkan bahwa ikan yang diberi pakan dengan penambahan enzim (pakan B, C, dan D) memiliki nilai efisiensi pakan yang lebih besar dibandingkan dengan ikan yang diberi pakan berbasis nabati tanpa penambahan enzim (pakan A). Seperti yang sudah dijelaskan sebelumnya bahwa penggunaan bahan baku nabati sebagai sumber protein dihadapkan pada permasalahan adanya selulosa dan hemiselulosa yang sukar dicerna oleh ikan, sehingga ketersediaan energi dan nutrien pakan menjadi rendah. Oleh karena itu ikan yang diberi pakan A akan memakan lebih banyak pakan agar kebutuhan energi tubuh terpenuhi. Jobling (1994) mengemukakan bahwa semakin banyak makanan yang dimakan maka energi untuk memakan, menelan, dan mencerna (*specific dynamic action energy*, SDA) akan semakin meningkat dan pada akhirnya akan mengurangi energi yang dapat disimpan dalam tubuh. Disamping peningkatan energi SDA, rendahnya ketersediaan nutrien terutama protein, lemak, dan karbohidrat akan mengurangi jumlah nutrien yang dapat disimpan dalam tubuh. Hal ini akan menyebabkan pakan menjadi tidak efisien, seperti pada ikan yang diberi pakan A. Hasil penelitian Goda *et al.* (2007) menunjukkan bahwa ikan nila yang hanya diberi pakan dengan protein nabati menghasilkan nilai efisiensi pakan yang rendah.

Kelebihan energi setelah dipakai untuk pemeliharaan, metabolisme dasar dan aktifitas akan disimpan dalam tubuh yang diekspresikan dalam bentuk pertumbuhan. Data mengenai pertumbuhan ikan terlihat bahwa ikan yang diberi pakan tanpa dan dengan penambahan enzim memberikan pertumbuhan yang sama. Hal tersebut dapat dijelaskan bahwa ikan yang diberi pakan A mengkonsumsi pakan yang lebih besar dibandingkan perlakuan lainnya untuk memenuhi kebutuhan energi sehingga walaupun tumbuh sama tetapi berbeda nilai efisiensi pakan dan retensinya seperti sudah dijelaskan sebelumnya.

Simpulan

Penambahan *crude* enzim cairan rumen sebanyak 200 ml kg⁻¹ pakan berbasis sumber protein nabati untuk ikan nila yang berukuran 6,10±0,49 g dapat meningkatkan kinerja pertumbuhan ikan nila.

Daftar pustaka

- Agarwal. 2003. Role of protein dynamics in reaction rate enhancement by enzymes. *American Chemical*, 127(43):48-56.
- CIFA. 2011. Vision 2030. Central Institute of Freshwater Aquaculture. Kausalyaganga, Bhubaneswar. Odisha, India. 46 p.
- Gatlin DM III, Barrows FT, Brown P, Dabrowski K, Gaylord TG, Hardy RW, Herman E, Hu G, Krogdah S, Nelson R, Overturf K, Rust M, Sealey W, Skonberg D, Edward J Souza, Stone D, Wilson R, Wurtele E. 2007. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: A review. *Aquaculture Research*, 38:551-579.
- Goda AM, Wafa ME, El-Haroun ER, Chowdhury MAK. 2007. Growth performance and feed utilization of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) and tilapia galilae *Sarotherodon galilaeus* (Linnaeus, 1758) fingerlings fed plant protein-based diets. *Aquaculture Research*, 38:827-837.
- Halver JE. 2002. *Fish nutrition*. Third Edition. Academy Press Inc, New York.

- Hernandez C, Olvera-Novoa MA, Hardy RW, Reyes AH, Gonzalez B. 2008. Complete replacement of fish meal by porcine and poultry by-product meals in practical diets for fingerling Nile tilapia *Oreochromis niloticus*: digestibility and growth performance. *Aquaculture nutrition*, 16:44-53.
- Hertrampf JW & Pascual P. 2000. *Handbook on ingredients for aquaculture feeds*. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht. Boston.
- Huisman EA, 1987. *The principles of fish culture production*. Department of Aquaculture. Wageningen University, Netherland.
- Jobling M. 1994. *Fish bioenergetics*. The Norwegian College of Fishery Science University of Tromsø, Norway. Chapman and Hall. 308 p.
- Kamra DN. 2005. Special section microbial diversity: Rumen microbial ecosystem. *Current Science*, 89:124-135.
- Lee SS, Kim CH, Ha JK, Moon YH, Choi NJ, Cheng KJ. 2002. Distribution and activities of hydrolytic enzymes in the rumen compartments of Hereford bulls fed alfalfa based diet. *Asian-Aust. Animal Science*, 15:1725-1731.
- Rana KJ, Siriwardena S, Hasan MR. 2009. Impact of rising feed ingredient prices on aquafeeds and aquaculture production. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper. No, 541, Rome. 63 p.
- Suprayudi MA, Bintang M, Takeuchi T, Moko-ginta I, Sutardi T. 1999. Defatted soybean meal as an alternative source to substitute fish meal in the feed of giant gourami (*Osteophoronemus gouramy* Lac.). *Sanzoshoku*, 47(4):551-557.
- Takeuchi T. 1988. Laboratory work chemical evaluation of dietary nutrients. In: Watanabe T (Editor). *Fish nutrition and mariculture*. Department of Aquatic Bioscience. Tokyo University of Fisheries. JICA.
- Watanabe T, 1988. *Fish nutrition and mariculture*. Department of Aquatic Bioscience. Tokyo University of Fisheries. JICA.