

**KESAN NISBAH PROTEIN : LIPID DAN ASID
LEMAK ω 3 : ω 6 DI DALAM DIET KE ATAS
PRESTASI TUMBESARAN DAN PENGGUNAAN
NUTRISI DALAM
ANAK IKAN BAUNG, *Mystus nemurus***

NOR AFINI BINTI MAT NAIN

UNIVERSITI SAINS MALAYSIA

2010

**KESAN NISBAH PROTEIN : LIPID DAN ASID LEMAK ω 3 : ω 6
DI DALAM DIET KE ATAS PRESTASI TUMBESARAN DAN
PENGUNAAN NUTRISI DALAM
ANAK IKAN BAUNG, *Mystus nemurus***

oleh

NOR AFINI BINTI MAT NAIN

Tesis yang diserahkan untuk memenuhi
keperluan bagi Ijazah Sarjana Sains

Oktober 2010

TERISTIMEWA BUAT

ABAH & MAMA

DAN ADINDA-ADINDA KU SEKALIAN

ADILAH, NOORULLAH, HAKIMIN, AMALIA DAN ARIFAH

DAN TAK LUPA BUAT INSAN TERISTIMEWA SUAMI YANG TERCINTA

NASARUDEEN

SERTA ANAKANDAKU AZFAHASYA

**TERIMA KASIH ATAS SEGALA DORONGAN & PENGORBANAN
YANG TELAH DIBERIKAN**

PENGHARGAAN

الحمد لله

Alhamdulillah, segala puji dan syukur ke hadrat Allah S.W.T Yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang di atas limpah petunjuk, kekuatan dan rahmat dari-Nya, maka saya telah berjaya menyiapkan tesis bagi peringkat ijazah Sarjana dalam tempoh masa yang telah ditetapkan walaupun pelbagai cabaran yang ditempuhi.

Setinggi-tinggi ucapan terima kasih kepada Profesor Roshada Hashim yang telah sudi menerima saya untuk menjadi pelajar di bawah penyeliaan beliau dan terima kasih juga di atas segala dorongan, teguran dan bimbingan yang telah dicurahkan.

Tidak lupa juga kepada Dr Khoo Khay Huat dan Dr Alexander Chong yang telah memberi tunjuk ajar kepada saya di sepanjang eksperimen dijalankan.

Sahabat-sahabat seperjuangan Arwah Susanna, Kak Amalia, Kak Eti, Sharifah, Khalidah dan Kar Loon yang telah banyak menolong dalam menjayakan kajian ini dan dorongan yang diberikan. Tidak terkecuali ahli-ahli lab 407. Thanks guys...

Tidak lupa ucapan terima kasih kepada Auntie Anna, En. Jamil dan Pak Akob yang banyak membantu di bahagian peralatan kajian.

Akhir sekali, jutaan terima kasih buat semua. Semoga segala jasa baik yang diberi mendapat keredhaan Ilahi dan ia sama sekali tidak akan luput daripada ingatan ini buat selama-lamanya.

Minnasan... Doumo Arigatougozaimasu...

JADUAL KANDUNGAN

Bahagian / Kandungan	Muka surat
PENGHARGAAN	ii
JADUAL KANDUNGAN	iv
SENARAI JADUAL	vii
SENARAI RAJAH	ix
SENARAI SINGKATAN	x
ABSTRAK	xi
ABSTRACT	xiii
BAB 1	PENGENALAN
1.1	Pengenalan am 1
1.2	Objektif 4
BAB 2	TINJAUAN BACAAN
2.1	Ikan Baung, <i>Mystus nemurus</i> 5
2.2	Keperluan Nutrisi Ikan 9
2.2.1	Protein dan Asid Amino 10
2.2.2	Karbohidrat 14
2.2.3	Vitamin 16
2.2.4	Mineral 17
2.3	Lipid dan Asid Lemak
2.3.1	Pengenalan Lipid 18
2.3.2	Jenis-jenis Asid Lemak 21
2.3.3	Keperluan asid lemak perlu (EFA) dalam ikan 24
2.3.4	Pengoksidaan lemak dalam badan ikan 26
2.4	Kesan-kesan asid lemak
2.4.1	Kematangan dan Pembiakan 28
2.4.2	Sistem imun 28
2.4.3	Kesan-kesan negatif 29
	Simpanan Tenaga (“Protein Sparing Effect”) dan Keperluan
2.5	Tenaga oleh Ikan 31
2.6	Enzim penghadaman 34
2.6.1	Enzim Lipase 35

3.0	Bahan dan Kaedah	
3.1	Pendahuluan	38
3.2	Diet Eksperimen	
3.2.1	Eksperimen I – Kesan Nisbah Protein Kepada Lipid Terhadap Prestasi Tumbesaran, Komposisi Badan dan Profil Asid Lemak bagi Otot Anak Baung, <i>Mystus nemurus</i>	41
3.2.2	Eksperimen II (Pengaruh Tahap Asid Lemak $\omega 3$ dan $\omega 6$ Terhadap Tumbesaran dan Komposisi Asid Lemak dalam Isi, Hati dan Kulit pada Anak Baung, <i>Mystus nemurus</i>)	44
3.3	Penyediaan Diet Eksperimen	46
3.4	Pengurusan Ikan dan Corak Eksperimen	47
3.4.1	Pengurusan Ikan	47
3.4.2	Pengumpulan Sampel Ikan	48
3.5	Penilaian Parameter-parameter Pertumbuhan Ikan dan Kecekapan Pemakanan	50
3.6	Penilaian Penggunaan Nitrogen dan Lipid	51
3.6.1	Nitrogen	51
3.6.2	Lipid	51
3.7	Penilaian Indeks Keadaan	52
3.8	Analisis Proksimat	52
3.9	Analisis Kualiti Air	53
3.10	Penentuan Komposisi Asid Lemak dengan Sistem Kromatografi Gas Cecair (GC)	54
3.11	Aktiviti Lipase	56
3.12	Analisis Statistik	56

BAB 4 KEPUTUSAN

	EKSPERIMEN I (Kesan Nisbah Protein Kepada Lipid Terhadap Prestasi Tumbesaran, Komposisi Badan dan Profil Asid Lemak bagi Otot Anak Baung, <i>Mystus nemurus</i>)	
4.1		
4.1.1	Parameter tumbesaran dan kecekapan pemakanan	57
4.1.2	Indeks Keadaan	62
4.1.3	Penggunaan Nitrogen dan Lipid	63
4.1.4	Komposisi proksimat badan Ikan	67
4.1.5	Kandungan Asid Lemak	69
4.1.6	Aktiviti Lipase	73
4.1.7	Kualiti Air	75

	EKSPERIMEN II (Pengaruh Nisbah Asid Lemak ω3 dan ω6 Terhadap Tumbesaran dan Komposisi Asid Lemak dalam Otot, Hati dan Kulit pada Anak Ikan Baung, <i>Mystus nemurus</i>)	
4.2		
4.2.1	Parameter tumbesaran dan kecekapan pemakanan	77
4.2.2	Indeks Keadaan	80
4.2.3	Komposisi proksimat badan Ikan	82
4.2.4	Komposisi Asid Lemak Otot, Hati dan Kulit Ikan	84
4.2.5	Aktiviti Lipase	94
4.2.6	Kualiti Air	96
5.0	PERBINCANGAN	
	EKSPERIMEN I (Kesan Nisbah Protein Kepada Lipid Terhadap Prestasi Tumbesaran, Komposisi Badan dan Profil Asid Lemak bagi Otot Anak Baung, <i>Mystus nemurus</i>)	
5.1		98
	EKSPERIMEN II (Pengaruh Nisbah Asid Lemak ω3 dan ω6 Terhadap Tumbesaran dan Komposisi Asid Lemak dalam Isi, Hati dan Kulit pada Anak Ikan Baung, <i>Mystus nemurus</i>)	
5.2		108
6.0	KESIMPULAN	119
6.1	CADANGAN	120
	RUJUKAN	121
	LAMPIRAN	
	A. Analisis Proksimat	142
	B. Analisis Asid Lemak	146
	C. Analisis Kualiti Air	149
	SENARAI ABSTRAK BUKU PROSIDING	152

SENARAI JADUAL

Jadual		Muka surat
2.0	Jenis Asid Amino Perlu dan Asid Amino Tak Perlu pada Ikan (De Silva & Anderson, 1995)	12
2.1	Asid lemak tak tepu (Belitz dan Grosch, 1987)	23
2.2	Keperluan asid lemak beberapa jenis ikan (Watanabe, 1982).	26
3.1	Bahan mentah dan komposisi proksimat (g kg^{-1}) bagi Eksperimen I diberi kepada anak baung, <i>M. nemurus</i> selama 16 minggu	42
3.2	Kandungan asid lemak dalam diet eksperimen yang dibekalkan kepada anak baung <i>M. nemurus</i> dengan nisbah protein : lipid yang berbeza	43
3.3	Kandungan bahan mentah dan komposisi proksimat diet eksperimen yang dibekalkan kepada anak baung selama 16 minggu	45
4.1	Prestasi tumbesaran dan penggunaan nutrisi (berat kering) oleh anak baung, <i>M. nemurus</i> dibekalkan diet yang berbeza nisbah protein:lipid selama 16 minggu.	61
4.2	Indeks Hepatosomatik (HSI), Indeks Viserosomatik (VSI), Lemak Intraperitoneal (IPF) dan Indeks Keadaan (CF) anak ikan baung yang diberi diet dengan nisbah paras protein : lipid berbeza selepas 16 minggu	64
4.3	Penggunaan nitrogen dan lipid oleh anak baung, <i>Mystus nemurus</i> yang diberi diet dengan paras protein : lipid yang berbeza selepas 16 minggu.	65
4.4	Komposisi proksimat badan ikan (% berat kering) oleh anak baung, <i>M. nemurus</i> dibekalkan diet yang berbeza nisbah protein : lipid selepas 16 minggu	68

4.5	Komposisi asid lemak tisu otot ikan baung yang diberi diet yang berbeza nisbah protein dan lipid selama 16 minggu.	72
4.6	Parameter kualiti air bagi anak baung, <i>Mystus nemurus</i> yang diberikan diet yang berbeza nisbah protein dan lipid selepas 16 minggu kajian dijalankan	76
4.7	Prestasi tumbesaran dan penggunaan nutrisi (berat kering) oleh anak baung, <i>M. nemurus</i> dibekalkan diet yang berbeza nisbah $\omega 3 : \omega 6$ selepas 16 minggu kajian dijalankan	79
4.8	Indek Hepatosomatik (HSI), indek viscerosomatik (VSI), lemak intraperitoneal (IPF) and faktor keadaan (CF) oleh anak baung, <i>M. nemurus</i> dibekalkan diet yang berbeza nisbah $\omega 3 : \omega 6$ selepas 16 minggu kajian dijalankan.	81
4.9	Komposisi proksimat badan ikan (% berat kering) oleh anak baung, <i>M. nemurus</i> dibekalkan diet yang berbeza nisbah $\omega 3 : \omega 6$ selepas 16 minggu kajian dijalankan.	83
4.10	Komposisi asid lemak dalam diet eksperimen yang dibekalkan kepada ikan baung dengan nisbah $\omega 3$ dan $\omega 6$ yang berbeza selama 16 minggu.	85
4.11	Komposisi asid lemak dalam isi ikan baung yang diberi diet dengan paras $\omega 3$ dan $\omega 6$ yang berbeza selama 16 minggu.	86
4.12	Komposisi asid lemak dalam hati ikan baung yang diberi diet dengan paras $\omega 3$ dan $\omega 6$ yang berbeza selama 16 minggu.	89
4.13	Komposisi asid lemak dalam kulit ikan baung yang diberi diet dengan paras $\omega 3$ dan $\omega 6$ yang berbeza selama 16 minggu.	92
4.14	Parameter-parameter kualiti air bagi anak baung, <i>Mystus nemurus</i> yang diberikan diet yang berbeza nisbah $\omega 3$ dan $\omega 6$ selepas 16 minggu kajian dijalankan.	97

SENARAI RAJAH

Rajah		Muka surat
2.0	Anak baung, <i>Mystus nemurus</i> (Cuv. & Val)	5
2.1	Perbezaan bentuk badan untuk setiap spesies bagi <i>Mystus</i> (A) <i>M. baramensis</i> , (B) <i>M. nigriceps</i> , (C) <i>M. nemurus</i> , (D) <i>M. wyckii</i> , (E) <i>M. vittatus</i>	6
2.2	Menunjukkan pembentukan molekul trigliserida melalui pencantuman asid lemak dengan gliserol (R1, R2 dan R3 merupakan asid-asid lemak yang berlainan)	18
2.3	Tapak metabolisme asid lemak rainbow trout, <i>Salmo gairdneri</i> (NRC, 1973)	20
3.1	Ringkasan corak Eksperimen I – Kesan Nisbah Protein Kepada Lipid Terhadap Prestasi Tumbuhan, Komposisi Badan dan Profil Asid Lemak bagi Otot Anak Baung, <i>Mystus nemurus</i>	39
3.2	Ringkasan corak Eksperimen II (Pengaruh Nisbah Asid Lemak $\omega 3$ dan $\omega 6$ Terhadap Tumbuhan dan Komposisi Asid Lemak dalam Otot, Hati dan Kulit pada Anak Baung, <i>Mystus nemurus</i>)	40
4.1	Kadar Tumbuhan (RGR, %) Anak Baung yang Diberi Diet dengan Nisbah Protein : Lipid yang Berbeza Selama 16 Minggu dalam Eksperimen I	58
4.2	Perbandingan Kandungan asid lemak tepu, mono tak tepu, poli tak tepu, $\Sigma\omega 3$ dan $\Sigma\omega 6$ pada diet dan otot anak baung, <i>M. nemurus</i> dibekalkan diet yang berbeza nisbah $\omega 3 : \omega 6$ selepas 16 minggu	71
4.3	Aktiviti lipase ($U\ mg^{-1}$ protein) dalam perut, usus dan hati anak baung yang dibekalkan diet berbeza nisbah protein dan lipid selepas 16 minggu kajian dijalankan	74
4.4	Kadar tumbuhan relatif (%) anak baung, <i>Mystus nemurus</i> yang diberi diet dengan berbeza nisbah $\omega 3 : \omega 6$ selepas 16 minggu kajian dijalankan	78
4.5a	Perbandingan kandungan (a) asid lemak tepu dan (b) mono tak tepu pada diet, isi, hati dan kulit anak baung, <i>M. nemurus</i> dibekalkan diet yang berbeza nisbah $\omega 3 : \omega 6$ selepas 16 minggu kajian dijalankan	87

4.5b	Perbandingan kandungan (c) poli tak tepu dan (d) $\Sigma\omega 3$ dalam diet, otot, hati dan kulit anak baung, <i>M. nemurus</i> dibekalkan diet yang berbeza nisbah $\omega 3 : \omega 6$ selepas 16 minggu kajian dijalankan	90
4.5c	Perbandingan kandungan (e) $\Sigma\omega 6$ dan (f) HUFA pada diet, otot, hati dan kulit anak baung, <i>M. nemurus</i> dibekalkan diet yang berbeza nisbah $\omega 3 : \omega 6$ selepas 16 minggu kajian dijalankan	93
4.6	Aktiviti lipase (U) dalam perut, usus dan hati anak baung yang dibekalkan diet yang berbeza dalam nisbah $\omega 3$ dan $\omega 6$ selepas 16 minggu kajian dijalankan.	95

SENARAI SINGKATAN

Singkatan	Huraian
AA	Asid lemak arakidonik
CF	Indeks keadaan
CMC	Karboksimetil selulosa
CO	Minyak jagung
DHA	Asid lemak dokosaheksaenoik
EFA	Asid lemak perlu
EPA	Asid lemak eikosapentaenoik
FAME	Metil ester asid lemak
FO	Minyak ikan
GC	Sistem kromatografi gas cecair
GE	Tenaga kasar
HSI	Indeks hepatosomatik
HUFA	Asid lemak tinggi tak tepu
IPF	Indeks lemak Intraperitoneal
MUFA	Asid lemak mono tak tepu
NFE	Ekstrak bebas nitrogen
NPU	Penggunaan protein bersih
PUFA	Asid lemak poli tak tepu
SFA	Asid lemak tepu
SGR	Kadar tumbesaran spesifik
VSI	Indeks viserosomatik

**KESAN NISBAH PROTEIN : LIPID DAN ASID LEMAK $\omega 3$: $\omega 6$ DI DALAM
DIET KE ATAS PRESTASI TUMBESARAN DAN PENGGUNAAN NUTRISI
DALAM ANAK IKAN BAUNG, *Mystus nemurus***

ABSTRAK

Dua kajian telah dijalankan untuk menentukan paras kombinasi protein : lipid dan kesan manipulasi nisbah asid lemak $\omega 3$: $\omega 6$ dalam pemakanan anak ikan baung, *Mystus nemurus*. Dalam Eksperimen I, lapan diet berisonitrogen dan isokalori dengan dua paras protein (35% dan 40%) dan empat paras lipid (5%, 10%, 15% dan 20%) telah dirumus dan setiap diet yang diuji dikodkan sebagai 35P:5L, 35P:10L, 35P:15L, 35P:20L, 40P:5L, 40P:10L, 40P:15L dan 40P:20L. Keputusan menunjukkan bahawa paras protein dalam pemakanan mempengaruhi kadar tumbesaran relatif (RGR) dan kadar tumbesaran spesifik (SGR) anak ikan baung secara signifikan ($P < 0.05$). Bagi nilai FCR, tiada perbezaan signifikan ($P > 0.05$) dicatatkan, tetapi dengan peningkatan paras lipid, nilai FCR bertambah baik pada paras protein yang rendah (35%). Secara keseluruhannya, tiada interaksi yang dicatatkan antara pemakanan protein dan lipid terhadap kadar pertumbuhan dan penyimpanan protein. Walau bagaimanapun, Diet 35P:20L (Diet D) telah menunjukkan kadar tumbesaran yang maksimum dan berbeza secara signifikan ($P < 0.05$) dengan diet-diet lain kecuali diet 35P:15L (Diet C). Oleh sebab itu, wujud kesan simpanan protein pada anak baung yang mana spesies ini boleh menggunakan lipid dengan baik pada paras protein yang rendah (35%). Eksperimen II merupakan lanjutan kepada Eksperimen I di mana paras diet yang diuji mengandungi nisbah protein : lipid sebanyak 35P:15L tetapi berbeza daripada segi nisbah asid lemak $\omega 3$: $\omega 6$ bagi menentukan keperluan nisbah $\omega 3$ dan $\omega 6$ untuk anak baung. Sebanyak lima diet

(isonitrogen dan isokalori) telah dirumus dengan perbezaan nisbah ω_3 : ω_6 iaitu Diet 1:0.33, 1:0.5, 1:1, 1:2 dan 1:3. Keputusan Eksperimen II menunjukkan bahawa anak baung yang diberi kombinasi ω_3 : ω_6 sebanyak 1:0.5 telah menghasilkan prestasi tumbesaran yang terbaik, nilai FCR yang rendah dan PER yang tinggi serta berbeza secara signifikan ($P < 0.05$) berbanding diet-diet lain. Secara umum, komposisi asid lemak dalam otot, hati dan kulit anak baung mencerminkan diet yang dibekalkan. Menariknya, keputusan ini berbeza dengan sifat ikan air tawar yang kebiasaannya memerlukan asid lemak ω_6 lebih tinggi berbanding ω_3 . Kesimpulannya, boleh disarankan bahawa keperluan nutrisi bagi anak baung untuk tumbesaran yang optimum ialah 35% protein dan 15% lipid dengan tenaga kasar (GE) 1911.63 kJ^{-1} dan mempunyai nisbah ω_3 dan ω_6 sebanyak 1.77.

**EFFECT OF DIETARY PROTEIN : LIPID AND FATTY ACID ω 3 : ω 6 RATIO
ON GROWTH PERFORMANCE AND NUTRIENT UTILIZATION IN
BAUNG, *Mystus nemurus* FINGERLINGS.**

ABSTRACT

Two experiments were carried out to determine the level of combination for protein : lipid ratio and effects of the manipulation on ω 3 : ω 6 fatty acid ratios for baung fingerlings, *Mystus nemurus*. Experiment I was conducted to determine the influence of protein : lipid ratio on growth performance, feed efficiency and muscle fatty acid profile of freshwater bagrid catfish, *Mystus nemurus*. Eight semipurified (isonitrogenous and isocaloric) diets were formulated which consisted two levels of protein (35% dan 40%) and four lipid levels (5%, 10%, 15% dan 20%) and designated as 35P:5L, 35P:10L, 35P:15L, 35P:20L, 40P:5L, 40P:10L, 40P:15L dan 40P:20L, respectively. Results showed that dietary protein level significantly ($P < 0.05$) influenced relative growth rate (RGR) and specific growth rate (SGR) of baung. The combination of protein and lipid ratio had no effect ($P > 0.05$) on FCR. However at lower protein level (35%) FCR value improved with increasing dietary lipid level. There was no interaction between protein and lipid ratio on growth performance and protein retention. Diet D which have combination of 35% protein and 20% lipid gave the best growth performance and significantly difference ($P < 0.05$) among all of the experimental diets except diet 35P:15L (Diet C). However, if considered protein sparing effect, bagrid catfish, *Mystus nemurus* can utilize lipid better at 35% protein. Then, Experiment II was carried out to

determined the requirement of $\omega 3 : \omega 6$ ratio on bagrid catfish, *Mystus nemurus* fingerlings. In this study, five experimental diets which contained 35% protein dan 15% lipid (isonitrogenous and isocaloric) with different $\omega 3:\omega 6$ ratios were formulated and designated as Diet 1:0.33, 1:0.5, 1:1, 1:2 dan 1:3, respectively. The results in this study showed that Diet 1:0.5 gave the best growth performance whereas FCR and PER were significantly different ($P<0.05$) among others. Generally, fatty acid composition of muscle, liver and skin mirrored dietary fatty acid profiles. As a conclusion, nutrient requirement of baung can be fulfilled by using a diet consisting of 35P:15L with 1911.63 kJ^{-1} gross energy (GE) and $\omega 3 : \omega 6$ ratio 1.77.

BAB 1 PENGENALAN

1.1 Pengenalan Am

Ikan baung (*Mystus nemurus*) merupakan spesies asal ikan di Asia Tenggara dan mempunyai rasa yang sedap dan kuantiti nutrien yang baik. Spesies ini mewakili calon baru akuakultur dengan kapasiti pengeluaran lebih kurang 700 tan per tahun (Andreas *et al.*, 2002). Ia juga mempunyai potensi untuk menjadi spesies ternakan akuakultur yang utama di beberapa bahagian Asia (Leesa-Nga *et al.*, 2000). Meskipun terdapat peningkatan dalam pengeluaran ikan air tawar bagi spesies karnivor ini untuk memenuhi keperluan pengguna, data mengenai spesies ikan baung ini masih terhad (Tantikitti & Chimsung, 2001; Ng *et al.*, 2001).

Dalam akuakultur, sumber protein merupakan faktor utama mempengaruhi prestasi tumbesaran ikan dan sumber tenaga yang penting (Kim & Lee, 2004 dan Sheng & He, 1994). Protein adalah penyumbang yang sangat besar dalam kos pengeluaran makanan (Miller *et al.*, 2005) kerana ia merupakan nutrien makro yang termahal berbanding lipid dan karbohidrat (Lovell, 1989; McGoogan & Gaitlin, 1999). Dengan ini, penternak akuakultur patut memperkenalkan penggunaan lipid sebagai sumber tenaga untuk meningkatkan penahanan protein (Satinha *et al.*, 1999). Penggunaan paras lipid yang tinggi dalam diet ikan membabitkan interaksi sumber protein untuk memberi kesan kepada prestasi tumbesaran (Miller *et al.*, 2005). Dengan ini, lipid yang dibekalkan digunakan sepenuhnya bagi memenuhi keperluan tenaga manakala protein pula hadir untuk perkembangan tumbesaran. Proses ini dikenali sebagai kesan simpanan protein (“protein sparing effect”). Oleh yang demikian, penternak mampu untuk menghasilkan

atau merumus makanan yang lebih jimat dan berekonomi (Helland & Grisdale-Helland, 1998; Takukawa, *et al.*, 2006). Pelbagai kajian yang menunjukkan kesan simpanan protein oleh lipid telah didokumentasikan pada beberapa jenis spesies termasuklah ikan lee koh (Watanabe *et al.*, 1987), gilthead seabream, *Sparus aurata* (Vergara *et al.*, 1999), rockfish, *Sebastes schlegeli* (Lee *et al.*, 2002), common dentex, *Dentex dentex* L. (Skalli *et al.*, 2004) dan Cuneate drum, *Nibea miichthioides* (Wang *et al.*, 2006).

Protein yang berlebihan dalam diet amat tidak diingini kerana protein akan digunakan sebagai tenaga dan seterusnya meningkatkan kos pengeluaran makanan (Ruohinen *et al.*, 2003; Jahan *et al.*, 2002). Di samping itu, protein juga boleh meningkatkan pengeluaran sisa kumbahan nitrogen di persekitaran akuatik (Takukawa *et al.*, 2006). Perkumuhan nitrogen adalah hasil daripada proses katabolisme protein kepada tenaga dan ia boleh dikurangkan dengan penggantian dan peningkatan paras sumber bukan protein dalam kandungan diet. Ini bermaksud pengurangan nisbah dalam proses penghadaman protein kepada tenaga (Satinha *et al.*, 1999). Walau bagaimanapun, diet yang mengandungi tenaga dan paras lipid yang tinggi secara amnya akan memberikan kesan yang negatif seperti peningkatan dalam pengumpulan lemak badan ikan (Watanabe, 1982) serta menghasilkan ikan yang berlemak (Fu *et al.*, 2001) yang mana akan menyebabkan kemerosotan dalam nilai komersial bagi sesuatu produk ikan lebih-lebih lagi sekiranya pengumpulan lipid berlaku dalam otot ikan.

Lipid merupakan sumber tenaga dan penyumbang utama asid lemak dalam diet pemakanan ikan. Asid lemak arakidonik (AA, C20:4n-6), eikosapentanoik (EPA, C20:5n-3) dan dokosaheksanoik (DHA, 22:6n-3) merupakan tiga jenis asid lemak tinggi tak tepu (HUFA) yang sering menarik perhatian penyelidik untuk mengkaji keperluan ikan terhadap asid lemak HUFA untuk tumbesaran, pembiakan dan perkembangan. Asid lemak linoleik (C18:2n-6) dan linolenik (C18:3n-3) pula merupakan asid lemak perlu (EFA), kerana ia tidak dapat disintesis oleh ikan. Walau bagaimanapun, kebanyakan ikan air tawar mempunyai kebolehan untuk menukarkan rantaian C18 ini kepada rantaian yang lebih panjang, HUFA (Ibeas *et al.*, 1996). C18:2n-6 boleh ditukarkan kepada AA manakala C18:3n-3 pula boleh tukarkan kepada rantaian panjang seperti EPA dan DHA. Namun, sebaliknya berlaku pada ikan marin yang memerlukan ω 3 HUFA pada paras yang tertentu kerana kebanyakan spesies marin tidak mampu mensintesis asid lemak HUFA dari rantaian pendek seperti C18:2n-6 dan C18:3n-3 (Yone, 1982). Kajian terhadap nisbah ω 3 dan ω 6 perlu dilakukan untuk mengetahui kesannya terhadap prestasi tumbesaran dan kecekapan makanan dalam spesies ikan air tawar.

1.2 Objektif Kajian

Objektif utama kajian ini ialah untuk mengurangkan sisa nitrogen dan mengenalpasti keperluan nutrien (pemakanan) dalam ternakan anak ikan baung (*Mystus nemurus*) dengan memanipulasi nisbah protein : lipid dan $\omega 3:\omega 6$ dalam dietnya.

Objektif lain kajian adalah seperti berikut:

- a. Mengenalpasti nisbah protein : lipid untuk tumbesaran yang optimum bagi anak baung (*Mystus nemurus*).
- b. Mengetahui kesan nisbah asid lemak $\omega 3$: $\omega 6$ terhadap pertumbuhan, kualiti otot, hati dan kulit anak baung (*Mystus nemurus*).

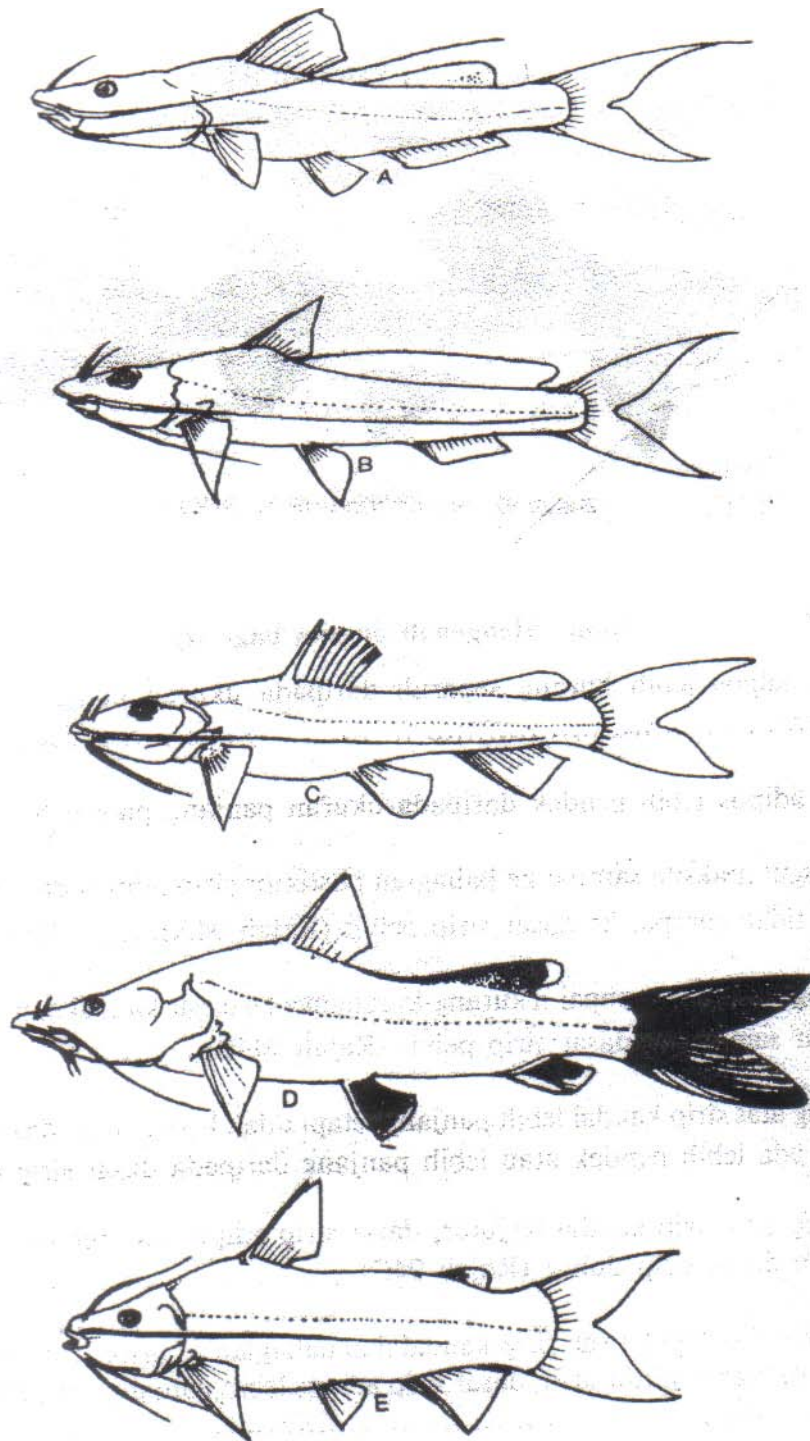
BAB 2 TINJAUAN BACAAN

2.1 Ikan Baung (*Mystus nemurus* (Cuv. & Val)).



Rajah 2.0: Anak baung, *Mystus nemurus* (Cuv. & Val)

Ikan baung atau nama saintifiknya *Mystus nemurus* berasal dari sub-order Siluroidea dan famili Bagridae serta merupakan ikan bagrid yang tertabur luas di Semenanjung Malaysia (Khan *et al.*, 1996). Ikan ini biasanya dikenali sebagai 'yellow bagrid catfish' atau 'river catfish' dan terdapat di ekosistem air tawar dan muara pada julat kedalaman 2 – 40 m di kawasan Asia (Amornsakun *et al.*, 1998). Mohsin dan Ambak (1983) telah melakukan persampelan spesies ini di kawasan hilir Sungai Klang dan pada parit berdekatan sawah di Tanjung Karang, Selangor; Sungai Nerus, Sungai Terengganu, Terengganu; Sungai Keratong, Pahang dan Bukit Merah, Perak. Baung tidak menggemari air yang keruh ataupun air berlumpur kerana spesies ini tidak seperti ikan keli yang mempunyai organ pernafasan tambahan (arboresens). Oleh itu, ia boleh dijumpai di kawasan yang mempunyai kepekatan oksigen terlarut yang tinggi iaitu di antara 6 mg/L hingga 8 mg/L (Khan, 1987).



Rajah 2.1: Perbezaan bentuk badan untuk setiap spesies bagi *Mystus* (A) *M. baramensis*, (B) *M. nigriceps*, (C) *M. nemurus*, (D) *M. wyckii*, (E) *M. vittatus*.

Di Sabah dan Sarawak, ikan baung dikenali sebagai ikan baon manakala di Thailand, ia dipanggil plakot. Ikan baung dinamakan tagih di Jawa Barat dan kendiga merupakan nama yang digunakan di Borneo Tengah (Khan, 1988). Ikan baung mempunyai lebih daripada satu spesies dan perbezaan bentuk badan ikan baung boleh dilihat pada Rajah 2.1.

Baung berwarna kelabu gelap berkilat pada bahagian dorsal, manakala bahagian ventralnya berwarna cerah. Walau bagaimanapun, warna badan ikan baung berbeza bergantung kepada usia dan habitat ikan tersebut. Bagi ikan yang sudah matang, sisi distal pada sirip dorsal, adipos, pektoral dan kaudal berwarna merah darah manakala sisi distal sirip pelvik pula berwarna oren cair (Mohsin dan Ambak, 1983). Ikan baung mempunyai kepala yang besar dan lebar, siripnya terdapat satu spina pada sirip dorsal dan sepasang spina pada sirip pektoral yang kuat serta bergerigis ke belakang, sirip adipos yang pendek daripada sirip dorsalnya serta sirip kaudal diserkal. Ikan baung tidak mempunyai sisik dan mempunyai empat pasang sesungut yang mungkin bertujuan untuk membantu mengesan makanan pada waktu malam (Khan, 1988). Mulutnya ialah jenis terminal atau sub-terminal. Menurut Khan *et al.* (1988), ikan ini mempunyai gigi yang kuat, kecil dan tajam pada rahang dan bawah. Gigi jenis ini membantunya menyambar, menikam, memegang dan mengoyak mangsa dengan mudah. Ikan baung tidak mempunyai serkum pilorik oleh itu perut biasanya besar untuk menelan mangsa yang bersaiz agak besar.

Baung merupakan ikan pemangsa dan lazimnya hidup di habitat bentik dengan memakan pelbagai jenis mangsa yang didominasi oleh ikan, serangga, udang, organisma bentik seperti krustasea dan detritus (Amornsakun *et al.*, 1998). Jadi, ia dianggap sebagai ikan omnivor tetapi lebih bersifat karnivor (pemangsa). Selain itu, ikan baung juga bersifat nokturnal iaitu haiwan yang aktif pada waktu malam. Pergerakan ikan baung pada waktu malam dibantu oleh sesungut mandibel dan maksilari, tanpa melibatkan organ matanya untuk mencari makan (Khanna, 1968 dipetik oleh Khan, 1988). Kadar kemandirian dan pertumbuhan larva dan anak ikan baung ditentukan oleh pelbagai faktor persekitaran, bekalan makanan dan sebagainya (Amornsakun *et al.*, 1998).

Ikan baung membiak di hulu sungai biasanya selepas permulaan musim hujan di dalam lubang-lubuk kecil yang ditutupi dengan daun-daun kering dan ranting-ranting yang merupakan substrat bagi telur-telur ikan. Ikan baung akan menjaga telur-telurnya sehingga menetas. Setelah menetas, anak ikan bergantung kepada plankton sebagai sumber makanan, sehinggalah mereka menjadi juvenil dan berhijrah ke hilir sungai (Khan, 1996).

Ikan baung dianggap sebagai ikan gred satu di negara Asia Tenggara, termasuklah Thailand dan Malaysia (Amornsakun *et al.*, 1998). Ikan ini juga menjadi sajian penting bagi penduduk di sekitar sungai dan merupakan spesies komersial yang penting dan popular untuk perikanan dalaman. Permintaan pasaran ikan ini juga tinggi kerana rasanya yang enak, kurang tulang dan tekstur daging yang lembut. Tambahan pula, ikan ini mempunyai 44.1% daging rendah lemak yang mengandungi 92.2% protein dan 1.3% lemak berdasarkan berat kering (Kamarudin, 1999).

Sebaliknya, ikan baung masih dikenali sebagai spesies 'baru' dalam sektor akuakultur dan pengeluarannya di Malaysia menjadi signifikan pada tahun 1993 akibat kejayaan program pembiakan aruhan (Kamarudin, 1999). Kini ikan baung diternak dalam kolam dan tangki semi-intensif atau sangkar terapung secara intensif. Kebelakangan ini, banyak ikan baung diternak dengan kadar penstockan dan kadar pemakanan yang lebih tinggi (Khan, 1996). Pada tahun 1997, pengeluaran ikan baung dari kolam ternakan di Selangor dianggarkan mempunyai 217.12 tan (Kamarudin, 1999). Dewasa ini, penternakan ikan baung ditingkatkan di seluruh negara ekoran dari permintaan yang semakin bertambah (Khan, 1996; Andreas, 2002; Leesa-Nga *et al.*, 2000).

2.2 Keperluan Nutrisi Ikan

Pengetahuan asas keperluan pemakanan untuk perumusan dan pembuatan makanan sangat penting bagi memenuhi keperluan sesuatu spesies haiwan. Nutrien yang diperlukan oleh ikan yang berperanan untuk tumbesaran, pembiakan dan aktiviti fisiologi adalah sama dengan keperluan bagi haiwan daratan (Lovell, 1991). Kebanyakan penternak menggunakan diet yang mengandungi semua keperluan iaitu protein (18 – 50%), lipid (10 – 30%), karbohidrat (15 – 30%), abu (<8.5%), fosforus (<1.5%), air (<10%) dan nilai yang mencukupi bagi vitamin dan mineral (Craig & Helfrich, 2002). Nutrien ini hadir dalam mikroorganisma akuatik ataupun diet yang disediakan. Nutrien lengkap perlu apabila ikan dikultur secara intensif ataupun superintensif iaitu apabila ikan tidak boleh mendapat makanan semulajadi. Walau bagaimanapun, sekiranya terdapat makanan semulajadi, diet yang dibekalkan hanya berperanan sebagai makanan tambahan

dan ia tidak perlu mengandung semua keperluan nutrien (Lovell, 1991; Craig & Helfrich, 2002).

Sejak akhir-akhir ini, penekanan terhadap peranan nutrien dalam pemakanan ikan telah dikenalpasti sebagai faktor penting dalam kesihatan dan metabolisme ikan (Halver, 2001). Kekurangan satu atau lebih nutrien penting ini akan mengganggu atau merencatkan fungsi fisiologi dan seterusnya mampu menyebabkan kematian kepada ikan berkenaan (Lovell, 1991). Kekurangan nutrien juga akan mengakibatkan ikan ternakan mengalami tekanan dan cenderung untuk dijangkiti penyakit disebabkan kemerosotan daya tahan terhadap patogen (Kabata, 1991). Tambahan pula ikan yang mengalami simptom-simtom jangkitan penyakit mempunyai nilai komersial yang rendah dan seterusnya akan merugikan penternak. Oleh itu, bagi menjamin produk yang berkualiti tinggi, ikan ternakan seharusnya mendapat nutrien yang secukupnya.

2.2.1 Protein dan Asid Amino

Protein merupakan komponen utama nutrisi diet. Namun penggunaan protein yang tinggi boleh mengakibatkan peningkatan kos makanan kerana ia adalah nutrien paling mahal dalam diet berbanding nutrisi-nutrisi lain. Keperluan optimum protein bagi ikan bergantung kepada keseimbangan keperluan tenaga, komposisi asid amino, penghadaman protein dan jumlah sumber tenaga bukan protein seperti lipid dan karbohidrat di dalam sesuatu formulasi diet makanan. Pada kebiasaannya, berat kering kandungan protein pada isi ikan adalah di antara 45 – 85% (Hepher, 1988).

Fungsi utama protein ialah membekalkan asid amino yang diperlukan oleh ikan untuk penyelenggaraan, pertumbuhan dan penghasilan sel badan. Ia amat penting bagi haiwan ternakan akuatik yang tidak dibekalkan sebarang sumber makanan semulajadi. Oleh itu, penggunaan serbuk ikan sebagai sumber protein diambilkira kerana ia memenuhi kandungan asid amino perlu untuk spesies akuakultur (Nandeesh *et al.*, 1991). Protein tumbuhan juga boleh digunakan namun penggunaannya terhad kerana ia kekurangan beberapa komponen asid amino perlu. Contohnya serbuk kacang soya mempunyai kandungan metionina dan sistina yang rendah, jadi asid amino sintetik akan ditambah di dalam formulasi diet bagi menampung kekurangan asid amino ini. Selain itu, sesetengah protein tumbuhan mengandungi faktor antinutrisi, sebagai contoh perencat protease, phytates, glukosinolat, saponin, tannin, alkaloid dan gosipol (Francis *et al.*, 2001) yang akan menghalang penghadaman penyerapan kandungan nutrien di dalam diet yang dibekalkan. Walau bagaimanapun, terdapat langkah bagi mengatasi masalah ini iaitu dengan memasak sumber protein tumbuhan tersebut sebelum ia dijadikan pelet makanan ikan.

Nilai nutrisi protein adalah berpandukan kepada jumlah relatif asid amino yang wujud di dalamnya. Craig dan Helfrich (2002) menyatakan bahawa sebanyak 200 jenis asid amino yang wujud secara semulajadi, namun hanya 20 asid amino yang biasa dijumpai dan 10 daripadanya merupakan asid amino perlu. Asid amino perlu ialah asid amino yang diperlukan untuk tumbesaran dan proses aktiviti badan yang lain dan asid amino ini tidak boleh disintesis dan mesti dibekalkan di dalam diet. Jadual 2.0 menunjukkan jenis-jenis asid amino perlu dan tak perlu bagi ikan.

Asid amino perlu	Asid amino tak perlu
Arginina	Alanina
Histidina	Asparagina
Isoleusina	Aspartat
Leusina	Sistina
Lisina	Glutamat
Metionina	Glutamina
Fenilalanina	Glisina
Threonina	Prolina
Triptofan	Serina
Valina	Tirosina

Jadual 2.0: Jenis Asid Amino Perlu dan Asid Amino Tak Perlu pada Ikan (De Silva & Anderson, 1995)

Pada amnya, keperluan protein tinggi pada ikan juvenil. Semakin ikan membesar, keperluan terhadap protein semakin berkurangan. Contohnya fri ikan keli channel memerlukan 40% protein, manakala pada peringkat jarian (“fingerling”), ia memerlukan 30 – 35% protein dan keli channel yang bersaiz melebihi 110g pula memerlukan protein antara 25 – 35% untuk pertumbuhan (NRC, 1993). Selain itu, keperluan protein juga bergantung kepada keadaan persekitaran ternakan, suhu dan kualiti air serta komposisi genetik dan kadar pemakanan ikan tersebut. Jadi protein yang dibekalkan seharusnya digunakan untuk tumbesaran sekiranya tenaga yang dibekalkan di dalam diet adalah mencukupi. Jika sebaliknya berlaku, ikan akan menggunakan protein sebagai tenaga berbanding pertumbuhan (Craig & Helfrich, 2002).

Secara umumnya, keperluan ikan terhadap protein lebih tinggi berbanding dengan haiwan daratan lain disebabkan ikan kurang cekap dalam penggunaan sumber karbohidrat sebagai sumber tenaga (Weatherly & Gill, 1987). Keperluan asid amino bagi ikan selalunya melebihi dua kali ganda jumlah asid amino yang diperlukan oleh mamalia

daratan (Cowey & Sargent, 1979). Paras protein dalam diet praktikal bagi penternakan ikan di iklim panas secara purata ialah antara 30 – 36% manakala keperluan protein bagi ternakan daratan hanya di antara 16 – 22% (Lovell, 1989). Ini menunjukkan bahawa protein bukan sahaja diperlukan oleh ikan untuk membina tisu dan menghasilkan produk kaya protein tetapi ia juga bertindak sebagai sumber tenaga.

Pada masa yang sama, keperluan ikan terhadap protein juga bergantung kepada tabiat pemakanannya. Keperluan protein ikan herbivor dan omnivor adalah antara 20 – 30%, manakala ikan karnivor memerlukan 30 – 40% protein. Pandian (1989) mendapati keperluan protein ikan yang dikultur di Asia seperti ikan tilapia dan kap (omnivor dan herbivor) ialah di antara 25 – 30%, manakala ikan karnivor seperti salmon dan trout memerlukan paras protein yang lebih tinggi iaitu di antara 35 – 50%. Nilai cerna protein bagi kebanyakan ikan ialah di antara 28 – 50% daripada jumlah berat makanan. Kajian yang telah dijalankan oleh Ng *et al.* (2001) menunjukkan bahawa paras 41% protein menghasilkan kadar pertumbuhan dan penggunaan protein yang paling baik bagi anak ikan baung (*Mystus nemurus*).

Namun begitu, kegunaan protein sebagai sumber tenaga boleh dimanipulasi dengan menggunakan sumber bukan protein yang lain contohnya lipid dan karbohidrat untuk membekalkan tenaga. Keperluan protein untuk tumbesaran berkurang dengan peningkatan kadar kandungan lipid dalam diet. Kajian telah dijalankan ke atas gilthead seabream, *Sparus aurata* yang diberi makanan pada beberapa paras protein (42 – 58% P) oleh Vergara *et al.* (1996). Keputusan menunjukkan kandungan protein dalam diet boleh dikurangkan dari 58% kepada 46% sekiranya kandungan lipid ditingkatkan dari 9%

kepada 15% . Walau bagaimanapun, mereka tidak dapat membuktikan wujudnya kesan simpanan protein dalam kajian tersebut.

Oleh kerana protein digunakan untuk pertumbuhan dan proses metabolisme, maka kuantiti yang secukupnya dan berterusan haruslah dibekalkan. Kekurangan protein dan asid amino perlu boleh menyebabkan pengurangan kadar pertumbuhan atau kehilangan berat badan secara pengeluaran protein dari tisu untuk mengekalkan fungsi keperluan hidup dan kecekapan penukaran makanan (Hepher, 1988). Kajian Halver (1998) menunjukkan bahawa kekurangan triptofan pada ikan sockeye salmon menyebabkan berlakunya skoliosis kerana terdapat kecacatan pada miomer dan notokod ikan tersebut.

2.2.2 Karbohidrat

Karbohidrat juga satu daripada nutrien perlu dalam diet ikan. Karbohidrat terdiri daripada atom karbon, hidrogen dan oksigen, contohnya gula, kanji dan selulosa. Tumbuh-tumbuhan merupakan sumber utama karbohidrat dan ia terdiri daripada kira-kira 50% sehingga 80% berat kering pada sesetengah tumbuhan. Terdapat tiga jenis karbohidrat iaitu monosakarida (contohnya glukosa dan fruktosa), disakarida (contohnya sukrosa dan maltosa) dan polisakarida (contohnya kanji dan selulosa) (De Silva dan Anderson, 1995). Karbohidrat juga merupakan sumber tenaga yang paling ekonomi dalam pemformulaan diet berbanding lipid dan protein. Namun penggunaannya tidak secara meluas seperti sumber protein dan lipid kerana ia mempunyai struktur molekul yang kompleks (Hutchins *et al.*, 1998) yang menyukarkan proses penghadaman bagi ikan.

Kebanyakan sumber karbohidrat yang disediakan dalam diet berada dalam bentuk kanji dan ia tidak disimpan dengan banyak dalam badan haiwan. Organ utama tempat penyimpanan karbohidrat ialah hati dan disimpan dalam bentuk glikogen. Jadi, penggunaan karbohidrat pada ikan bergantung kepada sistem penghadaman dan sistem metabolik yang boleh beradaptasi dengan persekitaran akuatik yang berbeza (Walton & Cowey, 1982). Secara amnya, ikan herbivor ataupun omnivor di negara temperat mampu menggunakan karbohidrat pada tahap yang tinggi iaitu mencapai 30% berbanding ikan karnivor di kawasan sejuk dan ikan marin (Wilson, 1994).

Walau bagaimanapun, sesetengah spesies ikan dapat menggunakan sumber karbohidrat dengan baik. Steffens (1989) telah berjaya membuktikan bahawa ikan rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* dapat menghadam glukosa, sukrosa dan laktosa dengan efisien iaitu melebihi 95%. Wilson dan Poe (1985) dan Wilson (1994) pula mencadangkan ikan keli boleh menggunakan karbohidrat yang mempunyai berat molekul yang tinggi seperti kanji ataupun dextrin sebagai sumber tenaga dengan lebih efektif berbanding disakarida ataupun gula ringkas yang lain. Jika dibandingkan dengan ikan lain, ikan keli boleh menggunakan karbohidrat pada tahap yang tinggi sehingga mencapai 25% iaitu penggunaannya sama seperti penggunaan sumber lipid yang merupakan sumber tenaga utama bagi ikan karnivor. Manakala Lee *et al.* (2003) mendapati ikan flounder, *Paralichthys olivaceus* mampu menggunakan karbohidrat dengan lebih efisien berbanding sumber lipid sebagai sumber tenaga.

Selain itu, penggunaan karbohidrat dalam diet juga boleh dikawal dengan memanipulasikan nisbah protein : lipid : karbohidrat mengikut keperluan nutrien yang bergantung kepada sesuatu spesies. Ini disokong dengan kajian yang dilakukan oleh Nyina-Wamwiza *et al.* (2005) di mana nisbah protein : lipid : karbohidrat yang sesuai untuk ikan pike perch, *Sander lucioperca* ialah P43:L10:C15 kerana apabila dibekalkan diet yang bernisbah lebih tinggi P50:L16:C20 tiada perbezaan yang signifikan daripada segi tumbesaran mahupun kecekapan pemakanan yang dapat dilaporkan. Jadi, bekalan karbohidrat yang mencukupi amat penting dalam mengurangkan proses katabolisme protein untuk tenaga dan proses penghasilan glukosa yang seterusnya meningkatkan penahanan protein dan mengurangkan kandungan nitrogen dalam persekitaran (Wilson, 1994).

2.2.4 Vitamin

Vitamin amat penting untuk kehidupan. Kekurangan vitamin akan menyebabkan masalah metabolik dan penyakit yang serius. Pengurangan dalam pengambilan makanan juga merupakan simptom daripada kekurangan vitamin. Ikan yang dipelihara secara percubaan dengan menggunakan makanan asas tidak menunjukkan avitaminosis tetapi ia membesar dengan lebih lambat berbanding ikan yang diberi tambahan makanan hidup atau dicampurkan dengan vitamin. Bagi memastikan ikan sihat dan bebas daripada penyakit serta bagi mendapat pertumbuhan yang teratur, vitamin seperti A, D, E, K dan B12, thiamina, riboflavin, piridoksin, asid pantetonik, asid nikotik, asid folik, cholin dan asid askorbik perlu dibekalkan dalam komposisi diet (Steffens, 1989). Walau bagaimanapun, paras kandungan vitamin yang diperlukan dalam sesuatu diet belum dapat

dikenal pasti. Jadi keperluan yang dibekalkan adalah mengambilkira keperluan minimum dan kandungan vitamin yang hilang ketika pengendalian pembuatan makanan serta kaedah penyimpanan diet kerana kandungan vitamin boleh berkurangan disebabkan oleh pemanasan atau suhu, kelembapan dan cahaya ataupun teroksidasi apabila terdedah kepada atmosfera.

2.2.5 Mineral

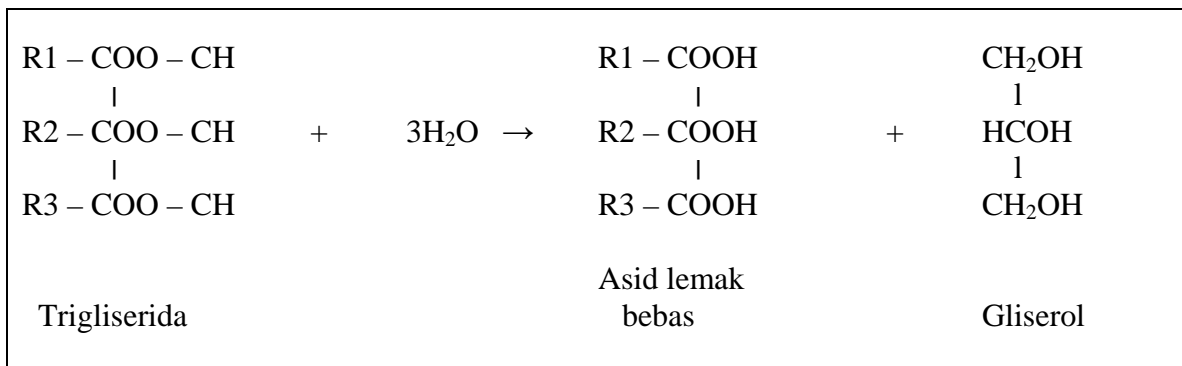
Bagi membina struktur badan yang baik, ikan memerlukan mineral sebagai sebahagian daripada proses metabolisme dan selalunya berperanan sebagai mangkin biologi bagi enzim, hormon dan protein. Selain itu, ia juga penting untuk proses osmoregulasi pada ikan. Mineral seperti kalsium dan fosforus memainkan peranan penting dalam pembentukan tulang, manakala ion pula penting untuk hemoglobin (sel darah). Mineral boleh dibahagi kepada dua kategori iaitu makro-mineral dan mikro-mineral. Keperluannya berpandukan kepada kuantiti yang terdapat di dalam diet dan badan ikan.

Selain daripada mineral yang dibekalkan dalam diet, ikan juga boleh mendapat mineral daripada air yang melalui membran insang. Dalam kes ikan marin, aktiviti biologinya adalah dengan meminum air dan mineral akan diserap daripada usus. Justeru makanan bagi ikan marin tidak perlu dibekalkan mineral yang banyak. Sebaliknya yang berlaku pada ikan air tawar, mineral perlu dibekalkan dengan secukupnya dalam diet ikan bagi menyeimbangkan makro dan mikro-mineral dalam badan ikan (Stickney, 1997).

2.3 Lipid dan Asid Lemak

2.3.1. Pengenalan Lipid

Lipid adalah komposisi tisu yang terdapat pada tumbuhan atau haiwan yang boleh diekstrak oleh sebatian bukan organik seperti eter, kloroform dan benzena. Ia merupakan komponen kedua utama di dalam diet selepas protein (Halver, 1998). Lipid wujud dalam bentuk asid lemak, trigliserida, fosfolipid, glikolipid, alkohol alifatik dan lain-lain. Bagi kebanyakan haiwan akuatik, sumber lipid yang utama di dalam diet wujud dalam bentuk trigliserida. Trigliserida terbentuk apabila tiga asid lemak bercantum dengan gliserol (**Rajah 2.2**).



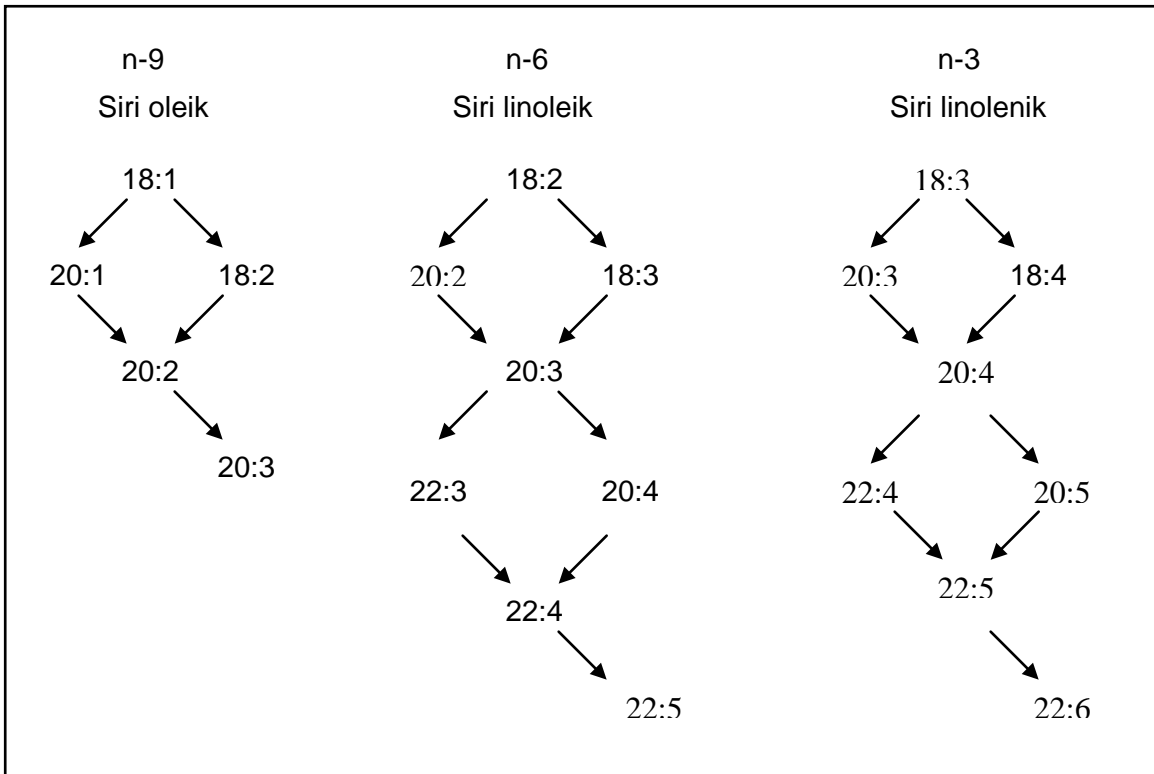
Rajah 2.2: Menunjukkan pembentukan molekul trigliserida melalui pencantuman asid lemak dengan gliserol (R1, R2 dan R3 merupakan asid-asid lemak yang berlainan)

Semasa proses pencernaan, enzim tertentu contohnya lipase ataupun esterase akan memecahkan asid lemak daripada molekul trigliserida melalui proses hidrolisis. Berikutan dengan penyerapan ke dalam darah, asid lemak bebas dan molekul gliserol tersebut mungkin bercantum semula untuk membentuk trigliserida yang baru. Ketiga-tiga

asid lemak bebas yang berkait dengan setiap molekul gliserol mungkin sama ataupun berbeza seperti yang ditunjukkan oleh R1, R2 dan R3 (Stickney, 1994; Rajah 2.2).

Unsur-unsur utama yang terdapat di dalam asid lemak ialah karbon, hidrogen dan oksigen dan merupakan molekul tidak bercabang yang mempunyai nombor atom karbon yang genap (4 sehingga 22 atom karbon). Terdapat lebih 40 jenis asid lemak yang wujud dalam keadaan semulajadi (Millamena, 1989) dan boleh diklasifikasikan kepada tiga kategori iaitu asid lemak tepu, mono tak tepu dan poli tak tepu. Asid lemak tepu tidak mempunyai ikatan ganda dua, manakala asid lemak tak tepu mungkin mempunyai satu (mono tak tepu) atau lebih (poli tak tepu) ikatan ganda dua. Asid-asid lemak poli tak tepu (PUFA) pula boleh dibahagikan kepada tiga famili iaitu asid oleik (ω -9), asid linoleik (ω -6) dan asid linolenik (ω -3). Tidak seperti haiwan yang lain, ikan dapat melakukan proses penyahtepuan dan pemanjangan pada asid lemak. Contohnya, ikan rainbow trout, *Salmo gairdneri* didapati boleh memanjangkan dan menyahtepukan siri asid lemak oleik (C18:1n-9), linoleik (C18:2n-6) dan linolenik (C18:3n-3) (NRC, 1973; Rajah 2.3).

Selain itu, C18:3n-3 boleh ditukar kepada C20:5n-3, C22:5n-3 dan C22:6n-3, tetapi C18:3n-3 tidak boleh menghasilkan C18:2n-6 atau asid-asid lemak dalam siri oleik atau linoleik. Walau bagaimanapun, kebolehan memanjangkan siri asid lemak ini berbeza antara spesies (Turchini *et al.*, 2006).



Rajah 2.3: Tapak metabolisme asid lemak rainbow trout, *Salmo gairdneri* (NRC, 1973)

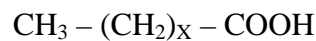
Lipid juga penting dalam menentukan rasa (palatability) pada ikan dan telah dibuktikan pada ikan trout. Johansson *et al.* (1995) menyatakan bahawa lipid penting dalam mengekalkan rasa dan tekstur ikan tersebut. Kenyataan ini disokong oleh Chaiyapechara *et al.* (2003), beliau menyatakan bahawa kandungan lipid dalam diet akan meningkatkan kestabilan pelet di dalam air.

2.3.2 Jenis-jenis Asid Lemak

Asid lemak merupakan rantaian atom karbon lurus, biasanya mempunyai bilangan atom karbon yang genap dan kadangkala mempunyai ikatan ganda dua. Asid lemak yang tidak terdapat ikatan ganda dua dikenali sebagai asid lemak tepu. Bagi rantaian yang mempunyai hanya satu ikatan ganda dua dipanggil sebagai asid lemak mono tak tepu (MUFA), manakala rantaian yang mempunyai lebih daripada dua ikatan ganda dua pula dipanggil asid lemak poli tak tepu (PUFA). Kebanyakan haiwan daratan memerlukan $\omega 6$, manakala haiwan akuatik lebih cenderung keperluannya terhadap $\omega 3$ PUFA dan kadangkala kedua-dua kumpulan $\omega 3$ dan $\omega 6$. Pada tisu ikan, asid lemak wujud secara signifikan dalam bentuk fosfolipid dan glikolipid (Borlongan & Benitez, 1992).

Asid Lemak Tepu

Asid lemak tepu (SFA) dapat dikenalpasti apabila hanya terdapat ikatan tunggal pada atom-atom karbon seperti yang ditunjukkan di bawah:



Rantaian asid lemak tepu

(a)

X = bilangan ikatan ganda dua dalam rantaian hidrokarbon

Contoh asid lemak tepu (SFA) ialah asid palmitik (C16:0) dengan struktur kimianya $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$. SFA yang sering dijumpai adalah di antara 12 kepada 22 atom karbon. Walau bagaimanapun, SFA yang bermula dari atom 2 karbon kepada atom

karbon yang lebih panjang dari 30 juga telah dilaporkan. SFA seperti asid etanoik, propanoik, butanoik dan heksanoik berada dalam kategori ini. Rantaian bercabang asid lemak biasanya dijumpai dalam bakteria, lemak mentega dan lipid kulit. Mereka wujud pada konsentrasi yang rendah dalam lemak haiwan dan sesetengah minyak haiwan marin.

Asid Lemak Tak Tepu

Asid lemak tak tepu ialah asid lemak yang mempunyai satu atau lebih ikatan ganda dua dalam sesuatu rantaian. Berdasarkan bilangan ikatan ganda dua, asid lemak tak tepu boleh dibahagi kepada tiga kumpulan iaitu asid lemak mono tak tepu (MUFA) yang mempunyai hanya satu ikatan ganda dua dan asid lemak poli tak tepu (PUFA) yang mempunyai ikatan ganda dua antara dua hingga empat manakala asid lemak tinggi tak tepu (HUFA) mengandungi ikatan ganda dua yang melebihi empat. Beberapa contoh asid lemak tak tepu yang penting dalam nutrien ikan disenaraikan di Jadual 2.1 manakala struktur bagi rantaian asid lemak tak tepu ditunjukkan seperti di bawah:



Rantaian asid lemak tak tepu

(b)

X = bilangan ikatan ganda dua dalam rantaian hidrokarbon

Asid lemak tak tepu lebih reaktif secara kimia berbanding dengan asid lemak tepu disebabkan oleh kehadiran ikatan ganda dua di dalam rantaian. Kereaktifan meningkat apabila bilangan ikatan ganda dua meningkat. Panjang rantaian dan darjah

ketidaktepuan (bilangan ikatan ganda dua) akan mengenalpasti ciri-ciri fizikal dan kimia sesuatu asid lemak tersebut. Asid lemak tak tepu mempunyai tahap pencairan yang rendah dan wujud dalam keadaan minyak pada suhu bilik.

Jadual 2.1: Asid lemak tak tepu (Belitz dan Grosch, 1987)

Nama Sistematik	Nama Am	No. Karbon	Bil. Ikatan gandadua	Takat lebur (°C)
9-dekenoik	Kaproleik	10	1	-
9-dodekenoik	Lauroleik	12	1	-
9-tetradekenoik	Miristoleik	14	1	18.5
9-heksadekenoik	Palmitoleik	16	1	-
9-oktadekenoik	Oleik	18	1	16.3
9,12-oktadekadienoik	Linoleik	18	2	-6.5
9,12,15-oktadekatrienoik	Linolenik	18	3	-12.8
9-eikosenoik	Gadoleik	20	1	-
5,8,11,14-eikosatetraenoik	Arakidonik	20	4	-49.5
5,8,11,14,17-eikosapentaenoik	EPA	20	5	-
13-dokosenoik	Erukik	22	1	33.4
4,7,10,13,16,19-dokosaheksaenoik	DHA	22	6	-

Asid lemak MUFA yang paling dominan ialah asid oleik (C18:1n-9) yang terdapat dalam semua lipid haiwan dan tumbuhan. Asid palmitoleik (C16:1n-9) pula hadir dalam kebanyakan minyak bijian. Asid lemak poli tak tepu seperti asid-asid linoleik (C18:2n-6), linolenik (C18:3n-3), arakidonik (C20:4n-6), eikosapentaenoik (EPA, C20:5n-3) dan dokoheksaenoik (DHA, C22:6n-3) diberi penekanan kerana ia mempunyai kepentingan di dalam nutrisi. Minyak sayuran merupakan sumber utama asid linoleik (C18:2n-6) dan asid linolenik (C18:3n-3). Minyak ikan merupakan sumber utama asid lemak ω 3 PUFA kerana mengandungi kuantiti pelbagai rantaian asid lemak yang mempunyai tiga atau lebih ikatan ganda dua termasuklah EPA dan DHA.

Asid lemak tak tepu memainkan peranan penting dalam pengangkutan lipid lain. Beberapa kajian telah menunjukkan pengambilan PUFA dapat mengurangkan kandungan kolesterol di dalam haiwan dengan di atas paras lipid darah dan kolesterol yang normal. Pada kebiasaannya minyak ikan lebih efektif dalam mengurangkan paras kolesterol berbanding sumber-sumber lipid yang lain. Cecair asid lemak akan diserap pada mukosa usus yang diangkut dalam bentuk kompleks lipid-protein yang distabilkan oleh fosfolipid. Suhu badan ikan yang rendah berkemungkinan menyebabkan penggunaan ketidaktepuan dalam pengangkutan lipid lebih penting berbanding haiwan homeotermik yang lain.

2.3.3 Keperluan Asid Lemak Perlu (EFA) dalam Ikan

Di samping membekalkan sumber tenaga dalam aktiviti metabolisme, lipid juga merupakan sumber kepada asid lemak iaitu sebagai pembekal utama kepada rantaian panjang C₂₀ dan C₂₂ asid lemak tinggi tak tepu (HUFA), arakidonik (20:4n-6), eikosapentanoik (C₂₀:5n-3) dan dokosaheksanoik (C₂₂:6n-3) yang penting kepada kesihatan haiwan vertebrata kelas tinggi dan seterusnya bermanfaat kepada diet manusia. Kebanyakan sumber lipid dalam diet adalah tersedia untuk diserap ke dalam sel badan. Trigliserida akan berkurangan dalam tisu adipos apabila lemak digunakan sebagai sumber kalori (tenaga). Manakala badan boleh menghasilkan asid lemak tepu dan tak tepu dengan menukarkan asid-asid lemak yang lain ataupun dengan mensintesis sumber tenaga yang lain seperti protein dan karbohidrat. Walau bagaimanapun, sesetengah PUFA seperti asid linoleik dan asid linolenik tidak boleh disintesis sendiri, ia perlu dibekalkan di dalam diet makanan. Asid lemak ini dikenali sebagai asid lemak perlu (EFA) (Watanabe, 1982). Sila rujuk Jadual 2.2.

Secara umumnya, ikan marin memerlukan ω 3 HUFA untuk perkembangan tumbesaran, tetapi bagi ikan air tawar termasuklah tilapia memerlukan asid lemak ω 6 (Rodriguez *et al.*, 1997). Tambahan lagi, sesetengah spesies ikan sahaja yang mampu untuk memanjangkan dan menyahtepukan asid lemak C₁₈ kepada asid lemak ω 3 HUFA yang lebih kompleks (Ibeas *et al.*, 1996; Turchini *et al.*, 2006). Kelebihan ini terdapat pada ikan air tawar yang boleh memanjangkan dan menyahtepukan asid lemak (contohnya C₁₈:3n-3 kepada HUFA) dan sebaliknya berlaku pada ikan marin (Yone, 1982). Oleh sebab itu, asid lemak HUFA seperti C₂₀:5n-3 dan C₂₂:6n-3 biasanya dibekalkan dalam diet ikan marin.

Jadual 2.2: Keperluan asid lemak beberapa jenis ikan (Watanabe, 1982).

Spesies	Keperluan asid lemak perlu
Ikan keli (<i>I. punctatus</i>)	1% 18:3n-3 atau 0.5% - 0.75% 20:5n-3 dan 22:6n-3
Kap biasa (<i>C. carpio</i>)	1% 18:2n-6 dan 1% 18:3n-3
Ikan belut Jepun (<i>A. japonica</i>)	0.5% 18:2n-6 dan 0.5% 18:3n-3
Sea bream merah (<i>C. major</i>)	0.5% 20:5n-3 dan 22:6n-3
Siakap (<i>Lates calcarifer</i>)	1% 20:5n-3 dan 22:6n-3
Ikan tilapia (<i>T. nilotica</i>)	0.5% 18:2n-6
Ikan tilapia (<i>T. zillii</i>)	1% 18:2n-6 atau 1% 20:4n-6
Yellowtail (<i>S. quinquerediata</i>)	2% 20:5n-3 dan 22:6n-3

2.3.4 Pengoksidaan Lemak Dalam Ikan

Lipid yang teroksida membahayakan ikan. Pengoksidaan lipid merupakan faktor utama dalam kemerosotan kualiti isi ikan dan akan memberikan kesan yang negatif kepada rasa, warna, tekstur dan nilai makanan berkhasiat akibat dari kemusnahan kandungan vitamin A, D dan E dan asid lemak perlu (EFA). Dari sudut pandangan perubatan, pengoksidaan lipid yang tidak terkawal boleh menyebabkan kemusnahan membran dan seterusnya peningkatan dalam jangkitan penyakit (Gurr dan Harwood, 1991). Hasil komposisi pengoksidaan lipid pada otot bergantung kepada profil asid lemak yang terdapat dalam ikan tersebut. Semakin banyak asid lemak tak tepu dalam otot,

semakin senang atom hidrogen dipisahkan dan proses pengoksidaan berlaku (Skibsted *et al.*, 1998).

Secara amnya, lipid daripada ikan mempunyai darjah ketidaktepuan yang tinggi pada lipid berbanding jenis makanan yang lain, jadi ia lebih mudah terdedah kepada proses pengoksidaan. Lipid dalam ikan sebahagian besar terdiri daripada asid lemak poli tak tepu (PUFA), terutamanya famili ω 3 PUFA iaitu asid linolenik (C18:3n-3) dan terbitannya asid eikosapentanoik (EPA, C20:5n-3), asid dokosapentanoik (DPA, C22:5n-3) dan asid dokosaheksanoik (DHA, C22:6n-3) adalah lebih cenderung untuk dioksidakan dan sedia teroksidasi untuk membentuk hiperoksida (Shahidi, 1991 dan Pirini *et al.*, 2000).

Selain daripada kandungan lemak dalam tisu dan darjah ketidaktepuan lipid, faktor lain yang menyebabkan pengoksidaan bergantung kepada spesies yang dikaji. Sekiranya spesies adalah sama, ikan kecil lebih cepat menjadi rosak berbanding ikan bersaiz yang lebih besar. Ini berkemungkinan disebabkan oleh kemampuan bakteria permukaan untuk mempengaruhi spesimen yang lebih kecil (Merritt, 1970). Di samping itu, kadar pengoksidaan juga dipengaruhi oleh keadaan ikan semasa ditangkap, diet, musim, tempat ternakan dan perkembangan pembiakan, serta teknik selepas penangkapan; pendarahan, pengeluaran isi perut, penyejukan dan penyimpanan.

2.4 Kesan-kesan asid lemak

2.4.1 Kematangan dan Pembiakan

Santiago dan Reyes (1993) telah membuat kajian kesan sumber lipid ke atas penghasilan telur dan tisu lipid pada tilapia dan mendapati bahawa diet yang mengandungi minyak hati ikan yang tinggi (kaya dengan $\omega 3$ HUFA) menunjukkan produktiviti yang rendah. Manakala penghasilan fri ikan yang banyak dicapai dalam diet yang mengandungi minyak kacang soya iaitu diet yang kaya dengan sumber asid lemak $\omega 6$.

Lipid bukan sahaja memberi kesan terhadap ikan betina, Shearer dan Swanson (2000) mendapati bahawa kadar kandungan lipid dalam badan ikan juga mempengaruhi kematangan ikan salmon jantan. Lipid juga penting untuk perkembangan organ pada peringkat awal dan keperluan dalam proses fisiologi seperti perkembangan fri dan smoltifikasi pada salmonid (Berril *et. al.*, 2004).

2.4.2 Sistem imun

Kesan asid lemak terhadap sistem imun sangat kompleks dan bergantung kepada beberapa faktor yang mempengaruhi penghasilan eikosanoid yang berfungsi sebagai pengawal sistem penahanan badan dalam organisma. Secara amnya, keperluan EFA pada ikan air tawar mampu dipenuhi dengan membekalkan asid-asid lemak linoleik (C18:2n-6) dan linolenik (C18:3n-3) dalam diet pemakanan ikan kerana ikan air tawar mampu memanjang dan menyahtepukan asid lemak (Ibeas *et al.*, 1996). Ia amat berbeza bagi keperluan EFA pada ikan marin kerana keperluannya hanya mampu dipenuhi dengan membekalkan jumlah dan nisbah yang betul pada rangkaian panjang HUFA, asid

eikosapentanoik (C20:5n-3; EPA) dan asid dokosaheksanoik (C22:6n-3) (NRC, 1993; Higgs & Dong, 2000). Kiron *et al.* (1995) telah membuktikan bahawa pengurangan tahap EFA pada rainbow trout mengurangkan bakteria pembunuh *in vitro* oleh mikrofauna dan seterusnya mengurangkan penghasilan antibodi. Namun kajian perkaitan nisbah asid lemak ke atas sistem imun pada ikan masih di peringkat permulaan dan data masih kurang lengkap.

2.4.3 Kesan-kesan negatif

Pada kebiasaannya, masalah yang wujud pada keperluan asid lemak poli tak tepu dalam siri $\omega 3$ oleh ikan berkait rapat dengan cara penyimpanan makanan. Ini kerana asid lemak poli tak tepu lebih mudah teroksida berbanding asid-asid lemak yang lain.

Selain itu, kandungan lipid yang tinggi boleh mengakibatkan tumbesaran terbantut. Contohnya pada larva *Solea senegalensis*, menunjukkan bahawa diet yang mengandungi lipid neutral yang banyak akan menyebabkan pengurangan tahap kebolehan untuk penyerapan asid lemak, ini berlaku berkemungkinan kaitannya dengan penggumpalan lipid pada gut enterosit (Morais *et al.*, 2005).

Selain itu, kajian yang dilakukan Esteves *et al.* (2003) pula mendapati bahawa wujud aktiviti abnormal pada pigmentasi pewarnaan ikan flatfish, kesan daripada kekurangan paras DHA untuk menghasilkan eicosanoid. Ini kerana eicosanoid berperanan untuk merangsang otak ikan untuk membesar dan proses metamorfosis serta menghasilkan pigmen warna. Walau bagaimanapun, keadaan ini boleh diatasi dengan pembekalan DHA yang mencukupi.

Kajian pengoksidaan pada minyak menhaden dalam diet terhadap tikus telah menyebabkan pengurangan dalam pengambilan makanan, melambatkan tumbesaran, gumpalan lemak yang berwarna kuning dan pengurangan kandungan hemoglobin serta hematokrit. Kesan negatif oksidasi minyak ikan boleh ditimbal balik dengan penambahan α -tokoferol acetat ataupun etoksikuin di dalam diet.

Pada tahun 1960, minyak sayuran amat popular kerana kestabilannya di dalam diet dan beberapa kajian telah menunjukkan rancid herring dan serbuk hake yang digunakan dalam serbuk ikan mengakibatkan penggelapan warna, anemia, kelesuan (kurang aktif), warna hati yang coklat kekuningan, buah pinggang yang tidak normal dan pergumpalan insang pada ikan salmon chinook. Simptom-simptom ini boleh dikurangkan dengan menambahkan α -tokoferol kepada diet yang mengandungi serbuk ikan ransid. Penambahan 5% vitamin E boleh menghalang proses ketoksikan dan kesan negatif terhadap ikan salmon chinook.

Walaupun nutrisi asid lemak ω 3 dalam ikan memberi kesan positif, namun ia juga mampu memberi kesan negatif sekiranya langkah-langkah yang sepatutnya diambil semasa pembuatan dan penyimpanan bahan makanan. Langkah yang paling penting ialah penggunaan minyak yang baru dengan nilai peroksida yang rendah. Kandungan makanan ikan seperti serbuk ikan perlu dilindungi daripada proses pengoksidaan. Peningkatan penambahan vitamin E seharusnya dilakukan dengan peningkatan kandungan PUFA. Pelet atau makanan ikan mestilah disimpan di dalam bekas yang kedap udara dan ditempat yang sejuk serta pendedahan kepada sinar UV yang minimum. Masalah pengoksidaan lipid tidak sepatutnya dipandang ringan.

2.5 Kesan Simpanan Tenaga (“Protein Sparing Effect”) dan Keperluan Tenaga oleh Ikan

Sumber utama tenaga dalam tindakbalas biokimia ialah adenosina trifosfat (ATP). Penukaran ATP kepada ADP (adenosine difosfat) disertakan dengan pembebasan tenaga dipanggil tindakbalas katabolisme manakala anabolisme melibatkan pemerangkapan tenaga di dalam ikatan fosfat oleh ADP kepada ATP.

Ikan seperti juga haiwan lain memerlukan tenaga untuk terus hidup. Tenaga ini disimpan dalam ikatan kimia pada makanan yang dimakan. Ikan merupakan haiwan yang paling efisien dalam menukarkan makanan kepada tisu badan. Secara amnya, $\frac{2}{3}$ atau $\frac{1}{2}$ daripada makanan yang diambil digunakan untuk tumbesaran (Halver, 1989). Namun, keperluan tenaga untuk penyelenggaraan dan aktiviti fizikal mestilah dipenuhi dahulu sebelum tenaga tersebut dibekalkan untuk tumbesaran ataupun sintesis tisu. Pada kebiasaannya, kadar keperluan tenaga akan berkurangan apabila saiz ikan membesar (Halver, 1989).

Tumbesaran dan proses metabolisme ikan ditanggung oleh tenaga yang dihasilkan dari proses katabolisme protein atau bukan protein (lipid dan karbohidrat). Keperluan protein ikan berkait rapat dengan tahap tenaga yang dibekalkan. Penggunaan secara efektif sumber tenaga dari sumber bukan protein contohnya lipid dan karbohidrat membolehkan protein disimpan (spare) (Wang *et al.*, 2006). Walau bagaimanapun, sekiranya dibandingkan antara sumber-sumber bukan protein seperti lipid merupakan sumber tenaga yang lebih efisien kepada ikan kerana ia membekalkan tenaga yang lebih tinggi per unit berat. Di samping itu, ikan juga lebih cenderung kepada lipid kerana lipid lebih senang dihadam berbanding karbohidrat kerana karbohidrat mempunyai struktur

molekul yang lebih kompleks. Kesan simpanan protein dengan menggunakan sumber bukan protein sebagai tenaga sangat berfaedah bukan sahaja dapat mengurangkan harga makanan malah dapat mengurangkan kemasukan bahan buangan bernitrogen ke persekitaran akuatik.

Nisbah protein kepada tenaga (P/E) amat penting dalam penentuan formulasi pemakanan yang menjimatkan dan mesra alam sekitar. Kebiasaannya, P/E berbeza di antara spesies ikan dan ia dapat dilihat dengan jelas antara ikan di kawasan air sejuk dengan ikan di kawasan tropika. Ikan air sejuk boleh menggunakan lipid pada tahap yang tinggi sebagai sumber tenaga jadi P/E yang diperlukan adalah rendah, contohnya ikan rainbow trout memerlukan 22 g MJ⁻¹ (Lee dan Putman, 1973) dan ikan salmon Atlantik, *Salmo salar*, hanya 18 g MJ⁻¹ (Hillestad and Johnsen, 1994). Ini amat berbeza pada ikan air panas yang memerlukan P/E yang tinggi, contohnya 31g MJ⁻¹ untuk ikan grouper (Shiau dan Lan, 1996) dan 28 g MJ⁻¹ pada ikan red drum (McGoohan dan Gaitlin, 1999).

Kesan simpanan protein berbeza bergantung kepada sesuatu spesies. Menurut Lie *et al.* (1988), beliau menyatakan bahawa paras lipid dari 15 – 18% merupakan paras yang optima untuk menggantikan sumber tenaga protein dalam diet. Bagi Lee dan Sang (2005) pula menyatakan bahawa peningkatan paras lipid dari 10 – 19% dengan paras protein sebanyak 42% menghasilkan peningkatan tumbesaran dan penggunaan protein dalam spesies *Pseudobagrus fulvidraco* dan mereka menyarankan diet yang mengandungi kombinasi 42 protein dan 19 lipid amat bersesuaian untuk spesies ini. Menurut De Silva *et al.* (1991), bagi ikan tilapia, *O. mosambicus x O. niloticus*, kadar tumbesaran dan kesan simpanan protein akan menurun apabila paras lipid melebihi 18%. Bagi ikan hiasan *Xiphorus helleri* (Ling *et al.*, 2006) menunjukkan bahawa pertambahan paras makanan

lipid dari 8 – 12% telah meningkatkan kadar tumbesaran spesifik dan beliau menyarankan kombinasi 30 protein dan 12 lipid didapati amat sesuai untuk spesies tersebut.

Fynn-Aikins *et al.* (1992), mendapati kesan simpanan protein berlaku apabila paras sub-optimum protein dibekalkan. Menurut Shiau dan Lin (1993), paras optimum protein tidak semestinya menjurus kepada penghasilan ikan yang berekonomi malah ia melibatkan kos sumber protein yang tinggi di dalam diet. Beberapa fakta menunjukkan bahawa nisbah sumber protein dan sumber tenaga yang lain merupakan faktor tumbesaran ikan lebih cekap.

Penggunaan tenaga di dalam sesuatu diet adalah merupakan kriteria penting bagi menentukan kesesuaiannya untuk haiwan ternakan. Haiwan menggunakan tenaga yang didapati daripada makanannya untuk membekalkan keperluannya untuk penyelenggaraan dan tumbesaran (Steffens, 1989). Tenaga yang dibekalkan oleh makanan terumus haruslah memenuhi keperluan ikan supaya protein yang dibekalkan digunakan untuk membentuk daging ataupun otot dan tidak digunakan sebagai sumber tenaga. Tenaga yang berlebihan pula akan menghasilkan ikan yang mempunyai kandungan lemak badan yang tinggi serta mengurangkan paras pengambilan makanan (seterusnya mengurangkan jumlah pengambilan protein) dan merencatkan penggunaan bahan-bahan nutrien di dalam makanan (Winfrey dan Stickney, 1981). Dengan itu, paras tenaga yang sesuai amatlah penting di dalam pemberian makanan.

2.6 Enzim Penghadaman

Penghadaman merupakan satu proses di mana makanan yang terdapat di dalam saluran penghadaman akan dipecahkan kepada komponen yang lebih kecil supaya ia mampu untuk melepasi membran dinding usus untuk diserap ke dalam aliran darah. Enzim penghadaman boleh dibahagikan kepada tiga kelas iaitu protein, lipid dan karbohidrat. Enzim yang memainkan peranan dalam protein ialah pepsin menghidrolisis ikatan asid amino pada aromatik radikal, kimotripsin hidrolisis ikatan karboksil and tripsin bertindak ke atas ikatan peptida antara arginina dan lisina. Enzim yang terlibat dalam pemecahan lipid pula ialah lipase dan esterase yang menghasilkan asid lemak dan gliserol (Rajah 2.2). Karbohidrat akan dipecahkan kepada gula ringkas contohnya kanji kepada glukosa oleh aktiviti amilase. Perembesan enzim telah dikenalpasti dalam esofagus oleh beberapa jenis spesies ikan tetapi aktiviti penghadaman lengkap bermula di bahagian perut (Chakrabarti *et al.*, 1995) ataupun usus hadapan bagi ikan yang tidak mempunyai perut seperti kap lalang.

Aktiviti enzim penghadaman dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti umur, peringkat fisiologi (persediaan untuk pembenihan dan kematangan organ seksual ikan) dan musim. Kajian enzim penghadaman ke atas ikan menekankan mekanisme dan kadar penggunaan nutrien yang maksimum merupakan asas untuk menentukan prosedur pemberian makanan ikan (Suarez *et al.*, 1995). Kajian tersebut menjurus kepada kemampuan mekanisme biokimia ikan dalam penukaran makanan. Corak enzim penghadaman mampu menjelaskan tabiat pemakanan ikan (herbivor, detritivor, omnivor dan karnivor) dan menunjukkan kapasiti penghadaman ikan tersebut (Smith, 1980). Seperti yang diketahui, ikan karnivor mempunyai usus yang pendek berbanding ikan-ikan

lain. Jadi dengan berpandukan profil enzim penghadaman, kita mampu meramalkan kemampuan sesuatu spesies mengambil sumber nutrien yang berlainan (Hofer dan Kock, 1989). Perubahan dari segi jenis, sumber dan jumlah nutrien dalam diet mampu mengubah profil enzim ataupun kepekatan enzim penghadaman. Ciri penyesuaian ini memberikan kelebihan kepada ikan untuk menggunakan nutrien di dalam diet (Moraes dan Bidinotto, 2000).

2.6.1. Enzim Lipase

Enzim lipase (trigliserida asil hidrolase EC. 3.1.1.3) merupakan enzim yang terdapat pada kebanyakan haiwan, tumbuhan dan mikroorganisma (L'opez-Amaya *et al.*, 2001). Enzim lipase merupakan pemangkin hidrolisis ikatan ester asid lemak dalam triasilgliserol dan menghasilkan asid lemak bebas (Norin *et al.*, 1993). Contoh substrat bagi enzim lipase ialah minyak tumbuhan, minyak haiwan, minyak ikan, minyak zaitun, lemak keju dan trisilgliserol sintetik seperti triolein. Namun, substrat utama bagi lipase adalah trigliserida pada rangkaian panjang asid lemak, manakala esterase bertindak ke atas ester ringkas yang mempunyai berat molekul yang rendah (Hepher, 1990). Esterase merupakan enzim lipolitik yang bertindak untuk menguraikan lipid sekiranya lipase belum wujud iaitu ketika perkembangan larva (Cousin *et al.*, 1987) Esterase dan lipase hadir di sepanjang saluran perkumuhan iaitu perut, pilorik seka dan sepanjang saluran usus.

Aktiviti lipase bergantung kepada kehadiran tapak aktif seperti garam hempedu dan ion kalsium bagi membanyakkan substrat untuk meningkatkan proses emulsifikasi. Kajian peranan garam hempedu pada ikan masih kurang. Dua jenis asid hempedu yang

terdapat pada pundi hempedu ialah asid taurokolik dan asid taurochenodesokskolik yang merupakan hasil pembentukan daripada asid kolik yang berkojugat dengan taurina. Asid dan garam tersebut bertindak sebagai detergen iaitu dengan mengemulsi lipid dan melancarkan aktiviti enzim lipolitik. Emulsifikasi membenarkan penyerapan terus pada sesetengah lipid semasa proses esterifikasi dalam sel epitelium pada dinding usus (Bergot dan Flechon,1970). Kebanyakan lipase bersifat alkali iaitu paling aktif pada pH antara 8 hingga 9, tetapi bagi sesetengah lipase mikrob lebih peka pada ion hidrogen dan aktif pada pH antara 5 hingga 6. Menurut Steffens (1989) suhu paling minimum bagi aktiviti lipase ialah antara 30 hingga 40°C. Walau bagaimanapun, kajian yang dijalankan oleh Lie dan Lambertsen (1985) ke atas aktiviti lipolitik dalam pilorik seka dan usus bagi kod, mereka mendapati bahawa aktiviti lipolitik yang paling aktif pada suhu 37°C, tetapi aktiviti penghadaman lipase bermula pada suhu serendah 7°C. Hal ini berlaku disebabkan oleh aktiviti pemecahan asid-asid lemak dan lilin ester.

Aktiviti lipase pada ikan lebih tinggi berbanding mamalia. Walaupun aktiviti lipase telah dikenalpasti pada sepanjang sistem penghadaman ikan, namun pankreas berkemungkinan merupakan sumber utama lipase. Menurut Chesley (1934), enzim lipase banyak terdapat pada ikan yang mempunyai pankreas yang padat berbanding pankreas yang tersebar (diffused). Brockerhoff dan Hoyle (1965) telah menjalankan eksperimen *in vivo* dan mendapati bahawa terdapat aktiviti lipolisis dalam usus ikan kod (*Gadus morhua*), namun Brockerhoff dan Hoyle (1965) dan Overnell (1973) gagal menjumpai sebarang aktiviti lipase pada pilorik-seka ataupun tisu-tisu berkaitan. Leger (1981) telah mengekstrak lipase daripada ikan rainbow trout (*Salmo gairdnerii*), manakala Patton *et al.* (1977) telah berjaya menemui aktiviti lipase dalam hempedu pada dua spesies ikan air

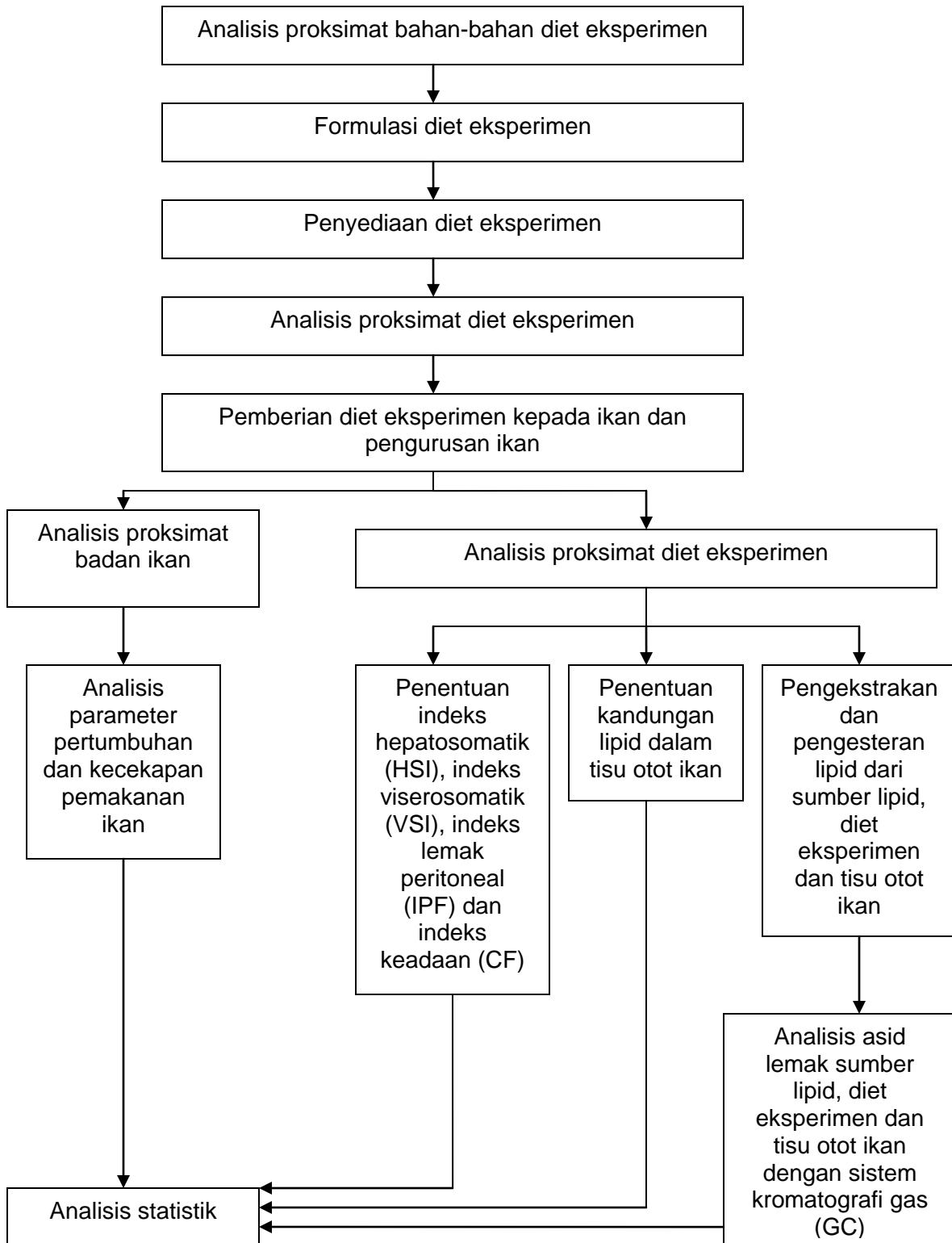
masin iaitu ikan bilis (*Engraulis mordax*) dan tuna (*Trachurus symmetricus*). Sekiranya ikan yang tidak mempunyai lipase pankreas, enzim esterase yang akan bertindak sebagai enzim penghadaman lemak (Tenjaroenkul *et al.*, 2000; Chakrabarti *et al.*, 1995).

Penghadaman lipid pada larva ikan lebih bergantung kepada enzim esterase kerana enzim lipase tidak wujud sehinggalah proses metamorfosis berlaku (Cousin *et al.*, 1987). Namun begitu, Segner *et al.* (1994) membuktikan bahawa penghadaman lipid pada ikan peringkat larva berlaku seawal dua jam selepas pengambilan makanan pertama kali. Secara histologinya, penghadaman lipid secara aktif boleh dikenalpastikan dengan kewujudan titisan-titisan lipid yang banyak pada sel-sel epitelium mukosa yang dianggap sebagai tempat penyimpanan sementara lipid (Watanabe, 1982). Dipercayai kehadiran dan kuantiti enzim penghadaman adalah berkorelasi dengan diet ikan. Satu kajian telah dijalankan oleh Kitamikado dan Tachino (1960) ke atas ikan *Salmo gairdneri* menunjukkan bahawa, secara amnya aktiviti esterase akan meningkat dengan kadar tumbesaran, namun keputusan bagi kajian mereka menunjukkan aktiviti esterase paling tinggi pada ikan yang bersaiz medium.

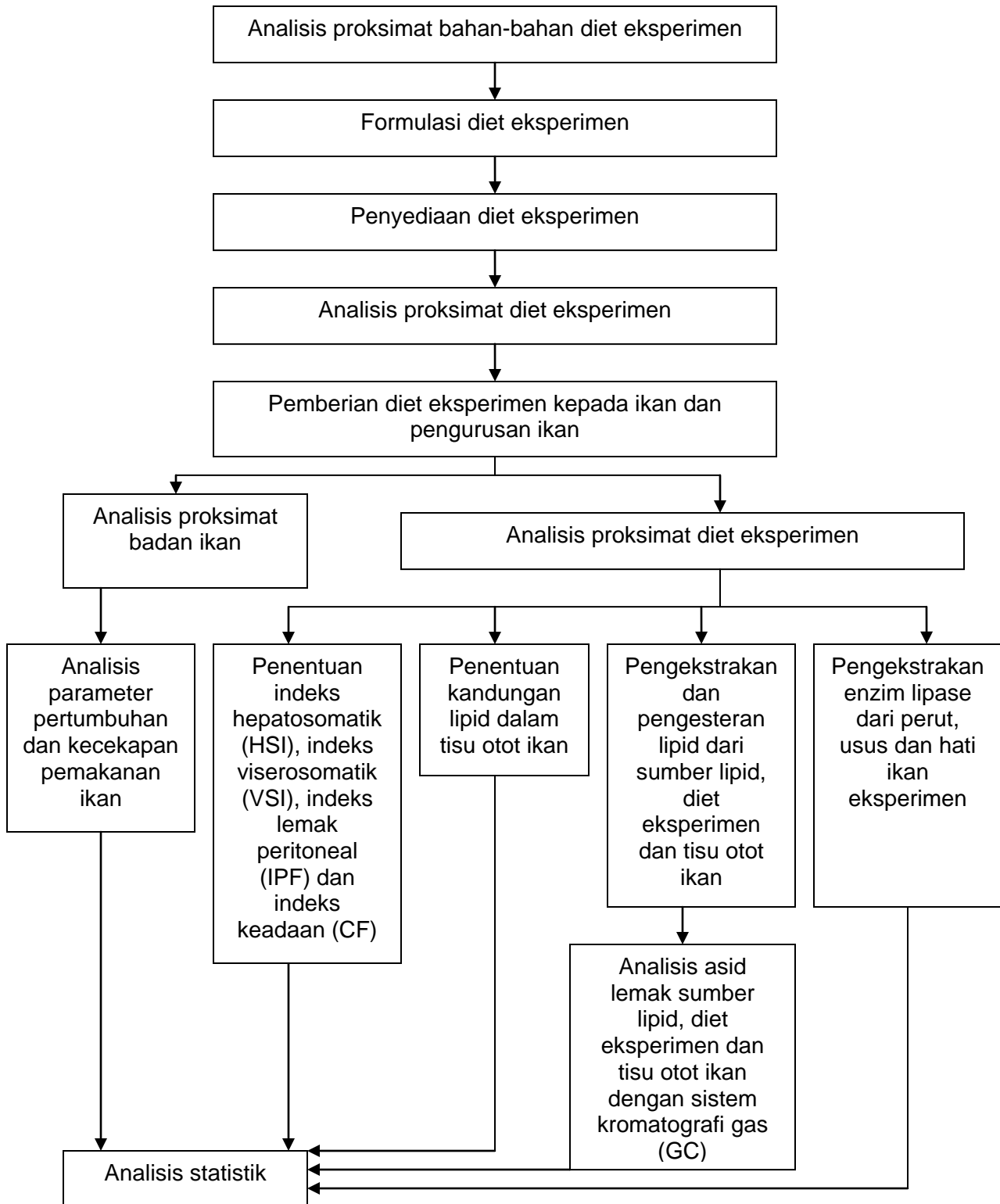
3.0 BAHAN DAN KAEDAH

3.1 Pendahuluan

Kajian ini dibahagikan kepada dua bahagian iaitu Eksperimen I (Kesan Nisbah Protein Kepada Lipid Terhadap Prestasi Tumbesaran, Komposisi Badan dan Profil Asid Lemak bagi Otot Anak Baung, *Mystus nemurus*) dan Ekperimen II (Pengaruh Nisbah Asid Lemak ω 3 dan ω 6 Terhadap Tumbesaran dan Komposisi Asid Lemak dalam Isi, Hati dan Kulit pada Anak Baung, *Mystus nemurus*), dengan objektif yang spesifik masing-masing. Secara amnya, bahan-bahan dan kaedah-kaedah analisis kimia yang terlibat di dalam Eksperimen I dan Eksperimen II boleh diringkaskan dalam bentuk carta aliran, seperti yang ditunjukkan di dalam **Rajah 3.1** dan **Rajah 3.2**.



Rajah 3.1: Ringkasan corak Eksperimen I – Kesan Nisbah Protein Kepada Lipid Terhadap Prestasi Tumbesaran, Komposisi Badan dan Profil Asid Lemak bagi Otot Anak Baung, *Mystus nemurus*



Rajah 3.2: Ringkasan corak Eksperimen II (Pengaruh Nisbah Asid Lemak ω_3 dan ω_6 Terhadap Tumbesaran dan Komposisi Asid Lemak dalam Otot, Hati dan Kulit pada Anak Baung, *Mystus nemurus*)

3.2 Diet Eksperimen

3.2.1 Eksperimen I – Kesan Nisbah Protein Kepada Lipid Terhadap Prestasi Tumbesaran, Komposisi Badan dan Profil Asid Lemak bagi Otot Anak Baung, *Mystus nemurus*

Dalam Eksperimen I, lapan jenis diet yang terdiri daripada nisbah protein dan lipid yang berbeza telah disediakan. Diet-diet eksperimen adalah isokalorik (Jadual 3.1). Diet yang disediakan mempunyai dua paras protein (35% dan 40%) dan empat paras lipid (5%, 10%, 15% dan 20%) dan dikodkan seperti Diet A (35P:5L), B (35P:10L), C (35P:15L), D (35P:20L), E (40P:5L), F(40P:10L), G (40P:15L) dan H (40P:20L). Komposisi asid lemak diet-diet kajian ditunjukkan dalam Jadual 3.2.

Dalam Eksperimen 1, serbuk ikan digunakan sebagai sumber protein dalam rumusan diet. Sumber lipid yang digunakan ialah minyak ikan (FO, yang kaya dengan asid lemak ω 3 tinggi tak tepu, ω 3 HUFA) dan minyak jagung (CO, yang tinggi dengan peratusan asid lemak linoleik (C18:2n-6) dengan nisbah minyak haiwan dan minyak tumbuhan sebanyak 1:1, serbuk sotong digunakan sebagai bahan penarik, sumber karbohidrat (“corn starch” dan dextrin), campuran vitamin dan mineral (1:1).

Peratusan kelembapan, protein kasar, lipid, serabut dan abu bagi semua bahan-bahan mentah dikaji dahulu dengan analisis proksimat sebelum pemformulaan makanan diformulasikan. Selepas itu, bahan-bahan mentah tersebut ditimbang mengikut jumlah berat yang diperlukan berdasarkan peratusan sumber protein dan sumber lipid yang dikehendaki.

Jadual 3.1: Bahan mentah dan komposisi proksimat (g kg⁻¹) bagi Eksperimen I diberi kepada anak baung, *M. nemurus* selama 16 minggu.

Tahap protein (%)	35				40			
Tahap lipid (%)	5	10	15	20	5	10	15	20
Kod Diet	A	B	C	D	E	F	G	H
<u>Bahan mentah</u>								
Serbuk ikan ¹	472.00	472.00	472.00	472.00	545.00	545.00	545.00	545.00
Serbuk sotong	60.00	60.00	60.00	60.00	60.00	60.00	60.00	60.00
Minyak jagung	0.00	38.00	75.00	100.00	0.00	30.10	75.00	100.00
Minyak ikan	0.00	0.00	13.00	38.00	0.00	0.00	5.10	30.00
Kanji jagung	221.50	191.50	135.20	80.00	187.50	164.80	109.00	52.50
Dekstrin	221.50	191.50	135.20	80.00	187.50	164.80	109.00	52.50
Campuran Vitamin ²	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
Campuran Mineral ³	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
Selulosa	5.00	27.00	89.60	150.00	5.00	15.30	76.90	140.00
<u>Komposisi proksimat</u>								
Kelembapan	75.90±0.27	78.30±0.14	82.60±0.16	85.40±0.11	75.60±0.33	78.50±0.14	82.80±0.25	86.90±0.28
Protein kasar	361.50±0.57	357.40±0.37	354.60±0.65	351.90±0.33	404.00±0.74	403.50±0.66	410.60±1.04	415.30±0.27
Lipid kasar	52.00 ± 0.26	114.30±0.61	150.00±0.52	213.70±0.57	59.90±0.21	107.00±0.45	150.90±0.99	212.40±0.32
Fiber	36.50 ±0.32	36.80±0.57	46.10±0.11	79.20±0.52	32.20±0.10	35.90±0.13	48.80±0.10	81.30±0.49
Abu	105.10±0.34	104.70±0.41	105.10±0.24	106.90±0.43	107.30±0.71	95.10±1.18	115.90±0.92	115.20±0.56
NFE ⁴	445.00 ±0.18	386.80±0.35	344.20±0.75	248.30±0.70	396.70±0.73	358.50±1.51	273.80±0.25	175.80±0.72
P/E (mg kJ ⁻¹)	21.46±0.32	20.91±0.28	20.91±0.28	20.87±0.29	24.56±0.25	23.89±0.30	23.87±0.27	23.89±0.29
Tenaga kasar (kJ ⁻¹)	1925.04±0.30	1979.06±0.28	1911.63±0.29	2000.85±0.27	1893.10±0.26	1943.72±0.30	1954.01±0.28	1967.99±0.29

¹Serbuk ikan Danish

²Campuran Vitamin kg⁻¹ (ROVIMIX 6288, Roche Vitamins Ltd, Switzyerland): Vit. A 50 million I. U., Vit. D3 10 million I. U., Vit. E 130g, Vit. B1 10g, Vit. B2 25g, Vit. B6 16g, Vit. B12 100mg, Biotin 500mg, Pantothenic acid 56g, Folic acid 8g, Niacin 200g, Anticake 20g, Antioxidant 200mg, Vit. K3 10g and Vit. C 35g.

³Campuran Mineral kg⁻¹: Calcium phosphate (monobasic 397.5g; Calcium lactate 327g; Ferrous sulphate 25g; Magnesium sulfate 137g; Potassium chloride 50g; Sodium chloride 60g; Potassium iodide 150mg; Copper sulphate 780mg; Manganese oxide 800mg; Cobalt carbonate 100mg; Zinc oxide 1.5g and Sodium selenite 20mg.

⁴NFE (Ekstrak bebas nitrogen, karbohidrat) = 100- (Protein + lipid + abu + fiber)

Jadual 3.2: Kandungan asid lemak dalam diet eksperimen yang dibekalkan kepada anak baung *M. nemurus* dengan nisbah protein : lipid yang berbeza.

Asid Lemak (%)	Diet Eksperimen (Nisbah Protein/Lipid)							
	A (35P:5L)	B (35P:10L)	C (35P:15L)	D (35P:20L)	E (40P:5L)	F (40P:10L)	G (40P:15L)	H (40P:20)
SFA								
C14:0	4.46 ± 0.06	3.43 ± 1.93	2.36 ± 0.13	2.41 ± 0.09	4.42 ± 0.19	2.63 ± 1.03	7.86 ± 9.69	1.87 ± 0.27
C16:0	17.55 ± 0.12	19.32 ± 9.33	14.51 ± 1.17	14.76 ± 0.89	17.37 ± 0.68	17.10 ± 6.67	15.22 ± 2.09	13.04 ± 0.31
C18:0	1.54 ± 0.08	2.30 ± 1.17	1.72 ± 0.16	1.77 ± 0.11	1.81 ± 0.07	2.12 ± 0.48	3.10 ± 2.52	1.53 ± 0.17
MUFA								
C16:1n7	8.37 ± 0.27	4.31 ± 0.41	3.87 ± 0.41	3.71 ± 0.11	8.57 ± 0.44	4.28 ± 1.24	2.72 ± 2.23	3.52 ± 0.21
C18:1n9	11.29 ± 0.02	17.97 ± 1.11	18.63 ± 0.97	20.11 ± 0.65	12.68 ± 0.81	24.97 ± 3.60	25.68 ± 14.99	17.80 ± 2.27
C18:1n7	4.96 ± 1.10	4.99 ± 0.76	4.84 ± 0.64	3.64 ± 0.54	5.99 ± 0.78	3.01 ± 2.60	2.65 ± 1.59	3.92 ± 0.03
C20:1n9	10.11 ± 2.24	5.85 ± 1.83	4.45 ± 0.75	3.36 ± 0.23	7.49 ± 0.57	4.36 ± 0.79	3.57 ± 1.13	3.53 ± 0.33
C22:1n11	12.13 ± 0.43	5.44 ± 0.54	4.80 ± 0.86	3.82 ± 0.41	10.95 ± 3.40	3.64 ± 0.45	2.68 ± 2.38	4.00 ± 0.92
PUFA								
C16:2n4	1.29 ± 0.10	0.54 ± 0.07	0.52 ± 0.07	0.42 ± 0.11	2.11 ± 0.34	1.07 ± 0.19	1.20 ± 1.05	0.43 ± 0.03
C16:3n4	0.23 ± 0.04	0.22 ± 0.10	0.14 ± 0.05	0.15 ± 0.03	0.28 ± 0.03	0.20 ± 0.04	0.38 ± 0.49	0.07 ± 0.05
C18:3n4	0.04 ± 0.01	0.46 ± 0.60	1.00 ± 0.89	1.66 ± 0.20	0.11 ± 0.03	0.92 ± 0.80	0.89 ± 0.74	1.33 ± 0.12
ω-3PUFA								
C16:4n3	0.30 ± 0.0	0.22 ± 0.13	0.15 ± 0.02	0.21 ± 0.06	0.32 ± 0.04	0.17 ± 0.05	0.08 ± 0.07	0.11 ± 0.02
C18:3n3	0.42 ± 0.00	0.63 ± 0.19	0.57 ± 0.09	0.69 ± 0.03	0.45 ± 0.04	0.81 ± 0.21	0.70 ± 0.28	0.49 ± 0.10
C18:4n3	1.44 ± 0.28	0.63 ± 0.22	0.52 ± 0.08	0.53 ± 0.08	1.12 ± 0.08	0.64 ± 0.20	0.56 ± 0.16	0.41 ± 0.06
C20:4n3	0.37 ± 0.02	0.26 ± 0.15	0.22 ± 0.04	0.25 ± 0.03	0.33 ± 0.01	0.28 ± 0.09	0.06 ± 0.07	0.09 ± 0.08
C20:5n3	9.48 ± 0.77	4.52 ± 0.40	4.72 ± 0.30	4.49 ± 0.23	10.33 ± 0.84	4.40 ± 1.29	3.10 ± 2.74	4.00 ± 0.15
C22:5n3	0.99 ± 0.01	0.49 ± 0.02	0.65 ± 0.13	0.64 ± 0.18	0.89 ± 0.05	0.78 ± 0.24	0.35 ± 0.30	0.53 ± 0.05
C22:6n3	13.22 ± 1.28	6.70 ± 0.48	6.79 ± 0.56	5.55 ± 0.47	12.36 ± 1.57	5.56 ± 1.71	4.19 ± 3.64	5.69 ± 0.52
ω-6 PUFA								
C18:2n6	1.37 ± 0.03	21.35 ± 14.68	29.30 ± 0.47	31.60 ± 1.06	1.96 ± 0.27	22.82 ± 19.43	20.35 ± 14.95	28.76 ± 3.49
C20:4n6	0.44 ± 0.02	0.34 ± 0.20	0.23 ± 0.03	0.22 ± 0.08	0.46 ± 0.06	0.23 ± 0.05	4.67 ± 7.36	8.89 ± 7.43
Σ SFA¹	23.55 ± 2.73	25.05 ± 12.44	18.60 ± 1.43	18.94 ± 1.07	23.60 ± 0.84	21.84 ± 8.19	26.18 ± 13.15	16.44 ± 0.76
Σ MUFA²	46.86 ± 0.40	38.56 ± 0.72	36.59 ± 1.45	34.65 ± 0.39	45.68 ± 3.16	40.26 ± 6.28	37.29 ± 10.92	32.77 ± 3.37
Σ PUFA³	29.59 ± 1.68	36.39 ± 14.01	44.81 ± 0.78	46.42 ± 0.49	30.71 ± 2.13	37.90 ± 15.20	36.53 ± 23.20	50.79 ± 4.47
Σ ω-3⁴	26.22 ± 1.78	13.47 ± 0.99	13.61 ± 1.14	12.36 ± 0.58	25.80 ± 1.69	12.64 ± 3.79	9.04 ± 6.50	11.31 ± 0.45
Σ ω-6⁵	1.81 ± 0.05	21.69 ± 14.48	29.53 ± 0.44	31.82 ± 0.99	2.41 ± 0.29	23.05 ± 19.37	25.03 ± 18.85	37.65 ± 3.92
ω3 : ω-6	14.50 ± 1.42	0.62 ± 1.39	0.46 ± 0.04	0.39 ± 0.04	10.69 ± 0.71	0.55 ± 13.55	0.36 ± 0.08	0.30 ± 0.02
HUFA⁶	24.50 ± 0.77	12.31 ± 0.15	12.61 ± 0.04	11.15 ± 0.03	24.37 ± 0.06	11.25 ± 0.24	12.37 ± 2.74	19.20 ± 0.52
PUFA/HUFA	1.21 ± 0.05	2.96 ± 0.40	3.55 ± 0.30	4.16 ± 0.49	1.26 ± 0.06	3.37 ± 0.24	2.95 ± 0.28	2.65 ± 0.33

1 Σ SFA: Jumlah asid lemak tepu

2 Σ MUFA: Jumlah asid lemak mono tak tepu

3 Σ PUFA : Jumlah asid lemak poli tak tepu

4 Σ ω-3: Jumlah ω3

5 Σ ω-6: Jumlah ω6

6 Σ HUFA: Jumlah asid lemak tinggi tak tepu

3.2.2 Eksperimen II – Pengaruh Nisbah Asid Lemak $\omega 3$ dan $\omega 6$ Terhadap Tumbesaran dan Komposisi Asid Lemak dalam Isi, Hati dan Kulit pada Anak Baung, *Mystus nemurus*)

Eksperimen ini merupakan lanjutan kepada Eksperimen I di mana paras protein dan lipid ditetapkan apabila keputusan daripada Eksperimen I diperolehi. Sebanyak lima jenis diet separuh tulen yang isonitrogenous dan isokalorik disediakan untuk Eksperimen II.

Sumber protein yang digunakan dalam formulasi diet Eksperimen II ialah serbuk ikan (serbuk ikan Danish) dan casein. Minyak ikan dan minyak jagung digunakan sebagai sumber lipid dalam peratusan (nisbah asid lemak) yang berlainan. Bahan-bahan lain seperti dekstrin, campuran vitamin, campuran mineral, karboksimetil selulosa (CMC) dan selulosa juga dicampurkan. Dekstrin, CMC dan selulosa dibeli dari LiangTraco Pte. Ltd. (Pulau Pinang) sementara campuran vitamin dan mineral dibeli dari Sri Purta Trading Sdn. Bhd. (Kedah). Komposisi bahan-bahan yang digunakan dalam formulasi diet makanan eksperimen ini akan dijalankan analisis proksimat terlebih dahulu. Diet-diet kajian telah dikodkan seperti berikut:

Diet	Nisbah asid lemak ($\omega 3:\omega 6$)
A	1:0.33
B	1:0.5
C	1:1
D	1:2
E	1:3

Jadual 3.3: Kandungan bahan mentah dan komposisi proksimat diet eksperimen yang dibekalkan kepada anak baung selama 16 minggu

Kandungan % berat kering	Diet eksperimen (ω3 :ω6 berat kering)									
	A (1:0.33)		B (1:0.50)		C (1:1)		D (1:2)		E (1:3)	
Serbuk ikan ¹	28.54		28.54		28.54		28.54		28.54	
Kasein	16.75		16.75		16.75		16.75		16.75	
Dextrin	16.47		16.47		16.47		16.47		16.47	
Kanji jagung	16.97		16.97		16.97		16.97		16.97	
Serbuk sotong	6.70		6.70		6.70		6.70		6.70	
Minyak ikan	9.29		7.72		4.85		1.95		0.00	
Minyak jagung	2.25		3.82		6.69		9.59		11.54	
Selulosa	8.97		8.97		8.97		8.97		8.97	
Vitamin mix. ²	2.00		2.00		2.00		2.00		2.00	
Mineral mix ³	2.00		2.00		2.00		2.00		2.00	
Komposisi Proksimat dan kandungan tenaga diet (berdasarkan berat kering, %)										
Kelembapan	5.64	±0.19 ^{ab}	6.51	±0.26 ^{bc}	7.19	±0.05 ^{cd}	7.77	±0.60 ^{cd}	7.38	±0.52 ^{cd}
Protein	36.06	±0.64	34.67	±0.32	36.21	±0.69	35.75	±0.13	36.42	±0.60
Lipid	15.06	±0.65	14.99	±0.57	14.52	±0.47	14.87	±0.11	14.56	±0.43
Serat / fiber	0.11	±0.19	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.52	±0.91
Abu	7.71	±0.04	7.21	±0.33	7.71	±0.10	7.37	±0.32	7.24	±0.46
NFE ⁴	41.06	±1.34	43.13	±0.43	41.55	±1.08	42.01	±0.27	41.26	±0.62
Tenaga kasar (mg/J)	433.71	±3.54	434.10	±4.10	431.57	±3.32	434.05	±1.64	431.80	±5.46

¹Serbuk ikan Danish

²Vitamin Mix kg⁻¹ (ROVIMIX 6288, Roche Vitamins Ltd, Switzyerland): Vit. A 50 million I. U., Vit. D3 10 million I. U., Vit. E 130g, Vit. B1 10g, Vit. B2 25g, Vit. B6 16g, Vit. B12 100mg, Biotin 500mg, Pantothenic acid 56g, Folic acid 8g, Niacin 200g, Anticake 20g, Antioxidant 200mg, Vit. K3 10g and Vit. C 35g.

³Mineral Mix kg⁻¹: Calcium phosphate (monobasic 397.5g; Calcium lactate 327g; Ferrous sulphate 25g; Magnesium sulfate 137g; Potassium chloride 50g; Sodium chloride 60g; Potassium iodide 150mg; Copper sulphate 780mg; Manganese oxide 800mg; Cobalt carbonate 100mg; Zinc oxide 1.5g and Sodium selenite 20mg.

⁴NFE (Ekstrak bebas nitrogen, karbohidrat) = 100- (Protein + lipid + abu + fiber)

3.3 Penyediaan Diet Eksperimen

Cara-cara penyediaan diet Eksperimen I dan II adalah sama. Bahan-bahan mentah kering ditimbang mengikut sukatan dalam Jadual 3.1 dan Jadual 3.2 masing-masing mengikut fasa kajian untuk menghasilkan jumlah berat kering 3.0 kg bagi setiap diet. Campuran vitamin serta minyak yang akan digunakan ditimbang ke dalam bekas yang berlainan sebelum diet eksperimen disediakan.

Campuran vitamin dimasukkan ke dalam mesin pengacau Hobart dan diikuti oleh bahan-bahan mentah lain, kemudian, campuran tersebut digaul selama 45 minit sehingga sekata. Selepas 45 minit, minyak (kandungan mengikut peratusan dalam diet) ditambah sedikit demi sedikit ke dalam campuran dan dibiarkan bergaul dengan campuran selama 20 minit. Seterusnya air suling ditambahkan sedikit demi sedikit ketika mesin masih berfungsi. Isipadu air suling yang digunakan adalah berbeza-beza mengikut jenis diet. Proses pengacauan diteruskan sehingga bahan campuran sekata. Apabila bahan campuran digenggam, ia boleh membentuk ketulan, ia dimasukkan ke dalam mesin pengisar daging untuk menghasilkan diet makanan ikan yang berbentuk rod panjang yang berukuran diameter 2 mm. Diet-diet tersebut kemudiannya dikeringkan pada suhu bilik dengan menggunakan kipas selama semalaman. Diet-diet yang telah dikeringkan dikumpul dan disimpan dalam peti sejuk beku pada suhu -20°C . Diet-diet eksperimen yang dihasilkan itu kemudiannya dipotong dengan menggunakan pisau supaya saiz pelet adalah antara 0.5 – 1.0 cm panjang dan disimpan di dalam peti sejuk sebelum diberikan kepada ikan.

3.4 Pengurusan Ikan dan Corak Eksperimen

Kedua-dua Eksperimen I dan Eksperimen II telah dijalankan dengan menggunakan anak ikan baung (*Mystus nemurus*), yang dibeli dari pembekal di Enggor, Perak.

3.4.1 Pengurusan Ikan

Anak-anak ikan baung, *Mystus nemurus* dimasukkan ke dalam tangki kanvas yang bersaiz 7m x 1m x 0.92m setibanya dari pihak pembekal. Sumber air yang dibekalkan adalah berterusan yang diperolehi dari air paip yang telah dinyahklorinkan dengan disimpan di dalam tangki takungan yang terdedah kepada cahaya matahari dan dibekalkan sistem pengudaraan 24 jam.

Semasa tempoh penyesuaian iaitu selama dua minggu, anak-anak ikan baung diberikan diet komersial sebanyak dua kali sehari supaya anak ikan baung boleh menyesuaikan diri dengan mengambil pelet formulasi sebagai sumber makanan. Selepas tempoh penyesuaian, sebanyak 12 ekor anak ikan baung dengan berat purata badan purata 3 – 4 g dipindahkan secara rawak ke dalam tangki kaca bersaiz 60 cm (panjang) x 30 cm (lebar) x 30 cm (tinggi) yang mengandungi 40 liter air. Jumlah tangki yang digunakan sebanyak 24 buah akuarium digunakan untuk lapan jenis diet eksperimen iaitu tiga replikat untuk setiap diet.

Ikan-ikan baung di dalam akuarium diberi diet eksperimen sebanyak dua kali sehari dengan kadar satiasi iaitu pada jam 9.00 pagi dan 4.00 petang. Setiap tangki eksperimen dibersihkan dan ditukar air setiap hari pada waktu petang, satu jam selepas pemberian makanan. Natrium tiosulfat juga ditambahkan sebagai langkah tambahan bagi menyahklorinkan air. Sistem statik ini dibekalkan sistem pengudaraan yang berterusan selama 24 jam.

Ikan-ikan eksperimen ini ditimbang setiap dua minggu sekali pada hari yang tetap dan jumlah diet eksperimen yang diberikan diubah mengikut berat badan ikan minggu persampelan tersebut. Eksperimen I telah dijalankan selama 16 minggu.

Aspek pengurusan ikan pada Eksperimen II adalah sama dengan Eksperimen I kecuali beberapa perkara seperti berikut:

1. Sepanjang tempoh penyesuaian selama dua minggu, anak-anak ikan baung telah diberikan makan pelet formulasi supaya ikan dapat menyesuaikan diri dengan pelet eksperimen.
2. Sebanyak lapan ekor anak ikan baung dengan berat badan purata 7 – 8 g dipindahkan ke dalam setiap tangki kaca selepas tempoh penyesuaian.
3. Jumlah tangki yang digunakan adalah 21 buah, untuk tujuh jenis diet dengan tiga replikat bagi setiap diet eksperimen.

3.4.2 Pengumpulan Sampel Ikan

Sebelum eksperimen dimulakan, lima ekor ikan telah diambil dan disimpan untuk analisis proksimat dan kandungan asid lemak di dalam otot ikan. Visera dan otot bagi lima ekor ikan yang lain juga diambil serta berat badan, visera dan hati setiap ikan dicatatkan. Selepas berakhirnya eksperimen ini, semua ikan dilaparkan selama 48 jam untuk mengosongkan kandungan di dalam salur makanannya supaya keputusan analisis proksimat badan tidak dipengaruhi oleh makanan dalam salur makanan ikan.

Empat ekor anak ikan baung dari setiap tangki eksperimen diambil dan ditimbang secara individu. Ikan dibunuh (dengan merendam ke dalam ais) dan tisu-tisu terpilih (visera dan otot) dikumpulkan dengan serta merta. Visera ikan diperolehi

dengan memotong salur pencernaan ikan dari bahagian esofagus sehingga ke bahagian anal. Bahagian visera ikan yang dipotong adalah termasuk hati, saluran gastrousus serta lemak badan (Ng *et al.*, 2000). Selepas itu, keseluruhan hati dibedah keluar daripada visera ikan dengan membuang buah hempedu dan pundi-pundi yang terlekat kepadanya. Berat visera serta hati setiap ikan dicatatkan untuk menentukan indeks-indeks keadaan iaitu indeks hepatosomatik (HSI) dan indeks viserosomatik (VSI) dan indeks intraperitoneal (IPF). Tisu otot ikan dihiris dari kedua-dua belah badan setiap ikan (berbentuk kepingan sepanjang 5.0 – 6.0 cm), setelah ikan dibuang kulit. Kesemua tisu hati dan otot dari empat ekor ikan dikumpul dan dimasukkan ke dalam plastik berzip serta disimpan di dalam peti sejuk beku pada suhu – 20°C. Tisu otot digunakan untuk analisis kandungan lipid, asid lemak dan aktiviti enzim lipase. Baki lima ekor yang terdapat dalam tangki kemudiannya disimpan dan disejukkubekukan untuk analisis proksimat.

Keseluruhan badan ikan yang disimpan untuk analisis proksimat akan dipotong menjadi ketulan kecil dan dikeringkan di dalam ketuhar untuk menentukan kandungan kelembapannya terlebih dahulu mengikut kaedah AOAC (1997). Keseluruhan badan ikan yang telah dikeringkan, dikisar sehingga menjadi serbuk sebelum sampel homogen diambil untuk analisis proksimat.

Analisis pengumpulan sampel ikan dalam Eksperimen II adalah sama dengan Eksperimen I.

3.5 Penilaian Parameter-parameter Pertumbuhan Ikan dan Kecekapan Pemakanan

Penilaian parameter pertumbuhan dan kecekapan pemakanan ikan baung, *Mystus nemurus* dalam kedua-dua Eksperimen I dan II adalah ditentukan dengan formula-formula berikut:

Kadar tumbesaran relatif (RGR, %)

$$= \frac{\text{min berat akhir ikan} - \text{min berat awal ikan}}{\text{Min berat awal ikan}} \times 100$$

Kadar tumbesaran spesifik, SGR (% hari)

$$= \frac{\ln \text{ berat akhir ikan} - \ln \text{ berat awal ikan}}{\text{Masa (hari)}} \times 100$$

Pertambahan berat harian (g/hari)

$$= \frac{\text{min berat akhir ikan} - \text{min berat awal ikan}}{\text{Masa (hari)}}$$

Nisbah kecekapan pemakanan, FCR

$$= \frac{\text{jumlah pertambahan berat basah badan, g}}{\text{jumlah berat makanan kering yang diberi, g}}$$

Nisbah kecekapan protein, PER

$$= \frac{\text{jumlah pertambahan berat basah badan, g}}{\text{jumlah protein yang diberi, g}}$$

Penahanan Protein, PR

$$= \frac{(\text{min berat akhir ikan} - \text{min berat awal ikan}) \times \text{CP badan ikan}}{(\text{Jumlah pengambilan makanan} \times \text{CP makanan ikan})} \times 100$$

3.6 Penilaian Penggunaan Nitrogen dan Lipid

Penilaian penggunaan nitrogen dan lipid oleh ikan baung mengikut min berat badan (MBB) sepanjang tempoh kedua-dua Eksperimen I dan II ditentukan dengan

formula-formula berikut (Peres & Olivia-Teles, 1999), yaitu kandungan protein/lipid di dalam diet serta keseluruhan badan ikan telah ditentukan melalui analisis proksimat.

3.6.1 Nitrogen

Pengambilan nitrogen (g/kg MBB/hari)

$$= \frac{(\% \text{ protein dalam diet}) \times (\text{jumlah diet yang diberikan, g})}{(\text{min berat badan, kg}) \times \text{masa (hari)}}$$

Penyimpanan nitrogen (g/kg MBB/hari)

$$= \frac{(\text{berat akhir ikan, g} \times \% \text{protein badan ikan}) - (\text{berat awal ikan, g} \times \% \text{protein badan ikan})}{(\text{min berat badan, kg}) \times \text{masa (hari)}}$$

Penyimpanan nitrogen (sebagai satu fungsi peratusan pengambilan nitrogen)

$$= \frac{\text{Penyimpanan nitrogen (g/kg MBB/hari)}}{\text{Pengambilan nitrogen (g/kg MBB/hari)}}$$

3.6.2 Lipid

Pengambilan lipid (g/kg MBB/hari)

$$= \frac{(\% \text{ lipid dalam diet}) \times (\text{jumlah diet yang diberikan, g})}{(\text{min berat badan, kg}) \times \text{masa (hari)}}$$

Penyimpanan lipid (g/kg MBB/hari)

$$= \frac{(\text{berat akhir ikan, g} \times \% \text{ lipid badan ikan}) - (\text{berat awal ikan, g} \times \% \text{ lipid badan ikan})}{(\text{min berat badan, kg}) \times \text{masa (hari)}}$$

Penyimpanan lipid (sebagai satu fungsi peratusan pengambilan lipid)

$$= \frac{\text{Penyimpanan lipid (g/kg MBB/hari)}}{\text{Pengambilan lipid (g/kg MBB/hari)}}$$

3.7 Penilaian Indeks Keadaan

Penilaian indeks keadaan untuk ikan baung dalam Eksperimen I dan II ditentukan dengan menggunakan formula-formula berikut (Peres & Olivia-Teles, 1999):

Indeks Hepatosomatik (HSI)

$$= \frac{\text{berat hati, g}}{\text{berat badan, g}} \times 100$$

Indeks Viserosomatik (VSI)

$$= \frac{\text{berat visera, g}}{\text{berat badan, g}} \times 100$$

Indeks Lemak Intraperitoneal (IPF)

$$= \frac{\text{lemak intraperitoneal}}{\text{berat badan, g}} \times 100$$

Indeks Keadaan (CF)

$$= \frac{\text{berat ikan, g}}{(\text{panjang piawai, cm})^3} \times 100$$

3.8 Analisis Proksimat

Dalam kedua-dua eksperimen I dan II, analisis proksimat dijalankan ke atas bahan-bahan kandungan diet eksperimen (iaitu serbuk ikan, serbuk sotong, kanji jagung, dextrin dan selulosa untuk Eksperimen I dan bagi Eksperimen II ditambah dengan casein), diet eksperimen, badan ikan sebelum dan selepas eksperimen untuk menentukan kandungan lembapan, protein kasar, lipid kasar abu dan serat. Kandungan ekstrak bebas nitrogen (NFE), iaitu karbohidrat telah ditentukan dengan formula berikut (Ng *et al.*, 2000):

$$\text{Ekstrak bebas nitrogen (NFE)} = 100 - (\% \text{ protein} + \% \text{ lipid} + \% \text{ abu} + \% \text{ serat})$$

Selain itu, penentuan kandungan lipid kasar juga dijalankan ke atas tisu otot ikan baung sebelum dan selepas kajian dalam kedua-dua Eksperimen I dan II. Semua analisis

proksimat dijalankan mengikut kaedah-kaedah biokimia piawai (AOAC, 1997) (Sila rujuk Lampiran 1).

3.9 Analisis Kualiti Air

Sampel air sebanyak 100 mL diambil pada setiap kali hari persampelan dilakukan dan disimpan dalam botol politena berisipadu 150 mL untuk setiap replikat. Selepas itu, sampel-sampel air tersebut terus disejukkbeu dalam peti sejuk beku dan hanya akan dikeluarkan apabila analisis kimia dijalankan.

Parameter kualiti air seperti suhu, kepekatan oksigen terlarut dan pH air di dalam akuarium eksperimen diuji pada hari yang sama dengan hari persampelan ikan. Manakala analisis kimia seperti jumlah ammonia nitrogen, nitrit, nitrat, jumlah nitrogen terlarut dan jumlah fosforus terlarut dijalankan di makmal (Sila rujuk Lampiran C).

Selepas sampel air dikeluarkan dari peti sejuk beku, sampel tersebut dicairkan dalam keadaan suhu bilik.

Ringkasan kaedah analisis air adalah seperti berikut:

- Suhu dan oksigen terlarut: Parameter ini diukur dengan menggunakan meter oksigen terlarut jenis 'YSI Model 55 Handheld Dissolved Oxygen and Temperature System'. Pencelup dicelup terus ke dalam air akuarium dengan kedalaman 10 cm dari dasar akuarium dan bacaan diambil terus daripada meter tersebut (YSI, 1997).
- pH : pH air diukur dengan menggunakan meter pH membran model HI8314 (Hanna Instruments) pada kedalaman 10 cm dari dasar akuarium. Meter pH itu dipiawaikan dengan penimbal berpH 4.0 dan 7.0 terlebih dahulu sebelum digunakan.

3.10 Penentuan Komposisi Asid Lemak dengan Sistem Kromatografi Gas Cecair (GC)

Penentuan komposisi asid lemak sumber lipid, lapan diet eksperimen dan tisu otot ikan telah dijalankan dengan menggunakan Sistem Kromatografi Gas Cecair (GC) dalam Eksperimen I.

Asid-asid lemak hanya boleh dianalisis secara tipikal dalam bentuk metil ester, dengan menggunakan GC kapilari (Christie, 1989). Oleh itu, lipid dari diet-diet eksperimen dan tisu otot ikan baung telah diekstrak terlebih dahulu mengikut kaedah Bligh & Dyer (1959) (Lampiran 2), sebelum diesterifikasikan dengan reagen boron triflorida (BF_3) bermetanol mengikut kaedah saponifikasi-esterifikasi (AOAC, 1990) (Lampiran 3).

Sistem GC dengan peralatan yang digunakan untuk analisis asid lemak adalah:

Kolum analisis –	Omegawax TM 320 (30m x 0.32mm ID, 0.25 μm ketebalan filem) Kolum kapilari fused silica (SUPELCO, Bellefonte, PA)
Pengesan –	Shimadzu GC-14A gas chromatograph
Perakam –	Shimadzu C-R6A chromatopac

Keadaan optimum untuk menentukan komposisi asid lemak dalam sample-sampel ditetapkan seperti berikut:

Injektor – 0.2 μL , split 100:1, 250°C

Detektor – FID (2×10^{-11}), 260°C

Oven – 50°C (2 min) ke 220°C (15 min) pada 4°C/min

Kadar aliran gas helium – 2.0 kgf/cm²

Kadar aliran gas hidrogen – 0.6 kgf/cm²

Tekanan udara 0.3 kgf/cm²

Keadaan perakam ditetapkan seperti berikut:

Kecerunan – 744

Kawasan minimum – 10

Attenuation – 4

Kelajuan – 10

Plot kromatogram piawai boleh diperolehi dengan menggunakan campuran metil ester asid lemak piawai, Supelco 37 Component FAME Mix (10mg/ml dalam metilene klorida) (SUPELCO, Bellefonte, PA). Sampel piawai ini disuntik ke dalam sistem GC sebelum suntikan sampel dilakukan. Kromatogram piawai yang diperolehi digunakan untuk mengenalpasti komposisi-komposisi asid lemak di dalam sampel berdasarkan masa retensinya.

3.11 Lipase

Kaedah yang digunakan dirujuk daripada Borlongan (1990) iaitu pengiraan berpandukan pengukuran penghasilan asid lemak daripada aktiviti hidrolisis oleh trigliserida yang wujud di dalam emulsi minyak zaiton yang stabil. Kaedah asai terdiri

daripada 1.5 mL substrak lipase yang stabil dan larutan penimbal 1.5 mL 0.1 M Tris-HCl pada pH 8.0, yang ditambah kepada 1.0 mL enzim kasar yang telah diekstrak daripada ikan. Campuran asai akan dieramkan selama enam jam pada suhu 37°C, kemudian aktiviti enzim akan dihentikan dengan penambahan 3 mL etil alkohol 95%. Campuran tersebut kemudiannya dititrat dengan menggunakan 0.01 N NaOH dan 0.9% (w/v) thimolphthalein sebagai penunjuk. Kaedah penentuan sampel kawalan (blank) adalah sama kecuali ekstrak enzim kasar dimasukkan ke dalam asai selepas proses inkubasi selama 6 jam dan dititrat dengan segera menggunakan sebatian NaOH piawai. Satu unit aktiviti lipase boleh ditentukan dengan isipadu 0.01 N NaOH yang diperlukan untuk mengneutralkan penghasilan asid lemak semasa proses inkubasi selama 6 jam dengan substrat dan selepas pembetulan sampel kawalan yang bersesuaian.

3.11 Analisis Statistik

Keputusan-keputusan yang diperolehi melalui Eksperimen I diuji dengan menggunakan Analisis Varians Dua Hala manakala Eksperimen II kesemua keputusan diuji dengan Analisis Varians Satu Hala (ANOVA) untuk menentukan kesignifikan min. Ujian Tukey digunakan untuk melihat kesan kesignifikan di antara diet-diet.

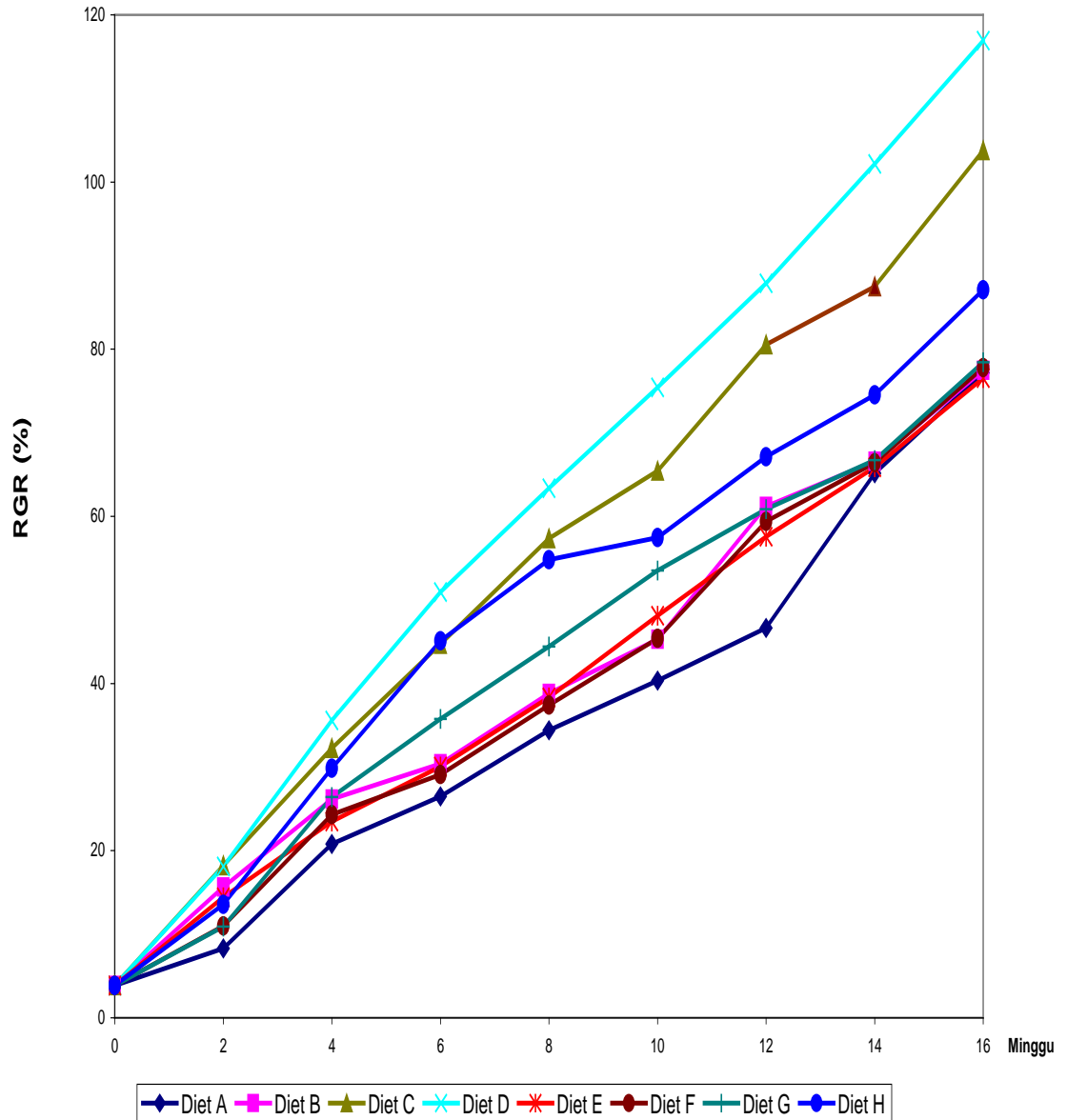
BAB 4 KEPUTUSAN

4.1 Eksperimen 1 : Kesan Nisbah Protein Kepada Lipid Terhadap Prestasi Tumbesaran, Komposisi Badan dan Profil Asid Lemak bagi Otot Anak Baung, *Mystus nemurus*

4.1.1. Parameter Tumbuhan dan Kecekapan Pemakanan Anak Baung

Rajah 4.1 menunjukkan prestasi kadar tumbuhan (%) anak ikan baung, *Mystus nemurus* yang dibekalkan kelapan-lapan diet dengan nisbah protein : lipid yang berbeza setiap dua minggu sehingga akhir eksperimen (selama 16 minggu). Sementara Jadual 4.3 menunjukkan prestasi tumbuhan dan kecekapan pemakanan anak-anak ikan baung tersebut.

Merujuk kepada Rajah 4.1, didapati kadar tumbuhan relatif (%) kesemua anak baung adalah hampir sama pada minggu pertama kerana berat kesemua anak baung tidak berbeza secara signifikan ($P>0.05$) ketika awal permulaan kajian dijalankan. Di sepanjang tempoh kajian dijalankan, Diet A (35P:5L) iaitu diet yang mengandungi paras protein dan lemak yang rendah menghasilkan kadar tumbuhan paling rendah berbanding diet-diet lain iaitu $77.06 \pm 9.5\%$. Selain itu, Diet E (40P:5L), Diet F (40P:10L) dan Diet G (40P:15L) juga menunjukkan peratusan kadar tumbuhan yang kurang daripada 80%. Pada akhir persampelan iaitu pada minggu ke-16, didapati pertumbuhan yang paling tinggi berlaku pada anak baung yang dibekalkan Diet D (35P:20L) dan diikuti dengan Diet C (35P:15L). Walau bagaimanapun, tiada perbezaan secara signifikan ($P>0.05$) yang dicatatkan.



Rajah 4.1: Kadar tumbesaran (%) anak baung yang diberi diet dengan nisbah protein : lipid yang berbeza selepas 16 minggu.

Daripada segi prestasi tumbesaran dan kecekapan pemakanan (Jadual 4.1), min berat badan akhir (g), kadar tumbesaran (%), kadar tumbesaran spesifik (SGR,%/hari), dan nisbah kecekapan protein (PER) anak baung yang dibekalkan Diet A (35P:5L)

adalah lebih rendah jika dibandingkan dengan anak baung yang dibekalkan diet yang selainnya namun tiada perbezaan yang signifikan ($P>0.05$) dicatatkan. Bagi nisbah kecekapan pemakanan (FCR) pula Diet A (35P:5L) memberikan nilai yang paling tinggi. Anak baung yang diberi Diet C (35P:15L) dan Diet D (35P:20L) telah menunjukkan kadar tumbesaran (%) serta nilai-nilai FCR dan PER yang baik. Keputusan ANOVA dua hala menunjukkan, tahap protein yang rendah (35%) memberikan kadar tumbesaran (%) yang lebih baik berbanding tahap protein tinggi (40%). Sebaliknya, tahap lipid yang tertinggi (20%) mencatatkan kadar tumbesaran (%) tertinggi namun, ia tidak berbeza secara signifikan ($P>0.05$) dengan tahap lipid 15%. Ini menunjukkan bahawa berat badan anak ikan baung yang menerima diet yang rendah protein tetapi tinggi lipid mempunyai kadar pertumbuhan yang paling tinggi berbanding yang dibekalkan dengan diet yang tinggi protein dan tinggi lipid. Ini bermakna terdapat kesan simpanan tenaga dalam ikan iaitu ikan boleh menggunakan lipid sebagai sumber tenaga dan sumber protein pula digunakan untuk pertumbuhan.

Nilai-nilai FCR anak ikan baung dalam eksperimen ini dicatatkan antara 1.17 sehingga 1.76 (Jadual 4.1). Semakin tinggi lipid yang dibekalkan dalam diet 35% protein semakin baik nilai FCR yang dihasilkan namun perbezaan ini tidak signifikan ($P>0.05$). Keputusan yang sebaliknya berlaku kepada diet yang mengandungi paras protein yang tinggi (40%) yang menghasilkan nilai FCR semakin baik apabila paras lipid meningkat sehingga 10% tetapi dengan peningkatan peratusan lipid dalam diet telah menyebabkan penggunaan makanan meningkat secara tidak signifikan ($P>0.05$). Bagi nilai PER pula, anak baung yang diberi diet dengan pelbagai nisbah protein : lipid berada dalam lingkungan 1.45 hingga 2.49. Nilai-nilai PER juga mempunyai pola yang sama dengan tren FCR iaitu peningkatan berlaku dengan penambahan lipid pada diet

yang mengandungi nilai protein yang rendah (35%), tetapi kesan perubahannya tidak signifikan ($P > 0.05$). Namun pada diet yang berprotein tinggi (40%) penurunan secara tidak signifikan dalam PER dapat diperhatikan dengan penambahan nilai lipid. Penahanan protein (PR) pada diet 35% protein menunjukkan peningkatan dengan penambahan paras peratusan lipid tetapi perbezaan adalah tidak signifikan ($P > 0.05$) walaupun nilai tertinggi dicatatkan oleh Diet D (35P:40L). Walau bagaimanapun, jika merujuk kepada paras lipid yang sama pada peratusan protein yang tinggi (40%), nilai PR turun secara tidak signifikan ($P > 0.05$). Secara keseluruhannya, peratusan kematian ikan tidak berkaitan dengan diet yang dibekalkan. Merujuk kepada Jadual 4.3, Diet D (35P:20L), Diet E (40P:5L) dan Diet F (40P:15L) mempunyai kadar kemandirian 100%. Kematian anak ikan baung semasa eksperimen telah dicatatkan, pemerhatian dilakukan dan didapati kematian adalah disebabkan oleh tekanan yang berlaku pada ikan selepas persampelan dijalankan. Analisis ANOVA Dua Hala menunjukkan bahawa paras protein mempengaruhi kadar tumbesaran dan SGR secara signifikan ($P < 0.05$) dan sebaliknya berlaku bagi penggunaan pemakanan dan penggunaan protein ($P > 0.05$) manakala paras lipid pula mempengaruhi kadar tumbesaran anak baung secara signifikan ($P < 0.05$). Walaupun demikian, secara keseluruhannya perkaitan antara protein dan lipid tidak nyata dalam eksperimen ini.

Jadual 4.1: Prestasi tumbesaran dan penggunaan nutrisi (berat kering) oleh anak baung, *M. nemurus* dibekalkan diet yang berbeza nisbah protein:lipid selama 16 minggu.

Protein (%)	Lipid (%)	Berat awal (g)	FBW (g)	WG (%)	SGR (%)	FCR	PER	PR	Survival (%)
35	5	3.88 ±0.01	6.87 ± 10.94	77.06±9.50	0.64±0.15	1.76±0.22	1.45±0.50	59.10±30.16	94.44
	10	3.89 ±0.01	7.08±10.42	82.50±0.16	0.71±0.10	1.40±0.21	1.85±0.53	75.68±31.19	94.44
	15	3.85 ± 0.01	7.91±9.58	105.45 ±10.99	0.85±0.01	1.25±0.12	1.95±0.42	73.71±24.09	91.67
	20	3.88 ±0.01	8.42±7.86	116.92±16.88	0.92±0.07	1.17±0.18	2.49±0.42	108.53±23.05	100.00
40	5	3.87 ±0.01	6.85±8.15	76.53±17.51	0.67±0.10	1.62±0.44	1.62±0.43	77.28±25.02	100.00
	10	3.88±0.01	6.90±3.06	77.78± 6.58	0.68±0.04	1.37±0.14	1.84±0.18	88.51±10.68	100.00
	15	3.89±0.01	6.92±11.29	78.43±16.65	0.69±0.09	1.60±0.48	1.57±0.57	79.61±33.86	97.22
	20	3.86±0.01	7.26±8.76	87.09±14.95	0.74±0.08	1.56±0.41	1.50±0.52	73.71±29.79	94.44
Tahap Protein (g kg⁻¹)									
350				93.84±21.61 ^m	0.71±0.12 ^m	1.40±0.29	1.94±0.56	79.26±30.01	
400				79.96±13.18 ⁿ	0.60±0.08 ⁿ	1.54±0.35	1.64±0.41	79.78±23.17	
Tahap Lipid (g kg⁻¹)									
50				76.85±12.61 ^a	0.68±0.16	1.69±0.17	1.54±0.43	68.19±26.71	
100				77.62±11.82 ^a	0.59±0.07	1.38±0.12	1.84±0.36	82.10±22.01	
150				91.12±18.77 ^{ab}	0.64±0.08	1.42±0.08	1.76±0.49	76.66±26.48	
200				102.00±21.68 ^b	0.71±0.11	1.36±0.16	2.00±0.69	91.12±30.52	
ANOVA dua hala									
Protein					P<0.03	P<0.01	NS	NS	NS
Lipid					P<0.02	NS	NS	NS	NS
Protein x Lipid					NS	NS	NS	NS	NS

Nilai menunjukkan min ±SD, daripada tiga replikat. Nilai dalam lajur (parameter) yang sama dengan abjad yang berbeza mempunyai perbezaan yang signifikan (P<0.05)

4.1.2 Indeks Keadaan

Jadual 4.2 menunjukkan indeks heptosomatik (HSI), indeks viserosomatik (VSI), indeks lemak intraperitoneal (IPF) dan indeks keadaan (CF) anak baung yang dibekalkan diet yang berbeza nisbah protein dan lipid. Nilai HSI anak baung yang dibekalkan diet 35% protein berkurang dengan penambahan paras lipid. Walau bagaimanapun tiada perbezaan signifikan ($P > 0.05$) dicatatkan. Pada diet yang mengandungi 40% protein, peningkatan paras lipid dari 5% kepada 10% menunjukkan peningkatan dalam nilai HSI. Ia berkurangan ($P < 0.05$) apabila melebihi paras 10% lipid. Anak baung yang dibekalkan dengan diet tinggi protein dan tinggi lipid didapati mempunyai nilai HSI paling rendah (1.42 ± 0.06) sebaliknya Diet A iaitu diet yang mempunyai kandungan rendah protein dan rendah lipid pula menunjukkan nilai HSI yang paling tinggi (2.29 ± 0.29). Keputusan ANOVA dua hala menunjukkan dengan peningkatan tahap lipid 5% - 20%, indeks HSI berkurang secara signifikan ($P < 0.05$). Pada VSI anak baung pula, tiada perbezaan secara signifikan yang dicatatkan bagi faktor utama dan interaksi pada semua diet yang dibekalkan. Nilai VSI yang terhasil berada dalam lingkungan 1.40 sehingga 2.10 dan anak ikan baung yang dibekalkan Diet B (35P:10L) menunjukkan nilai yang tertinggi. IPF bagi nilai protein 35% meningkat secara signifikan ($P < 0.05$) dengan penambahan pada paras lipid dari 5% kepada 15% dan berlaku perubahan secara marginal apabila meningkat kepada 20% lipid. Diet yang mengandungi paras protein tinggi (40%) pula, perubahan yang berlaku tidak signifikan walaupun dengan penambahan paras lipid di dalam diet. Selain itu, tiada perbezaan yang signifikan ($P > 0.05$) yang dicatatkan antara Diet B (35:10) dan Diet H (40:20). Bagi indeks keadaan (CF), peningkatan secara tidak signifikan berlaku pada diet yang

mempunyai paras protein yang rendah (35%). Nilai CF yang paling tinggi ditunjukkan oleh ikan yang dibekalkan Diet H (40P:20L) iaitu 0.93. Peningkatan secara signifikan ($P < 0.05$) pada CF ditunjukkan seiring dengan peningkatan tahap lipid yang dibekalkan. Secara keseluruhan, paras protein yang dikaji tidak memberikan kesan signifikan bagi semua indeks badan kecuali IPF, sementara paras lipid memberi kesan signifikan ($P < 0.05$) ke atas HSI, IPF dan CF. Interaksi antara paras protein dan lipid yang signifikan hanya boleh dilihat pada indeks IPF.

4.1.3 Penggunaan Nitrogen dan Lipid

Jadual 4.3 menunjukkan keputusan penggunaan nitrogen dan lipid oleh anak ikan baung yang diberi diet dengan nisbah protein : lipid yang berbeza selepas 16 minggu. Pengambilan nitrogen [g/kg MBB (min berat badan)/hari] anak ikan baung yang menerima Diet H (40P:20L) adalah lebih tinggi tetapi tidak berbeza secara signifikan ($P > 0.05$) iaitu 3.11 g/kg MBB/hari berbanding anak ikan baung yang dibekalkan diet-diet yang lain. Sebaliknya Diet D (35P:20L) pula merupakan penyimpan nitrogen yang tertinggi, walau bagaimanapun perbezaan yang tidak signifikan ($P > 0.05$) telah dicatatkan bagi kesemua diet dalam kajian ini. Bagi nilai penyimpanan nitrogen yang dinyatakan sebagai % pengambilan nitrogen dalam anak baung, tiada perbezaan yang signifikan ditunjukkan.

Jadual 4.2: Indeks Hepatosomatik (HSI), Indeks Viserosomatik (VSI), Lemak Intraperitoneal (IPF) dan Indeks Keadaan (CF) anak ikan baung yang diberi diet dengan nisbah paras protein : lipid berbeza selepas 16 minggu

Protein (%)	Lipid (%)	HSI	VSI	IPF	CF
35	5	2.29 ±0.29	1.95±0.47	1.69±1.24 ^a	0.78±0.03
	10	2.19± 0.16	2.10±0.82	2.81±0.66 ^{ab}	0.83±0.05
	15	2.06 ±0.30	1.67±0.33	4.32±0.51 ^b	0.88±0.04
	20	1.59±0.10	1.56±0.30	4.55±1.20 ^b	0.90±0.01
40	5	2.09 ±0.22	1.62±0.29	1.89±0.29 ^a	0.76±0.02
	10	2.20 ±0.11	1.79±1.04	1.42±1.04 ^a	0.85±0.03
	15	1.59 ±0.47	1.40±0.15	1.10±0.15 ^a	0.81±0.10
	20	1.42 ±0.06	1.40±0.88	2.37±0.88 ^{ab}	0.93±0.11
Tahap protein (%)					
35		2.03±0.34	1.82±0.50	3.34±1.47 ^m	0.85±0.06
40		1.83±0.41	1.56±0.28	1.70±0.78 ⁿ	0.84±0.09
Tahap lipid (%)					
	5	2.19±0.25 ^c	1.79±0.41	1.79±0.81 ^a	0.77±0.02 ^a
	10	2.19±0.12 ^c	1.95±0.55	2.11±1.07 ^a	0.84±0.04 ^{ab}
	15	1.82±0.44 ^b	1.54±0.30	2.71±1.80 ^{ab}	0.85±0.08 ^{bc}
	20	1.50±0.11 ^a	1.48±0.27	3.46±1.52 ^b	0.92±0.07 ^c
ANOVA dua hala					
Protein		NS	NS	P<0.00	NS
Lipid		P<0.00	NS	P<0.02	P<0.01
Protein x Lipid		NS	NS	P<0.02	NS

Nilai menunjukkan min ±SD, daripada tiga replikat. Nilai dalam lajur (parameter) yang sama dengan abjad yang berbeza mempunyai perbezaan yang signifikan (P<0.05).

Jadual 4.3: Penggunaan nitrogen dan lipid oleh anak baung, *Mystus nemurus* yang diberi diet dengan paras protein : lipid yang berbeza selepas 16 minggu.

Protein (%)	Lipid (%)	Pengambilan nitrogen (g/kg MBB/hari)	Penyimpanan nitrogen (g/kg MBB/hari)	Penyimpanan (% pengambilan nitrogen)	Pengambilan lipid (g/kg MBB/hari)	Penyimpanan lipid (g/kg MBB/hari)	Penyimpanan (% pengambilan lipid)
35	5	2.73 ±0.07	2.30 ±0.77	0.84 ±0.29	0.39 ±0.01	0.74 ±0.25	1.90 ±0.66 ^{bc}
	10	2.36 ±0.14	2.47 ±0.56	1.06 ±0.31	0.76 ±0.04	0.74 ±0.17	0.99 ±0.29 ^{ab}
	15	2.37 ±0.11	2.53 ±0.55	1.07 ±0.24	1.00 ±0.05	0.86 ±0.19	0.86 ±0.19 ^a
	20	2.35 ±0.23	3.24 ±0.21	1.39 ±0.24	1.43 ±0.14	1.30 ±0.08	0.92 ±0.16 ^{ab}
40	5	2.94 ±0.39	2.81 ±0.38	0.98 ±0.26	0.43 ±0.06	0.95 ±0.13	2.24 ±0.59 ^c
	10	2.58 ±0.14	2.86 ±0.13	1.11 ±0.11	0.68 ±0.04	0.77 ±0.04	1.13 ±0.11 ^{ab}
	15	2.96 ±0.43	2.75 ±0.69	0.96 ±0.35	1.09 ±0.16	0.81 ±0.21	0.77 ±0.28 ^a
	20	3.11 ±0.54	2.71 ±0.59	0.90 ±0.31	1.59 ±0.28	0.99 ±0.22	0.64 ±0.23 ^a
Tahap protein (%)							
	35	2.45 ±0.21 ^m	2.64 ±0.61	1.09 ±0.31	0.90 ±0.40	0.91 ±0.29	1.17 ±0.55
	40	2.90 ±0.40 ⁿ	2.78 ±0.43	0.90 ±0.31	0.95 ±0.48	0.88 ±0.17	1.20 ±0.72
Tahap lipid (%)							
	5	2.84 ±0.27	2.55 ±0.61	0.91 ±0.26	0.41 ±0.04 ^a	0.85 ±0.21 ^a	2.07 ±0.59 ^b
	10	2.47 ±0.17	2.67 ±0.42	1.09 ±0.21	0.72 ±0.05 ^b	0.76 ±0.11 ^a	1.06 ±0.21 ^a
	15	2.67 ±0.43	2.64 ±0.57	1.02 ±0.27	1.05 ±0.11 ^c	0.83 ±0.18 ^a	0.81 ±0.22 ^a
	20	2.73 ±0.56	2.98 ±0.49	1.15 ±0.37	1.51 ±0.22 ^d	1.15 ±0.23 ^b	0.78 ±0.23 ^a
ANOVA Dua Hala							
Protein		P<0.002	NS	NS	NS	NS	NS
Lipid		NS	NS	NS	P<0.000	P<0.007	P<0.000
Protein x Lipid		NS	NS	NS	NS	NS	P<0.017

Nilai menunjukkan min ±SD, daripada tiga replikat. Nilai dalam lajur (parameter) yang sama dengan abjad yang berbeza mempunyai perbezaan yang signifikan (P<0.05)

Daripada segi pengambilan lipid (g/kg MBB/hari), dengan peningkatan paras lipid dalam diet, peningkatan secara signifikan ($P < 0.05$) dicatatkan pada kesemua diet yang dibekalkan. Di samping itu, Diet H (40P:20L) menghasilkan nilai pengambilan lipid yang tertinggi iaitu 1.59 g/kg MBB/hari, manakala seperti yang dijangkakan diet yang mempunyai paras rendah protein dan rendah lipid menghasilkan nilai paling rendah iaitu 0.39 g/kg MBB/hari. Pola yang sama boleh dilihat pada penyimpanan lipid (g/kg MBB/hari) bagi diet yang mempunyai paras protein yang rendah (35%) iaitu dengan penambahan pada paras lipid menghasilkan peningkatan dalam penyimpanan lipid. Dalam nilai penyimpanan lipid (% pengambilan lipid) pula, nilai yang paling rendah ditunjukkan oleh anak baung yang dibekalkan Diet H (40P:20L) iaitu 0.64 manakala diet yang mengandungi paras protein yang tinggi tetapi rendah lipid (Diet E; 40P:5L) pula memberikan nilai paling tinggi iaitu 2.24. Peningkatan tahap lipid, menunjukkan pengurangan secara signifikan ($P > 0.05$) dalam % pengambilan lipid. Interaksi antara protein dan lipid bagi penggunaan nitrogen dan lipid secara signifikan ($P < 0.05$) hanya ditunjukkan pada % pengambilan lipid.

4.1.4 Komposisi Proksimat Badan Ikan

Komposisi proksimat badan anak ikan baung, *Mystus nemurus* (berdasarkan % berat kering), sebelum dan selepas eksperimen dijalankan selama 16 minggu ditunjukkan dalam Jadual 4.4. Dapat diperhatikan bahawa berlaku perubahan pengurangan yang ketara tetapi tidak signifikan ($P > 0.05$) pada kelembapan badan anak baung pada diet A (35P:5L) dan B (35P:10L) apabila dibekalkan diet yang mengandungi nisbah protein : lipid yang berbeza. Namun sebaliknya keputusan ANOVA dua hala menunjukkan peningkatan tahap protein dari 35% ke 40% telah menyebabkan peningkatan yang signifikan ($P < 0.05$) pada kelembapan badan ikan. Kandungan protein badan anak baung dipengaruhi oleh paras protein iaitu terdapat peningkatan secara marginal pada kedua-dua paras kandungan protein. Kandungan lipid dalam diet mencerminkan kandungan lipid dalam badan ikan. Peningkatan pengumpulan lipid dalam badan ikan meningkat secara signifikan pada diet rendah protein dengan peningkatan pada peratusan lipid dari 5% kepada 15% dan menurun secara signifikan ($P < 0.05$) pada 20% lipid. Pola yang sama ditunjukkan pada diet yang dibekalkan 40% protein. Analisis statistik ANOVA Dua Hala telah menunjukkan bahawa tahap protein memberi kesan secara signifikan ($P < 0.05$) pada protein dan NFE dalam badan ikan manakala kandungan lipid memberi kesan kepada kesemua komposisi proksimat badan anak baung kecuali komposisi protein badan anak baung. Interaksi antara protein dan lipid menunjukkan perbezaan secara signifikan ($P < 0.05$) pada protein, lipid, abu dan NFE badan anak ikan baung.

Jadual 4.4: Komposisi proksimat badan ikan (% berat yang dikeringkan) oleh anak baung, *M. nemurus* dibekalkan diet yang berbeza nisbah protein : lipid selepas 16 minggu

Tahap protein (%)	Tahap Lipid (%)	Kelembapan	Protein	Lipid	Abu	NFE*
Sebelum Eksperimen		9.42	70.79	19.37	6.67	3.78
35	5	7.26 ± 0.18	59.82 ± 0.76 ^{abc}	17.62 ± 0.36 ^{ab}	7.18 ± 0.05 ^a	15.37 ± 1.04 ^c
	10	5.40 ± 0.21	58.65 ± 0.32 ^{abc}	18.90 ± 0.20 ^b	7.77 ± 0.28 ^{abc}	14.68 ± 0.57 ^c
	15	5.89 ± 0.44	55.70 ± 2.89 ^a	22.63 ± 0.17 ^d	8.13 ± 0.13 ^{bcd}	13.54 ± 2.86 ^c
	20	5.22 ± 0.24	56.24 ± 3.08 ^{ab}	20.75 ± 0.22 ^c	8.44 ± 0.19 ^{cd}	14.57 ± 3.36 ^c
40	5	5.47 ± 0.43	60.99 ± 1.72 ^{bc}	16.53 ± 0.70 ^a	7.50 ± 0.35 ^{zb}	14.98 ± 2.39 ^c
	10	6.26 ± 0.16	61.06 ± 0.88 ^{bc}	18.38 ± 1.04 ^b	7.50 ± 0.46 ^{zb}	13.05 ± 1.01 ^{bc}
	15	6.32 ± 0.21	62.76 ± 0.95 ^c	22.68 ± 0.17 ^d	8.26 ± 0.28 ^{cd}	6.30 ± 1.07 ^a
	20	6.11 ± 0.16	62.12 ± 0.47 ^c	21.34 ± 0.42 ^{cd}	8.59 ± 0.16 ^d	7.95 ± 1.03 ^{ab}
Tahap Protein (%)						
35		5.49 ± 0.39 ^m	57.90 ± 2.94 ^m	19.70 ± 2.38	7.96 ± 0.43	14.44 ± 2.23 ^m
40		6.24 ± 0.17 ⁿ	61.75 ± 1.03 ⁿ	20.20 ± 2.07	7.96 ± 0.59	10.09 ± 3.28 ⁿ
Tahap Lipid (%)						
	5	5.83 ± 0.50	59.86 ± 1.45 ^{ab}	18.64 ± 0.73 ^a	7.64 ± 0.37 ^a	13.87 ± 1.16 ^b
	10	6.08 ± 0.36	58.38 ± 3.50 ^a	20.51 ± 2.42 ^b	7.81 ± 0.46 ^{ab}	13.30 ± 1.94 ^{ab}
	15	5.77 ± 0.64	59.50 ± 4.11 ^{ab}	21.72 ± 1.07 ^c	8.35 ± 0.24 ^c	10.43 ± 5.05 ^a
	20	5.79 ± 0.46	61.56 ± 1.29 ^b	18.93 ± 2.68 ^a	8.05 ± 0.65 ^{bc}	11.47 ± 4.19 ^{ab}
Anova 2 hala						
Protein		P<0.000	P<0.000	NS	NS	P<0.000
Lipid		NS	P<0.039	P<0.000	P<0.007	P<0.001
Protein×lipid		NS	P<0.027	P<0.050	P<0.001	P<0.024

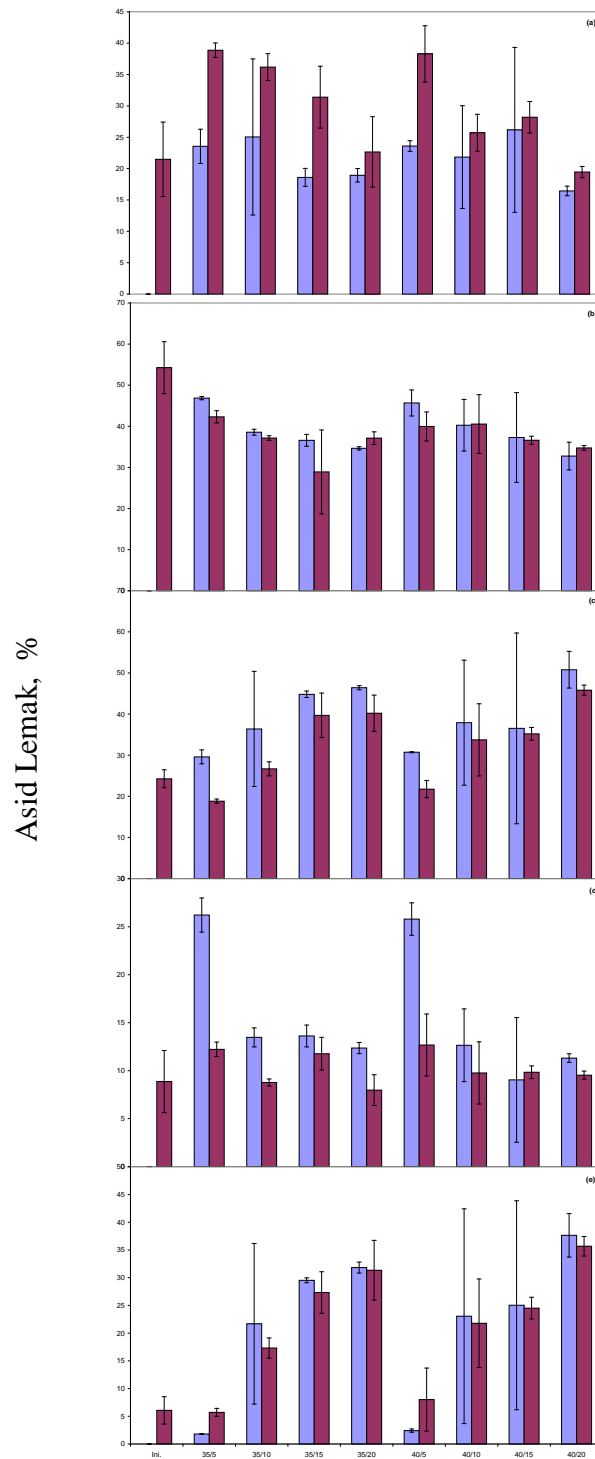
Nilai menunjukkan min ±SD, daripada tiga replikat. Nilai dalam lajur (parameter) yang sama dengan abjad yang berbeza mempunyai perbezaan yang signifikan (P<0.05)

4.1.5 Komposisi Asid Lemak

Jadual 4.5 menunjukkan komposisi asid lemak otot anak ikan baung yang diberi diet yang mengandungi nisbah protein dan lipid yang berbeza selama 16 minggu. Secara amnya, komposisi asid lemak di dalam tisu otot anak baung tersebut dipengaruhi oleh paras kandungan lipid yang dibekalkan. Minyak ikan amat kaya dengan sumber $\omega 3$ HUFA manakala minyak tumbuhan seperti minyak jagung pula kaya dengan sumber $\omega 6$ terutamanya asid lemak linoleik (C18:2n-6). Dengan demikian, apabila diet yang dirumuskan mengandungi kandungan minyak jagung yang tinggi, diet tersebut akan tinggi dengan komposisi asid lemak C18:2n-6 seperti yang terdapat Diet H (40P:20L ; 35.47) dan diikuti dengan Diet D (35P:20L ; 30.89%). Selain itu, kedua-dua diet ini juga masing-masing mempunyai jumlah asid lemak poli tak tepu yang tinggi iaitu 45.81% dan 40.21%. Diet A (35P:5L) pula mempunyai peratusan komposisi asid lemak MUFA yang tinggi C18:1n-9 iaitu sebanyak 26.83% dan C20:4n-6 (1.18%).

Rajah 4.2 menunjukkan perbandingan di antara komposisi asid lemak bagi diet eksperimen dengan tisu otot anak ikan baung yang diberi diet dalam Eksperimen 1 mengikut pecahan a) asid lemak tepu (SFA), b) mono tak tepu (MUFA), c) asid lemak poli tak tepu (PUFA), d) $\omega 3$ dan e) $\omega 6$. Kandungan SFA bagi otot anak baung selepas menerima diet eksperimen lebih tinggi berbanding anak baung sebelum eksperimen dijalankan kecuali pada Diet D (35P:20L) dan Diet H (40P:20L). Walau bagaimanapun secara umumnya, dapat dilihat bahawa paras SFA dalam otot anak baung berkurang dengan peningkatan paras lipid dalam diet tetapi nilainya masih tinggi ($P < 0.05$) berbanding lipid yang dibekalkan. Peratusan peningkatan pengumpulan SFA sebanyak

10% hingga 15% dicatatkan dalam otot anak baung yang diberi Diet A (35P:5L), Diet B (35P:10L), Diet C (35P:15L) dan Diet E (40P:5L) berbanding diet yang diberikan manakala pada diet-diet lain peningkatan berlaku kurang daripada 5%. Nilai SFA paling rendah wujud apabila berada pada kombinasi tahap lemak tertinggi. Namun ia tidak berbeza dengan yang lain. Keputusan ini sejajar dengan kombinasi nisbah protein : lipid yang menghasilkan kadar tumbesaran yang paling maksimum (Diet D; 35P:20L). Perbezaan yang tidak ketara ditunjukkan antara kandungan MUFA dalam diet dengan otot anak baung (Rajah 4.2) pada kesemua diet yang dibekalkan dan peratusannya lebih rendah berbanding otot anak baung sebelum eksperimen dijalankan. Kandungan PUFA dipengaruhi oleh kandungan lipid iaitu peningkatan paras PUFA dalam diet, menyebabkan berlakunya peningkatan paras PUFA dalam otot anak baung. Walau bagaimanapun, pada setiap diet eksperimen, paras PUFA dalam otot anak baung adalah kurang secara konsisten dengan paras PUFA yang diberi. Paras protein dan lipid dalam diet tidak memberi kesan ($P>0.05$) terhadap pengumpulan asid lemak $\omega 3$ dalam otot anak baung walaupun kuantiti yang tinggi dibekalkan di dalam diet (Diet A; 35P:5L dan Diet E; 40P:5L). Peningkatan paras lipid dalam diet menyebabkan peningkatan dalam kandungan asid lemak $\omega 6$ otot anak baung. Walaupun begitu peratusan asid lemak $\omega 6$ otot anak baung adalah kurang secara relatif berbanding kandungan $\omega 6$ dalam diet kecuali diet yang dibekalkan Diet A (35P:5L) dan Diet E (40P:5L).



Rajah 4.2: Perbandingan kandungan asid lemak (a) tepu, (b) mono tak tepu (c) poli tak tepu (d) $\Sigma\omega3$ (e) $\Sigma\omega6$ pada (■) diet dan (■) otot anak baung yang dibekalkan diet yang berbeza nisbah lipid : protein selepas 16 minggu

Jadual 4.5: Komposisi asid lemak tisu otot ikan baung yang diberi diet yang berbeza nisbah protein dan lipid selama 16 minggu

Asid Lemak (%)	Diet Eksperimen (protein:lipid ratios)									
	Initial	35/5	35/10	35/15	35/20	40/5	40/10	40/15	40/20	
SFA										
C14:0	3.13 ± 0.14	3.45 ± 0.17 ^{bc}	3.41 ± 0.46 ^{bc}	2.97 ± 0.53 ^a	2.24 ± 0.93 ^c	3.92 ± 1.07 ^{bc}	2.40 ± 1.27 ^{bc}	2.49 ± 0.26 ^a	3.09 ± 0.10 ^{bc}	
C16:0	14.4 ± 1.34	28.21 ± 1.24 ^e	23.33 ± 2.33 ^{cd}	23.28 ± 3.61 ^{cde}	16.78 ± 3.90 ^{ab}	28.65 ± 3.62 ^e	19.43 ± 2.44 ^a	20.73 ± 1.57 ^{bc}	15.21 ± 0.70 ^a	
C18:0	3.96 ± 4.57	7.22 ± 0.86 ^{bc}	5.12 ± 0.15 ^{bc}	5.14 ± 0.80 ^{bc}	3.64 ± 0.88 ^{ab}	5.72 ± 0.25 ^{bc}	3.89 ± 1.46 ^{abc}	4.97 ± 1.03 ^{bc}	1.56 ± 0.10 ^a	
MUFA										
C16:1n7	15.68 ± 1.28	5.18 ± 0.86 ^d	3.70 ± 0.37 ^{abc}	3.50 ± 0.38 ^{ab}	2.95 ± 1.07 ^a	5.07 ± 0.68 ^{cd}	3.88 ± 0.72 ^{bcd}	2.88 ± 0.36 ^a	4.42 ± 0.34 ^{bcd}	
C18:1n9	15.71 ± 4.36	26.83 ± 4.7 ^a	21.39 ± 1.52 ^a	20.14 ± 11.86 ^a	14.09 ± 6.72 ^a	16.78 ± 5.80 ^a	21.53 ± 12.36 ^a	23.17 ± 4.91 ^a	25.16 ± 2.26 ^a	
C18:1n7	19.36 ± 0.92	4.39 ± 3.80 ^{abc}	7.96 ± 2.58 ^{bc}	0.00 ± 0.00 ^a	16.01 ± 4.60 ^{abc}	11.95 ± 2.90 ^{ab}	9.64 ± 4.34 ^c	6.31 ± 6.31 ^{abc}	1.38 ± 2.40 ^{ab}	
C20:1n9	2.15 ± 0.78	4.49 ± 0.49 ^{ab}	2.54 ± 0.28 ^{ab}	3.88 ± 1.39 ^{ab}	2.50 ± 0.65 ^a	4.68 ± 1.30 ^b	3.57 ± 4.40 ^{ab}	2.89 ± 0.57 ^{ab}	2.82 ± 0.09 ^{ab}	
C22:1n11	1.35 ± 1.20	1.43 ± 0.77 ^a	1.92 ± 0.22 ^a	1.40 ± 0.37 ^a	1.58 ± 0.30 ^a	1.50 ± 0.19 ^a	1.93 ± 4.50 ^a	1.36 ± 0.15 ^a	2.25 ± 0.07 ^a	
PUFA										
C16:2n4	1.64 ± 0.32	0.53 ± 0.19 ^{ab}	0.60 ± 0.06 ^{ab}	0.31 ± 0.17 ^a	0.78 ± 0.48 ^{ab}	0.74 ± 0.57 ^{ab}	1.42 ± 0.73 ^b	0.69 ± 0.23 ^{ab}	0.50 ± 0.12 ^{ab}	
C16:3n4	0.67 ± 0.37	0.33 ± 0.10 ^a	0.07 ± 0.06 ^a	0.08 ± 0.03 ^a	0.12 ± 0.05 ^a	0.28 ± 0.07 ^a	0.13 ± 0.16 ^a	0.18 ± 0.07 ^a	0.17 ± 0.01 ^a	
C18:3n4	7.02 ± 0.01	0.03 ± 0.05 ^a	0.23 ± 0.19 ^a	0.22 ± 0.24 ^a	0.00 ± 0.00 ^a	0.04 ± 0.07 ^a	0.65 ± 0.35 ^a	0.00 ± 0.00 ^a	0.01 ± 0.01 ^a	
ω-3 PUFA										
C16:4n3	0.00 ± 0.05	0.09 ± 0.15 ^{ab}	0.06 ± 0.05 ^a	0.00 ± 0.00 ^a	0.03 ± 0.05 ^{ab}	0.22 ± 0.16 ^{ab}	0.05 ± 0.06 ^a	0.00 ± 0.00 ^a	0.09 ± 0.08 ^{ab}	
C18:3n3	1.48 ± 1.72	0.39 ± 0.09 ^a	0.27 ± 0.23 ^a	0.54 ± 0.09 ^a	0.48 ± 0.06 ^a	0.28 ± 0.27 ^a	0.48 ± 0.29 ^a	0.50 ± 0.11 ^a	0.60 ± 0.04 ^a	
C18:4n3	0.20 ± 0.20	0.17 ± 0.04 ^a	0.00 ± 0.00 ^a	0.16 ± 0.10 ^a	0.22 ± 0.12 ^a	0.35 ± 0.24 ^a	0.26 ± 1.07 ^a	0.13 ± 0.13 ^a	0.51 ± 0.05 ^a	
C20:4n3	0.00 ± 0.07	0.35 ± 0.07 ^c	0.11 ± 0.09 ^{ab}	0.37 ± 0.09 ^c	0.27 ± 0.15 ^{bc}	0.32 ± 0.09 ^{bc}	0.20 ± 0.23 ^c	0.29 ± 0.03 ^{bc}	0.24 ± 0.02 ^{abc}	
C20:5n3	0.86 ± 0.91	2.26 ± 0.14 ^{ab}	1.62 ± 0.15 ^{ab}	2.21 ± 0.47 ^{ab}	1.58 ± 0.44 ^{ab}	2.56 ± 1.08 ^{ab}	2.53 ± 5.34 ^b	1.61 ± 0.16 ^{ab}	3.75 ± 0.10 ^{ab}	
C22:5n3	0.39 ± 0.46	1.18 ± 0.15 ^{bc}	0.87 ± 0.09 ^{ab}	1.23 ± 0.10 ^c	0.82 ± 0.15 ^{ab}	0.94 ± 0.06 ^{bc}	0.69 ± 0.17 ^{ab}	0.96 ± 0.11 ^{bc}	0.53 ± 0.04 ^a	
C22:6n3	5.93 ± 1.46	7.79 ± 0.87 ^{ab}	5.42 ± 0.50 ^{ab}	7.27 ± 0.91 ^{ab}	4.57 ± 0.83 ^a	8.01 ± 2.00 ^{ab}	5.55 ± 10.06 ^b	6.34 ± 0.55 ^{ab}	4.04 ± 0.29 ^a	
ω-6 PUFA										
C18:2n6	4.91 ± 2.11	4.53 ± 0.55 ^a	18.52 ± 1.91 ^{bc}	26.55 ± 3.64 ^d	30.89 ± 5.55 ^{de}	6.99 ± 5.83 ^a	21.2 ± 8.04 ^a	23.86 ± 2.13 ^{cd}	34.47 ± 1.74 ^e	
C20:4n6	1.15 ± 0.38	1.18 ± 0.21 ^{ef}	0.86 ± 0.09 ^{cde}	0.77 ± 0.11 ^{bcd}	0.45 ± 0.20 ^{ab}	1.02 ± 0.19 ^{def}	0.58 ± 0.05 ^{cd}	0.65 ± 0.18 ^{bc}	0.20 ± 0.02 ^a	
Σ SFA ¹	21.48 ± 5.93	38.87 ± 1.15 ^d	33.86 ± 2.14 ^{cd}	31.39 ± 4.93 ^{bcd}	22.66 ± 5.61 ^{ab}	38.29 ± 4.48 ^d	25.71 ± 2.94 ^{abcd}	28.19 ± 2.51 ^{abc}	19.86 ± 0.89 ^a	
Σ MUFA ²	54.26 ± 6.32	42.31 ± 1.49 ^b	37.52 ± 0.57 ^{ab}	28.91 ± 10.20 ^a	37.12 ± 1.53 ^{ab}	39.97 ± 3.53 ^{ab}	40.55 ± 7.15 ^{ab}	36.61 ± 0.97 ^b	35.02 ± 0.58 ^{ab}	
Σ PUFA ³	24.26 ± 2.18	18.82 ± 0.51 ^a	28.62 ± 1.70 ^{abc}	39.69 ± 5.41 ^{cd}	40.21 ± 4.40 ^{cd}	21.74 ± 2.09 ^{ab}	33.74 ± 8.77 ^{bc}	35.2 ± 1.55 ^{de}	45.12 ± 1.22 ^d	
Σ ω-3 ⁴	8.86 ± 2.34	12.22 ± 0.75 ^a	8.34 ± 0.37 ^a	11.77 ± 1.70 ^a	7.97 ± 1.60 ^a	12.67 ± 3.23 ^a	9.76 ± 17.24 ^a	9.83 ± 0.66 ^a	9.76 ± 0.42 ^a	
Σ ω-6 ⁵	6.07 ± 2.46	5.71 ± 0.72 ^a	19.38 ± 1.82 ^{cd}	27.32 ± 3.75 ^{cd}	31.34 ± 5.39 ^{cd}	8.01 ± 5.68 ^{ab}	21.78 ± 7.98 ^{ab}	24.51 ± 1.95 ^{cd}	34.67 ± 1.76 ^d	
ω3 : ω-6	1.46 ± 0.27	2.14 ± 0.37 ^a	0.44 ± 0.06 ^a	0.43 ± 0.02 ^a	0.25 ± 0.08 ^a	1.58 ± 1.44 ^a	0.50 ± 8.97 ^a	0.40 ± 0.06 ^a	0.26 ± 0.09 ^a	
HUFA ⁶	8.68 ± 0.70	12.76 ± 0.75 ^b	8.88 ± 0.74	11.85 ± 1.66	7.69 ± 1.69 ^a	12.85 ± 3.18 ^b	9.55 ± 0.31	9.85 ± 0.77	8.76 ± 0.33	
PUFA/HUFA	2.79 ± 0.50	1.47 ± 0.08 ^a	3.22 ± 0.44	3.35 ± 0.07	5.23 ± 1.79 ^b	1.69 ± 0.70 ^a	3.53 ± 1.21	3.57 ± 0.41	5.15 ± 0.30 ^b	

Nilai menunjukkan min ±SD, daripada tiga replikat. Nilai dalam baris (parameter) yang sama dengan abjad yang berbeza mempunyai perbezaan yang signifikan (P<0.05)

1 Σ SFA: Jumlah asid lemak tepu

2 Σ MUFA: Jumlah asid lemak mono tak tepu

3 Σ PUFA : Jumlah asid lemak poli tak tepu

4 Σ ω-3: Jumlah ω3

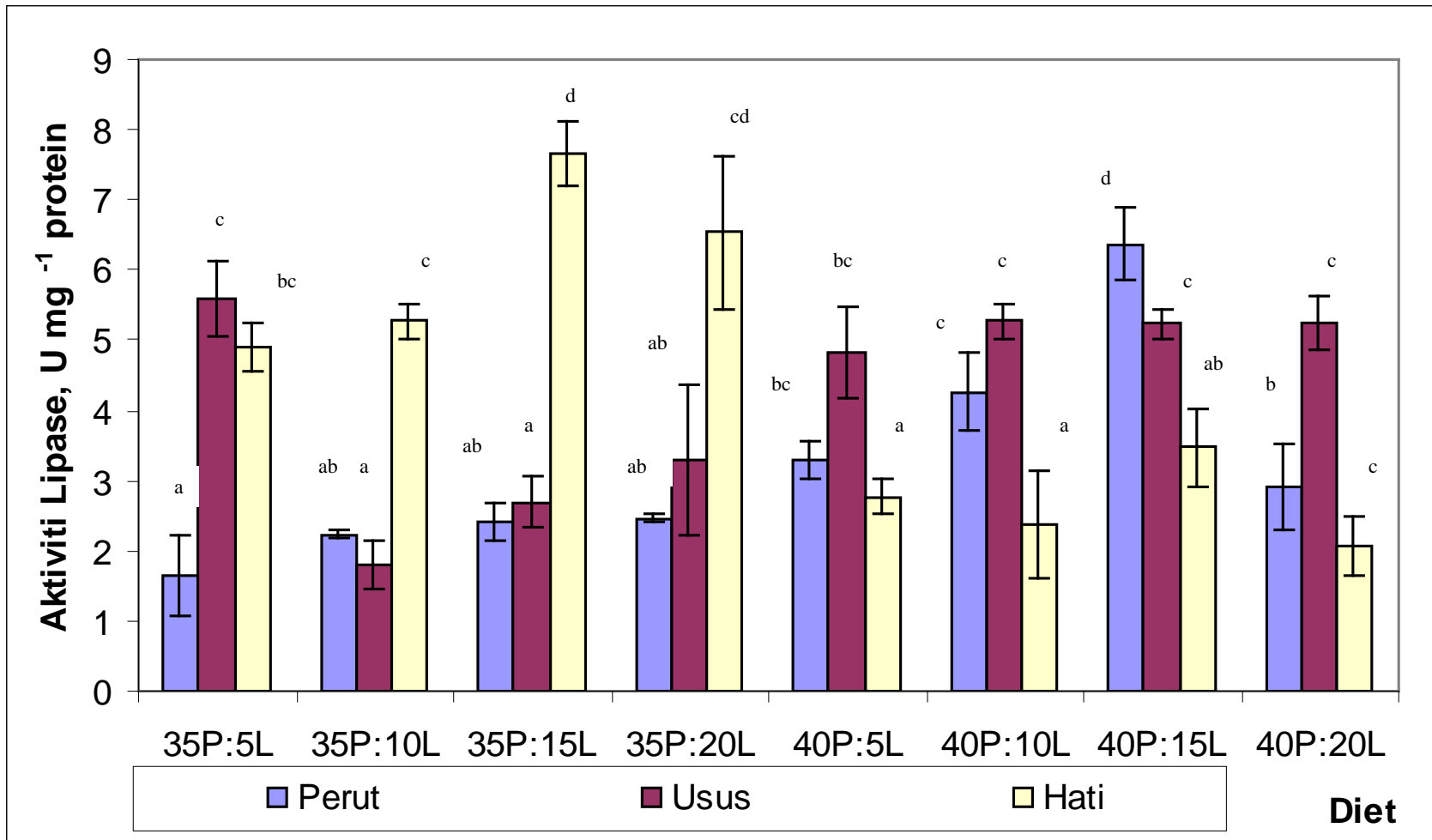
5 Σ ω-6: Jumlah ω6

6 Σ HUFA: Jumlah asid lemak tinggi tak tepu

Keputusan analisis ANOVA Dua Hala (Jadual 4.6) menunjukkan bahawa protein tidak memberi kesan secara signifikan ($P>0.05$) terhadap pengumpulan asid lemak. Sebaliknya kandungan SFA, MUFA, PUFA dan asid lemak $\omega 6$ dipengaruhi secara signifikan oleh lipid dalam diet eksperimen. Tiada interaksi yang wujud antara protein dan lipid terhadap komposisi asid lemak dalam anak baung.

4.1.6 Aktiviti Lipase

Rajah 4.3 menunjukkan aktiviti lipase ($U\text{ mg}^{-1}$ protein) dalam perut, usus dan hati pada anak baung, *Mystus nemurus* yang dibekalkan diet berbeza nisbah protein dan lipid selepas 16 minggu kajian dijalankan. Aktiviti lipase dalam perut didapati meningkat pada kesemua paras protein dan lipid, namun penurunan yang signifikan ($P<0.05$) berlaku pada diet yang mengandungi paras protein dan lipid yang tinggi (Diet H; 40P:20L). Aktiviti lipase yang paling tinggi dalam perut ditunjukkan pada anak baung yang dibekalkan Diet G (40P:15L) iaitu 6.37 U mg^{-1} protein manakala diet yang mengandungi paras protein dan lipid yang rendah (Diet A; 35P:5L) menghasilkan aktiviti paling rendah iaitu $1.63\text{ (U mg}^{-1}\text{ protein)}$ dan perbezaan yang signifikan ($P<0.05$) dicatatkan. Dalam usus, pada paras protein yang rendah (35%), peningkatan aktiviti lipase berlaku dengan peningkatan paras lipid kecuali pada Diet A (35P:5L) dan perubahan yang tidak ketara dapat dilihat pada paras protein yang tinggi. Walau bagaimanapun, pada paras protein yang tinggi (40%) menunjukkan aktiviti enzim yang lebih tinggi berbanding pada diet yang mengandungi paras protein yang rendah (35%) dan berbeza secara signifikan ($P<0.05$). Keputusan yang berbeza dapat dilihat pada



Rajah 4.3: Aktiviti lipase (U mg^{-1} protein) dalam perut, usus dan hati anak baung yang dibekalkan diet berbeza nisbah protein dan lipid selepas 16 minggu kajian dijalankan. Nilai menunjukkan min \pm SD, daripada tiga replikat. Nilai kolom (parameter-organ) yang sama dengan abjad yang berbeza mempunyai perbezaan yang signifikan ($P < 0.05$)

aktiviti lipase yang dihasilkan dalam hati iaitu, secara keseluruhannya, aktiviti lipase pada paras protein yang rendah lebih tinggi berbanding dengan diet-diet yang mengandungi paras protein yang tinggi ($P < 0.05$). Dalam hati, Diet C (35P:15L) menghasilkan aktiviti lipase yang tertinggi iaitu 7.67 U mg^{-1} protein manakala Diet H (40P:20L) pula menunjukkan aktiviti yang terendah iaitu 2.07 U mg^{-1} protein dan perbezaan yang signifikan ($P < 0.05$) dicatatkan.

4.1.7 Kualiti Air

Keputusan parameter-parameter kualiti air yang dikaji di dalam eksperimen ini dicatatkan pada Jadual 4.7. Diet yang mengandungi paras protein yang tinggi tetapi rendah lipid (40P:5L) menghasilkan kandungan ammonia yang paling tinggi iaitu 0.39 mg/L manakala diet yang mengandungi paras lipid yang rendah (35%) dan 10% lipid menunjukkan kandungan ammonia yang terendah iaitu 0.18 mg/L . Namun tiada perbezaan yang signifikan ($P > 0.05$) dicatatkan. Bagi nitrit dan fosforus, tiada sebarang perbezaan signifikan ($P > 0.05$) yang tunjukkan pada kesemua diet yang dibekalkan. Bagi nitrat, paras protein menunjukkan perbezaan yang signifikan ($P < 0.05$). Diet G (40P:15L) menunjukkan kandungan paling tinggi iaitu 6.67 mg/L , sementara Diet B (35P:10L) pula menghasilkan kandungan yang terendah iaitu 4.87 mg/L . Keputusan analisis ANOVA Dua Hala menunjukkan tiada korelasi dicatatkan antara interaksi protein dan lipid pada kesemua parameter kualiti air yang dikaji.

Jadual 4.7: Parameter kualiti air bagi anak baung, *Mystus nemurus* yang diberikan diet yang berbeza nisbah protein dan lipid selepas 16 minggu kajian dijalankan.

Paras Protein (%)	Paras Lipid (%)	Ammonia (mg/L)	Nitrit (mg/L)	Nitrat (mg/L)	Fosforus (mg/L)
35	5	0.30 ±0.25	0.01 ±0.01	5.60 ±0.61	0.08 ±0.04
	10	0.18 ±0.14	0.01 ±0.01	4.87 ±1.34	0.16 ±0.15
	15	0.28 ±0.12	0.02 ±0.01	4.93 ±0.31	0.23 ±0.19
	20	0.33 ±0.24	0.02 ±0.01	6.17 ±0.68	0.32 ±0.21
40	5	0.39 ±0.15	0.02 ±0.01	5.77 ±0.98	0.13 ±0.07
	10	0.37 ±0.16	0.02 ±0.01	6.13 ±1.14	0.24 ±0.24
	15	0.23 ±0.07	0.02 ±0.01	6.67 ±0.71	0.09 ±0.06
	20	0.26 ±0.09	0.02 ±0.01	5.83 ±0.46	0.43 ±0.60
Paras Protein (%)					
35		5.39 ±0.90	0.02 ±0.01	5.39 ±0.90 ^m	0.20 ±0.17
40		6.10 ±0.82	0.02 ±0.01	6.10 ±0.82 ⁿ	0.22 ±0.31
Paras Lipid (%)					
	5	5.68 ±0.74	0.01 ±0.01	5.68 ±0.74	0.11 ±0.06
	10	5.50 ±1.31	0.02 ±0.01	5.50 ±1.31	0.20 ±0.18
	15	5.80 ±1.07	0.02 ±0.01	5.80 ±1.07	0.16 ±0.15
	20	6.00 ±0.55	0.02 ±0.01	6.00 ±0.55	0.38 ±0.40
ANOVA Dua Hala					
Protein		NS	NS	P<0.05	NS
Lipid		NS	NS	NS	NS
Protein×lipid		NS	NS	NS	NS

Nilai menunjukkan min ±SD, daripada tiga replikat. Nilai dalam lajur (parameter) yang sama dengan abjad yang berbeza mempunyai perbezaan yang signifikan (P<0.05)

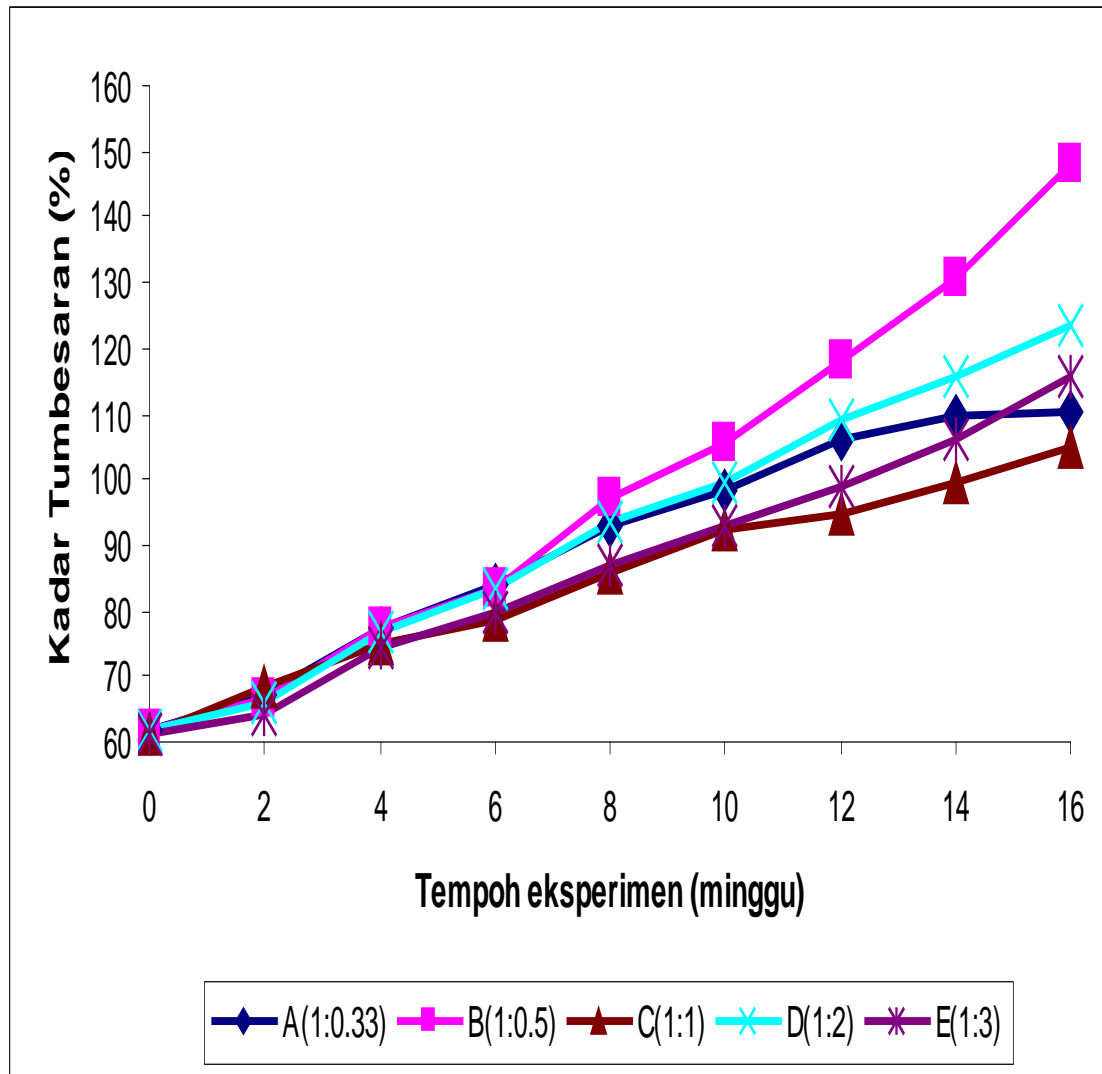
4.2 Eksperimen II – Pengaruh Nisbah Asid Lemak ω 3 dan ω 6 Terhadap Tumbesaran dan Komposisi Asid Lemak dalam Isi, Hati dan Kulit pada Anak Baung, *Mystus nemurus*

4.2.1. Parameter Tumbesaran dan Kecekapan Pemakanan Anak Baung

Rajah 4.4 menunjukkan kadar tumbesaran relatif (RGR, %) bagi anak baung, *Mystus nemurus* yang diberi diet yang berbeza nisbah ω 3 : ω 6 selepas kajian dijalankan selama 16 minggu. Diet 1:0.5 telah menunjukkan nilai RGR yang paling baik berbanding diet-diet lain iaitu mencapai $140.07 \pm 11.17\%$, namun tiada perbezaan signifikan ($P > 0.05$) dicatatkan dengan anak baung yang diberi Diet 1:2 dengan peratusan RGR sebanyak $99.82 \pm 12.28\%$. Anak baung yang dibekalkan Diet 1:1 pula menghasilkan pertumbuhan yang paling rendah di antara semua diet di dalam eksperimen ini iaitu hanya mencapai $72.21 \pm 18.97\%$ kadar tumbesaran ($P < 0.05$).

Parameter pertumbuhan seperti kadar tumbesaran (WG), kadar tumbesaran spesifik (SGR), nisbah kecekapan makanan (FCR) dan nisbah kecekapan protein (PER) ditunjukkan dalam Jadual 4.8. Nilai FCR yang paling baik dicapai oleh anak baung yang dibekalkan Diet 1:0.5 iaitu 1.39 dan berbeza secara signifikan dengan diet-diet lain, manakala nilai FCR paling tinggi pula ditunjukkan oleh anak baung yang dibekalkan Diet 1:1 iaitu 2.59 ($P < 0.05$). Bagi PER, Diet 1:0.5 yang telah menunjukkan kadar tumbesaran yang maksimum mempunyai nilai tertinggi iaitu 2.08 manakala Diet 1:1 yang menghasilkan pertumbuhan yang paling minimum pula mempunyai nilai PER paling rendah iaitu 1.03 dan perbezaan secara signifikan dicatatkan ($P < 0.05$). Di sepanjang tempoh eksperimen dijalankan, tiada mortaliti yang berlaku bagi kesemua diet yang dibekalkan.

Rajah 4.4: Kadar tumbesaran relatif (%) anak baung, *Mystus nemurus* yang diberi diet dengan berbeza nisbah $\omega 3 : \omega 6$ selepas 16 minggu kajian dijalankan.



Jadual 4.8: Prestasi tumbesaran dan penggunaan nutrisi (berat kering) oleh anak baung, *M. nemurus* dibekalkan diet yang berbeza nisbah $\omega 3 : \omega 6$ selepas 16 minggu kajian dijalankan.

Diet	Min berat badan awal (g)	Min berat badan akhir (g)	Kadar tumbesaran (RGR,%)	Kadar tumbesaran spesifik, SGR (%/hari)	Nisbah kecekapan makanan (FCR)	Nisbah kecekapan protein (PER)	Kemandirian (%)
1:0.33	7.72 \pm 0.05	13.77 \pm 1.44 ^c	78.37 \pm 17.66 ^c	0.52 \pm 0.09 ^{ab}	1.57 \pm 0.32 ^{ab}	1.64 \pm 0.35 ^{ab}	100.00
1:0.50	7.70 \pm 0.08	18.48 \pm 0.79 ^a	140.07 \pm 11.74 ^a	0.78 \pm 0.05 ^b	1.39 \pm 0.18 ^a	2.08 \pm 0.30 ^b	100.00
1:1	7.61 \pm 0.09	13.10 \pm 1.30 ^c	72.21 \pm 18.97 ^c	0.48 \pm 0.10 ^c	2.59 \pm 0.68 ^b	1.15 \pm 0.26 ^a	100.00
1:2	7.71 \pm 0.16	15.41 \pm 1.15 ^{ab}	99.82 \pm 12.28 ^{ab}	0.62 \pm 0.06 ^{ab}	1.58 \pm 0.35 ^{ab}	1.87 \pm 0.38 ^b	100.00
1:3	7.64 \pm 0.12	14.43 \pm 1.18 ^{ab}	88.87 \pm 13.05 ^{ab}	0.57 \pm 0.06 ^a	2.22 \pm 0.23 ^{ab}	1.29 \pm 0.14 ^a	100.00

Nilai menunjukkan min \pm SD, daripada tiga replikat. Nilai dalam lajur (parameter) yang sama dengan abjad yang berbeza mempunyai perbezaan yang signifikan ($P < 0.05$)

4.2.2 Indeks Keadaan

Indeks keadaan seperti indeks hepatosomatik (HSI), viserosomatik (VSI), lemak intraperitoneal (IPF) dan faktor keadaan (CF) ditunjukkan dalam Jadual 4.9. Secara keseluruhannya, tiada perbezaan secara signifikan ($P>0.05$) dicatatkan pada diet-diet bagi kesemua indeks dalam eksperimen ini.

Diet 1:1 mempunyai nilai HSI paling tinggi dan diikuti oleh Diet 1:0.5 manakala Diet 1:2 menghasilkan indeks paling rendah iaitu 1.53. Jika diperhatikan, dengan peningkatan nisbah ω_6 dari 0.33 sehingga 1.00 nilai HSI meningkat, namun kemudiannya nilai HSI menunjukkan penurunan apabila nisbah ω_6 melebihi 2.00. Bagi nilai VSI yang paling tinggi pula ditunjukkan dalam Diet C (1:1) iaitu 1.58 dan paling rendah dalam Diet B (1:0.5) iaitu 1.43. Pada indeks lemak intraperitoneal (IPF) juga tidak terdapat perbezaan secara signifikan ($P>0.05$) antara diet. Sekiranya Diet 1:0.5 mempunyai peratusan RGR yang tertinggi, pada IPF iaitu lemak di bahagian intraperitoneal pada Diet 1:0.5 juga menunjukkan nilai yang tertinggi. Anak baung yang paling kurang berlemak di bahagian intraperitoneal ialah pada Diet 1:2. Nilai faktor keadaan (CF) juga tidak menunjukkan sebarang perbezaan. Diet 1:0.5 dan Diet 1:1 berkongsi nilai indeks keadaan (CF) yang tertinggi iaitu 1.55 manakala Diet C menunjukkan nilai terendah 1.49.

Jadual 4.9: Indeks hepatosomatik (HSI), indeks viscerosomatik (VSI), lemak intraperitoneal (IPF) and faktor keadaan (CF) oleh anak baung, *M. nemurus* dibekalkan diet yang berbeza nisbah $\omega 3:\omega 6$ selepas 16 minggu kajian dijalankan.

Diet ($\omega 3:\omega 6$)	HSI	VSI	IPF	CF
1:0.33	1.58 ± 0.28	1.50 ± 0.13	2.61 ± 1.26	1.52 ± 0.07
1:0.5	1.63 ± 0.14	1.43 ± 0.19	3.12 ± 0.63	1.55 ± 0.09
1:1	1.68 ± 0.10	1.58 ± 0.18	2.76 ± 0.34	1.55 ± 0.02
1:2	1.53 ± 0.32	1.54 ± 0.10	2.55 ± 1.03	1.50 ± 0.07
1:3	1.55 ± 0.34	1.52 ± 0.06	3.09 ± 0.46	1.49 ± 0.04

4.2.3 Komposisi Proksimat Badan Ikan

Jadual 4.10 menunjukkan peratusan komposisi proksimat badan anak baung, *Mystus nemurus* yang dibekalkan diet mengandungi nisbah $\omega 3$ dan $\omega 6$ yang berbeza selepas 16 minggu. Peratusan protein dalam isi ikan meningkat dengan peningkatan tahap $\omega 6$ namun tiada perbezaan yang signifikan dicatatkan kecuali pada Diet 1:1 ($P < 0.05$). Diet 1:3 menunjukkan peratusan protein daging ikan yang tertinggi iaitu 69.83% namun tiada perbezaan signifikan ($P > 0.05$) yang dicatatkan kecuali pada Diet 1:1 yang menunjukkan peratusan protein daging ikan yang paling rendah iaitu hanya 66.35%. Bagi lipid, Diet 1:0.5 menghasilkan daging lebih berlemak dan berbeza secara signifikan ($P < 0.05$) berbanding diet-diet lain iaitu 21.23% manakala Diet 1:2 memberikan peratusan lemak yang paling rendah iaitu 18.38% ($P < 0.05$). Bagi abu, tidak terdapat sebarang perbezaan secara signifikan ($P > 0.05$) bagi ketujuh-tujuh diet eksperimen.

Jadual 4.10: Komposisi proksimat badan ikan (% berat kering) oleh anak baung, *M. nemurus* dibekalkan diet yang berbeza nisbah $\omega 3 : \omega 6$ selepas 16 minggu kajian dijalankan.

Diet ($\omega 3 : \omega 6$)	Protein	Lipid	Ash	NFE
Sebelum eksperimen	65.77	17.58	9.36	7.29
1:0.33	69.28 $\pm 0.32^a$	20.62 $\pm 0.06^{ab}$	10.67 ± 0.15	0.00 ± 0.00
1:0.5	69.36 $\pm 1.19^a$	21.23 $\pm 1.78^a$	10.69 ± 0.43	0.00 ± 0.00
1:1	66.35 $\pm 0.50^b$	18.71 $\pm 1.17^c$	11.31 ± 0.45	3.63 ± 1.30
1:2	69.40 $\pm 0.65^a$	18.38 $\pm 0.38^{bc}$	10.68 ± 0.26	1.54 ± 1.14
1:3	69.83 $\pm 2.68^a$	19.73 $\pm 2.18^{abc}$	10.44 ± 0.45	0.00 ± 0.00

Nilai menunjukkan min \pm SD, daripada tiga replikat. Nilai dalam lajur (parameter) yang sama dengan abjad yang berbeza mempunyai perbezaan yang signifikan ($P < 0.05$)

4.2.4 Komposisi Asid Lemak Otot, Hati dan Kulit

Jadual 4.11, 4.12, 4.13 dan 4.14 menunjukkan keputusan peratusan asid lemak bagi isi, hati dan kulit untuk anak baung selepas 16 minggu kajian dijalankan. Peratusan asid lemak bagi isi, hati dan kulit ikan menggambarkan diet yang dibekalkan kepada anak baung, *Mystus nemurus* untuk eksperimen ini. Seperti pada Eksperimen I, berlaku pengumpulan asid lemak tepu (SFA) yang tinggi pada isi anak baung berbanding diet yang diberikan. Dalam eksperimen ini didapati hati dan kulit juga mempunyai tren yang sama. Merujuk kepada Jadual 4.12, kandungan asid lemak linoleik (C18:2n-6) dalam isi anak baung meningkat dengan peningkatan paras $\omega 6$ dalam diet kecuali pada Diet 1:3. Diet 1:2 pula menunjukkan nilai asid lemak linoleik (C18:2n-6) yang tertinggi iaitu 23.62 dan berbeza secara signifikan ($P < 0.05$) berbanding dengan diet-diet lain. Di samping itu, Diet 1:2 juga menunjukkan tahap asid lemak linolenik (C18:3n-3) yang tertinggi iaitu 0.93 ($P < 0.05$). Namun, bagi asid lemak linolenik (C18:3n-3) pula, tiada tren yang ditunjukkan. Pada Diet 1:3 pengumpulan SFA paling tinggi dalam isi anak baung iaitu 2 kali ganda daripada SFA diet yang dibekalkan. Berbeza pula dengan asid lemak mono tak tepu (MUFA), didapati peratusannya berkurang dalam isi ikan kecuali pada Diet 1:1 berbanding diet yang diberikan, namun tiada perbezaan yang signifikan ($P > 0.05$) dicatatkan. Secara keseluruhannya, kandungan asid lemak poli tak tepu (PUFA) dalam isi ikan meningkat dan Diet 1:0.33 berbeza secara signifikan ($P < 0.05$) dengan diet-diet lain. Merujuk Rajah 4.5a, didapati peratusan pengumpulan asid lemak PUFA dalam isi ikan pada Diet 1:0.5, Diet 1:1 dan Diet 1:3 adalah kurang berbanding diet yang dibekalkan.

Jadual 4.11: Kandungan asid lemak dalam diet ikan baung yang diberi diet dengan paras $\omega 3 : \omega 6$ berlainan selama 16 minggu.

Asid lemak (%)	Diet Eksperimen ($\omega 3 : \omega 6$ berat kering)					
	1:0.33	1:0.5	1:1	1:2	1:3	
C14:0	3.76 ± 1.19 ^b	2.30 ± 0.29 ^{ab}	1.47 ± 0.15 ^a	2.48 ± 0.23 ^{ab}	1.61 ± 0.17 ^a	
C16:0	14.25 ± 2.62	12.47 ± 8.98	15.64 ± 0.41	13.12 ± 0.65	13.27 ± 0.87	
C16:1n7	6.32 ± 2.85 ^b	2.83 ± 0.33 ^{ab}	2.34 ± 0.03 ^a	3.42 ± 0.33 ^{ab}	2.13 ± 0.32 ^a	
C16:2n4	1.08 ± 0.08 ^c	0.75 ± 0.18 ^b	0.67 ± 0.21 ^b	0.30 ± 0.03 ^a	0.30 ± 0.06 ^a	
C16:3n4	0.54 ± 0.17 ^{ab}	0.57 ± 0.16 ^{ab}	0.72 ± 0.25 ^b	0.28 ± 0.02 ^a	0.16 ± 0.06 ^a	
C16:4n3	2.95 ± 4.31	2.20 ± 3.35	4.98 ± 0.57	0.19 ± 0.02	0.13 ± 0.05	
C18:0	1.68 ± 1.45	3.97 ± 3.46	0.23 ± 0.40	2.53 ± 0.14	2.36 ± 0.30	
C18:1n9	17.06 ± 0.17 ^a	19.36 ± 1.72 ^{ab}	20.10 ± 0.47 ^b	22.75 ± 0.71 ^c	24.65 ± 1.00 ^c	
C18:1n7	3.85 ± 0.89 ^{ab}	3.01 ± 0.44 ^{ab}	2.07 ± 0.30 ^a	4.02 ± 1.81 ^{ab}	4.74 ± 0.67 ^b	
C18:2n6	5.42 ± 5.43 ^a	14.62 ± 2.05 ^b	23.14 ± 0.85 ^c	23.20 ± 1.49 ^c	30.98 ± 0.33 ^d	
C18:3n4	0.21 ± 0.02 ^a	0.38 ± 0.12 ^a	0.80 ± 0.24 ^b	0.09 ± 0.06 ^a	0.18 ± 0.07 ^a	
C18:3n3	0.82 ± 0.10	0.83 ± 0.20	0.93 ± 0.35	0.97 ± 0.04	0.87 ± 0.16	
C18:4n3	1.68 ± 0.98 ^b	0.64 ± 0.08 ^{ab}	0.45 ± 0.05 ^a	1.07 ± 0.16 ^{ab}	0.77 ± 0.08 ^{ab}	
C20:1n9	8.62 ± 2.32 ^b	6.25 ± 0.45 ^{ab}	4.95 ± 2.59 ^{ab}	7.24 ± 0.42 ^{ab}	4.28 ± 0.60 ^a	
C20:4n6	0.67 ± 0.28 ^{ab}	0.97 ± 0.05 ^b	1.08 ± 0.43 ^b	0.31 ± 0.04 ^a	0.27 ± 0.05 ^a	
C20:4n3	1.00 ± 0.17 ^b	0.92 ± 0.13 ^b	0.93 ± 0.32 ^b	0.36 ± 0.11 ^a	0.20 ± 0.06 ^a	
C20:5n3	7.66 ± 3.54 ^b	3.93 ± 0.22 ^{ab}	2.14 ± 0.15 ^a	3.82 ± 1.11 ^{ab}	3.44 ± 0.79 ^{ab}	
C22:1n11	7.37 ± 2.23 ^{bc}	4.37 ± 0.51 ^{ab}	2.34 ± 0.39 ^a	7.76 ± 1.04 ^c	4.10 ± 0.66 ^a	
C22:5n3	1.69 ± 0.38 ^{ab}	2.49 ± 0.30 ^b	2.76 ± 0.99 ^b	0.83 ± 0.09 ^a	0.64 ± 0.04 ^a	
C22:6n3	13.35 ± 2.29 ^b	17.13 ± 2.41 ^b	12.24 ± 1.78 ^b	5.26 ± 1.46 ^a	4.94 ± 0.86 ^a	
SFA	19.70 ± 0.02 ^{bc}	18.74 ± 6.89 ^c	17.35 ± 0.29 ^a	18.13 ± 0.97 ^{ab}	17.24 ± 0.75 ^a	
MUFA	43.23 ± 8.14 ^{ab}	35.83 ± 3.43 ^b	31.81 ± 3.05 ^a	45.19 ± 2.64 ^b	39.90 ± 2.29 ^{ab}	
PUFA	8.08 ± 5.26 ^a	17.15 ± 2.24 ^b	26.26 ± 1.86 ^{cd}	24.84 ± 1.45 ^c	32.48 ± 0.41 ^d	
w3	28.14 ± 2.35 ^d	27.23 ± 1.80 ^b	23.51 ± 1.73 ^c	12.15 ± 2.79 ^a	10.77 ± 1.70 ^a	
w6	6.10 ± 5.71 ^a	15.58 ± 2.11 ^b	24.22 ± 1.12 ^c	23.51 ± 1.45 ^c	31.25 ± 0.29 ^d	
w3/w6	7.19 ± 4.12 ^a	1.77 ± 0.24 ^b	0.97 ± 0.09 ^b	0.52 ± 0.16 ^b	0.34 ± 0.06 ^b	
HUFA	28.99 ± 2.89 ^c	28.28 ± 1.89 ^b	24.58 ± 2.28 ^c	11.84 ± 2.90 ^{ab}	10.38 ± 1.81 ^a	
PUFA/HUFA	0.27 ± 0.15 ^a	0.61 ± 0.07 ^{ab}	1.07 ± 0.12 ^b	2.19 ± 0.58 ^c	3.20 ± 0.60 ^d	

Nilai menunjukkan min ±SD, daripada tiga replikat. Nilai dalam baris (parameter) yang sama dengan abjad yang berbeza mempunyai perbezaan yang signifikan (P<0.05)

1 Σ SFA: Jumlah asid lemak tepu

2 Σ MUFA: Jumlah asid lemak mono tak tepu

3 Σ PUFA: Jumlah asid lemak poli tak tepu

4 Σ ω -3: Jumlah ω 3

5 Σ ω -6: Jumlah ω 6

6 Σ HUFA: Jumlah asid lemak tinggi tak tepu

Jadual 4.12: Komposisi asid lemak dalam isi ikan baung yang diberi diet dengan paras $\omega 3 : \omega 6$ berlainan selama 16 minggu.

Asid lemak (%)	Diet Eksperimen ($\omega 3 : \omega 6$)				
	1:0.33	1:0.5	1:1	1:2	1:3
C14:0	2.10 ± 0.10 ^{cd}	2.25 ± 0.31 ^d	1.75 ± 0.02 ^{bc}	1.31 ± 0.08 ^a	1.37 ± 0.15 ^{ab}
C16:0	16.50 ± 0.97	12.11 ± 8.63	16.94 ± 1.19	16.41 ± 1.38	15.40 ± 0.63
C16:1n7	2.84 ± 0.08	2.77 ± 0.34	2.63 ± 0.45	2.54 ± 0.21	1.94 ± 1.71
C16:2n4	0.61 ± 0.41	0.74 ± 0.17	0.39 ± 0.16	0.43 ± 0.05	0.77 ± 0.42
C16:3n4	0.37 ± 0.09	0.56 ± 0.16	0.31 ± 0.02	0.36 ± 0.14	0.48 ± 0.39
C16:4n3	6.03 ± 1.15 ^b	2.08 ± 3.14 ^{ab}	0.11 ± 0.04 ^a	0.17 ± 0.04 ^a	2.29 ± 3.68 ^{ab}
C18:0	6.12 ± 1.25	5.97 ± 0.43	5.18 ± 0.61	5.41 ± 0.48	13.71 ± 3.01
C18:1n9	17.31 ± 1.46 ^a	18.99 ± 1.99 ^{ab}	20.79 ± 0.42 ^{ab}	20.33 ± 1.67 ^{ab}	14.27 ± 5.93 ^b
C18:1n7	2.71 ± 0.17 ^b	2.95 ± 0.48 ^b	2.39 ± 0.23 ^b	2.41 ± 0.15 ^b	7.19 ± 0.35 ^a
C18:2n6	11.24 ± 0.39 ^a	14.36 ± 2.40 ^{ab}	19.67 ± 1.53 ^{bc}	23.62 ± 2.97 ^c	16.85 ± 4.29 ^c
C18:3n4	0.20 ± 0.03 ^a	0.37 ± 0.11 ^{ab}	0.32 ± 0.08 ^{ab}	0.44 ± 0.13 ^b	0.36 ± 0.13 ^{ab}
C18:3n3	0.67 ± 0.02 ^{ab}	0.82 ± 0.22 ^{ab}	0.61 ± 0.06 ^a	0.93 ± 0.22 ^b	0.78 ± 0.13 ^{ab}
C18:4n3	0.45 ± 0.05 ^{ab}	0.63 ± 0.10 ^b	0.29 ± 0.02 ^a	0.35 ± 0.10 ^a	0.25 ± 0.09 ^a
C20:1n9	6.07 ± 0.52 ^c	6.13 ± 0.52 ^c	4.86 ± 0.19 ^{bc}	4.01 ± 0.89 ^b	2.27 ± 0.49 ^a
C20:4n6	0.89 ± 0.16 ^a	0.95 ± 0.08 ^a	0.81 ± 0.06 ^a	0.97 ± 0.15 ^a	1.60 ± 0.20 ^b
C20:4n3	0.89 ± 0.18	0.91 ± 0.16	0.62 ± 0.06	1.17 ± 0.82	1.86 ± 2.02
C20:5n3	3.49 ± 0.18	3.85 ± 0.35	2.48 ± 0.26	2.77 ± 0.46	6.01 ± 5.97
C22:1n11	4.43 ± 0.20 ^c	4.29 ± 0.59 ^{bc}	3.67 ± 0.49 ^{bc}	2.77 ± 0.95 ^{ab}	1.22 ± 0.46 ^a
C22:5n3	1.98 ± 0.19 ^{bc}	2.45 ± 0.36 ^b	1.77 ± 0.15 ^b	1.51 ± 0.10 ^{ab}	1.11 ± 0.22 ^a
C22:6n3	15.09 ± 0.77 ^{bc}	16.84 ± 2.84 ^c	14.43 ± 1.25 ^{ab}	12.10 ± 1.75 ^{ab}	10.29 ± 1.49 ^a
SFA	24.72 ± 1.00	20.33 ± 7.99	23.86 ± 1.52	23.13 ± 1.13	30.47 ± 14.52
MUFA	33.36 ± 2.11	35.13 ± 3.91	34.34 ± 1.14	32.05 ± 2.68	30.20 ± 6.74
PUFA	13.08 ± 0.28 ^a	16.85 ± 2.64 ^{ab}	21.30 ± 1.45 ^{bc}	25.78 ± 2.96 ^c	26.10 ± 3.79 ^c
w3	28.61 ± 1.53 ^c	27.57 ± 1.61 ^{bc}	20.31 ± 1.51 ^{ab}	18.99 ± 1.35 ^a	22.59 ± 6.69 ^{abc}
w6	12.13 ± 0.46	15.31 ± 2.49	20.48 ± 1.48	24.59 ± 2.82	18.44 ± 14.59
w3/w6	2.36 ± 0.15	1.83 ± 0.24	1.00 ± 0.14	0.78 ± 0.12	3.76 ± 4.90
HUFA	28.83 ± 1.66 ^b	27.70 ± 1.75 ^{ab}	20.50 ± 1.59 ^{ab}	19.04 ± 1.19 ^a	23.41 ± 6.63 ^{ab}
PUFA/HUFA	0.45 ± 0.02 ^a	0.61 ± 0.07 ^{ab}	1.05 ± 0.14 ^{abc}	1.36 ± 0.22 ^{bc}	1.20 ± 0.47 ^c

Nilai menunjukkan min ±SD, daripada tiga replikat. Nilai dalam baris (parameter) yang sama dengan abjad yang berbeza mempunyai perbezaan yang signifikan ($P < 0.05$)

1 Σ SFA: Jumlah asid lemak tepu

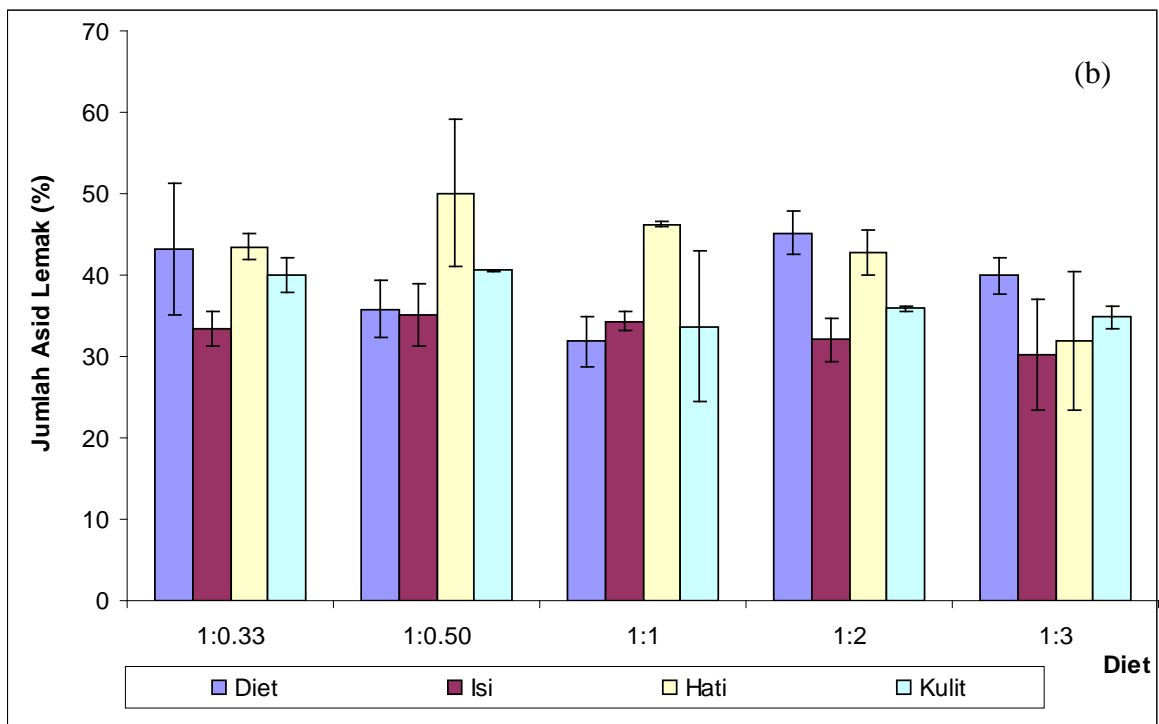
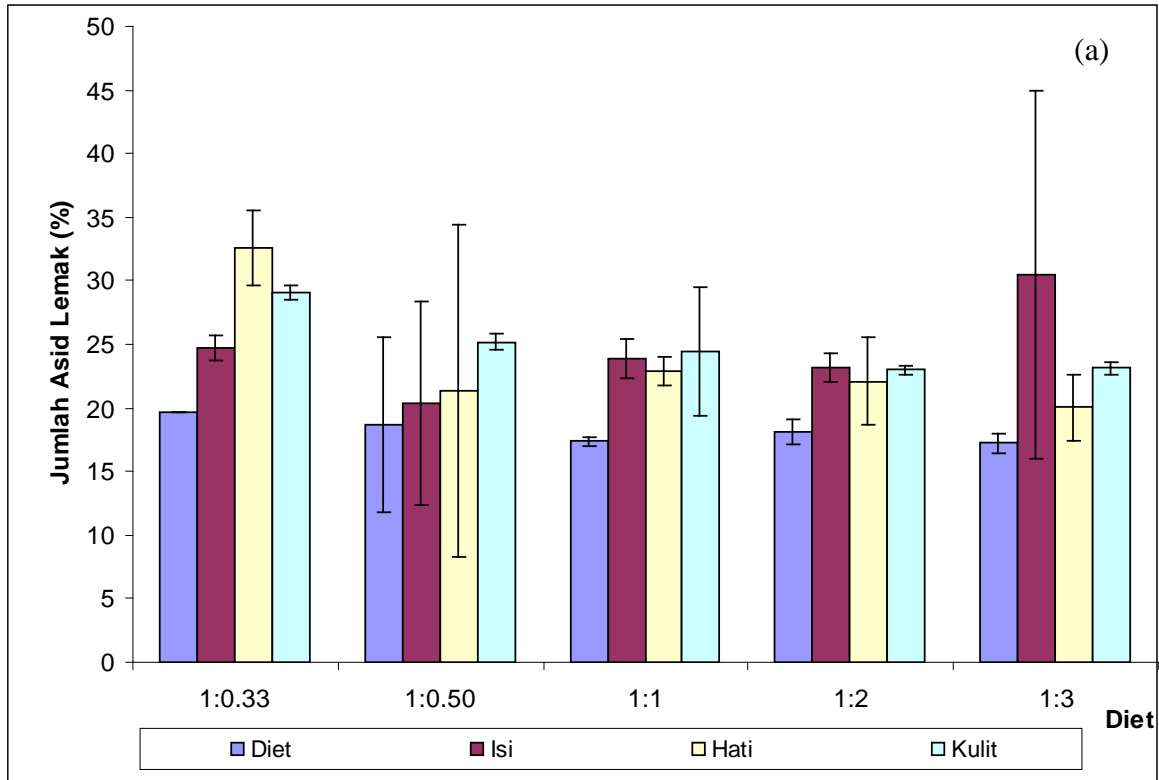
2 Σ MUFA: Jumlah asid lemak mono tak tepu

3 Σ PUFA: Jumlah asid lemak poli tak tepu

4 Σ ω -3: Jumlah ω 3

5 Σ ω -6: Jumlah ω 6

6 Σ HUFA: Jumlah asid lemak tinggi tak tepu



Rajah 4.5a: Perbandingan kandungan (a) asid lemak tepu dan (b) mono tak tepu pada diet, otot, hati dan kulit anak baung, *M. nemurus* dibekalkan diet yang berbeza nisbah $\omega 3 : \omega 6$ selepas 16 minggu kajian dijalankan

Jadual 4.13 menunjukkan kandungan asid lemak dalam hati ikan baung. Secara keseluruhannya, asid lemak C18:2n-6 meningkat dengan peningkatan $\omega 6$ dalam diet yang diberikan. Peningkatan yang paling ketara ialah pada ikan yang dibekalkan Diet 1:0.33 iaitu peningkatan sehingga 94% daripada diet yang dibekalkan. Bagi asid lemak C18:3n-3 pula, walaupun peningkatan paras C18:3n-3 dalam hati ikan baung, namun pengurangan dalam pengumpulan asid lemak tersebut berlaku jika dibandingkan dengan kandungan C18:3n-3 dalam diet yang diberikan, kecuali pada ikan yang diberi Diet 1:3, peningkatan sebanyak 33.3% dicatatkan. Walau bagaimanapun, tiada perbezaan yang signifikan ($P < 0.05$) yang dicatatkan. Diet 1:0.33 iaitu 32.63 mencatatkan nilai SFA paling tinggi pada hati ikan baung dan berbeza secara signifikan ($P < 0.05$). Peratusan MUFA pada Diet 1:0.5 adalah yang tertinggi dalam hati ikan dan berbeza secara signifikan ($P < 0.05$) dengan kesemua diet. Diet 1:3 pula mempunyai kandungan PUFA yang tertinggi dan perbezaan yang signifikan dicatatkan. Merujuk Rajah 4.5b, peratusan asid lemak PUFA pada Diet 1:0.33 dalam hati meningkat dua kali ganda daripada diet yang diberikan.

Jadual 4.13: Komposisi asid lemak dalam hati ikan baung yang diberi diet dengan paras $\omega 3 : \omega 6$ berlainan selama 16 minggu.

Asid lemak (%)	Diet Eksperimen ($\omega 3 : \omega 6$)				
	1:0.33	1:0.5	1:1	1:2	1:3
C14:0	2.86 ± 0.16 ^d	2.65 ± 0.52 ^{cd}	2.03 ± 0.16 ^{bc}	1.41 ± 0.17 ^{ab}	1.10 ± 0.18 ^a
C16:0	25.17 ± 2.34	18.71 ± 13.53	20.87 ± 1.27	20.69 ± 3.30	18.92 ± 2.38
C16:1n7	4.06 ± 0.57 ^b	4.46 ± 0.97 ^b	3.11 ± 0.23 ^{ab}	2.20 ± 0.19 ^a	1.63 ± 0.56 ^a
C16:2n4	0.73 ± 0.34 ^b	0.46 ± 0.13 ^{ab}	0.41 ± 0.08 ^{ab}	0.40 ± 0.09 ^{ab}	0.33 ± 0.19 ^a
C16:3n4	0.38 ± 0.04 ^c	0.36 ± 0.08 ^{bc}	0.27 ± 0.02 ^{ab}	0.26 ± 0.03 ^{ab}	0.24 ± 0.08 ^a
C16:4n3	0.16 ± 0.03 ^a	4.27 ± 0.48 ^b	0.06 ± 0.10 ^a	0.09 ± 0.02 ^a	3.31 ± 3.07 ^{ab}
C18:0	4.60 ± 1.00 ^b	0.00 ± 0.00 ^a	0.02 ± 0.04 ^a	0.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^a
C18:1n9	26.06 ± 2.56 ^b	34.05 ± 0.82 ^a	3.51 ± 0.82 ^a	3.68 ± 1.16 ^a	16.33 ± 1.55 ^a
C18:1n7	2.74 ± 0.50 ^a	1.33 ± 6.95 ^b	31.68 ± 0.39 ^b	31.73 ± 1.65 ^b	10.31 ± 7.91 ^b
C18:2n6	10.52 ± 0.78 ^a	14.40 ± 3.18 ^{ab}	22.94 ± 1.38 ^{bc}	25.91 ± 6.45 ^{cd}	33.42 ± 1.06 ^d
C18:3n4	0.41 ± 0.05 ^a	0.24 ± 0.04 ^a	0.56 ± 0.05 ^{ab}	1.12 ± 0.39 ^b	2.04 ± 0.24 ^c
C18:3n3	0.54 ± 0.04	0.58 ± 0.18	0.64 ± 0.04	0.46 ± 0.08	1.16 ± 1.02
C18:4n3	0.19 ± 0.03	0.21 ± 0.08	0.26 ± 0.03	0.16 ± 0.04	0.24 ± 0.09
C20:1n9	8.38 ± 0.66 ^d	8.08 ± 1.61 ^{cd}	5.97 ± 0.29 ^{bc}	3.96 ± 0.43 ^{ab}	2.86 ± 0.30 ^a
C20:4n6	1.10 ± 0.43	0.47 ± 0.16	0.51 ± 0.09	0.66 ± 0.29	1.09 ± 0.71
C20:4n3	0.58 ± 0.11 ^b	0.58 ± 0.13 ^b	0.50 ± 0.05 ^{ab}	0.26 ± 0.07 ^a	0.23 ± 0.18 ^a
C20:5n3	1.42 ± 0.47 ^b	0.89 ± 0.11 ^{ab}	1.00 ± 0.16 ^{ab}	0.61 ± 0.07 ^a	0.49 ± 0.27 ^a
C22:1n11	2.26 ± 0.39 ^c	2.17 ± 0.35 ^c	1.93 ± 0.33 ^{bc}	1.21 ± 0.26 ^{ab}	0.85 ± 0.21 ^a
C22:5n3	1.27 ± 0.34	0.84 ± 0.22	0.94 ± 0.18	0.68 ± 0.15	0.68 ± 0.66
C22:6n3	6.56 ± 1.90 ^b	5.26 ± 1.73 ^{ab}	2.79 ± 2.33 ^a	4.54 ± 0.75 ^{ab}	4.77 ± 1.35 ^{ab}
SFA	32.63 ± 2.93 ^b	21.36 ± 13.01 ^{ab}	22.92 ± 1.09 ^a	22.11 ± 3.46 ^a	20.02 ± 2.56 ^a
MUFA	43.50 ± 1.65 ^{ab}	50.09 ± 8.98 ^{ab}	46.21 ± 0.31 ^b	42.76 ± 2.73 ^{ab}	31.98 ± 8.54 ^a
PUFA	12.58 ± 1.02 ^a	16.04 ± 3.46 ^{ab}	24.82 ± 1.32 ^b	28.14 ± 6.44 ^{bc}	37.18 ± 0.62 ^c
w3	10.72 ± 2.85	12.62 ± 2.06	6.18 ± 2.33	6.79 ± 0.80	10.87 ± 6.22
w6	11.62 ± 0.82 ^a	14.86 ± 3.04 ^{ab}	23.44 ± 1.42 ^c	26.56 ± 6.35 ^{bc}	34.51 ± 0.52 ^c
w3/w6	0.92 ± 0.18 ^c	0.87 ± 0.23 ^{bc}	0.27 ± 0.11 ^a	0.27 ± 0.07 ^a	0.32 ± 0.19 ^{ab}
HUFA	11.28 ± 2.81	12.51 ± 2.05	6.05 ± 2.23	6.99 ± 1.18	10.81 ± 5.86
PUFA/HUFA	1.14 ± 0.17 ^a	1.30 ± 0.32 ^{ab}	4.65 ± 2.25 ^c	4.13 ± 1.30 ^{bc}	4.13 ± 1.98 ^{bc}

Nilai menunjukkan min ±SD, daripada tiga replikat. Nilai dalam baris (parameter) yang sama dengan abjad yang berbeza mempunyai perbezaan yang signifikan ($P < 0.05$)

1 Σ SFA: Jumlah asid lemak tepu

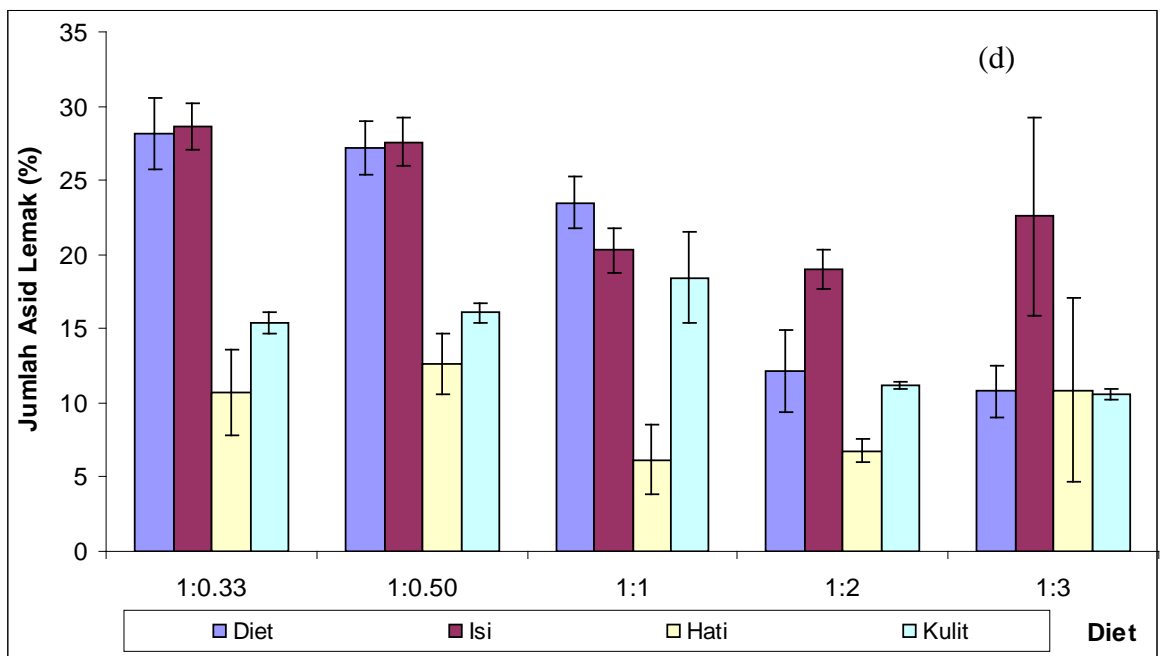
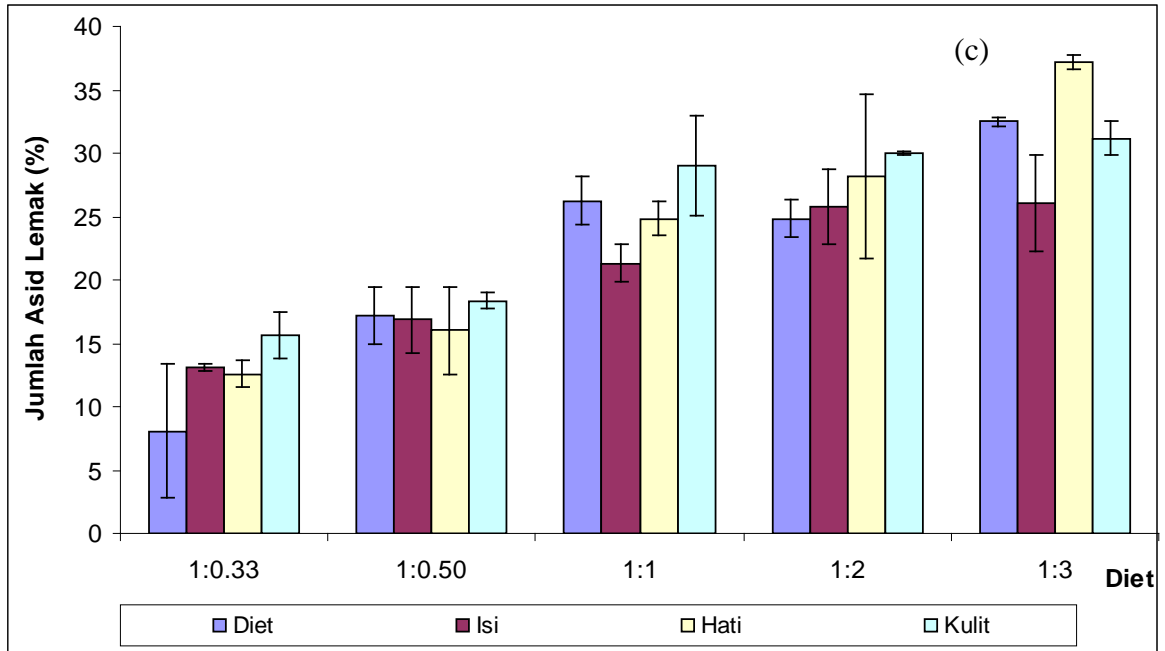
4 Σ ω -3: Jumlah ω 3

2 Σ MUFA: Jumlah asid lemak mono tak tepu

5 Σ ω -6: Jumlah ω 6

3 Σ PUFA : Jumlah asid lemak poli tak tepu

6 Σ HUFA: Jumlah asid lemak tinggi tak tepu



Rajah 4.5b: Perbandingan kandungan (c) poli tak tepu dan (d) $\Sigma\omega_3$ dalam diet, otot, hati dan kulit anak baung, *M. nemurus* dibekalkan diet yang berbeza nisbah $\omega_3 : \omega_6$ selepas 16 minggu kajian dijalankan

Jadual 4.14 menunjukkan komposisi asid lemak yang hadir pada kulit ikan baung selepas 16 minggu kajian dijalankan. Seperti keputusan yang ditunjukkan pada kandungan asid lemak C18:2n-6 pada isi ikan dan hati, kulit juga menunjukkan tren yang sama iaitu peningkatan paras C18:2n-6 seiring dengan penambahan kandungan ω 6 yang terkandung dalam diet. Diet 1:3 mencatatkan kandungan C18:2n-6 yang tertinggi iaitu 29.17 ($P < 0.05$) manakala Diet 1:0.33 pula menunjukkan kandungan yang paling rendah iaitu 13.39. Bagi SFA pada kulit ikan baung, Diet 1:0.33 mencatatkan kandungan yang paling tinggi iaitu 29.08 dan perbezaan yang signifikan dicatatkan. Secara keseluruhannya, pengumpulan SFA pada kulit ikan baung berkurang dengan peningkatan paras ω 6 yang dibekalkan di dalam diet. Merujuk Rajah 4.5b, komposisi PUFA dalam kulit ikan baung meningkat seiring dengan peningkatan paras ω 6 dalam diet dan Diet 1:3 mencatatkan nilai tertinggi iaitu 31.19% dan berbeza secara signifikan ($P < 0.05$) dengan diet lain (Jadual 4.14).

Merujuk Rajah 4.5b, kandungan asid lemak ω 3 dalam isi ikan baung meningkat daripada diet yang dibekalkan kecuali pada diet 1:1. Walaupun begitu, berbeza pula yang berlaku pada hati dan kulit, secara keseluruhannya, peratusan asid lemak ω 3 berkurangan, pada Diet 1:0.33 dan 1:0.5 berkurang sebanyak separuh daripada kuantiti asid lemak ω 3 dalam diet. Tren asid lemak ω 6 pula bersamaan dengan corak yang dihasilkan pada asid lemak PUFA (Rajah 4.5a dan Rajah 4.5b). Kandungan Diet 1:0.33 asid lemak ω 6 dalam otot berbeza secara signifikan ($P < 0.05$) berbanding diet-diet lain. Peratusan asid lemak HUFA lebih tinggi dalam otot berbanding hati dan kulit anak baung dalam Eksperimen II. Kandungan HUFA dalam otot pada Diet 1:0.33 meningkat dua kali ganda daripada diet yang diberikan (Rajah 4.5c).

Jadual 4.14: Komposisi asid lemak dalam kulit ikan baung yang diberi diet dengan paras $\omega 3 : \omega 6$ berlainan selama 16 minggu.

Asid lemak (%)	Diet Eksperimen ($\omega 3 : \omega 6$ berat kering)									
	1:0.33		1:0.5		1:1		1:2		1:3	
C14:0	3.24	$\pm 0.17^d$	2.59	$\pm 0.15^c$	1.77	$\pm 0.31^b$	1.54	$\pm 0.06^{ab}$	1.23	$\pm 0.17^a$
C16:0	20.47	$\pm 0.23^b$	18.16	$\pm 0.67^{ab}$	17.47	$\pm 3.84^{ab}$	16.97	$\pm 0.24^a$	16.67	$\pm 0.44^a$
C16:1n7	3.50	$\pm 1.04^{bc}$	4.05	$\pm 0.15^c$	3.88	$\pm 0.62^c$	1.98	$\pm 0.10^a$	2.29	$\pm 0.13^{ab}$
C16:2n4	0.45	± 0.17	0.33	± 0.02	0.45	± 0.09	0.47	± 0.37	0.27	± 0.04
C16:3n4	0.69	± 0.33	0.39	± 0.02	0.60	± 0.25	0.32	± 0.04	0.40	± 0.15
C16:4n3	0.29	± 0.30	0.08	± 0.02	0.11	± 0.04	0.13	± 0.03	0.11	± 0.03
C18:0	5.37	± 0.35	4.43	± 0.18	5.24	± 0.95	4.46	± 0.23	5.22	± 0.22
C18:1n9	22.76	± 0.78	22.64	± 0.23	16.94	± 11.94	26.53	± 0.43	26.50	± 0.78
C18:1n7	2.66	$\pm 0.19^a$	2.11	$\pm 0.19^a$	5.63	$\pm 1.03^b$	1.74	$\pm 0.11^a$	1.67	$\pm 0.32^a$
C18:2n6	13.39	$\pm 1.41^a$	16.63	$\pm 0.68^{ab}$	20.98	$\pm 3.97^b$	27.89	$\pm 0.40^c$	29.17	$\pm 1.15^c$
C18:3n4	0.29	$\pm 0.05^a$	0.24	$\pm 0.04^a$	0.27	$\pm 0.08^a$	0.52	$\pm 0.03^b$	0.68	$\pm 0.14^b$
C18:3n3	0.79	$\pm 0.06^a$	0.79	$\pm 0.04^a$	6.76	$\pm 2.81^b$	0.81	$\pm 0.19^a$	0.67	$\pm 0.08^a$
C18:4n3	0.50	$\pm 0.03^{abc}$	0.52	$\pm 0.06^{bc}$	0.78	$\pm 0.26^c$	0.32	$\pm 0.01^{ab}$	0.20	$\pm 0.03^a$
C20:1n9	6.32	$\pm 0.36^b$	6.45	$\pm 0.11^b$	4.15	$\pm 0.97^a$	3.22	$\pm 0.21^a$	2.72	$\pm 0.72^a$
C20:4n6	0.64	$\pm 0.08^a$	0.54	$\pm 0.03^a$	1.06	$\pm 0.42^b$	0.69	$\pm 0.09^{ab}$	0.91	$\pm 0.05^{ab}$
C20:4n3	1.08	$\pm 0.61^b$	0.91	$\pm 0.09^{ab}$	0.54	$\pm 0.06^a$	0.47	$\pm 0.02^a$	0.38	$\pm 0.05^a$
C20:5n3	3.08	$\pm 0.40^b$	3.28	$\pm 0.13^b$	3.15	$\pm 0.54^b$	2.15	$\pm 0.26^a$	1.86	$\pm 0.09^a$
C22:1n11	4.78	$\pm 0.39^c$	5.35	$\pm 0.22^c$	3.10	$\pm 0.32^b$	2.46	$\pm 0.17^{ab}$	1.68	$\pm 0.49^a$
C22:5n3	1.48	$\pm 0.18^{bc}$	1.63	$\pm 0.18^c$	1.13	$\pm 0.14^{ab}$	1.10	$\pm 0.08^a$	0.98	$\pm 0.10^a$
C22:6n3	8.21	$\pm 0.58^b$	8.89	$\pm 0.34^b$	5.98	$\pm 0.67^a$	6.24	$\pm 0.10^a$	6.40	$\pm 0.37^a$
SFA	29.08	$\pm 0.61^b$	25.18	$\pm 0.61^{ab}$	24.48	$\pm 5.03^a$	22.97	$\pm 0.34^a$	23.12	$\pm 0.52^a$
MUFA	40.03	± 2.20	40.59	± 0.10	33.70	± 9.25	35.93	± 0.29	34.85	± 1.42
PUFA	15.61	$\pm 1.85^a$	18.38	$\pm 0.67^a$	29.07	$\pm 3.95^b$	30.01	$\pm 0.11^b$	31.19	$\pm 1.36^b$
w3	15.44	$\pm 0.72^{bc}$	16.10	$\pm 0.65^{ab}$	18.45	$\pm 3.06^c$	11.21	$\pm 0.22^a$	10.60	$\pm 0.34^a$
w6	14.03	$\pm 1.48^a$	17.17	$\pm 0.66^b$	22.05	$\pm 3.90^b$	28.58	$\pm 0.33^c$	30.08	$\pm 1.09^c$
w3/w6	1.11	$\pm 0.14^c$	0.94	$\pm 0.07^b$	0.86	$\pm 0.23^{ab}$	0.39	$\pm 0.01^a$	0.35	$\pm 0.03^a$
HUFA	15.28	$\pm 0.67^c$	15.85	$\pm 0.64^{ab}$	12.75	$\pm 0.89^b$	11.09	$\pm 0.20^a$	10.83	$\pm 0.35^a$
PUFA/HUFA	1.02	$\pm 0.14^a$	1.16	$\pm 0.08^b$	2.27	$\pm 0.16^c$	2.71	$\pm 0.04^d$	2.88	$\pm 0.21^d$

Nilai menunjukkan min \pm SD, daripada tiga replikat. Nilai dalam baris (parameter) yang sama dengan abjad yang berbeza mempunyai perbezaan yang signifikan ($P < 0.05$)

1 Σ SFA: Jumlah asid lemak tepu

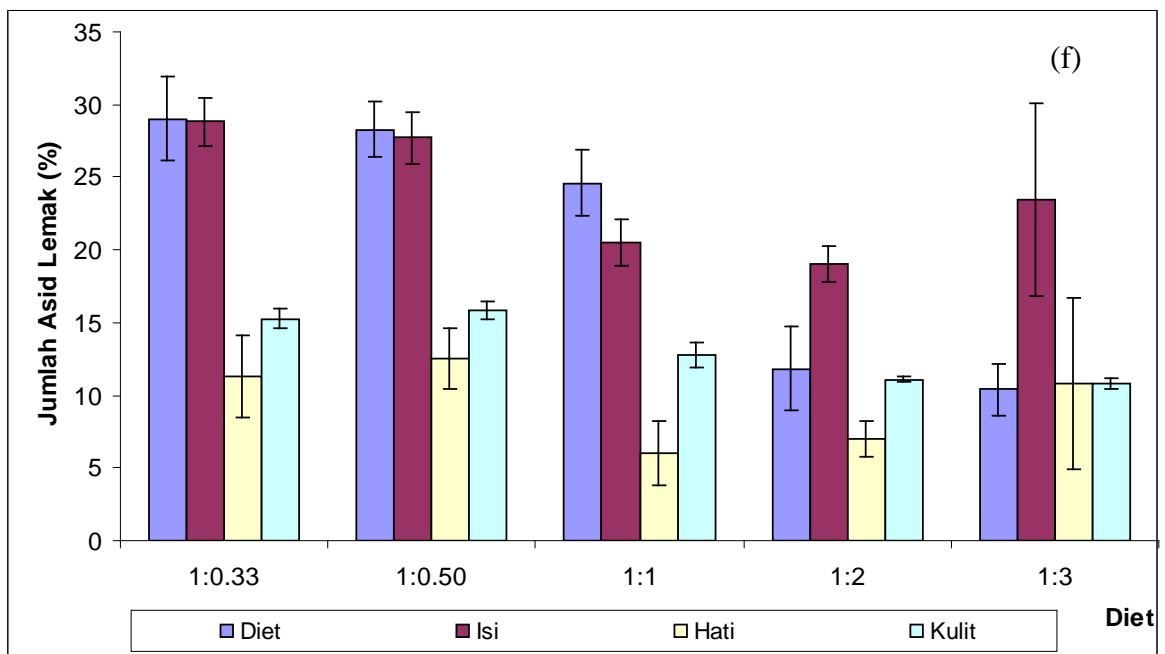
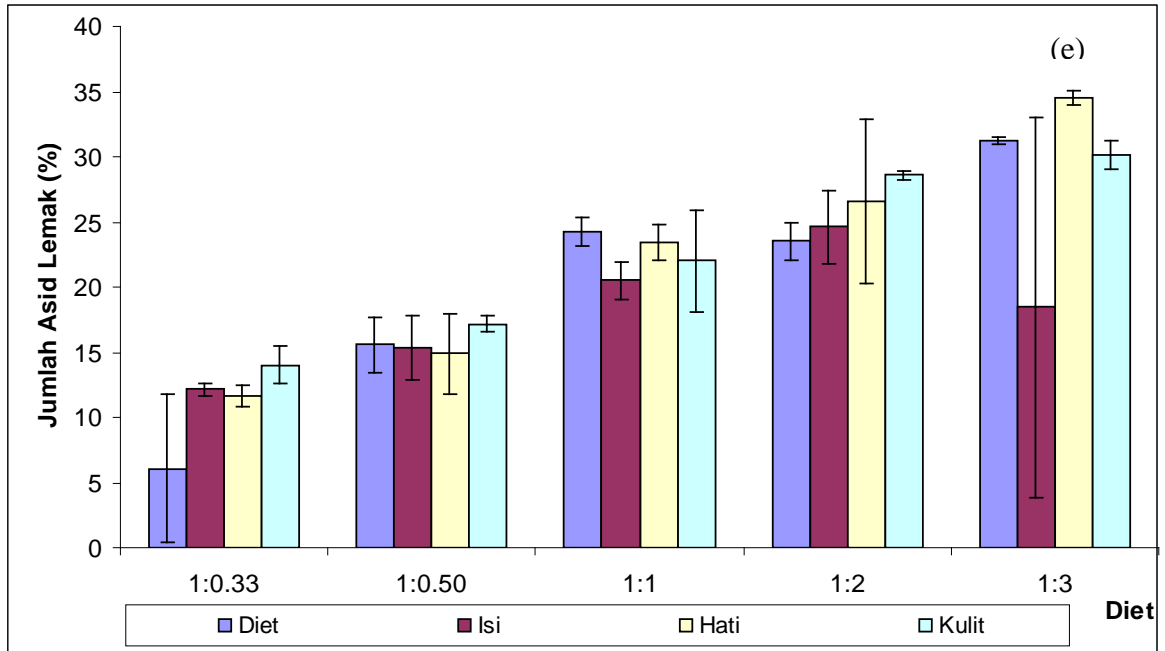
2 Σ MUFA: Jumlah asid lemak mono tak tepu

3 Σ PUFA : Jumlah asid lemak poli tak tepu

4 Σ ω -3: Jumlah $\omega 3$

5 Σ ω -6: Jumlah $\omega 6$

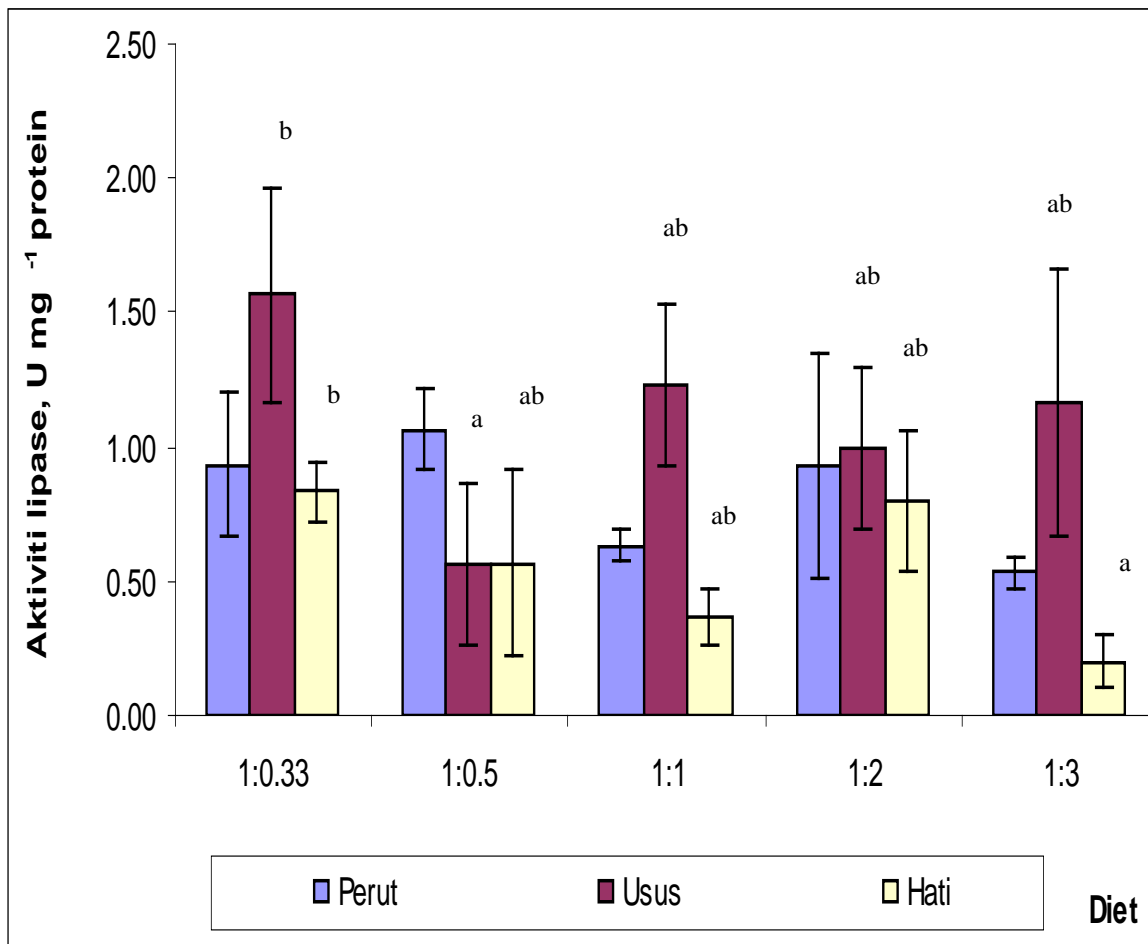
6 Σ HUFA: Jumlah asid lemak tinggi tak tepu



Rajah 4.5c: Perbandingan kandungan (e) $\Sigma\omega_6$ dan (f) HUFA pada diet, otot, hati dan kulit anak baung, *M. nemurus* dibekalkan diet yang berbeza nisbah $\omega_3 : \omega_6$ selepas 16 minggu kajian dijalankan

4.2.5 Aktiviti Lipase

Rajah 4.6 menunjukkan aktiviti lipase U mg⁻¹ protein dalam tiga organ anak baung iaitu perut, usus dan hati. Secara keseluruhannya, tiada tren yang nyata dapat dilihat pada aktiviti lipase dan perbezaan yang tidak signifikan ($P < 0.05$) dicatatkan bagi aktiviti lipase dalam perut anak baung walaupun selepas 16 minggu kajian dijalankan. Dalam perut, aktiviti lipase berada dalam lingkungan 0.53 hingga 1.07 U mg⁻¹ protein dan ikan yang dibekalkan nisbah $\omega 3$ dan $\omega 6$ sebanyak 1:0.5 menghasilkan aktiviti enzim paling tinggi berbanding kesemua diet yang lain. Bagi usus pula, aktiviti lipase paling tinggi ditunjukkan oleh anak baung yang dibekalkan diet dengan nisbah $\omega 3$ dan $\omega 6$ sebanyak 1:0.33 manakala Diet 1:2 pula menunjukkan aktiviti lipase yang paling rendah berbanding dengan diet-diet lain dan perbezaan signifikan ($P < 0.05$) dicatatkan. Jika diperhatikan, aktiviti lipase dalam hati menunjukkan aktiviti yang paling rendah berbanding aktiviti lipase yang dihasilkan dalam perut dan usus. Aktiviti lipase dalam hati menunjukkan bahawa dengan peningkatan paras kandungan $\omega 6$ dalam diet, aktiviti lipase semakin berkurang kecuali ditunjukkan oleh Diet 1:2. Diet 1:2 menghasilkan aktiviti lipase tertinggi dalam hati dan berbeza secara signifikan ($P < 0.05$) dengan Diet E (1:3) yang menunjukkan aktiviti lipase terendah dalam kajian ini.



Rajah 4.6: Aktiviti lipase (U mg^{-1} protein) dalam perut, usus dan hati anak baung yang dibekalkan diet yang berbeza dalam nisbah $\omega 3$ dan $\omega 6$ selepas 16 minggu kajian dijalankan.

4.2.6 Kualiti Air

Keputusan parameter kualiti air seperti amonia (mg/L), nitrit (mg/L), nitrat (mg/L) dan fosforus (mg/L) ditunjukkan dalam Jadual 4.15. Kandungan amonia paling tinggi ditunjukkan dalam Diet 1:0.5 iaitu 0.91 mg/L dan ia merupakan diet yang menghasilkan kadar tumbesaran paling maksimum, namun nilai ini tidak berbeza secara signifikan ($P>0.05$) dengan nilai yang dihasilkan oleh Diet 1:1 iaitu 0.90 mg/L. Diet 1:0.33 pula menunjukkan tahap kandungan amonia yang terendah 0.75 mg/L dan perbezaan yang signifikan ($P<0.05$) dicatatkan. Bagi nitrit tiada perbezaan secara signifikan dicatatkan. Kandungan nitrat tertinggi dihasilkan oleh anak baung yang dibekalkan Diet 1:2 iaitu 8.33 mg/L manakala Diet 1:0.33 menunjukkan kandungan nitrat paling rendah dan perbezaan secara signifikan ($P<0.05$) dicatatkan. Kandungan fosforus pula berada dalam julat 0.16 hingga 0.49 mg/L.

Jadual 4.15: Parameter-parameter kualiti air bagi anak baung, *Mystus nemurus* yang diberikan diet yang berbeza nisbah ω 3 dan ω 6 selepas 16 minggu kajian dijalankan.

Diet (ω3:ω6)	Ammonia (mg/L)	Nitrit (mg/L)	Nitrat (mg/L)	Fosforus (mg/L)
1:0.33	0.75 \pm 0.11 ^a	0.02 \pm 0.01	6.00 \pm 0.50 ^a	0.18 \pm 0.03 ^a
1:0.50	0.91 \pm 0.02 ^b	0.03 \pm 0.01	7.67 \pm 0.57 ^b	0.30 \pm 0.01 ^b
1:1	0.90 \pm 0.03 ^b	0.03 \pm 0.01	6.17 \pm 0.61 ^a	0.31 \pm 0.04 ^b
1:2	0.87 \pm 0.02 ^{ab}	0.03 \pm 0.01	8.33 \pm 0.64 ^b	0.24 \pm 0.06 ^{ab}
1:3	0.88 \pm 0.04 ^{ab}	0.03 \pm 0.01	7.93 \pm 0.40 ^b	0.16 \pm 0.02 ^a

Nilai menunjukkan min \pm SD, daripada tiga replikat. Nilai dalam lajur (parameter) yang sama dengan abjad yang berbeza mempunyai perbezaan yang signifikan ($P < 0.05$)

5.1 Eksperimen 1 : Kesan Nisbah Protein Kepada Lipid Terhadap Prestasi Tumbesaran, Komposisi Badan dan Profil Asid Lemak bagi Otot Anak Baung, *Mystus nemurus*

Berpandukan kepada kesemua prestasi parameter pertumbuhan yang diukur (WG, SGR dan FBW) jelas bahawa nisbah protein : lipid iaitu sebanyak 35P:20L, menghasilkan pertumbuhan yang terbaik bagi anak baung *Mystus nemurus* walaupun nilainya tidak berbeza secara signifikan dengan anak baung yang dibekalkan kombinasi 35P:15L. Walaupun protein dan lipid mempengaruhi kadar tumbesaran anak baung namun tiada interaksi yang signifikan wujud dalam kajian ini. Kombinasi 35% protein bersama dengan 20% lipid merupakan nilai yang berbeza berbanding keputusan kajian yang telah dijalankan ke atas spesies-spesies lain seperti 30P:12L bagi ikan *Xiphorus helleri*, Poeciliide (Ling *et al.*, 2006), 43P:8L bagi ikan keli Afrika, *Clarias gariepinus* (Ali & Jauncey, 2005), 50P:22L bagi *Dentex dentex* L. (Skalli *et al.*, 2004), 30P:5L bagi pirancanjuba, *Brycon orbignyanus* (de Borba *et al.*, 2003), 38P:14L bagi *Rhamdia quelen* (Salhi *et al.*, 2004) dan 50P:15L bagi belut Australia, *Anguilla australis* (DeSilva *et al.*, 2001). Perbezaan keperluan nilai nisbah protein kepada lipid berlaku berkemungkinan disebabkan oleh perbezaan spesies ikan itu sendiri ataupun bergantung kepada beberapa faktor seperti saiz, keterhadaman terhadap diet yang dibekalkan dan komposisi asid amino dari sumber protein yang digunakan (De Silva dan Henderson, 1995). Walau bagaimanapun, keputusan kadar tumbesaran yang didapati daripada eksperimen ini lebih

rendah berbanding kajian yang dijalankan oleh Ng *et al.* (2001) iaitu pertumbuhan terbaik bagi anak baung, *Mystus nemurus* bersaiz 7.6 g memerlukan 440 g kg⁻¹ (44%) protein dan 98 g kg⁻¹ (9.8% lipid) dengan nisbah protein kepada tenaga kasar sebanyak 20 mg protein kJ⁻¹ tenaga kasar. Berdasarkan keputusan prestasi pertumbuhan anak baung dalam kajian ini, boleh disarankan bahawa protein boleh dikecualikan daripada digunakan untuk penghasilan tenaga (“protein sparing effect”). Dengan mengurangkan paras protein daripada 44% kepada 35% tetapi meningkatkan paras lipid daripada 15% kepada 20%, lipid yang berlebihan boleh digunakan untuk tenaga dan protein ditumpukan untuk pertumbuhan. Kajian ini menunjukkan anak baung, *Mystus nemurus* mampu menggunakan lipid dengan efisien sebagai sumber tenaga. Beberapa spesies ikan telah menunjukkan keputusan yang positif apabila dibekalkan diet bertenaga tinggi yang menggunakan lipid sebagai sumber tenaga utama bukan protein di dalam diet (Vergara *et al.*, 1999; Lee *et al.*, 2002; Skalli *et al.*, 2004; Ling, *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2006). Secara amnya, kandungan 10 – 20% lipid dalam diet akan memberikan kadar tumbesaran yang optimum tanpa berlakunya pengumpulan lemak yang berlebihan dalam badan ikan. Namun demikian, penambahan lipid dalam diet perlu diberi perhatian yang terperinci kerana lemak yang berlebihan akan mengurangkan jangka hayat pada ikan yang disejukkbeu dan seterusnya mengurangkan nilai komersial (Cowey & Sargent, 1979).

Berasaskan kadar pertumbuhan yang konsisten dengan peningkatan paras lipid bagi semua paras protein yang dikaji dan keputusan ANOVA dua hala menunjukkan protein dan lipid mempengaruhi kadar tumbesaran secara signifikan ($P < 0.05$) pada akhir kajian dijalankan boleh dikatakan bahawa kombinasi minyak ikan dan minyak jagung di dalam diet mampu digunakan dengan efisien oleh anak baung bagi memenuhi keperluan

tenaga untuk sumber bukan protein dan seterusnya menunjukkan kesan simpanan protein. Keputusan ini disokong dengan merujuk kepada nilai PR (108.53 ± 23.05), yang menunjukkan nilai yang terbaik pada kombinasi Diet 35P:20L. Nilai FCR (1.17 ± 0.18) dan PER (2.49 ± 0.42) paling baik juga diperolehi anak baung yang dibekalkan Diet 35P:20L iaitu diet yang memberikan nilai paling tinggi dalam kadar tumbesaran ($116.92\% \pm 16.88$). Walaupun keputusan ANOVA dua hala menunjukkan faktor utama protein dan lipid tidak memberikan kesan yang signifikan ($P > 0.05$) terhadap FCR, PER dan PR, namun nilai-nilai yang terbaik dan tertinggi dicatatkan oleh Diet D (35P:20L). Keperluan tenaga dicapai apabila dibekalkan diet yang mengandungi paras lipid yang tinggi manakala protein dipercayai hanya digunakan untuk pertumbuhan. Ikan mengambil makanan untuk memenuhi keperluan tenaga metabolik (Rozin dan Meyer, 1961; Keembiyehetty dan Wilson, 1998). Jika analisis ANOVA satu hala dilakukan tanpa mengira interaksi antara lipid dan protein, perbezaan yang signifikan pada kadar tumbesaran boleh dilihat bermula pada minggu ke-14 kajian. Daripada analisis yang dijalankan boleh disarankan bahawa, bagi melihat kesan simpanan protein yang lebih signifikan, jangkamasa yang panjang perlu dijalankan ke atas spesies *Mystus nemurus* ini kerana tumbesaran spesies ini lebih perlahan berbanding spesies ikan ternakan yang lain.

Kebiasaannya, ikan menyimpan lipid dalam hati, otot dan tisu adipos di perivisera. Pengurangan dalam HSI dengan penambahan lipid pada kedua-dua paras protein yang dikaji dan dilengkapi dengan peningkatan nilai IPF menunjukkan anak baung, *Mystus nemurus* menyimpan lemak yang berlebihan dalam tisu adipos periviseral berbanding dalam hati ikan tersebut. Tren ini juga berlaku di dalam kajian Lee *et al.* (2002) ke atas anak ikan rockfish, *Sebastes schlegeli*, di mana diet dengan lipid yang

tinggi dan melebihi keperluan tenaga ikan telah menyebabkan penambahan lemak di dalam viseral. Kajian ke atas ikan “red snapper”, *Lutjanus compechanus* (Miller *et al.*, 2005) dan juvenil ikan kod, *Maccullochella peelii peelii* (Mitchell) (De Silva *et al.*, 2002) juga menunjukkan pengumpulan lemak di bahagian intraperitoneal apabila dibekalkan diet yang tinggi tenaga. Sebaliknya berlaku pada ikan kod (*Gadus morhua* L.) iaitu dengan peningkatan paras lipid dalam diet, nilai HSI dan lipid dalam hati juga akan meningkat (Morais *et al.*, 2001; Nanton, *et al.*, 2001). Namun demikian, beberapa kajian juga mendapati bahawa tahap lipid dalam diet kadangkala tidak memberi kesan ke atas pengumpulan lemak di dalam hati spesies ikan marin (Wang *et al.*, 2006; Schulz *et al.*, 2005). Santinha *et al.* (1999) menyatakan bahawa kandungan lipid dalam hati ikan “seabream”, *Sparus aurata* adalah tinggi berbanding sesetengah spesies ikan air tawar, terutamanya pada ikan “rainbow trout”, *Salmo gairdneri* (Henderson & Tocher, 1987). Pemerhatian yang sama dilaporkan berlaku pada ikan “seabass” (McClelland *et al.*, 1995). Jelas hati juga memainkan peranan penting sebagai tempat penyimpanan lipid bagi ikan air masin berbanding ikan air tawar. Walaupun begitu, kajian yang dijalankan terhadap spesies lain menunjukkan kandungan lipid yang tinggi di dalam diet akan menyebabkan peningkatan kandungan lemak di dalam badan dan “visceral” (Helland & Grisdale-Helland, 1998; Company *et al.*, 1999; Cyrino *et al.*, 1999; Portz *et al.*, 2001), seterusnya mengurangkan hasil pengeluaran dan kualiti (Einen & Skrede 1998).

Kandungan protein badan dipengaruhi oleh paras protein di dalam diet iaitu peningkatan dalam pengumpulan protein badan anak baung, *Mystus nemurus*. Keputusan yang sama telah ditunjukkan oleh beberapa spesies ikan iaitu “silver perch”, *Bidyanus bidyanus* (Yang *et al.*, 2002), rohu, *Labeo rohita* (Satpathy *et al.*, 2003), “black catfish”,

Rhamdia quelen (Salhi *et al.*, 2004) dan “catfish”, *Pseudobagrus fulvidraco* (Kim dan Lee, 2005). Pengumpulan lemak dalam badan juga dipengaruhi oleh paras lipid di dalam diet iaitu dengan penambahan lipid dari 5% kepada 15% berlaku peningkatan dalam lemak badan anak baung. Banyak kajian telah melaporkan kesan lipid yang berlebihan di dalam diet akan disimpan sebagai lemak dalam badan ikan (Huang *et al.*, 2001) dan tren yang sama dialami oleh anak aruan tasik, *Rachycentron canadum* (Wang *et al.*, 2005) di mana lemak badan ikan berkurangan dengan peningkatan peratusan protein. Pengurangan dalam lemak badan dengan peningkatan peratusan protein pernah dikaitkan dengan kesan peningkatan dalam aktiviti metabolik disebabkan oleh penggunaan sumber tenaga bukan protein untuk memetabolismekan protein yang berlebihan dan juga proses detoksifikasi dan pembuangan nitrogen. Secara umumnya, indeks keadaan (CF) dipengaruhi oleh paras lipid iaitu semakin tinggi peratusan lipid di dalam diet menghasilkan nilai CF yang tinggi dan Diet 35P:20L mencatatkan keputusan CF yang tertinggi walaupun tidak berbeza secara signifikan. Berpandukan nilai CF yang ditunjukkan ikan yang mengambil Diet 35P:20L paling sihat antara diet-diet lain dan ia sama dengan postulat Williams (2000).

Kesan simpanan protein tidak semestinya menghasilkan keputusan kadar tumbesaran yang baik seperti yang ditunjukkan pada ikan “common dentex” (*Dentex dentex*), “sea bream” (jenahak) (*Sparus aurata L.*) dan “European seabass” (*Dicentrarchus labrax L.*) tetapi pengurangan dalam kandungan lipid dalam badan ikan (Company *et al.*, 1999) dan/atau pengurangan nilai net penggunaan protein (NPU) dengan peningkatan nisbah P/E dalam diet (Van Der Meer *et al.* 1997), juga boleh dikatakan menghasilkan kesan simpanan protein. Selain itu, sumber tenaga seperti karbohidrat yang merupakan sumber tenaga bukan protein juga boleh digunakan untuk

simpanan protein seperti yang terdapat pada ikan “pacu” (*Piaractus mesopotamicus* Holmber 1887; Abimorad *et al.*, 2007).

Kini, fokus pada diet ikan bukan sahaja terhadap keperluan asid lemak untuk menghasilkan pertumbuhan yang baik tetapi ia juga bergantung kepada hasil produk yang dikeluarkan iaitu ikan mestilah memenuhi ciri-ciri nutrisi iaitu profil asid lemak ikan perlu sama atau hampir sama dengan ikan liar (yang hidup bebas di alam semulajadi). Kesedaran tentang perkaitan antara pengambilan ikan dan kesihatan manusia perlu kerana ia akan memberi kesan terhadap pengguna iaitu dapat mengelakkan penyakit jantung dan mengurangkan gangguan keradangan yang seterusnya menarik minat pengguna pada nilai nutrisi ω 3 PUFA, lebih-lebih lagi DHA dan EPA (Jobling, 1993 dan Sargent *et al.*, 1999).

Menurut Henderson (1996), terdapat tiga cara asid lemak dalam diet bagi ikan air tawar digunakan iaitu sama ada menjadi sebahagian daripada fosfolipid, atau disimpan sebagai simpanan lipid neutral (lemak badan) ataupun dimetabolismekan untuk menghasilkan tenaga. Berdasarkan kajian *in vitro* ke atas pengoksidaan- β mitokondria, Henderson (1996) juga menunjukkan fenomena pemilihan substrat ke atas SFA dan MUFA berbanding PUFA untuk penghasilan tenaga. Namun, bagi kajian ke atas anak baung, *Mystus nemurus* ini, pengumpulan asid lemak tepu (SFA) dalam otot amat besar dan menunjukkan bahawa pengumpulan SFA tidak bergantung kepada kuantiti SFA yang dibekalkan di dalam diet dan yang menariknya, dengan peningkatan pengumpulan asid lemak ini adalah paling tinggi berlaku apabila nilai asid lemak ω 3 juga paling tinggi (Diet 35P:5L dan Diet 40P:5L). Dua kemungkinan boleh disarankan iaitu pertama, sama ada SFA tidak dimetabolismekan untuk tenaga oleh anak baung, *Mystus nemurus* dan/ataupun keduanya, pengambilan asid lemak ω 3 yang tinggi menyebabkan

peningkatan biosintesis oleh SFA seperti yang dilaporkan pada ikan “Murray cod”, *Maccullochella peelii peelii* (Turchini *et al.*, 2006). Walau bagaimanapun, jika dilihat paras MUFA dan PUFA pada otot ikan lebih rendah berbanding dalam diet, kajian ini menunjukkan bahawa anak baung, *Mystus nemurus* mungkin lebih cenderung untuk memetabolismekan kedua-dua jenis asid lemak ini berbanding SFA untuk penghasilan tenaga bagi memberi kesan simpanan protein yang telah ditunjukkan dalam kajian ini. Namun demikian, dengan merujuk kepada kandungan SFA dalam otot anak baung, *Mystus nemurus* yang rendah secara signifikan ($P < 0.05$) pada diet yang mengandungi paras tinggi lipid (20%) diet sama yang menunjukkan nilai kadar tumbesaran (%) yang paling tinggi, 35P:20L menunjukkan kemungkinan bahawa SFA dimetabolitkan untuk tenaga tidak boleh diketepikan.

Walaupun kajian ini tidak direka secara spesifik untuk mengenalpasti proses metabolisme asid lemak dan penerangan secara terperinci tidak dapat diberikan, namun komposisi asid lemak $\omega 6$ dalam otot anak baung mencerminkan komposisi asid lemak $\omega 6$ dalam diet yang dibekalkan iaitu apabila peratusan asid lemak $\omega 6$ dalam diet meningkat, peratusan asid lemak $\omega 6$ dalam otot anak baung juga meningkat. Pemerhatian ini telah dijangkakan kerana berlaku penambahan kandungan minyak jagung di dalam diet kajian dan keputusan yang sama telah dilaporkan oleh Caballero *et al.* (2002). Data daripada kajian ini mencadangkan satu kaitan antara $\omega 6$ yang dicapai dengan paras $\omega 3$ yang diberi dalam diet.

Paras asid lemak $\omega 6$ pada otot ikan adalah tiga kali ganda berbanding dengan kandungan $\omega 6$ dalam diet yang diberikan pada kombinasi diet 35P:5L dan 40P:5L. Pada masa yang sama nilai asid lemak $\omega 3$ pula adalah dua kali ganda. Keputusan yang sama

diperolehi oleh Menoyo *et al.* (2007) pada ikan salmon Atlantik, *Salmo salar*. Ia menjelaskan bahawa tren yang diperolehi berlaku hasil daripada peningkatan proses pengasilan semula (“re-acylation”) dan pengangkutan asid lemak C18:2n-6 dalam enterosit pada sel usus yang menyebabkan peningkatan dalam pengumpulan asid lemak dalam otot ikan. Disebabkan asid lemak ω_6 yang paling dominan di dalam otot ikan ialah asid lemak linoleik (C18:2n-6) berbanding arakidonik (C20:4n-6) untuk kesemua diet kajian, dapat disarankan bahawa kehadiran kandungan asid lemak ω_6 tinggi secara relatif, aktiviti enzim Δ_6 -desaturase dan elongase tidak memilih untuk melakukan penukaran asid lemak linoleik (C18:2n-6) kepada rangkaian yang lebih panjang seperti asid lemak arakidonik (C20:4n-6). Keputusan yang sama dilaporkan pada kajian lain (Bell *et al.*, 1992; Olsen & Ringo, 1992). Ini berkemungkinan disebabkan oleh interaksi persaingan antara pengambilan asid lemak ω_3 dan ω_6 dan juga PUFA serta HUFA seperti yang telah dikemukakan oleh Bell *et al.* (2001) pada Atlantik salmon.

Pada ikan, kehadiran aktiviti lipase tidak berkorelasi ataupun dipengaruhi oleh kandungan lipid dalam diet ataupun pengambilan lipid pada ikan (Kuz'mina and Gelman, 1997). Walau bagaimanapun, kajian tersebut kurang relevan semenjak peningkatan paras lipid yang mendadak dalam diet bagi ikan salmonid (Rasmussen *et al.*, 2000). Dalam kajian ini, peningkatan aktiviti enzim lipase dalam perut dan hati anak baung hanya berlaku pada paras protein yang rendah (35%). Di samping itu, tiada tren nyata bagi aktiviti lipase yang ditunjukkan dalam usus anak baung, namun sebaliknya berlaku dalam usus ikan *Colossoma macropomum* (de Almeida *et al.*, 2006). Kajian yang dilakukan oleh Manjappa *et al.* (2002) tidak menunjukkan kesan yang sama ke atas ikan *Cyprinus carpio* yang dibekalkan paras lipid yang berbeza dan pengurangan dalam kandungan

protein. Begitu juga kajian yang dilakukan terhadap spesies bivalvia, *Pecten maximus* didapati kandungan dan komposisi lipid (92.5 g kg^{-1} hingga 313.4 g kg^{-1}) tidak memberi kesan terhadap aktiviti enzim bagi spesies tersebut (Hoehne-Reitan *et al.*, 2007). Secara realiti, aktiviti lipase yang tinggi pada diet yang mempunyai peratusan kandungan lipid yang tinggi menunjukkan peranan utama lipid sebagai sumber tenaga (Divakaran *et al.*, 1999).

Penggunaan lipid sebagai sumber tenaga amat disokong kerana dengan ini sisa kumbahan nitrogen di persekitaran akuatik dapat dikurangkan. Air merupakan medium utama bagi kehidupan ikan. Justeru kualiti air seharusnya sesuai dan selamat untuk ikan membesar. Ikan baung tidak seperti ikan tilapia, ia tidak mampu bertoleransi dengan pelbagai julat keadaan kualiti air. Parameter seperti suhu dan pH bagi sepanjang eksperimen berada antara 27 sehingga 29°C dan pH sekitar 6 hingga 7 . Boyd (1987) menyatakan bahawa ikan tropika boleh bertoleransi pada suhu 23 hingga 31°C manakala bagi pH pula dari julat antara 5 hingga 9 untuk mencapai tumbesaran yang optimum. Bagi oksigen terlarut (DO) pula, bacaan yang dicatatkan adalah antara 3.0 sehingga 6.8 mg/l dan bacaan ini menunjukkan ia lebih rendah berbanding keadaan habitat semulajadi ikan baung yang sering dijumpai di kawasan yang berkepekatan di antara 6 mg/l hingga 8 mg/l (Khan, 1987). Namun, tiada kesan yang negatif dapat diperhatikan di sepanjang kajian dijalankan akibat kekurangan kepekatan DO ini kerana kepadatan penstockan ikan masih rendah (Khan, 1994). Secara keseluruhannya kualiti air pada paras protein yang tinggi (40%) menghasilkan nilai yang tinggi berbanding pada paras protein yang rendah walaupun pada sesetengah parameter seperti nitrit dan fosforus perbezaan yang tidak signifikan dicatatkan ($P < 0.05$).

Dalam kajian ini, dapat diringkaskan bahawa anak baung yang dibekalkan nisbah 35% protein dan 20% lipid memberikan kadar tumbesaran yang paling maksimum namun ia tidak berbeza secara signifikan dengan anak baung ikan yang diberi 35P:15L (Diet C). Jika lipid yang berlebihan dibekalkan kepada ikan, ia akan menyebabkan pengumpulan lemak yang berlebihan dalam badan dan seterusnya menjejaskan kualiti produk ikan itu sendiri. Jadi, keperluan nisbah protein : lipid yang optimum bagi anak baung, *Mystus nemurus* yang bersaiz 3.88 g ialah 35P:15L dengan nisbah P : E 20.91 mg protein kJ⁻¹. Namun, kesan simpanan protein tidak dapat dibuktikan kerana keputusan Anova dua hala menunjukkan tiada perbezaan signifikan yang dicatatkan.

5.2 Eksperimen II – Pengaruh Nisbah Asid Lemak ω 3 dan ω 6 Terhadap Tumbesaran dan Komposisi Asid Lemak dalam Otot, Hati dan Kulit pada Anak Baung, *Mystus nemurus*

Kajian ini merupakan lanjutan kepada Eksperimen I di mana kandungan protein dan lipid telah ditetapkan pada paras 35% protein dan 15% lipid. Di dalam kajian ini lima diet yang diuji mengandungi nisbah kandungan ω 3 dan ω 6 yang berbeza. Selepas kajian dijalankan selama 16 minggu didapati anak baung dapat menerima diet yang diberi dengan baik dan tidak terdapat sebarang kesan akibat kekurangan asid lemak perlu (EFA) pada anak baung seperti kadar tumbesaran yang rendah yang ketara, kekurangan keefisienan pemakanan, peratusan mortaliti yang tinggi, hati ikan pucat dan bengkak, pereputan ekor dan sebagainya. Walau bagaimanapun, simptom kekurangan EFA yang dikaji oleh Castell *et al.* (1972) dipetik oleh Rinchar, (2007) dalam ikan yang dibekalkan asid lemak perlu (EFA) hanya dapat dilihat apabila ikan tersebut dikaji melebihi tempoh lapan bulan. Jangka masa kajian ini mungkin terlalu pendek bagi simptom kekurangan EFA ditunjukkan dalam anak ikan baung.

Secara keseluruhannya, kadar tumbesaran tidak menunjukkan sebarang tren bagi kesemua diet yang diberikan. Pertumbuhan yang paling baik yang dicapai oleh anak baung (*Mystus nemurus*) ialah pada Diet 1 ω 3:0.5 ω 6. Keputusan ini berbeza jika dibandingkan dengan spesies ikan air tawar yang lain kerana pada kebiasaannya keperluan ikan air tawar untuk asid lemak ω 6 melebihi keperluan asid lemak ω 3 (Rodriguez *et al.*, 1997). Namun secara amnya, ikan air tawar memerlukan kedua-dua asid lemak ω 3 dan ω 6 pada nisbah tertentu yang bergantung kepada sesuatu spesies

(Watanabe, 1982). Ringkasan keperluan EFA ini boleh dirujuk pada Jadual 2.2. Berbeza dengan ikan marin, keperluan EFA lebih cenderung kepada asid lemak ω 3 HUFA untuk pertumbuhan (Salhi *et al.*, 1999). Selain daripada paras ω 3 dan ω 6 yang memberi kesan terhadap pertumbuhan bagi ikan air tawar dan ω 3 HUFA untuk ikan marin, kuantiti asid lemak tepu (SFA) juga boleh memberi kesan yang negatif pada kadar tumbesaran ikan sekiranya paras yang berlebihan dibekalkan dalam diet. Contohnya ikan *Tilapia nilotica* (Takeuchi *et al.*, 1983). Diet yang mengandungi SFA C12:0 yang tinggi telah menyebabkan kadar tumbesaran ikan *Tilapia nilotica* berkurangan walaupun diet tersebut mengandungi asid lemak ω 3 dan ω 6 poli tak tepu (PUFA).

Kadar penukaran makanan (FCR) berbeza secara signifikan ($P < 0.05$) antara Diet 1:0.5 dengan Diet 1:1. Selain menunjukkan kadar tumbesaran yang tertinggi, ikan yang dibekalkan diet dengan nisbah ω 3: ω 6 sebanyak 1:0.5 juga menunjukkan nilai FCR paling baik dan PER yang tertinggi dan berbeza secara signifikan dengan diet yang menghasilkan kadar tumbesaran paling rendah (Diet 1:1). Perbezaan nilai FCR biasanya bukan sahaja bergantung pada kandungan makanan tetapi juga saiz ikan dan keadaan pembahagian makanan serta kekerapan pemberian makanan dan juga faktor-faktor persekitaran seperti suhu, kepekatan oksigen dan keasidan air. Pemberian secara berulang kali dalam sehari lebih baik berbanding sekali dalam sehari. Di samping itu, kualiti nutrisi makanan ikan juga amat penting bagi menentukan paras pengambilan makanan dan seterusnya menjamin keperluan nutrisi ikan dipenuhi. Menurut Rodriguez *et al.* (1993), larva ikan *Sparus aurata* yang diberi diet yang kurang paras C22:6n-3 (0.3 mg DM) telah menyebabkan pengurangan dalam pengambilan makanan berbanding larva yang dibekalkan paras C22:6n-3 yang tinggi. Ini kerana sesetengah spesies ikan

menggunakan penglihatan dan ataupun bau untuk mengesan makanan dan C22:6n-3 dipercayai amat penting bagi sistem neuro dan kebolehan penglihatan (Sargent *et al.*, 1999). Jika diperhatikan terdapat juga kemungkinan bahawa anak baung mampu mengesan makanan melalui bau, oleh itu pelet yang dirumuskan mengandungi serbuk sotong sebagai penarik (palatability) kerana anak baung menggunakan mandibel untuk bergerak dan mencari makan di waktu malam (Khanna, 1968 dipetik oleh Khan, 1988).

Secara keseluruhannya, tiada tren nyata yang ditunjukkan dalam indeks-indeks badan yang dikaji. Keputusan parameter Indeks Hepatosomatik (HSI), Indeks Viserosomatik (VSI), Indeks Lemak Intraperitoneal (IPF) dan Indeks Keadaan (CF) yang diperolehi dalam eksperimen ini lebih baik jika dibandingkan dengan keputusan dalam Eksperimen I sekiranya dilihat daripada segi nutrisi diet eksperimen pada ikan yang dibekalkan 35P:15L. Terutamanya pada nilai IPF dalam kajian ini untuk kombinasi $\omega 3:\omega 6$ (1:0.5) ialah 3.12 yang menghasilkan kadar tumbesaran tertinggi, manakala daripada Eksperimen I bagi diet 35P:15L ialah 4.32 yang menunjukkan pengurangan berlaku sebanyak 28%. Bagi nilai CF pada kajian ini bagi Diet 1:0.5 ialah 1.55 lebih tinggi dari Eksperimen I iaitu 0.88. Secara amnya nilai indeks HSI, VSI, IPF dan CF dapat menunjukkan perbezaan tahap kualiti kesihatan di antara ikan-ikan tersebut. Pengumpulan lipid yang berlebihan di dalam hati dan atau kaviti peritoneal boleh menyebabkan penurunan status kesihatan pada haiwan (Mathis *et al.*, 2003). Selain itu, Venou *et al.* (2006) telah melaporkan bahawa ikan besar (50 g berat awal) *Sparus aurata* mempunyai nilai HSI yang lebih rendah berbanding ikan kecil (2 g berat awal) disebabkan oleh jumlah lipid yang kurang daripada ikan kecil. Semakin tinggi HSI, semakin tinggi lipid yang terkandung di dalam hati ikan (Mourente *et al.*, 2002) dan ini

memberi kesan yang baik untuk nilai VSI. Ini disebabkan nilai VSI yang rendah (pengumpulan lemak yang rendah dalam isi ikan) akan meningkatkan berat badan ikan dan meningkatkan hasil akuakultur. Di samping itu, nilai VSI yang rendah juga dapat mengurangkan kadar pengoksidaan lipid pada ikan dan mengekalkan kesihatan dan kualiti ikan tersebut (Chaiyapechara *et al.*, 2003).

Analisis proksimat bagi otot anak baung juga mempunyai corak yang sama seperti CF jika dibandingkan dengan anak baung bagi Eksperimen I pada diet 35P:15L iaitu kandungan protein dalam anak baung lebih tinggi iaitu daripada 55.70% kepada 69.36% manakala lipid pula berkurangan iaitu daripada 22.63% kepada 21.23%. Berpandukan komposisi badan ikan dan indeks biometriks, tidak terdapat sebarang kesan negatif yang ketara, jadi boleh dikatakan makanan yang dibekalkan kepada ikan boleh digunakan dengan sebaik mungkin, sebagaimana ikan dibekalkan makanan yang isolipid dan isoprotein.

Komposisi asid lemak otot ikan selalunya menggambarkan asid lemak dalam pemakanan ikan tersebut dan terbukti proses yang sama berlaku pada kajian ini dan beberapa spesies ikan yang lain iaitu *Oncorhynchus tshawytscha* (Huang *et al.*, 2008), anak ikan *Platichthys stellatus* (Lee *et al.*, 2003) dan *Pagrus major* (Glencross *et al.*, 2001). Dalam kajian ini, nilai SFA dan MUFA yang dominan dalam otot, hati dan kulit anak baung ialah asid palmitik (C16:0) dan asid oleik (C18:1n-9). Ini mencerminkan nutrisi yang terdapat dalam diet yang dibekalkan kepada anak baung. Menurut Andrade *et al.* (1995) dan Guler *et al.* (2008), paras yang tinggi pada asid oleik, asid palmitoleik dan asid arakidonik (AA) telah dilaporkan sebagai atau menunjukkan karektor penting bagi menunjukkan sifat minyak yang terdapat dalam ikan air tawar kerana pada ikan

marin komposisi profil asid lemak yang paling dominon ialah asid lemak ω 3 tinggi tak tepu (ω 3 HUFA). Namun peratusan asid lemak berbeza pada spesies dan organ. Di dalam otot merah dan hati, lipid mengalami proses lebih kepada aktiviti enzim berbanding pada otot putih iaitu menghasilkan asid lemak bebas yang banyak (Hooper *et al.*, 1973). Peratusan yang tinggi pada SFA dan MUFA pada kajian ini berpadanan dengan pendapat Dey *et al.* (1993) yang menyatakan bahawa SFA dan MUFA yang banyak hadir pada ikan dari kawasan bersuhu sederhana panas ataupun temperat, sebaliknya kandungan PUFA yang banyak terdapat pada ikan yang beriklim sejuk. Ini disebabkan oleh kesan fizikal di mana keefisienan haiwan poikiloterma dalam aktiviti penyerapan dan metabolit asid lemak tepu (yang mempunyai tahap cair tinggi) akan berkurang pada suhu yang rendah (Stickney & Andrews, 1994).

Komposisi asid lemak berkemungkinan mempunyai peranan dalam kawalan pengambilan makanan iaitu bergantung kepada panjang rantaian dan darjah ketepuan asid lemak tersebut (Borlongan & Benitez, 1992). Asid lemak tepu (SFA) tidak mudah dihadam dan sekiranya asid lemak tepu wujud dengan peratusan yang tinggi dalam diet, berkemungkinan akan menyebabkan pengurangan dalam proses keterhadaman ketara pada asid lemak yang lain dan seterusnya pengurangan kandungan dalam jumlah keterhadaman pada diet yang dibekalkan (Caballero *et al.*, 2002). Dalam kajian ini, anak baung tidak mengalami masalah tersebut kerana kandungan SFA dalam diet-diet yang dibekalkan masih rendah iaitu antara 17.24% sehingga 19.82%.

Proses metabolisme asid lemak dalam ikan dipengaruhi oleh suhu persekitaran dan juga dietnya (NRC,1993) dan ikan mampu menggunakan lemak tepu dengan efisien pada suhu yang lebih dari 20°C seperti keli, belut dan kap. Keputusan ini disokong oleh

kajian yang dijalankan oleh Ibarz *et al.* (2007) ke atas ikan *Sparus aurata* yang menunjukkan bahawa kandungan SFA pada suhu rendah (5°C) lebih tinggi berbanding suhu tinggi (16°C). Namun, sebaliknya berlaku pada anak baung, seperti keputusan yang diperolehi dalam Eksperimen I, kajian ini juga didapati bahawa pengumpulan SFA yang tinggi berlaku dalam otot, hati dan kulit anak baung tanpa mengambilkira kuantiti SFA yang dibekalkan dalam diet. Dengan keputusan yang diperolehi, boleh dikatakan bahawa anak baung tidak menggunakan SFA sebagai tenaga tetapi memetabolitkan MUFA dan PUFA kerana kuantiti asid lemak MUFA dan PUFA dalam isi ikan lebih rendah berbanding kuantiti dalam diet yang dibekalkan.

Pada umumnya, peratusan PUFA yang tinggi adalah sangat baik untuk mencegah masalah koronari. Walau bagaimanapun komposisi PUFA mempengaruhi kestabilan diet terhadap pemprosesan dan penstoran. Menurut Fernandez-Palacios *et al.* (1995), pengoksidaan komponen lipid ikan semasa peringkat pemprosesan boleh menyebabkan kemerosotan kualiti produk. Lipid ikan mempunyai afiniti yang sangat tinggi terhadap keransidan oksidatif khususnya semasa penstoran sejuk-beku. Ini kerana komposisi asid lemak tinggi tak tepu (HUFA) siri $\omega 3$ yang tinggi khususnya C20:5n3, C22:5n3 dan C22:6n3. Oleh itu, ia boleh dikelaskan sebagai lipid boleh dimakan yang paling tidak stabil.

Paras asid lemak linoleik (C18:2n-6) dan linolenik (C18:3n-3) yang rendah dalam otot ikan menunjukkan bahawa anak baung seperti juga spesies ikan yang lain tidak dapat mensintesis asid lemak C18:2n-6 dan C18:3n-3 secara *de novo* kecuali sekiranya kedua-dua asid lemak ini dibekalkan di dalam diet. Penambahan asid lemak C18:2n-6 dan C18:3n-3 akan menindas tahap MUFA dan seterusnya meningkatkan kuantiti PUFA.

Kebanyakan ikan air tawar mempunyai kebolehan yang semulajadi untuk menukarkan C18:2n-6 (asid linoleik, LA) kepada C20:4n-6 (asid arakidonik, AA) dan C18:3n-3 (asid linolenik, ALA) kepada C20:5n-3 (asid eikosapentanoik, EPA) dan akhirnya menghasilkan C22:6n-3 (asid dokosaheksanoik, DHA) (Turchini *et al.*, 2006). Walau bagaimanapun, LA dan ALA tidak boleh disintesis secara *de novo* oleh vertebrata termasuklah ikan, jadi ia dipanggil asid lemak perlu (EFA). Asid lemak ini boleh bertukar kepada asid lemak rantai panjang tinggi tak tepu (HUFA) secara *in vivo* melalui penggiliran rangkaian pemanjangan dan penyahtepuan. Enzim $\Delta 6$ -desaturase (EC 1.14.19.3) bertanggungjawab untuk menghasilkan C18:3n-6 (Sargent *et al.*, 1999). Walaupun begitu, kajian anak baung dalam eksperimen ini menunjukkan bahawa spesies ini tidak mempunyai kebolehan untuk melakukan proses pemanjangan dan penyahtepuan asid lemak tersebut dan keputusan yang sama diperolehi oleh Henderson *et al.* (1995) terhadap ikan *Esox lucius*.

Merujuk kepada keputusan komposisi otot anak baung dalam Eksperimen I, tren yang sama diperolehi dalam kajian ini iaitu dengan peningkatan nisbah $\omega 6$ di dalam diet akan meningkatkan komposisi asid lemak $\omega 6$ di dalam otot ikan. Dalam kajian ini didapati paras asid lemak $\omega 6$ otot ikan adalah 2 kali ganda di dalam Diet 1:2 berbanding kepada Diet 1:0.33 dan pola yang sama didapati dalam hati dan kulit anak baung. Disebabkan asid lemak $\omega 6$ yang paling dominan di dalam otot, hati dan kulit anak baung ialah asid lemak C18:2n-6 untuk kesemua diet kajian, dapat disarankan bahawa kandungan asid lemak $\omega 3$ mencukupi untuk anak baung dan tinggi secara relatif. Tren ini mencadangkan kemungkinan bahawa aktiviti enzim $\Delta 6$ -desaturase dan elongase memilih untuk tidak melakukan penukaran asid lemak C18:2n-6 kepada asid lemak arakidonik

(AA, C20:4n-6) tidak seperti yang dijangkakan yang berkemungkinan akibat daripada interaksi persaingan antara C18:2n-6 dan C18:3n-3 seperti keputusan yang diperolehi pada ikan *Salmo salar* (Bell *et al.*, 2001). Visentainer *et al.* (2005) mengatakan bahawa asid lemak C18:3n-3 yang tidak dapat bertukar menjadi asid lemak eikosapentanoik (EPA, C20:5n-3) atau asid lemak dokosaheksanoik (DHA, C22:6n-3) akan disimpan dalam ini ikan. Selain itu, kehadiran C22:6n-3 dalam kajian ini juga berkemungkinan telah menghalang penyahtepuan C18. Leger dan Fremont (1981) telah melaporkan C22:6n-3 dalam minyak ikan telah menghalang penyahtepuan C18:2n-6 dan C18:3n-3 dalam hati ikan trout (*Salmo gairdneri*).

Peningkatan paras ω 3 HUFA (contohnya EPA dan DHA) yang dilaporkan dapat membantu tumbesaran dalam ikan berlaku dalam kajian ini yang mana anak baung yang dibekalkan Diet 1:0.5 mempunyai kadar pertumbuhan yang tinggi berbanding diet-diet lain. Namun pada kebiasaannya, ikan air tawar memerlukan asid lemak ω 6 lebih tinggi berbanding ω 3. Contohnya rainbow trout, *Onchorhynchus mykiss* yang mempunyai pertumbuhan paling tinggi apabila mengambil diet yang mengandungi minyak soya iaitu kaya dengan 18:2n-6 (Rinchard *et al.*, 2007) keputusan yang sama juga diperolehi pada larva ikan *Dicentrarchus labrax* (Cahu *et al.*, 2003) dan anak ikan kap biasa (*Cyprinus carpio*) (Guler *et al.*, 2008; Guerden *et al.*, 2006).

Beberapa kajian menunjukkan bahawa pengurangan dalam asid lemak ω 3 dan ω 6 PUFA telah memberikan kesan negatif terhadap ikan iaitu mengganggu beberapa struktur dan proses metabolisme badan ikan (Ruyter *et al.*, 2000). Pertumbuhan yang amat perlahan dan nilai FCR yang rendah merupakan dua kesan yang biasa dihadapi oleh ikan sekiranya dibekalkan kandungan EFA yang rendah (Watanabe., 1982) manakala Ruyter

et al. (2000) mendapati pengurangan dalam $\omega 3$ dan $\omega 6$ PUFA telah menyebabkan peningkatan dalam peratusan kematian dan kemerosotan pertumbuhan pada ikan Atlantik salmon, *Salmo salar*.

Corak komposisi asid lemak otot ikan yang diberi diet dengan lipid yang mengandungi rantaian asid lemak yang pendek (contohnya minyak kelapa sawit, CPO) telah mengumpul asid lemak PUFA $\omega 3$ dan $\omega 6$ yang berantai panjang di dalam tisu otot mereka. NRC (1973) telah menyatakan bahawa satu corak lipid yang disimpan dalam ikan merupakan kehadiran sejumlah besar asid lemak PUFA yang mengandungi rantai karbon 20 – 22 dengan lima dan enam ikatan ganda dua di dalam rantaian tersebut. Selain daripada itu, pemberian diet yang kaya dengan C18:2n-6 menyebabkan pengumpulan kandungan asid lemak C20:4n-6 yang agak tinggi dalam otot ikan tersebut. Sebaliknya pemberian diet yang kaya dengan C18:3n-3 kepada ikan pula menyebabkan pengumpulan kandungan asid lemak C20:5n-3 dan C22:6n-3 yang agak tinggi dalam isi ikan. Namun, dalam kajian ini, anak baung tidak memilih untuk melakukan proses pemanjangan dan penyahtepuan bagi asid lemak C18:2n-6 dan C18:3n-3 tidak seperti yang berlaku pada ikan tilapia (Rasoarahona *et al.*, 2005).

Selain daripada kajian mengenai proses metabolisme, pemanjangan dan penyahtepuan dalam asid lemak, terdapat beberapa usaha yang dilakukan oleh penyelidik untuk mengetahui keadaan apabila perubahan profil asid lemak berlaku ataupun untuk menaksir tempoh masa yang diperlukan untuk menstabilkan profil asid lemak mengikut perubahan pada profil asid lemak dalam diet yang dibekalkan (Jobling, 2003). Jobling (2003) menjelaskan bahawa paras asid lemak pada otot ikan contohnya EPA dan DHA berkurangan apabila minyak ikan digantikan dengan minyak soya, walau bagaimanapun

komposisi asid lemak boleh kembali kepada asal sekiranya ikan diberi makanan yang mengandungi 100% minyak ikan dalam diet dan seterusnya meningkatkan kualiti isi ikan di samping mengurangkan perubahan pada histologinya. Asid lemak yang wujud dalam tisu ikan berbeza mengikut kelas lipid dan fungsinya (Hove & Grahl-Nielsen, 1991).

Keputusan aktiviti lipase dalam eksperimen ini tidak menunjukkan tren yang nyata apabila anak baung dibekalkan diet yang berbeza nisbah $\omega 3:\omega 6$ selama 16 minggu. Walau bagaimanapun, aktiviti enzim yang tertinggi berlaku dalam usus dan diikuti dalam perut, manakala aktiviti lipase paling rendah didapati berlaku dalam hati. Kajian mengenai aktiviti lipase dalam salur penghadaman dan kaitannya dengan kandungan asid lemak masih kurang. Jadi perbandingan sukar dibincangkan.

Kualiti air dalam sistem akuatik dalam pemakanan diet dan tumbesaran ikan. Air menyumbangkan oksigen dan makanan, tempat perkumuhan, mengawal suhu badan serta merupakan habitat bagi sesetengah organisma. Oleh itu, kualiti air mesti sentiasa dipantau dan dikekalkan sepanjang masa (Hooper *et al.*, 2003; Boyd, 2003; Parker, 1995). Dalam kajian ini, diet-diet yang diberikan tidak memberi kesan secara signifikan ke atas nilai nitrit. Namun, diet yang mempunyai kombinasi $\omega 3:\omega 6$ sebanyak 1:0.5 iaitu diet yang memberikan kadar tumbesaran tertinggi menghasilkan nilai yang tertinggi bagi kandungan ammonia. Ini berkemungkinan saiz besar menyebabkan ikan mengumuhkan ammonia lebih tinggi kepadatan ikan ternak juga memainkan peranan (Hooper *et al.*, 2003). Menurut laporan daripada saintis-saintis lain, keadaan optimum eksperimen kajian tidak melebihi nilai seperti berikut: ammonia, 2.5 mg/l; nitrit, 1 mg/l; nitrat, 2 mg/l; fosforus 0.5 mg/l (Boyd, 2003; Parker, 1995; Wilson, 1991).

Berasaskan keputusan profil asid lemak di dalam otot ikan kajian ini juga menunjukkan suatu tren bahawa profil asid lemak anak baung (*Mystus nemurus*) boleh dimodifikasikan oleh diet yang diberikan. Ini seterusnya membawa kemudahan kepada para perumus diet ikan dalam menyediakan diet ikan yang boleh memenuhi keperluan asid lemak manusia itu sendiri. Dua jenis asid lemak ω 3 PUFA yang penting untuk kesihatan manusia ialah EPA (C20:5n-3) dan DHA (C22:6n-3), terutamanya dalam pencegahan penyakit kardiovaskular (Steffens, 1997) dan diet anti-trombosis (Budowski, 1981; Goodnight *et al.* 1982). Namun begitu, sekiranya kandungan asid lemak ω 3 PUFA yang tinggi dalam ikan, ia akan memberikan kesan negatif terhadap ikan itu sendiri kerana kandungan PUFA yang tinggi dalam ikan boleh menyebabkan tekanan oksidatif (Tortensen *et al.*, 2000). Di samping itu juga, kos pemakanan anak baung akan meningkat dengan penggunaan sumber ω 3 (minyak ikan) yang tinggi kerana harganya mahal berbanding minyak yang kaya dengan ω 6 seperti minyak sawit. Walau bagaimanapun, ikan sama ada ditenak ataupun liar, merupakan haiwan ternakan yang unik dalam menyumbangkan asid lemak EPA dan DHA kepada diet manusia dan kepentingannya kepada manusia adalah tidak boleh disangkal.

BAB 6 KESIMPULAN DAN CADANGAN

6.1 Kesimpulan

Secara keseluruhannya, Eksperimen I iaitu kajian yang dilakukan ke atas anak baung bagi melihat kesan nisbah protein kepada lipid terhadap prestasi tumbesaran, komposisi badan dan profil asid lemak menunjukkan bahawa kombinasi diet 35P:20L menghasilkan kadar tumbesaran yang tertinggi namun ia tidak berbeza secara signifikan dengan diet yang mempunyai nisbah protein : lipid 35P:15L. Dengan ini, boleh disarankan bahawa diet 35P:15L mempunyai kesan simpanan protein kerana diet yang mempunyai paras protein yang tinggi (40%) tidak menunjukkan perbezaan prestasi tumbesaran yang ketara.

Lanjutan kepada Eksperimen I dilakukan untuk melihat kesan nisbah $\omega 3:\omega 6$ terhadap kadar tumbesaran dan kecekapan pemakanan oleh anak baung, *Mystus nemurus*. Dalam kajian ini telah menunjukkan bahawa prestasi tumbesaran anak baung (*Mystus nemurus*) yang dibekalkan diet dengan nisbah $\omega 3:\omega 6$ sebanyak 1:0.5 telah menunjukkan kadar tumbesaran tertinggi, nilai FCR yang rendah dan nilai PER yang tinggi. Pengumpulan asid lemak tepu (SFA) dalam otot anak baung juga lebih tinggi berbanding diet yang dibekalkan, manakala MUFA dan PUFA kurang secara relatif berbanding diet yang diberi. Penemuan ini adalah sesuatu yang menarik kerana pada kebiasaannya, ikan air tawar lebih cenderung untuk mengoksidakan SFA bagi menghasilkan tenaga, tetapi sebaliknya yang berlaku pada anak baung dalam kajian ini.

6.2 Cadangan untuk kajian akan datang

Daripada keputusan yang diperolehi daripada profil asid lemak, disarankan bahawa kajian lebih terperinci mengenai proses metabolisme dan aktiviti pemanjangan dan penyahtepuan asid lemak di dalam otot baung perlu dilakukan kerana spesies ini begitu unik dan sifatnya berbeza tidak seperti ikan air tawar yang lain. Di samping itu, kajian terhadap kesan asid lemak perlu (EFA) seharusnya dilakukan. Selain itu, kesan pengoksidaan ke atas otot ikan baung juga perlu dikaji kerana keputusan yang didapati daripada kajian ini menunjukkan bahawa otot anak ikan baung tinggi dengan komposisi asid lemak tepu.

Bagi kajian akan datang, penekanan terhadap perbezaan saiz ikan antara fasa kajian mesti dititikberatkan kerana ia akan menjejaskan keputusan yang diperolehi.

- Abimorad, E. G. and Carneiro, D. J. (2007). Digestibility and performance of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) juveniles – fed diets containing different protein, lipid and carbohydrate levels. *Aquaculture Nutrition*. 13: 1-9.
- Ackefors, H., Huner, J. V. and Konikoff, M. (1994). Introduction to the general principles of aquaculture. Food Products Press, New York. Pp.31-49.
- Ahlgren, G., Carlstein, M. & Gustafsson, I-B. (1999). Effects of natural and commercial diets on the fatty acid content of European grayling. *Journal of Fish Biology*. 55: 1142-1155.
- Ahlstrom, O. and Skrede, A. (1997). Liver fatty acid composition and peroxisomal fatty acid oxidase activity in blue foxes (*Alopex lagopus*) and mink (*Mustela vison*) fed diets containing different levels of fish oil. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 117A: 135-140.
- Ai, Q., Mai, K, Li, H., Zhang, C., Zhang, L., Duan, Q., Tan, B., Xu, W., Ma, H., Zhang, W. and Liufu, Z. (2004). Effects of dietary protein to energy ratios on growth and body composition of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. *Aquaculture*. 230: 507-516.
- Ali, A. and Al-Asgah, N. A. (2001). Effect of feeding different carbohydrate to lipid ratios on growth performance and body composition of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. *Animal Research*. 50: 91-100.
- Ali, M. Z. and Jauncey, K. (2004). Interaction between dietary protein level and feeding regime on body composition, digestive enzyme activities, plasma metabolites in African catfish *Clarias gariepinus* (Burcell, 1822). *Journal of Aquaculture Tropical* 19(1): 15-27.
- Ali, M. Z. and Jauncey, K. (2005). Approaches to optimizing dietary protein to energy ratio for African catfish *Clarias gariepinus* (Burcell, 1822). *Aquaculture Nutrition*. 11; 95-101.
- Almansa, E., Domingues, P., Sykes, A., Tejera, N., Lorenzo, A. & Andrade, J. P. (2006) The effects of feeding with shrimp or fish fry on growth and mantle lipid composition of juvenile and adult cuttlefish (*Sepia officinalis*). *Aquaculture*. 256: 403-413.
- Amornsakun, T., Hassan, A., Ambak, A. & Chiayvareesajja, S. (1998). The culture of green catfish, *Mystus nemurus* (Cuv. & Val) I: feed & feeding scheme of larvae and juveniles. *Songklanakarin Journal Science Technology*. 20(3): 373-378.
- Andrade, A. D., Rubira, A. F., Matsushita, M. & Souza, N. E. (1995). Omega-3 fatty acids in freshwater fish from South Brazil. *Journal of the American Oil Chemist Society*. 72(10) : 145-150.
- Andrease, M-B., Schneiderat, U., Dhesparasith, D. and Gabriele, H-S. (2002). Artificial reproduction of Asian green catfish (*Mystus nemurus*): Trials to obtain high quality sperm from alive males In: Challenge to organic farming and sustainable land use in tropics and sub-tropics. *Deutscher Tropentag*. 9-11.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). (1997). Official Methods of Analysis of AOAC International 16th edition. (Cunniff, P. A., ed.). Virginia: AOAC International.
- A.P.H.A., A.W.W.A. & W.E.F. (1992). Standard methods for the examination water and waste water. 18th Edn. APHA, Washington. pp. 4-117.
- Awais, A., Kestemont, P. & Micha, J. C. (1996). Fatty acids profile of two freshwater fish larvae (gudgeon and perch) reared with *Brachionus calyciflorus* Pallas (rotifer) and/or dry diet. *Aquaculture Research*. 27:651-658.

- Baldwin, J. and Reed, K. C. (1976). Cytoplasmic sources of NADPH for fat synthesis in rainbow trout liver: Effect of thermal acclimation on enzyme activities. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 54B: 527-529.
- Balfry, S., Higgs, D., Richardson, N. & Lall, S. (2003). The influence of alternate supplemental dietary lipids on the growth and health of Atlantic salmon in seawater.
- Bandarra, N. M., Nunes, M. L., Andrade, A. M., Prates, J. A. M., Pereira, S., Monteiro, M., Rema, P. and Valente, L. M. P. (2006). Effect of dietary conjugated linoleic acid on muscle, live and visceral lipid deposition in rainbow trout juveniles (*Onchorynchus mykiss*). *Aquaculture*. 254: 496-505.
- Bautista, M. N. and De La Cruz, M. C. (1988) Linoleic (n-6) and linolenic (n-3) acids in the diet of fingerling Milkfish (*Chanos chanos* Forsskal). *Aquaculture*. 71: 347-358.
- Bazaz, M. M. dan Keshavanath, P. (1993). Effect of feeding different levels of sardine oil on growth, muscle composition and digestive enzyme activities of mahseer, *Tor khudree*. *Aquaculture*. 115: 111-119.
- Belitz, H. D. and Grosch, W. (1987). *Food Chemistry*. Springer Verlag, Berlin.
- Bell, J. G., McEvoy, L. A., Estevez, A., Shields, R. J. and Sargent, J. R. (2003). Optimising lipid nutrition in first-feeding flatfish larvae. *Aquaculture*.
- Bell, J. G., Henderson, R. J., Tocher, D. R., McGhee, F., Dick, J. R., Porter, A., Smullen, R. P. and Sargent, J. R. 2002. Substituting fish oil with crude palm oil in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects muscle fatty acid composition and hepatic fatty acid metabolism. *Journal of Nutrition* 132: 222– 230.
- Bell, J. G., Henderson, R. J., Tocher, D. R., McGhee, F., Dick, J. R., Porter, A., Smullen, R. P. and Sargent, J. R. (2001). Substituting fish oil with crude palm oil in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects muscle fatty acid composition and hepatic fatty acid metabolism. *Nutritional Sciences*.
- Bell, J. D., Dick, J. R., Sargent, J. R. and McVicar, A. H. 1992. Dietary linoleic acid affects phospholipid fatty acid composition in heart and eicosanoid production in cardiomyocytes from Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Comparative Biochemistry and Physiology* 103A: 337–342.
- Bendiksen, E. A., Arnesen, A. M. and Jobling, M. (2003). Effects of dietary fatty acid profile and fat content on smolting and seawater performance in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*. 225: 149-163.
- Bjerkeng, B., Refstie, S., Fjalestad, K. T., Storebakken, T., Rodbotten, M. dan Roem, A. J. (1997). Quality parameters of the flesh of Atlantic salmon (*Salmo salar*) as affected by dietary fat content and full-fat soybean meal as a partial substitute for fish meal in the diet. *Aquaculture*. 157: 297-309.
- Bolliet, V., Cheewasedtham, C., Houlihan, D., Gelineau, A. and Boujard, T. (2000). Effect of feeding time on digestibility, growth performance and protein metabolism in the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*: interactions with dietary fat levels. *Aquatic Living Resources*. 13: 107-113.
- Boonyaratpalin, M. (1997). Nutrient requirements of marine food fish cultured in Southeast Asia. *Aquaculture*. 151: 283-313.
- Borlongan, I. G. and Benitez, L. V. (1992). Lipid and fatty acid composition of milkfish (*Chanos chanos* Forsskal) grown in freshwater and seawater. *Aquaculture*. 104: 79-89.
- Borlongan, I. G. and Parazo, M. M. (1991). Effects of dietary lipid sources on growth, survival and fatty acid composition of seabass (*Lates calcarifer*, Bloch) fry. *The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgeh*. 43(3): 95-102.

- Borlongan, I.G. 1990. Studies on the digestive lipases of milkfish, *Chanos chanos*. *Aquaculture* 89: 315-325.
- Borrebaek, B. and Christophersen, B. (2000). Hepatic glucose phosphorylating activities in perch (*Perca fluviatilis*) after different dietary treatments. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 125B: 387-393.
- Borrebaek, B., Waagbo, R., Christophersen, B., Tranulis, M. A. and Hemre, G-I. (1993). Adaptable hexokinase with low affinity for glucose in the liver of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Comparative Biochemistry and Physiology*. 106B: 833-836.
- Boujard, T., Gelineau, A., Coves, D., Corraze, G., Dutto, G., Gasset, E. and Kaushik, S. (2004) Regulation of feed intake, growth, nutrient and energy utilization in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed high fat diets. *Aquaculture*. 231: 529-545.
- Boyd, C. E. (2003) Guidelines for aquaculture effluent management at the farm-level. *Aquaculture*. 226: 101-112.
- Boyd, C. E. (1987). Water conservation measures in fishing farming. In fifth conference on Applied Climatology, American Meteorology Society, Boston, Massachusetts, USA. Pp 88-91.
- Boyd, C. E. (1979). Water quality in warmwater fish ponds. Auburn University Agricultural Experiment station, Auburn, Alabama, USA.
- Bransden, M. P., Cobcroft, J. M., Battaglione, S. C., Morehead, D. T., Dunstan, G. A., Nichols, P. D. and Kolkovski, S. (2005). Dietary 22:6n-3 alters gut and liver structure and behaviour in larval striped trumpeter (*Latris lineate*). *Aquaculture*. 248: 275-285.
- Brockerhoff, H and Hoyle, R. J. (1965). Hydrolysis of triglycerides by the pancreatic lipase of a scate. *Biochimica et Biophysica Acta* 98: 435-437.
- Bruce, M., Oyen, F., Bell, G., Asturiano, J. F., Farndale, B., Carrillo, M., Zanuy, S., Ramos, J. and Bromage, N.(1999). Development of broodstock diets for the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) with special emphasis on the importance of n-3 and n-6 highly unsaturated fatty acid to reproductive performance. *Aquaculture*. 177: 85-97.
- Buchet, V., Infante, J.L.Z., and Cahu, C.L. (2000) Effect of dietary level in a compound diet on the development of red drum (*Sciaenops ocellatus*) larvae. *Aquaculture*, 184, 339-347.
- Caballero, M. J., Izquierdo, M. S., Kjørsvik, E., Montero, D., Socorro, J., Fernandez, A. J. and Rosenlund, G. (2003). Morphological aspects of intestinal cells from gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed diets containing different lipid sources. *Aquaculture*. 225: 325-340.
- Caballero, M. J., Obach, A., Rosenlund, G., Montero, D., Gisvold, M. and Izquierdo, M. S. (2002). Impact of different dietary lipid sources on growth, lipid digestibility, tissue fatty acid composition and histology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*. 214: 253-271.
- Cahu, C. L., Zambonino-Infante, J. L. and Barbosa, V. (2003). Phospholipid level in dietary lipid fraction is determining for seabass (*Dicentrarchus labrax*) larval development. *British Journal Nutrition*. 90: 21-28.
- Cahu, C. L., Infante, J. L. Z., Corraze, G. and Coves, D. (2000). Dietary lipid level affects fatty acid composition and hydrolase activities of intestinal brush border membrane in sea bass. *Fish Physiology and Biochemistry*. 23: 165-172.

- Campos, P., Martino, R. C. and Trugo, L. C. (2006). Amino acid composition of Brazilian surubim fish (*Pseudoplatystoma corucans*) fed diets with different levels and sources of fat. *Food Chemistry*. 96: 126-130.
- Castell, J. D., Lee, D. J. and Sinnhuber, R. O. (1972). Essential fatty acids in the diet of rainbow trout: lipid metabolism and fatty acid composition. *Journal of Nutrition*. 90: 21 – 28 (dipetik oleh Rinchard, J., Czesny, S. and Dabrowski, K. (2007). Influence of lipid class and fatty acid deficiency on survival, growth and fatty acid composition in rainbow trout juveniles. *Aquaculture*. 264: 363-371).
- Catacutan, M.R., Pagador, G.E. and Teshima, S. (2001) Effect of dietary protein and lipid levels and protein to energy ratios on growth, survival and body composition of the mangrove red snapper, *Lutjanus argenmaticulatus* (Forsskal 1775). *Aquaculture Research*. 32, 811-818.
- Cengiz, E.I., Unlu, E. and Bashan, M. (2003). The effects of dietary fatty acids on the fatty acid composition in the phospholipid fraction of *Gambusia affinis*. *Turk J Biol*. 27: 145-148.
- Chaiyapechara, S., Casten, M. T., Hardy, R. W. and Dong, F. M. (2003) Fish performances, fillet characteristics, and health assessment index of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets containing adequate and high concentrations of lipid and vitamin E. *Aquaculture*. 219:715-738.
- Chakrabarti, I., Gani, M. A., Chaki, K. K., Sur, R. and Misra, K. K. (1995). Digestive enzymes in 11 freshwater teleost fish species in relation to food habit and niche segregation. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 112A: 167-177.
- Chesley, L. C. (1934). The Influence of Temperature upon the Amylases of Cold and Warm-blooded Animals. *Biology Bulletin*.
- Cho, Y. and Bureau, D. P. (2001). A review of diet formulation strategies and feeding systems to reduce excretory and feed wastes in aquaculture. *Aquaculture Research*. 32(Suppl. 1), 349-360.
- Chou, B.S. and Shiau, S.Y. (1996). Optimal dietary lipid level for growth of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*. *Aquaculture*. 143: 185-195.
- Cockson, A. and Bourne, D. (1972). Enzymes in the digestive tract of two species of euryhaline fish. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 41A: 715-718.
- Company, R., Caldach-Giner, J. A., Kaushik, S. and Perez-Sanchez, J. (1999). Growth performance and adiposity in gilthead sea bream (*Sparus aurata*): risks and benefits of high energy diets. *Aquaculture*. 171: 279-292.
- Cousin, J. C. B., Baudin-Laurencin, F. and Gabaudan, J. (1987). Ontogeny of enzymatic activities in fed and fasting turbot, *Scophthalmus maximus* L. *Journal of Fish Biology*. 30: 15-33.
- Cowey, C. B. and Sargent, J. R. (1979). In *Fish Physiology*. Vol P 1 [Hoar, W.S., Randall, D. J. & Brett, J. R. editors]. New York. Academic Press.
- Craig, S. R., Schwarz, M. H. & McLean, E. (2006). Juvenile cobia (*Rachycentron canadum*) can utilize a wide range of protein and lipid levels without impacts on production characteristics. *Aquaculture*. 261: 384-391.
- Craig, S. and Helfrich, L. A. (2002): *Understanding Fish Nutrition, Feeds and Feeding*, Cooperative Extension Service, publication 420–256. Virginia State University, USA.
- Das, K. M. and Tripathi, S. D. (1991). Studies on digestive enzymes of grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Val.). *Aquaculture*. 92: 21-32.

- De Almeida, L. C., Lundstedt, L. M. & Moraes, G. (2006). Digestive enzyme responses of tambaqui (*Colossoma macropomum*) fed on different levels of protein and lipid. *Aquaculture nutrition*. 12: 443-450.
- De Borba, M. R., Fracalossi, D. M., Pezzato, L. E., Menoyo, D. and Bautista, J. M. (2003). Growth, lipogenesis and body composition of piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) fingerlings fed different dietary protein and lipid concentrations. *Aquatic Living Resources*. 16: 362-369.
- De Silva, S.S., Gunasekera, R.M. and Shim, K. F. (1991). Interactions of varying dietary protein and lipid levels in young red tilapia: evidence of protein sparing. *Aquaculture*. 95: 305-318.
- De Silva, S.S., Gunasekera, R.M. Gooley, G. and Ingram, B.A. (2001) Growth of Australian shortfin eel (*Anguilla australis*) elvers given different dietary protein and lipid levels. *Aquaculture Nutrition*. 7: 53-57.
- De Silva, S.S., Gunasekera, Collins, R. A. and Ingram, B.A. (2002). Performance of juvenile Murray cod, *Maccullochella peelii peelii* (Mitchell), fed with diets of different protein to energy ratio. *Aquaculture nutrition*. 8: 79-85.
- De Silva, S. S. and Anderson, T.A. (1995). *Fish Nutrition in Aquaculture*. 1st ed. Chapman and Hall, London.
- Dey, I., Buda, C., Wiik, T., Halver, J. E. and Farkas, T. (1993). Molecular and structural composition of phospholipids membranes in livers of marine and freshwater fish in relation to temperature. *Product National Academic Science, USA*. 90: 7498-7502.
- Dias, J., Alvarez, M.J., Arzel, J., Corraze, G., Diez, A., Bautista, J. M. and Kaushik, S. J. (2005). Dietary protein source affects lipid metabolism in the European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Comparative Biochemistry and Physiology. Part A*. 142: 19-31.
- Divakaran, S., Kim, B.G. & Ostrowski, A. C. (1999). Digestive enzymes present in Pacific threadfin *Polydactylus sexfilis* (Bloch and Schneider 1801) and bluefin travelly, *Caranx melampygus* (Cuvier 1833). *Aquaculture Research*. 30: 781-787.
- Du, Z-Y., Liu, Y-J., Tian, L-X., Wang, J-T., Wang, Y. and Liang, G-Y. (2005). Effect of dietary lipid level on growth, feed utilization and body composition by juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Aquaculture Nutrition*. 11; 139-146.
- Durborow, R. M., Crosby, D. M. and Brunson, M. W. (1997) (Revised). Nitrite in fish ponds. SRAC Publication. Pp. 462.
- Durborow, R. M., Crosby, D. M. and Brunson, M. W. (1992). Ammonia in fish ponds. SRAC Publication. Pp. 463.
- Einen, O. and Skrede, G. (1988). Quality characteristic in raw and smoked fillets of atlantic salmon, *Salmo salar*, fed high-energy diets. *Aquaculture nutrition*. 4: 99-108.
- El-Sayed, A-F. M., Mansour, C. R. and Ezzat, A. A. (2005). Effects of dietary lipid source on spawning performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) brood stock reared at different water salinities. *Aquaculture*. 248: 187-196.
- Encarnacao, P., De Lange, C., Rodehutsord, M., Hoehler, D., Bureau, W. and Bureau, D. P. (2004). Diet digestible energy content affects lysine utilization, but no dietary lysine requirements of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) for maximum growth. *Aquaculture*. 235: 569-586.

- Espinos, F. J., Tomas, A., Perez, L. M., Balasch, S. and Jover, M. (2003). Growth of dentex fingerlings (*Dentex dentex*) fed diets containing different levels of protein and lipid. *Aquaculture*. 218: 479-490.
- Fernández-Palacios, H., Izquierdo, M.S., Robaina, L., Valencia, A., Salhi, M. and Vergara, J. (1995). Effect of n-3 HUFA level in broodstock diets on egg quality of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture*, 132: 325-337.
- Figueiredo-Silva, A., Rocha, E., Dias, J., Silva, P., Rema, P., Gomes, E. and Valente, L. M. P. (2005) Partial replacement of fish oil by soybean oil on lipid distribution and liver histology in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles. *Aquaculture Nutrition*. 11; 147-155.
- Fish, G. R. (1960). The comparative activity of some digestive enzymes in alimentary canal of Tilapia and Perch. *Hydrobiologia*. XV:161-178.
- Flagella, Z., Giuliani, M. M., Royunno, T., Caterina, R. D. and De Caro, A. (2003). Effect of saline water on oil yield and quality of a high oleic sunflower (*Helianthus annuus* L.) hybrid. *European Journal of Agronomy*. In Press.
- Fountoulaki, E., Alexis, M. A., Nengas, I. and Barbara, V. (2005) Effect of diet composition on nutrient digestibility and digestive enzyme levels of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) *Aquaculture Research*. 36: 1243-1251.
- Fountoulaki, E., Alexis, M. A., Nengas, I. and Venou, B. (2003). Effects of dietary arachidonic acid (20:4n-6) on growth, body composition and tissue fatty acid profile of githead sea bream fingerlings (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture*. 225, 309-323.
- Francis, D. S., Turchini, G. M., Jones, P. L. and De Silva, S. S. (2007). Effect of fish oil substitution with a mix blend vegetable oil on nutrient digestibility in Murray cod, *Maccullochella peelii peelii*. *Aquaculture*. 269: 447-455.
- Francis, G., Makkar, P. S. H. & Becker, K. (2001). Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture*. 199: 197-227.
- Fu, S. J., Xie, X. J., Zhang, W. B. and Cao, Z. D. (2001). The study on nutrition of *Silurus meridionalis* III. The sparing effect of dietary lipid. *Acta Hydrobiologia. Sin.* 25, 70-75 (In Chinese with English abstract).
- Furne, M., Hidalgo, M. C., Lopez, A., Garcia-Gallego, M., Morales, A. E., Domezain, A., Domezaine, A. and Sanz, A. (2005). Digestive enzyme activities in Adriatic sturgeon *Acipenser naccarii* and rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. A comparative study. *Aquaculture*. 254: 758-767.
- Furuita, H., Konishi, K. and Takeuchi, T. (1999). Effect of different levels of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid in *Artemia nauplii* on growth, survival and salinity tolerance of larvae of the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*. 170: 59-69.
- Fynn-Aikins, K., Hung, S. S. O., Liu, W. and Li, H. (1992). Growth, lipogenesis and liver composition of juvenile white sturgeon fed different levels of D-glucose. *Aquaculture*. 105: 61-72.
- Gaylord, T. G. & Gatlin III, D. M. (2001). Dietary protein and energy modifications to maximize compensatory growth of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture*. 194:337-348.
- Gelineau, A. Bolliet, V., Corraze, G. and Boujard, T. (2002). The combined effects of feeding time and dietary fat levels on feed intake, growth and body composition in rainbow trout. *Aquatic Living Resources*. 15, 225-230.

- Giri, S.S., Sahoo, S.K., Sahu, A.K. and Meher P.K. (2003). Effect of dietary protein level in growth, survival, feed utilization and body composition of hybrid *Clarias* catfish (*Clarias batrachus* x *Clarias gariepinus*). *Animal Food Science and Technology*. 104:169-178.
- Glencross, B., Smith, M., Curnow, J., Smith, D. & Williams, K. (2001). The dietary protein requirements of post puerulus western rock lobster, *Panulirus cygnus*. *Aquaculture*. 199: 119-129.
- Glencross, B. D., Smith, D. M., Thomas, M. R. and Williams, K. C. (2002). The effects of dietary n-3 and n-6 fatty acid balance on growth of the prawn *Panaeus monodon*. *Aquaculture Nutrition*. 8: 43-51.
- Glencross, B. D., Smith, D. M., Thomas, M. R. and Williams, K. C. (2002). The effects of dietary lipid amount and fatty acid composition on the digestibility of lipids by the prawn, *Panaeus monodon*. *Aquaculture*. 205: 157-169.
- Goodnight, S. H., Jr.; Haris, W. S., Connor, W. E. and Illingworth, D. R. (1982). Polyunsaturated fatty acids, lipidemia and thrombosis. *Arteriosclerosis. Thrombosis Vascular Biology*. 2: 87-113.
- Greene, D. H. S. and Selivonchick, D. P. (1990). Effects of dietary vegetable, animal and marine lipids on muscle lipid and hematology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*. 89: 165-182.
- Guerden, I., Gondouin, E., Rimbach, M., Koppe, W., Kaushik, S. and Boujard, T. (2006). The evaluation of energy intake adjustments and preferences in juvenile rainbow trout fed increasing amounts of lipid. *Physiology & Behavior*. 88: 325-332.
- Guler, G. O., Kiztanir, B., Aktumsek, A., Cital, O. Bo. & Ozparlak, H. (2008). Determination of the seasonal changes on total fatty acid composition and $\omega 3/\omega 6$ ratios of carp (*Cyprinus carpio* L.) muscle lipid in Beysehir Lake (Turkey). *Food chemistry*. 108: 689-694.
- Gurr, M. I. and Harwood, J. L. (1991). *Lipid Biochemistry (An Introduction)*. 4th Ed. Chapman & Hall, London, UK.
- Halver, J. E. (2001). *Fish Nutrition* (3rd edition). Academic Press, London.
- Halver, J. E. (1998). *Fish Nutrition* (2nd edition). Academic Press, London.
- Halver, J. E. (1989). The Vitamins. In *Fish Nutrition* 2nd edition (editor by Halver, J. E.). Academic Press, New York. 32-111 pp.
- Hanley, F. (1991). Effects of feeding supplementary diets containing varying levels of lipid on growth, food conversion and body composition of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture*. 93: 323-334.
- Hamre, K., Baeverfjord, G. and Harboe, T. (2005). Macronutrient composition of formulated diets for Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*, L.) juveniles, II: protein / lipid levels at low carbohydrate. *Aquaculture*. 244: 283-291.
- Hatlen, B., Grisdale-Helland, B. And Helland, S. J. (2005). Growth, feed utilization and body composition in two size groups of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) fed diets differing in protein and carbohydrate content. *Aquaculture*. 223: 222-231
- Helland, S. J. and Grisdale-Helland, B. (1998). Growth, feed utilization and body composition of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) fed diets differing in the ratio between the macro-nutrients. *Aquaculture*. 124: 109-116.
- Hemre, G. I., Karlsen, O., Mangor-Jensen, A. and Roselund, G. (2003). Digestibility of dry matter, protein, starch and lipid by cod, *Gadus morhua*: Comparison of sampling methods. *Aquaculture*. 225: 225-232.

- Hemre, G. I., Mommsen, T. P. and Krogdahl, A. (2002) Carbohydrate in fish nutrition: Effects on growth, glucose metabolism and hepatic enzymes. *Aquaculture Nutrition*. 8(3): 175-194.
- Henderson, R. J. (1996). Fatty acid metabolism in freshwater fish with particular reference to polyunsaturated fatty acids. *Animal Nutrition*. 49: 5-22.
- Henderson, R. J. and Tocher, D. R. (1987). The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. *Programme Lipid Research*. 26: 281-347.
- Hepher, B. (1990). *Nutrition of pond fishes*. Cambridge University Press, United Kingdom.
- Hepher, B. (1988). *Nutrition of pond fishes*. Cambridge University Press, England. 388 pp.
- Herbing, H. V. and White, L. (2002) The effects of body mass and feeding on metabolic rate in small juvenile Atlantic cod. *Journal of Fish Biology*. 61: 945-960.
- Hernandez-Vegara, M. P., Rouse, D. B., Olvera-Novoa, M. A. and Davis, D. A. (2003). Effects of dietary lipid level and source on growth and proximate composition of juvenile redclaw (*Cherax quadricarinatus*) reared under semi-intensive culture conditions. *Aquaculture*. 223: 107-115.
- Hevroy, E. M., Sandnes, K. and Hemre, G. I. (2004). Growth, feed utilization, appetite and health in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed a new type of high lipid fishmeal, Sea Grain, processed from various pelagic marine fish species. *Aquaculture*. 235: 371-391.
- Hickling, C. F. (1968). *The farming of fish*. London, Pergamon press. 352 pp.
- Higgs, D. A. and Dong, F. M. (2000). Lipids and fatty acid. In: Stickney, R. (ed). *Encyclopedia of Aquaculture*. 476-496.
- Hillestead, M. and Johnsen, F. (1994). High-energy / low-protein diets for Atlantic salmon: Effect on growth, nutrient retention and slaughter quality. *Aquaculture*. 124: 109-116.
- Hoehne-Reitan, K., Okland, S. N. & Reitan, K. I. (2007). Neutral lipase and phospholipase activities in scallop juveniles (*Pecten maximus*) and dietary algae. *Aquaculture Nutrition*. 13: 45-49.
- Hooper, H. L., Sibly, R. M., Hutchinson, T. H. and Maund, S. J. (2003). The influence of larval density, food availability and habitat longevity on the life history and population growth rate of the midge *Chironomus riparius*. *Oikos*. 103(3): 515-524.
- Hove, H. T. and Grahl-Nielsen, O. (1991). Fatty acid composition of start feeding salmon (*Salmo salar*) larvae. *Aquaculture*. 96:305-319.
- Hsieh, S. H. and Shiau, S. Y. (2000). Effects of diets containing different carbohydrates on starved condition in juvenile tilapia *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. *Fisheries Science*. 66: 32-37.
- Huang, S. S. Y., Fu, C. H. L., Higgs, D. A., Balfry, S. K., Schulte, P. M. and Brauner C. J. (2008). Effects of dietary canola oil level on growth performance, fatty acid composition and ionoregulatory development of spring chinook salmon parr, *Oncorhynchus tshawytscha*. *Aquaculture*. 274: 109-117.
- Huang, C-H., Shyong, W-J. & Lin, W-Y. (2001). Dietary lipid supplementation affects the fatty acid composition but not the growth of juvenile river chub, *Zacco barbata* (Regan). *Aquaculture Research*. 32: 1005-101.
- Hung, S.S.O., Conte, F.S. and Hallen, E.F. (1993). Effects of feeding rates on growth, body composition and nutrient metabolism in striped bass (*Morone saxatilis*) fingerlings. *Aquaculture*. 112, 349-361.

- Ibarz, A., Beltran, M., Fernandez-Borras, J., Gallardo, M. A., Snachez, J. & Blasco, J. (2007). Alterations in lipid metabolism and use of energy depots of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) at low temperatures. *Aquaculture*. 262:470-480.
- Ibeas, C., Cejas, J., Gomez, T., Jerez, S. and Lorenzo, A. (1996). Influence of n-3 highly unsaturated fatty acid levels on juvenile gilthead seabream (*Sparus aurata*) growth and tissue fatty acid composition. *Aquaculture*. 142: 221-235.
- Inger, R. F. & Chin, P. K. (1962). The freshwater fishes at North Borneo. Chicago Natural History Museum, Chicago, USA. 268 pp.
- Izquierdo, M. S., Watanabe, T., Takeuchi, T., Arakawa, T. and Kitajima, C. (1989). Optimal EFA levels in artemia to meet the EFA requirements of red seabream (*Pagrus major*). Proceedings Third International Symposium On Feeding and Nutrition In fish. 221-232.
- Jahan, P., Watanabe, T., Satoh, S. and Viron, K. (2002). Formulation of low phosphorus loading diets for carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquaculture Research*. 32(S1): 361-368.
- Jantrarotai, W., Sitasit, P. and Rajchapakdee, S. (1994). The optimum carbohydrate to lipid ratio in hybrid *Clarias catfish* (*Clarias microcephalus* x *C. gariepinus*) diets containing raw broken rice. *Aquaculture*. 127: 61-68.
- Jobling M. and Johansen, S. J. S. (2003). Fat distribution in Atlantic salmon *Salmo salar* L. in relation to body size and feeding regime. *Aquaculture Research*. 34: 311-316.
- Jobling, M. (1993). Bioenergetics: Feed intake and energy partitioning. In: Rankin, J. F.; Jensen, F. B. Fish ecophysiology. Chapman and Hall. Great Britain.
- Johnston, I.A., Manthri, S., Alderson, R., Campbell, P., Mitchell, D., Whyte, D., Dingwall, A., Nickell, D., Selkirk, C., and Robertson, B. (2002). Effects of dietary protein level on muscle cellularity and flesh quality in Atlantic salmon with particular reference to gaping. *Aquaculture*. 210, 259-283.
- Johansson, L., Kiessling, A., Asgard, T. and Berglund, L. (1995). Effect of ratio level in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), on sensory characteristic, lipid content and fatty acid composition. *Aquaculture nutrition*. 1: 59-66.
- Kabata, Z. (1991). Copepoda parasitic on Australian fishes, XIII: family Hatschekiidae. *Journal National Histology*. 25: 91-121
- Kennedy, S. R., Campbell, P. J., Porter, A. and Tocher, D. R. (2005). Influence of dietary conjugated linoleic acid (CLA) on lipid and fatty acid composition in liver and flesh of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Comparative Biochemistry and Physiology*. 141B: 168-178.
- Keembiyehetty, C. N. and Wilson, R. P. (1998). Effect of water temperature on growth and nutrient utilization on sunshine bass (*Morone chrysops* x *Morone saxatilis*) fed diets containing different energy and protein ratios. *Aquaculture*. 166: 151-162.
- Khan, M.S., Ambak, M.A. and Mohsin, A.K.M.(1988). Food and feeding biology of a tropical freshwater catfish, *Mystus nemurus* C.&V. with reference to its functional morphology. *Indian Journal of Fisheries* 35(2): 78-84.
- Khan, M.S., Lee, P.K.Y., Crampton, J. and Zakaria-Ismail. (1996). Freshwater fishes of Pahang River basin Malaysia. Wetland International–Asia Pacific. Publication., 112: 1-82.

- Khan, M.S. (1988). Food and feeding biology of a Malaysian freshwater catfish, *Mystus nemurus* C. & V., with reference to physico-chemical parameters of its natural habitat, Chenderoh reservoir. Dalam: Huiamen, E.A., Zonneveld, N and Bouvmans, A. H. M. (ed), Aquaculture Research in Asia: Management techniques and Nutrition. Proceedings of the Asian Seminar on Aquaculture organized by IFS, Malang, Indonesia, 14-18 November 1988; pp 148-156.
- Khan, M. S., Ang, K. J., Ambak, M. A. and Saad, C.R. (1993). Optimum dietary protein requirement of a Malaysian freshwater catfish, *Mystus nemurus*. Aquaculture. 112: 227-235.
- Khan, M. S. (1994). Apparent digestibility coefficients for common feed ingredients in formulated diets for tropical catfish, *Mystus nemurus* (Cuvier & Valenciennes). Journal Aquaculture and Fish Management. 25: 167-174.
- Kim, K-D. and Lee, S-M. (2004). Requirement of dietary n-3 highly unsaturated fatty acids for juvenile flounder (*Paralichthys olivaceus*). Aquaculture. 229: 315-323.
- Kim, L. O. and Lee, S-M. (2005). Effects of the dietary protein and lipid levels on growth and body composition of bagrid catfish, *Pseudobagrus fulvidraco*. Aquaculture. 243:323-329.
- Kim, M-K. & Lovell, R. T. (1995). Effect of restricted feeding regimes on compensatory weight gain and body tissue changes in channel catfish *Ictalurus punctatus* in ponds. Aquaculture. 135: 285-293.
- Kiron, V.,H. Fukuda, T. Takeuchi, and T. Watanabe. 1995. Essential fatty acid nutrition and the defense mechanism in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Comparative Biochemistry and Physiology 111A:361-367.
- Kuz'mina, V. V. and Gelman, A. G. (1997). Membrane-linked digestion in fish. Rev. Fish Sciences. 5: 99-129.
- Kitamikado, M. dan Tachino, S. (1960). Studies on the digestive enzymes of rainbow trout. III. Esterase. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 26:691-4. Transl. Ser., Fish. Res. Bd Can (2194).
- Lall, S.P. (1991). Concepts in formulation and preparation of a complete fish diet, p. 1-12. In S.S. De Silva (ed.) Fish Nutrition research in Asia. Proceeding of the Fourth Asian Fish Nutrition Workshop. Asian Fish. Society. 5,205 p. Asian Fisheries Society, Manila, Philippines.
- Lam, S. S., Ambak, M. A., Jusoh, A. and Law, A. T. (2008). Waste excretion of marble goby (*Oxyeleotris marmoratus* Bleeker) fed with different diets. Aquaculture. 274: 49-56
- Lee, S-M., Geon, I-G. & Lee, Y-L., (2002). Effects of digestible protein and lipid in practical diets on growth, protein utilization and body composition of juvenile rockfish (*Sebastes schlegeli*). Aquaculture. 211: 227-239.
- Lee, S-M., Kim, K-D. & Lall, S. P. (2003). Utilization of glucose, maltose, dextrin and cellulose by juvenile flounder (*Paralichthys olivaceus*). Aquaculture. 221: 427-438.
- Lee, S-M., Lee, J-H. and Kim, K-D. (2003). Effect of dietary essential fatty acids on growth, body composition and blood chemistry of juvenile starry flounder (*Platichthys stellatus*). Aquaculture. 225: 269-281.
- Lee, O. K. and Sang, M. L. (2005). Effects of the dietary protein and lipid levels on growth and body composition of bagrid catfish, *Pseudobagrus fulvidraco*. Aquaculture. 243: 323-329.
- Lee, D. J. and Putnam, G. B. (1973). The response of rainbow trout to varying protein/energy ratios in a test diet. Journal of Nutrition. 103: 916-922.

- Leger, C. and Fremont, L. (1981). Fatty acid composition of lipids in trout (*Salmo gairdneri*). *Composition Biochemistry Biophysics*. 69B: 99-105.
- Leesa-Nga, S-N., Siraj, S.S, Daud, S. K., Sodsuk, P. K., Tan, S. G. and Soksuk, S. (2000). Biochemical polymorphism in yellow catfish (*Mystus nemurus*) from Thailand. *Biochemical genetics*. 38: 3-4, 77-86.
- Liang, X-F., Oku, H. and Ogata, H. Y. (2002). The effect of feeding condition and dietary lipid level on lipoprotein lipase gene expression in liver and visceral adipose tissue of red sea bream, *Pagrus major*. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 131A: 335-342.
- Lie, O. (2001). Flesh quality – the role of nutrition. *Aquaculture Research*. 32 (suppl.1) 341-348.
- Lie, O. and Lambertson, G. (1985). Digestive lipolytic enzymes in cod (*Gadus morhua*): Fatty acid specificity. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 80B(3): 447-450.
- Lie, O., Lied, E. and Lambersten, G. (1988). Feed optimization in Atlantic cod (*Gadus morhua*): fat versus protein content in feed. *Aquaculture*. 69: 331-341.
- Likimani, T. A. and Wilson, R. P. (1982) Effects of diet on lipogenic enzyme activities in channel catfish hepatic and adipose tissue. *Journal of Nutrition*. 112: 112-117.
- Lim, P.K., Boey, P.L and Ng, W.K. (2001) Dietary palm oil level affects growth performance, protein retention and tissue vitamin E concentration of African catfish, *Clarias gariepinus*. *Aquaculture*. 202, 101-112.
- Lin, C. K. and Yi, Y. (2003). Minimizing environmental impacts of freshwater aquaculture and reuse of pond effluents and mud. *Aquaculture*. 226: 57-68.
- Ling, S., Hashim, R., Kolkovski, S. and Chong, A. S. C. (2006). Effects of varying dietary lipid and protein levels on growth and reproductive performance of female swordtail (*Xiphorus helleri*, Poeciliidae). *Aquaculture Research*. 37: 1267-1275.
- Lopez, L. M., Torres, A. L., Durazo, E., Drawbridge, M. and Bureau, D. P. (2005). Effects of lipid on growth and feed utilization of white seabass (*Atractoscion nobilis*) fingerlings. *Aquaculture*. 253: 557-563.
- Lopez-Lopez, S., Nolasco, H., Villarreal-Colmenares, H. and Civera-Cerecedo, R. (2005). Digestive enzyme response to supplemental ingredients in practical diets for juvenile freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Aquaculture Nutrition*. 11; 79-85.
- Lovell, R. T. (1991). Nutrition of aquaculture species. *Journal of Animal Science*. 69: 4193-4200.
- Lovell, R. T. (1989). *Nutrition and feeding of fish*. Van Nostrand-Reinhold, New York, USA, 260 pp.
- Luizi, F. S., Gara, B., Shields, R. J. And Bromage, N. R. (1999). Further description of the development of the digestive organs in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) larvae, with notes on differential absorption of copepod and Artemia prey. *Aquaculture*. 176: 101-116.
- L'opez-Amaya, C., A.G. Marangoni, N.F. Haard and B.K. Simpson. 2001. *Lipases: Seafood Enzymes. Utilization and Influence on Postmortem Fish Quality*. NY.
- Manjappa, K., Keshavanath, P. and Gangadhara, B. (2002). Growth performances of common carp, *Cyprinus carpio* fed varying lipid levels through low protein diet, with a note on carcass composition and digestive enzyme activity. *Acta Ictiologica Et Piscatoria*. XXXII: pasc 2.

- Martino, R. C., Cyrino, J. E. P., Portz, L. and Trugo, L. C. (2005). Performance, carcass composition and nutrient utilization of surubim (*Pseudoplatystoma coruscans*) fed diets with varying carbohydrate lipid levels. *Aquaculture Nutrition*. 11: 131-137.
- Martino, R. C., Cyrino, J. E. P., Portz, L. and Trugo, L. C. (2002). Performance and fatty acid composition of surubim (*Pseudoplatystoma coruscans*) fed diets with animal and plants lipids. *Aquaculture*. 209: 233-246.
- Martins, D. A., Valente, L. M. P. & Lall, S. P. (2007). Effects of dietary lipid level on growth and lipid utilization by juvenile halibut (*Hippoglossus hippoglossus*, L.) *Aquaculture*. 263:150-158.
- Matter, F., Peganova, S. & Eder, K. (2004). Lipid concentrations on fillets, liver, plasma and lipoproteins of African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell 1822), fed diets with varying protein concentrations. *Journal Animal Physiology And Animal Nutrition*. 88:275-287.
- Mathis, N., Feidt, C. and Brun-Bellut, J. (2003) Influence of protein/energy ratio on carcass quality during the growing period of Eurasian perch (*Perca fluviatilis*). *Aquaculture*. 217: 453-464.
- Mazorra, C., Bruce, M., Bell, J. G., Davie, A., Alorend, E., Jordan, N., Rees, J., Papanikos, N. Porter, M. and Bromage, N. (2003). Dietary lipid enhancement of broodstock reproductive performance and egg and larval quality in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Aquaculture*. 227: 21-33.
- McClelland, G., Zwingelstein, G., Weber, J. M. and Brichon, G. (1995). Lipid composition of tissue and plasma in two Mediterranean fishes, the gilthead seabream (*Chrysophrys auratus*) and the European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Canada Journal of Fish Aquatic Science*. 52: 121-170
- McGoogan, B. B. and Gaitlin, D. M. (1999). Dietary manipulations affecting growth and nitrogenous waste production of red drum, *Sciaenops ocellatus*. I. Effects of dietary protein and energy levels. *Aquaculture*. 178: 333-348.
- Medale, F., Blanc, D. and Kaushik, S. J. (1991). Studies on the nutrition of Siberian sturgeon, *Acipenser baeri*. II. Utilization of dietary non-protein energy by sturgeon. *Aquaculture*. 93:143-154.
- Menoyo, D., Lopez-Bote, C. J., Diez, A., Obach, A. and Bautista, J. M. (2007). Impact of n-3 fatty acid chain length and n-3/n-6 ratio in Atlantic salmon (*Salmo salar*) diets. *Aquaculture*. 267: 248-259.
- Menoyo, D., Lopez-Bote, C. J., Bautista, J. M. and Obach, A. (2003). Growth, digestibility and fatty acid utilization in large Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed varying levels of n-3 and saturated fatty acids. *Aquaculture*. 225: 295-307.
- Merritt, C. Jr. (1970). The combination of gas chromatography with mass spectrometry. In *Applied Spectroscopy Reviews*. Vol: 3; pp 263. New York.
- Millikin, M. R. (1983). Interactive effects of dietary protein on growth and utilization of age-0 striped bass. *Transactions of American Fisheries Society* 112: 185-193.
- Milke, L. M., Bricelj, V. M. and Parrish, C. C. (2004). Growth of postlarval sea scallops, *Placopecten magellanicus*, on microalgal diets, with emphasis on the nutritional role of lipids and fatty acids. *Aquaculture*. 234: 293-317.
- Millamena, M. O. (1989). Effects of fatty acid composition of brood stock diet on tissues fatty acid patterns and egg fertilization and hatching in pond reared *Panaeus monodon*. *Asian Fisheries Science*. 2: 127-134.

- Miller, C. L., Davis, D. A. and Phelps, R. P. (2005). Effects of dietary protein and lipid on growth and body composition of juvenile and sub-adult red snapper (*Lutjanus compechanus*, Poey 1860). *Aquaculture Research*. 36: 52-60.
- Mnari, A., Bouhlel, I., Chraïef, I., Hammami, M., Rhomhane, M. S., ElCafsi, M. & Chaouch, A. (2007). Fatty acids in muscles and liver of Tunisian wild and farmed gilthead sea bream, *Sparus aurata*. *Food Chemistry*. 100: 1393-1397.
- Mohsin, A. K. M. & Ambak, M. A. (1992). Ikan air tawar di Semenanjung Malaysia. Dewan Bahasa dan Pustaka. 281pp.
- Mohsin A K M and Ambak M A. (1983). Freshwater fishes of Peninsular Malaysia. Serdang: Penerbit Universiti Pertanian Malaysia, 284 p.
- Montero, D., Robaina, L., Caballero, M. J., Gines, R. and Izquierdo, M. S. (2005). Growth, feed utilization and flesh quality of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed diets containing vegetable oils: A time-course study on the effect of a re-feeding period with a 100% fish oil diet. *Aquaculture*. 248: 121-134.
- Morais, S., Bell, J. G., Robertson, D.A., Roy, W.J. and Morris, P. C. (2001). Protein/lipid ratios in extruded diets for Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) : effects on growth, feed utilization, muscle composition and liver histology. *Aquaculture*. 203: 101-119.
- Morais, S., Koven, W., Ronnestad, I., Dinis, M. T. & Conceicao, L. E. C. (2005). Dietary protein/lipid ratio effects growth and amino acid and fatty acid absorption and metabolism in Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup 1858) larvae. *Aquaculture*. 246: 347-357.
- Morais, S., Torten, M., Nixon, O., Lutzky, S., Conceicao, L. E. C., Dinis, M. T., Tandler, A. and Koven, W. (2006). Food intake and absorption are affected by dietary lipid level and lipid source in seabream (*Sparus aurata* L.) larvae. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 331: 51-63.
- Morris, P. C., Beattie, C., Elder, B., Finlay, J., Gallimore, P., Jewison, W., Lee, D., Mackenzie, K., McKinney, R., Sinnott, R., Smart, A. & Weir, M. (2005). Application of a low oil pre-harvest diet to manipulate the composition and quality of Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Aquaculture*. 244:187-201.
- Mourente, G., Diaz-Salvago, E., Bell, J. G. and Tocher, D. R. (2002). Increased activities in hepatic antioxidant defence enzymes in juvenile gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) fed dietary oxidized oil: attenuation by dietary vitamin E. *Aquaculture*. 214: 343-361.
- Mukhopadhyay, P. K. (1977). Studies on enzymatic activities related to varied pattern of diets in the air-breathing catfish, *Clarias batrachus* (Linn.) *Hydrobiologia*. 52: 235-237.
- Nandeesh, M. C., Srikanth, G. K., Keshavanath, P. & Das, S. K. (1991). Fish nutrition research in Asia. Fisheries Society, Special Publication. No. 5, Asian Fisheries Society, Philippines. Pp 75 – 81.
- Nanton, D.A., Lall, S.P. and McNiven M.A. (2001) Effects of dietary lipid level on liver and muscle lipid deposition in juvenile haddock, *Melanogrammus aeglefinus* L. *Aquaculture Research*. 32 (suppl.1), 225-234.
- Nayak, J., Nair, P. V., Ammu, K. and Mathew, S. (2003). Lipase activity in different tissues of four species of fish: rohu (*Labeo rohita* H.), oil sardine (*Sardinella longiceps* L.), mullet (*Liza subviridis* V.) and Indian mackerel (*Rastrelliger kanagurta* C.). *J. Sci. Food Agric*. 83: 1139-1142.
- Ng, W-K., Wang, Y., Ketchimenin, P. and Yuen, K-H. (2003). Replacement of dietary fish oil with palm fatty acid distillate elevates tocopherol and tocotrienol concentrations and increases oxidative stability in the muscle of African catfish, *Clarias gariepinus*. *Aquaculture*.

- Ng, W-K., Soon, S. C. and Hashim, R. (2001). The dietary protein requirement of bagrid catfish, *Mystus nemurus* (Cuvier & Valenciennes), determined using semipurified diets of varying protein level. *Aquaculture Nutrition*. 7: 45-51.
- Ng, W-K., Tee, M-C. and Boey, P-L. (2000). Evaluation of crude palm oil and refined palm olein as dietary lipids in pelleted feeds for a tropical bagrid catfish *Mystus nemurus* (Cuvier & Valenciennes). *Aquaculture Research*. 31: 337-347.
- Nordgarden, U., Hemre, G.I. and Hansen, T. (2002). Growth and body composition of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) parr and smolt fed diets varying in protein and lipid contents. *Aquaculture*. 207, 65-78.
- Norin, M., Olsen, O., Svensen, A., Edholm, O. and Hult, K. (1993). Theoretical studies of *Rhizomucor miehei* lipase activation. *Protein Engineering*. 6: 855-863.
- NRC (National Research Council). (1973). Nutrient requirement of domestic animals II. Nutrient requirement of trout, salmo and catfish. Washington D.C. National Academy Press. 57 pp.
- NRC (National Research Council). (1993). Nutrient requirement of fish. Washington D.C. National Academy Press. 158pp.
- Nyina-wamwiza, L., Xu, X-L, Blanchard, G. and Kestemont, P. (2005). Effect of dietary protein, lipid and carbohydrate ratio on growth, feed efficiency and body composition of pikeperch *Sander lucioperca* fingerlings. *Aquaculture Research*. 36: 486-492.
- Olatunde, A. A. and Ogunbiyi, O. A. (1977). Digestive enzymes in the alimentary tracts of three tropical catfish. *Hydrobiologia*. 56(1): 21-24.
- Olsen, R. E. (1998). The influence of temperature on the apparent nutrient and fatty acid digestibility of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* L. *Aquaculture Research*. 29: 695-701.
- Owen, J. M., Adron, J. W., Middleton, C. and Cowey, C. B. (1975). Elongation and desaturation of dietary fatty acids in turbot (*Scophthalmus maximus* L.) and rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Rich. Lipids*. 10, 528-531.
- Pandian, T. J. (1989). In *Fish Nutrition Research in Asia* (ed. DeSilva, S. S.) Asian Fisheries Society, Singapore. 11 – 22.
- Panserat, S., Perrin, A. and Kaushik, S. (2002) High dietary lipids induce liver glucose-6-phosphatase Expression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) *Biochemical and Molecular Action of Nutrients*.
- Parker, R. (1995). *Aquaculture science*. United State of America: Tim O’Lear. Pp 240.
- Patton, J.S., T.G. Warner and A.A. Benson. 1977. Partial characterization of the bile saltdependent triacylglycerols lipase from the leopard shark pancreas. *Biochim. Biophys. Acta*. 486: 322-30.
- Pei, Z., Xie, S., Lei, W., Zhu, X. & Yang, Y. (2004). Comparative study on the effect of dietary level on growth and feed utilization for gibel carp (*Carassius auratus gibelio*) and Chinese longsnout catfish (*Leiocassis longirostris* Gunther). *Aquaculture Nutrition*. 10:209-216.
- Peres, H. & Olivia-Teles, A. (1999). Effect of dietary lipid level on growth performance and feed utilization by European seabass juveniles (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*. 179: 325-334.

- Perez, L., Gonzalez, H., Jover, M. and Fernandez-Carmona, J. (1997). Growth of European sea bass fingerlings (*Dicentrarchus labrax*) fed extruded diets containing varying levels of protein, lipid and carbohydrate. *Aquaculture*. 156: 183-193.
- Pirini, M., Gatta, P. P., Testi, S., Trigari G. and Monetti, P. G. (2000). Effect of refrigerated storage on muscle lipid quality of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed on diets containing different levels of vitamin E. *Food Chemistry*. 68: 289-293.
- Portz, L., Cyrino, J. E. P. and Mortino, R. C. (2001). Growth and body composition of juvenile largemouth bass, *Micropterus salmoides* in response to dietary protein and energy levels. *Aquaculture nutrition*. 7: 247-254.
- Ramirez, R. F. and Dixon, B. A. (2003). Enzyme production by obligate intestinal anaerobic bacteria isolated from Oscars (*Astronotus ocellatus*), angelfish (*Pterophyllum scalare*) and southern flounder (*Paralichthys lethostigma*). *Aquaculture*. 227: 417-426.
- Rasmussen, R. S., Ostefeld, T. H., Ronsholdt, B. and McLean, E. (2000). Manipulation of end product quality in rainbow trout with finishing feeds. *Aquaculture Nutrition*. 6:17-23
- Rasoarahona, J. R. E., Barnathan, G., Bianchini, J-P. and Gaydou, E. M. (2005). Influence of season on lipid content and fatty acid profiles of three tilapia species (*Oreochromis niloticus*, *O. macrochir* and *Tilapia rendalli*) from Madagascar. *Food Chemistry*. 91: 683-694.
- Refstie, S., Storebakken, T., Beverfjord, G. dan Roem, A. J. (2001). Long-term protein and lipid growth of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets with partial replacement of fishmeal by soy protein products at medium or high lipid level. *Aquaculture*. 193: 91-106.
- Regost, C., Arzel, J., Robin, J, Roselund, G., and Kaushik, S. J. (2003) Total replacement of fish oil by soybean or linseed oil with a return to fish oil in turbot (*Psetta maxima*) 1. Growth performance, flesh fatty acid profile and lipid metabolism. *Aquaculture*. 217: 465-482.
- Rey, A. I., Lopez-Bote, C. J., Kerry, J. P., Lynch, P. B., Buckley, D. J. and Morissey, P.A. (2004). Modification of lipid composition and oxidation in porcine muscle and muscle microsomes as affected by dietary supplementation of n-3 with either n-9 or n-6 fatty acids and α -tocopheryl acetate. *Animal feed Science and Technology*. 113: 223-238.
- Rilfors, L. and Lindblom, G. (2002). Regulation of lipid composition in biological membranes - biophysical studies of lipid and lipid synthesizing enzymes. *Colloids and Surfaces*. B 26: 112-124.
- Rinchar, J., Czesny, S. and Dabrowski, K. (2007). Influence of lipid class and fatty acid deficiency on survival, growth and fatty acid composition in rainbow trout juveniles. *Aquaculture*. 264: 363-371.
- Ringo, E. (1991). Hatchery-reared landlocked Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.), from Lake Takvatn reared in fresh and sea water. II the effect on salinity on the digestibility of protein, lipid and individual fatty acids in a capelin roe diet ad commercial feed. *Aquaculture*. 93: 135-142.
- Robaina, L., Izquierdo, M. S., Moyano, F. J., Socorro, J., Vergara, J. M. and Montero, D. (1998). Increase of the dietary n-3/n-6 fatty acid ratio and addition of phosphorus improves liver histological alterations induced by feeding diets containing soybean meal to gilthead seabream, *Sparus aurata*. *Aquaculture*. 161: 281-293.
- Robin, J. H., Regost, C., Arzel, J. and Kaushik, S. J. (2003). Fatty acid profile of fish following a change in dietary fatty acid source: model of fatty acid composition with a dilution hypothesis. *Aquaculture*. 225: 283-293.

- Rodriguez, C., Acosta, C., Badia, P., Cejas, J. R., Samantaria, F. J. & Lorenzo, A. (2004). Assessment of lipid and essential fatty acids requirements of black seabream (*Spondiliosoma cantharus*) by comparison of lipid composition in muscle and liver of wild and captive adult fish. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 139B: 619-629.
- Rodriguez, C., Perez, J. A., Diaz, M., Izquierdo, M. S., Fernandez-Palacios, H. and Lorenzo, A. (1997). Influence of the EPA/DHA ratio in rotifers on gilthead seabream (*Sparus aurata*) larval development. *Aquaculture*. 150: 77-89.
- Rodriguez, C., Perez, J. A., Izquierdo, M. S., Mora, J., Lorenzo, A. and Fernandez-Palacios, H. (1993). Essential fatty acid requirement of larval gilthead seabream (*Sparus aurata* L). *Aquaculture Fisheries Management*. 24: 295-304.
- Rollin, X., Peng, J., Pham, D., Ackman, R. G. and Larondelle, Y. (2003). The effects of dietary lipid and strain difference on polyunsaturated fatty acid composition and conversion in anadromous and landlocked salmon (*Salmo salar* L.) parr. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 134B: 349-366.
- Rozin, P. and Mayer, J. (1961). Regulation of food intake in goldfish. *American Journal of Physiology*. 201: 968-974.
- Rued-Jasso, R., Conceicao, L. E. C., Dias, J., De Coen, W., Gomes, E., Rees, J. F., Soares, F., Dinis, M. T. and Sorgeloos, P. (2004). Effect of dietary non-protein energy levels on condition and oxidative status of Senegalese sole (*Solea senegalensis*) juveniles. *Aquaculture*. 231: 417-433.
- Ruohinen, K., Koskela, J., Vielma, J. and Kettunen, J. (2003). Optimal diet composition for European whitefish (*Coregonus lavaretus*): analysis of growth and nutrient utilisation in mixture model trials. *Aquaculture*. 225: 27-39.
- Ruyet, J. P-L., Mahe, K., Le Bayon, N. and Le Delliou, H. (2004). Effects of temperature on growth and metabolism in a Mediterranean population of European sea bass, (*Dicentrachus labrax*). *Aquaculture*. 237: 269-280.
- Ruyet, J. P-L., Skalli, A., Dulau, B., Le Bayon, N., Le Delliou, H. & Robin, J. H. (2004). Does dietary n-3 highly unsaturated fatty acids level influence the European sea bass (*Dicentrachus labrax*) capacity to adapt to a high temperature? *Aquaculture*. 242: 571-588.
- Ruyter, B., Rosjo, O., Einen, O. and Thomassen, M. S. (2000). Essential fatty acids in Atlantic salmon: time course of changes in fatty acid composition of liver, blood and carcass induced by a diet deficient in n-3 and n-6 fatty acids. *Aquaculture Nutrition*. 6: 109-117.
- Salhi, M., Bessonart, M., Chediak, G., Bellagamba, M. and Carnevia, D. (2004). Growth, feed utilization and body composition of black catfish, *Rhamdia quelen*, fry fed diets containing different protein and energy levels. *Aquaculture*. 231: 435-444.
- Salhi, M., Hernandez-cruz, C. M., Bessonart, M., Izquierdo, M. S. and Fernandez-Palacios, H. (1999). Effect of different dietary polar lipid levels and different n-3 HUFA content in polar lipids on gut and liver histological structure of gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae. *Aquaculture*. 179: 253-263.
- Santiago, C. B. and Reyes, O. S. (1993). Effects of dietary lipid source on reproductive performance and tissue lipid levels of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L) brood stock. *Journal of Applied Ichthyology*. 9: 33-40.
- Sargent, J., McEvoy, L., Estevez, A., Bell, G., Bell, M., Henderson, J. & Tocher, D. (1999). Lipid nutrition of marine fish during early development: current status and future directions. *Aquaculture*. 179: 217-229.

- Satinha, P. J. M., Medale, F., Corraze, G. and Gomes, E. F. S. (1999). Effects of protein : lipid ratio on growth and nutrient utilization in gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) Aquaculture nutrition. 5: 147-156.
- Satpathy, B. B., Mukherjee, D. and Ray, A. K. (2003). Effects of dietary protein and lipid levels on growth, feed conversion and body composition of rohu (*Labeo rohita*, Hamilton) fingerlings. Aquaculture nutrition. 9: 17-24.
- Schulz, C., Knaus, U., Wirth, M. & Rennert, B. (2005). Effects of varying fatty acid profile on growth performance, fatty acid, body and tissue composition of juvenile pike perch (*Sander lucioperca*). Aquaculture Nutrition. 11:403-413.
- Seenapa, D. and Devaraj, K. V. (1995). Effect of different levels of protein, fat and carbohydrate on growth, feed utilization and body carcass composition in *Catla catla* (Ham.). Aquaculture. 129: 243-249.
- Segner, H., Lenz, D., Hamke, W. and Shuurmaann, G. (1994). Cytotoxicity of metals towards rainbow trout R1 cell line. Environment Toxicology Water Quality. 9: 273-279.
- Shahidi, F. (1991). Flavor of meat, meat products and seafoods. 2nd Ed. Blackie Academic & Professional, London, UK.
- Shamsudin, L. (1992). Akuakultur pinggir laut. Dewan Bahasa dan Pustaka, Kuala Lumpur. Pp. 1-2, 128-144, 364-366.
- Sheen, S. S. and D'Abramo, L. R. (1991). Rspnse of juvenile prawn, *Macrobrachium rosenbergii*, to different levels of a cod liver oil/corn oil mixture in semi-purified diet. Aquaculture. 93: 121-134.
- Shearer, K. and Swanson, P. (2000). The effect of whole body lipid on early sexual maturation of 1+ age male Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). Aquaculture. 190: 343-367.
- Shearer, K., Parkins, P., Gadberry, B., Beckman, B. and Swanson, P. (2006). Effects of growth rate/body size and a low lipid diet on the incidence of early sexual maturation in juvenile male spring Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). Aquaculture. 236: 377-390.
- Sheng, H. Q. and He, X. Q. (1994). Effects of dietary animal and plant protein ratios and energy levels on growth and body composition of bream (*Melagobrama skolkovii*) fingerlings. Aquaculture.127: 189-196.
- Shiau, S-Y. and Lan, C-W. (1996). Optimum dietary protein to energy ratio for growth of grouper (*Epinephelus malabaricus*). Aquaculture. 145: 259-266.
- Shiau, S. Y. and Lin, S.F. (1993). Effect of supplemental dietary chromium oxide and vanadium on the utilization of different carbohydrates in tilapia, *Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*. Aquaculture. 110: 321-330.
- Skalli, A., Hidalgo, M.C., Abellan, E., Arizcun, M. and Cardenete, G. (2004). Effects of dietary protein/lipid ratio on growth and nutrient utilization in common dentex (*Dentex dentex* L.) at different growth stages. Aquaculture. 235: 1-11.
- Skibsted, L. H., Mikkelsen, A. and Bertelsen, G. (1998). Lipid-derived off flavours in meat. In: Flavor of Meat, Meat Products and Seafoods. 2sd edition. (Shahidi, F., Ed.). Blackie Academic & Profesional, London, UK.

- Sklan, D., Prag, T. and Lupatsch, I. (2004). Structure and function of the small intestine of the tilapia *Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus* (Teleostei, Cichlidae). *Aquaculture Research*. 35, 350-375.
- Smith, D. M., Hunter, B. J., Allan, G. L., Roberts, D. C. K., Booth, M. A. and Glencross, B. D. (2003). Essential Fatty Acids in the diet of Silver Perch (*Bidyanus bidyanus*): effects of linolenic and linoleic acid on growth and survival. *Aquaculture*.
- Steffens, W. (1989). *Principle of fish nutrition*: John Wiley and Sons, New York.
- Stickney, R. (1997). Off shore mariculture. In J. E. Bardach ed. *Sustainable aquaculture*. John Wiley and Sons, New York. 53-86.
- Stickney, R. R. (1994). *Principles of Aquaculture*, 3rd edition. New York: John Wiley and Sons Incorporation. 479 pp.
- Stickney, R. R. and Andrews, J. W. (1994). Combined effects of dietary lipids and environmental temperature on growth, metabolism and body composition of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *J. Nutrition*. 101: 1703-1710.
- Suárez, M.D., Hidalgo, M.C., Garcia Gallego, M., Sanz, A., De la Higuera, M. (1995) Influence of the relative proportions of energy yielding nutrients on liver intermediary metabolism of the European eel. *Comparative Biochemistry .Physiology*. 111 (3): 421-428.
- Subhadra, B., Lochmann, R., Rawles, S. and Chen, R. (2006). Effect of dietary lipid source on growth, tissue composition and hematological parameters of largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Aquaculture*. 255: 210-222.
- Svobodova, Z., Lloyd, R. Máchová, J. and Vykusová, B. (1993). Water quality and fish health. EIFAC Technical paper. 54: 1-57.
- Sweilum, M. A., Abdella, M. M. & Salah El-Din, S. A. (2005). Effects of dietary protein-energy levels and fish initial sizes on growth rate, development and production of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture Research*. 36: 1414-1421.
- Takeuchi, T., Satoh, S. and Watanabe, T. (1983). Requirement of *Tilapia nilotica* for essential fatty acids. *Bulletin Japan Society Science Fish*. 49: 1127-1134.
- Takukawa, F., Fukada, H., Hosokawa, H. and Masumoto, T. (2006). Optimum digestible protein and energy levels and ratio for greater amberjack (*Seriola dumerili*, Riso) fingerling. *Aquaculture Research*. 37: 1532-1539.
- Tantikitti, C. and Chimsung, N. (2001). Dietary lysine requirement of freshwater catfish (*Mystus nemurus* Cul. & Val.). *Aquaculture Research*. 32(S1): 135-141.
- Tengjaroenkul, B., Smith, B. J., Smith, S. A., and Chatreewonsin, U. (2002). Ontogenic development of the intestinal enzymes of cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture*. 211: 241-251.
- Throngrod, S., Takeuchi, T., Satoh, S. and Watanabe, T. (1990). Requirement of Yamame *Oncorhynchus masou* for essential fatty acids. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 56(8): 1255-1262
- Tocher, D. R., Fonseca-Madrigal, J., Dick, J. R., Ng, W-K., Bell, J. G. and Campbell, P. J. (2004). Effects of water temperature and diets containing palm oil on fatty acid desaturation and oxidation in hepatocytes and intestinal enterocytes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Biochemistry and Physiology*. 137: 49-63.

- Tocher, D. R., Bell, J. G., MacGlaughlin, P., McGhee, F. and Dick, J. R. (2001). Hepatocyte fatty acid desaturation and polyunsaturated fatty acid composition of liver in salmonids: effects of dietary vegetable oil. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 130B: 257-270.
- Toussaint, C., Fuconneau, B., Medale, F., Collewet, G., Akoka, S., Haffray, P. & Davenel, A. (2005). Description of the heterogeneity of lipid distribution in the flesh of brown trout (*Salmo trutta*) by MR imaging. *Aquaculture*. 243: 255-267.
- Train, R. E. (1979). Quality criteria for water. Castle House Publication Ltd.
- Tranulis, M. A., Christopherson, B., Blom, A. K. and Borrebaek, B. (1991). Glucose dehydrogenase, glucose-6-phosphate dehydrogenase and hexokinase in liver of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Effects of starvation and temperature variations. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 99B: 687-691.
- Tuncer, H. and Harrell, R. M. (1992). Essential fatty acid nutrition of larval striped bass (*Morone saxatilis*) and palmetto bass (*M. saxatilis* x *M. chrysops*). *Aquaculture*. 101: 105-121.
- Tung, P. H., and Shiau, S.Y. (1991). Effects of meal frequency on growth performances of hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*, fed different carbohydrate diets. *Aquaculture*. 92: 343-350.
- Turchini, G. M., Francis, D. S. and De Silva, S. S. (2006). Fatty acid metabolism in the freshwater fish Murray cod (*Maccullochella peelii peelii*) deduced by the whole-body fatty acid balance method. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 144B: 110-118.
- Twibell, R. G. and Wilson, R. P. (2003). Effects of dietary conjugated linoleic acids and total dietary lipid concentrations on growth responses of juvenile channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture*. 221: 621-628.
- Usman, Rachmansyah, Laining, A., Ahmad, T. and Williams, K. C. (2005). Optimum dietary protein and lipid specifications for grow-out of humpback grouper *Cromileptes altivelis* (Valenciennes). *Aquaculture Research*. 36: 1285-1292.
- Van der Meer, M. B., Zamora, J. E. and Verdegem, M. C. J. (1997). Effect of dietary lipid level on protein utilization and body composition of *Colossoma macropomum* (Cuvier). *Aquaculture Research*. 28:405-417.
- Venou, B., Alexis, M. N., Fountoulaki, E and Haralabous, J. (2006). Effects of extrusion and inclusion level of soyabean meal on diet digestibility, performance and nutrient utilization of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, 261:343-356.
- Vergara, J. M., Lopez-Calero, G., Robaina, L., Caballero, M. J., Montero, D., Izquierdo, M.S. and Aksnes, A. (1999). Growth, feed utilization and body lipid content of gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed increasing lipid levels and fishmeals of different quality. *Aquaculture*. 179: 35-44.
- Vergara, J. M., Robaina, L., Izquierdo, M. & DeLaHiguera, M. (1996b). Protein sparing effects of lipids in diets for fingerlings of gilthead seabream. *Fisheries Science*. 62: 624-628.
- Visentainer, J. V., Souza, N. E., Matsushita, M., Hayashi, C. and Franco, M. R. B. (2005). Influence of diets enriched with flaxseed oil on the α -linolenic, eicosapentaenoic and docosahexaenoic fatty acid in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Food chemistry*. 90(4): 557-560.
- Walton, M.J., Cowey, C.B. (1982). Aspects of intermediary metabolism in salmonid fish. *Comparative Biochemistry Physiology*. 73B(1) :59-79.

- Wang, Y., Guo, J-L., Li, K. and Bureau, D. P. (2006). Effects of dietary protein and energy levels on growth, feed utilization and body composition of cuneate drum (*Nibea miichthioides*). *Aquaculture*. 252: 421-428.
- Wang, J-T., Liu, Y-J., Tian, L-X., Mai, K-S., Du, Z-Y., Wang, Y. and Yang, H-J. (2005). Effect of dietary lipid level on growth performance, lipid deposition, hepatic lipogenesis in juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture*. 249: 439-447.
- Ward, L. R., Carter, C. G., Crear, B. J. and Smith, D. M. (2003). Optimal dietary protein level for juvenile southern rock lobster, *Jasus edwardsii*, at two lipid level. *Aquaculture*. 217: 483-500.
- Watanabe, T., Takeuchi, T., Satoh, S., Ida, T. and Yaguchi, M. 1987. Development of low protein-high energy diets for practical carp culture with special reference to reduction of total nitrogen excretion. *Nippon Suis Gakk* 53 (8): 1413-1423.
- Watanabe, T. (1982). Lipid nutrition in fish.
- Weatherly, A. H. & Gill, H. (1987). The biology of fish growth. Academic Press Limited, San Diego. 443pp.
- Weatherup, R. N., McCracken, K. J., Foy, R., Rice, D., McKendry, J., Mairs, R. J. dan Hoey, R. (1997). The effects of dietary fat content on performance and body composition of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*. 151: 173-184.
- Williams, J. E. (2000). The coefficient of condition of Fish. Chapter 13 In: Schneider, J. C. (edition) (2000). Manual of fisheries survey methods II: with periodic updates. Michigan Department of Natural Resources, Fisheries Special Report 25, Ann Arbor.
- Wilson, R. P. (1994). Utilization of dietary carbohydrate by fish (review). *Aquaculture*. 124: 67-80.
- Wilson, R. P. (1991). Handbook of nutrient requirement of finfish. CRC Press, Inc, U.S.
- Wilson, R. P. and Poe, W. E. (1985). Relationship of whole body and egg essential amino acid pattern to amino acid requirement in channel catfish. *Ictalurus punctatus*. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 80B: 385-388.
- Winfree, R. A. and Stickney, R. R. (1981). Effect of dietary protein and energy on growth, feed conversion efficiency and body composition of *Tilapia aurea*. *Journal of nutrition*. 111: 1001-1012.
- Xu, X., Ji, W., Castell, J. D. and O'dor, R. (1993). The nutritional value of dietary n-3 and n-6 fatty acids for the Chinese prawn (*Panaeus chinensis*). *Aquaculture*. 118: 277-285.
- Yamamoto, T., Unuma, T. and Akiyama, T. (2000). The influence of dietary protein and fat levels on tissue free amino acid levels of fingerling rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*. 182: 353-372.
- Yamamoto, T., Konishi, K., Shima, T. and Furuita, H. (2001) Influence of dietary fat and carbohydrate levels on growth and body composition of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* under self-feeding conditions. *Fisheries Science*. 67:221-227.
- Yang, S. D., Liou, C. H. and Lui, F. G. (2002). Effects of dietary protein level on growth performance, carcass composition and ammonia excretion in silver perch (*Bidyanus bidyanus*). *Aquaculture*. 231:363-372.
- Yigit, M., Yardim, O. and Koshio, S. (2002). The protein sparing effects of high lipid levels in diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, W. 1792) with special reference to reduction of total nitrogen excretion. *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh* 54(2): 79-88.

- Yone, Y. (1982). Essential fatty acids and nutritive value of dietary lipids for marine fish. In: Melteff, B. R. and Neve, R. A. (eds) Proceedings, North Pacific Aquaculture Symposium, Alaska Sea Grant Programme. University of Alaska. Fairbanks, Alaska. 251-259.
- Yu, T.C. and Sinnhuber, R. O. (1979). Effect of dietary n-3 and n-6 fatty acids on growth and feed conversion efficiency of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). Aquaculture. 16: 31-38.
- Zaitseva, E. A., Chukhrai, E. S. and Poltorak, O. M. (2000). Stabilisation mechanism of glucose-6-phosphate dehydrogenase. Biocatalysis. 127-129.
- Zheng, X., Tocher, D. R., Dickson, C. A., Bell, J. G. and Teale, A. J. (2004). Effects of diets containing vegetable oil on expression of genes involved in highly unsaturated fatty acid biosynthesis in liver of Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquaculture. 236: 467-483.
- Zheng, X., Torstensen, B. E., Tocher, D. R., Dick, J. R., Henderson, R. J. And Bell, J. G. (2005). Environmental and dietary influences on highly unsaturated fatty acid biosynthesis and expression of fatty acyl desaturase and elongase genes in liver of Atlantic salmon (*Salmo salar*). Biochimica et Biophysica Acta. 1734: 13-24.
- Zuraini, A., Somchit, M. N., Solihah, M. H., Goh, Y. M., Arifah, A. K., Zakaria, M. S., Somchit, N., Rajion, M. A., Zakaria, Z. A. and Mat Jais, A. M. (2006). Fatty acid and amino acid composition of three local Malaysian *Channa* spp. Fish. Food Chemistry. 97: 674-678.

LAMPIRAN A

Kaedah Analisis Proksimat (AOAC, 1997)

A. Penentuan Kelembapan

1. Ketuhar dipanaskan sehingga mencapai suhu 130°C.
2. Kepingan aluminium berlabel ditimbang.
3. Lebih kurang 3g hingga 5g sampel ditimbangkan ke dalam kepingan aluminium dan sampel tersebut disebarkan secara sama rata di dalam bekas aluminium tersebut.
4. Sampel diletakkan di dalam ketuhar sehingga berat sampel kering menjadi malar.
5. Sample kering diletakkan di dalam desikator untuk menyejuk sebelum ditimbang semula.
6. Sampel kering ini disimpan dan akan digunakan untuk menentukan kandungan protein kasar dan lemak kasar.
7. Peratusan kelembapan sample dihitung sebagai peratus perbezaan berat antara sampel sebelum dipanas dengan sampel selepas dipanaskan di dalam ketuhar.

B. Penentuan Abu

1. Mangkuk pijar bersih dikeringkan di dalam ketuhar pada suhu 100°C selama 1 jam.
2. Mangkuk pijar dikeluarkan dari ketuhar dan disejukan dalam desikator sebelum ditimbang.
3. Lebih kurang 0.2 g sampel dimasukkan ke dalam mangkuk pijar.
4. Mangkuk pijar dimasukkan ke dalam relau mufel pada suhu 550°C selama 5 jam.
5. Mangkuk pijar dipindahkan ke dalam desikator dan ditimbang apabila sejuk.
6. Kandungan abu (berdasarkan % jirim kering) dihitung sebagai:

$$\% \text{ abu} = \frac{(\text{berat mangkuk pijar} + \text{abu}) - (\text{berat mangkuk pijar})}{\text{Berat sampel kering}} \times 100$$

C. Penentuan Kandungan Protein Kasar

Radas: Unit penghadaman Kjeldahl, unit penyulingan Kjeldahl, tiub Kjeldahl, pipet, kelalang kon, silinder penyukat, buret.

Bahan: Asid sulfurik pekat (93 – 96%; Sp. G. 1.84), katalis penghadaman (100 g kalium sulfat kontang + 10 g kuprum sulfat pentahidrat + 1 g selenium), 40% natrium hidroksida, 4% asid boric, 0.1 N asid hidroklorik, penunjuk campuran (0.125 g metal merah + 0.0825 g metilena biru dalam 100 ml 95% etanol).

I. Penghadaman Protein

1. 0.1 – 0.5 g sampel yang homogenus dan halus ditimbang dan dipindahkan ke dalam Kjeldahl 100 ml
2. 2 g katalis ditambahkan diikuti dengan 5 ml asid sulfurik cair pekat. Tiub Kjeldahl diputar supaya katalis dan sampel dapat bercampur dengan asid.
3. Blok penghadaman Kjeldahl dipasang dan suhu dibiarkan naik sehingga 420°C.

4. Rak yang mengandung 12 tiub Kjeldahl diletakkan ke dalam blok penghadaman dan system pembuangan gas dipasangkan dengan kadar aliran air yang tinggi.
5. Aliran air dikurangkan selepas 5 minit, apabila asap putih berasid yang toksik berkurangan.
6. Larutan terus dihadamkan sehingga larutan menjadi jernih dan berwarna hijau. Tempoh penghadaman bergantung kepada jenis sampel tetapi sampel harus dibiarkan untuk dihadamkan selama 30 minit selepas menjadi jernih. Seluruh proses penghadaman biasanya mengambil masa 60 minit.
7. Suis pemanas dan air dipadamkan. Rak dengan tiub Kjeldahl dikeluarkan dan dibiarkan sejuk selama 10 – 15 minit dalam kebuk wasap.
8. 30 ml air suling ditambahkan ke dalam tiub yang mengandungi larutan hadaman protein yang masih hangat.
9. Tiub Kjeldahl dibiarkan sejuk dan diolakkan dengan perlahan-lahan supaya larutan asid itu bercampur dengan air suling dengan rata.

II. Penyulingan

1. Unit penyulingan Kjeldahl dipasangkan.
2. Kelalang kon yang mengandungi 25 ml asid borik dan 3 – 4 titik penunjuk campuran disediakan.
3. Kelalang kon diletakkan di hujung salur pengutip dan tiub Kjeldahl yang mengandungi larutan hadaman dipasangkan kepada unit penyulingan.
4. Proses penyulingan ditetapkan pada SAFE mode dengan 20 ml NaOH dan mase penyulingan selama 4 minit.

III. Penitratan

1. Hasil penyulingan dititratkan dengan 0.1 N asid hidroklorik sehingga larutan terhasil berubah dari warna hijau ke warna biru – kelabu.
2. Isipadu 0.1 N asid hidroklorik yang diperlukan untuk memberi perubahan warna dicatatkan.
3. Kandungan nitrogen (N) (berdasarkan % jirim kering) dihitung sebagai:

$$\% N = \frac{\text{Isipadu HCl yang digunakan} \times 0.1 \times 1.4}{\text{Berat sampel (g)} \times (\% \text{ jirim kering} / 100)}$$
4. Kandungan protein kasar (berdasarkan % jirim kering) dihitung sebagai:

$$\% \text{ protein} = \% N \text{ (berdasarkan \% jirim kering)} \times 6.25$$

D. Penentuan Kandungan Lemak Kasar

Radas: Alat penghomogenat, tabung uji besar, corong Buchner, kertas turas (Whatman #1), corong pemisah, bikar.

Bahan: Metanil gred analar, kloroform gred analar, air suling, pelarut A (koroform : methanol dalam nisbah 2:1)

1. Lebih kurang 1 g sampel kering ditimbang dengan tepat dan dimasukkan ke dalam bikar. Sampel mestilah kering supaya pelarut boleh menembusi sampel dengan keseluruhan (untuk tisu otot – ikan yang basah, tisu tersebut dicincang

- menjadi kepingan dan lipid diekstrak dengan menggunakan alat penghomogenat polytron tanpa perlu dikeringkan terlebih dahulu)
2. Sampel dihomogenatkan selama lebih kurang 2 minit di dalam 20 ml pelarut A.
 3. Sampel terhomogenat diturunkan dengan menggunakan corong Buchner dan kertas turas Whatman quantitative #1.
 4. Alat penghomogenat dibilas dengan 10 ml larutan pelarut A dan larutan ini diturunkan ke dalam corong Buchner yang sama.
 5. Corong Buchner dibilas dengan 20 ml larutan pelarut A supaya tidak ada lemak yang melekat pada dinding corong.
 6. Hasil turasan dipindahkan ke dalam corong pemisah.
 7. 10 ml air suling ditambah ke dalam corong pemisah.
 8. Mulut corong ditutup dan corong digoncang selama 1 minit untuk memecahkan emulsi.
 9. Corong dibiarkan semalaman untuk membenarkan pengasingan dua lapisan akues dan organik. Lapisan atas adalah campuran air dan metanol manakala lapisan bawah adalah campuran lemak dan kloroform.
 10. Lapisan bawah diasingkan dari corong pemisah ke dalam bikar.
 11. Ekstrak lemak dikeringkan di dalam ketuhar pada suhu 60°C. Berat kering bikar mestilah diketahui terlebih dahulu.
 12. Apabila semua pelarut telah tersejat, bikar dibiarkan sejuk di dalam desikator dan ditimbang.
 13. Kandungan lemak kasar (berdasarkan % jirim kering) dihitung sebagai:

$$\% \text{ lemak kasar} = \frac{(\text{berat bikar} + \text{lipid}) - (\text{berat bikar})}{\text{Berat sampel kering}} \times 100$$
 14. Kandungan lemak kasar (sampel asal) dihitung sebagai:

$$\% \text{ lemak kasar} = \% \text{ lemak kasar (berdasarkan \% jirim kering)} \times (\% \text{ jirim kering})$$

E. Penentuan Kandungan Serat Kasar

Radas: Alat penentuan serat kasar, neraca analisis, relau mufel, mangkuk pijar, ketuhar.

Bahan: Sampel nyahlemak, asid sulfurik 0.25 N (7.0 ml asid sulfurik pekat dalam setiap 1 L jumlah air suling), asid hidroklorik (10 ml asid hidroklorik pekat dalam setiap 1 L jumlah air suling). Natrium hidroksida 0.313 N (6.26 g pekat dalam setiap 1 L air suling), spirit bermetil, air suling panas.

1. Lebih kurang 2 g sampel kering yang telah dinyahlemak ditimbang dengan jitu. Kertas turas tidak berabu dan mangkuk pijar yang akan digunakan juga ditimbang.
2. Sampel dimasukkan ke dalam bikar lanjang yang bersaiz 800 ml dimasukkan.
3. 200 ml asid sulfurik panas ditambahkan dan bikar diletakkan di bawah condenser dan dipanaskan hingga mendidih dalam masa 1 minit (Larutan sepatut mendidih dengan cepat).
4. Larutan direfluks selama 30 minit (larutan mendidih dengan perlahan). Air suling panas digunakan untuk membilas zarah-zarah sampel yang melekat di tepi bikar semasa proses ini (sekiranya perlu). Larutan dibiarkan sejuk seketika.

5. Larutan dituras dengan menggunakan kertas Whatman No. 541 (kertas turas ini tidak perlu ditimbang) ke dalam corong Buchner dan bikar serta sisa dibilas dengan menggunakan air suling mendidih.
6. Sisa tersebut dipindahkan balik ke bikar asal dan 200 ml larutan natrium hidroksida panas ditambahkan.
7. Bikar diletakkan di bawah kondenser dan larutan dipanaskan sehingga mendidih dalam jangka masa 1 minit. Larutan dibiarkan mendidih (refluks) secara perlahan-lahan selama 30 minit.
8. Larutan dituras dengan menggunakan kertas Whatman No. 541 tidak berabu yang telah ditimbang.
9. Sisa dibilas dengan menggunakan air suling mendidih, 1% asid hidroklorik dan diikuti dengan air mendidih sekali lagi untuk menyingkirkan asid.
10. Akhirnya, sisa dicuci dan tepi corong turas dibilas dengan spirit bermetil.
11. Kertas turas yang mengandungi sisa sampel dipindahkan ke dalam mangkuk pijar.
12. Mangkuk pijar yang mengandungi kertas turas dikeringkan di dalam ketuhar pada 100°C sehingga beratnya malar (semalaman).
13. Apabila sejuk, mangkuk pijar dan kandungannya ditimbang.
14. Mangkuk pijar tersebut dibakar di dalam relau mufel pada suhu 550°C untuk 5 jam atau sehingga tiada zarah hitam.
15. Mangkuk pijar dipindahkan ke desikator dan ditimbang apabila sejuk.
16. Kandungan serat kasar (berdasarkan % jirim kering) dihitung sebagai:

$$\% \text{ serat kasar} = \frac{[(c) - (b) - (d)] \times (e) \times 100\%}{x \% \text{ jirim kering}}$$

di mana

- (a) = berat sampel kering dan nyahlemak (g)
- (b) = berat kertas turas tidak berabu (g)
- (c) = berat mangkuk pijar + kertas turas tak berabu + sisa sampel kering (g)
- (d) = berat mangkuk pijar + abu (g)
- (e) = 100 – (% lembapan) – (% lemak kasar sampel asal)

LAMPIRAN B

Pengekstrakan Lipid Daripada Diet Eksperimen dan Tisu Otot untuk Analisis GC (Bligh & Dyer, 1959).

Radas: Tabung uji, alat homogenate polyton, corong Buchner, kertas turas (Whatman #1), corong pemisah, kelalang tapak bulat, penyejat berputar bervakum, tiub kaca.

Bahan: Pelarut A (kloroform : metanol, 2:1), air suling, gas nitrogen.

1. Lebih kurang 10 g sample ditimbang dan dimasukkan ke dalam tabung uji besar (tisu otot mesti dicincang dengan halus dan homogen sebelum dihomogenat).
2. 50 ml pelarut dimasukkan ke dalam tabung uji dan sample dihomogenat dengan menggunakan alat homogenate polytron selama 2 minit.
3. Sampel terhomogenat dituras dengan menggunakan corong Buchner dan kertas turas Whatman kualitatif #1.
4. Sisa sample yang tertinggal di atas kertas turas dipindahkan semula ke dalam tabung uji asal.
5. Langkah 2 dan 3 diulangi sebanyak 2 kali lagi dn 50 ml pelarut untuk memastikan kesemua lipid telah diekstrak.
6. Kesemua hasil turasan (50 + 50 + 50ml) dipindahkan ke dalam corong pemisah dan 30 ml air suling ditambahkan.
7. Mulut corong ditutup dan digoncangkan selama 1 minit untuk memecahkan emulsi.
8. Corong dibiarkan untuk membenarkan pengasingan 2 lapisan akues dan organic. Lapisan atas adalah campuran air dan methanol manakala lapisan bawah adalah campuran kloroform da lemak.
9. Apabila 2 lapisan akues dan organic jelas kelihatan, lapisan bawah diasingkan ke dalam kelalang tapak bulat.
10. Kelalang tapak bulat dengan ekstrak kloroform disambungkan kepada penyejat berputar bervakum dan disejat sehingga 1 ml ekstrak tertinggal.
11. Ekstrak kloroform yang tertinggal dipindahkan ke dalam tiub kaca dan disejat dengan tiupan gas nitrogen sehingga kering.
12. Apabila kesemua pelarut telah tersejat, tiub kaca dengan kandungan lipid kering ditimbang dan disimpan dalam peti sejuk sehingga pengesteran dilakukan.
13. Berat sample (g) = (berat tabung uji + sample) – (berat tabung uji)

Pengesteran dengan Reagen Boron Triflorida (BF₃) bermetanol.
Kaedah saponifikasi – esterifikasi (AOAC, 1990).

Radas : Kelalang tapak bulat, batu didih, condenser kukus air, pipet, penitis, tabung uji, vial kaca.

Bahan : Larutan Metanolik NaOH (2 g NaOH dalam 100 ml methanol), BF₃, bermetanol, heptana, NaCl tepu (larutkan NaCl dalam air suling panas sehingga tidak dapat larut), natrium sulfat kontang.

Berat sampel daripada kaedah pengekstrakan lipid (Lampiran 2) perlu diketahui untuk menentukan saiz kelalang tapak bulat yang digunakan dan jumlah reagen yang diperlukan seperti di bawah :

Sampel (mg)	Kelalang (ml)	0.5 N NaOH (ml)	BF ₃ (ml)
100 – 250	50	4	5
250 - 500	50	6	7
500 – 750	100	8	9
750 – 1000	100	10	12

1. 0.5 N NaOH metanolik ditambahkan kepada tiub kaca yang mengandungi sampel lipid dan dipindahkan ke dalam kelalang tapak bulat. Kemudian, 2 - 3 biji batu didih ditambahkan.
2. Sampel lipid direfluks dengan memasang condenser kukus air pada 75°C sehingga tiada titisan lemak yang kelihatan (biasanya proses ini mengambil masa 5 – 10 minit).
3. Larutan BF₃ ditambahkan dan proses refluks diteruskan selama 2 minit.
4. 2 – 5 ml larutan heptana ditambahkan proses refluks diteruskan selama 1 minit.
5. Kelalang dikeluarkan dari kukus air dan dibiarkan sejuk ke suhu bilik.
6. Kelalang diasingkan dan sedikit larutan NaCl tepu ditambahkan.
7. Kelalang kemudiannya digoncang beberapa kali sebelum larutan NaCl tepu ditambahkan ke dalam kelalang sehingga ke leher kelalang secara perlahan-lahan.
8. Lapisan atas (metil ester) larutan dikutip dengan penitis (≈ 1 ml) dan dimasukkan ke dalam tabung uji.
9. Sedikit serbuk natrium sulfat kontang ditambahkan untuk menyerap lembapan.
10. Sampel dikutip dengan penitis dan dipindahkan ke dalam vial kaca.
11. Vial kaca disimpan di dalam peti sejuk (- 20°C) sebelum analisis GC.

Analisis Asid Lemak dengan Tranesterifikasi Secara Langsung

Peralatan: Botol kecil

Bahan kimia: Metanol-asid sulfurik (85 mL methanol dan 15 mL asid sulfurik), kloroform, gas N₂, air suling, Natrium sulfat anhidrus, Internal standard (caproic acid methyl ester 200 µL dalam 100 mL kloroform).

Penyediaan Sampel:

1. Lebih kurang 0.0201 hingga 0.0209 g sample minyak atau 0.0501 hingga 0.0509 g sample serbuk ditimbang dalam botol kecil.
2. 2 mL methanol-asid sulfurik (15%) dan 2 mL kloroform (CHCl₃) ditambahkan ke dalam botol yang berisi sample.
3. Botol sample dilalukan gas N₂ selama 15 saat dan divortek selama 2 minit.
4. Selepas itu, botol kecil tersebut diletakkan ke dalam 'heater – block' pada suhu 100°C selama 30 minit.
5. Kemudian disejukkan di dalam desikator.
6. 1 mL air suling ditambahkan ke dalam botol sample dan divortek selama 30 saat.
7. Botol sampel ditegakkan supaya berlaku pembentukan 2 lapisan.
8. Lapisan bawah diasingkan dan dimasukkan ke dalam tiub sample yang lain.
9. Tiub sample diemparkan selama 5 minit dengan kelajuan 10,000 rpm.
10. Kotoran (jika ada) disingkirkan dan sedikit natrium sulfat anhidrus (Na₂SO₄) ditambahkan ke dalam sample dan digoncang.
11. Sampel disimpan dalam peti sejuk sebelum analisis gas kromatografi dilakukan.
12. Sebelum penyuntikan sample dilakukan, iaitu sebelum analisis gas kromatografi dijalankan, sample dicampurkan dengan 'internal standard' dalam nisbah 3:1 iaitu, 3 bahagian sample dengan 1 bahagian 'internal standard'.

LAMPIRAN C

Analisis Kualiti Air

Penentuan Kepekatan Nitrat, HR (0 – 30.0 mg/L NO₃⁻ -N)

Cadmium Reduction Method

(Powder Pillows or Accuvac Ampuls)

Dengan menggunakan 'Powder Pillow'

1. Nombor program untuk julat tinggi nitrat nitrogen (NO₃⁻ -N) dimasukkan dengan '355' dan 'ENTER' ditekan. 'Dial nm to 500' akan dipaparkan.
2. 'Wavelength dial' dipusingkan sehingga '500 nm' ditunjukkan pada paparan kecil. Apabila frekuensi betul ditentukan, 'Zeroing' dan kemudian 'mg/L NO₃⁻ -N HR' akan dipaparkan.
3. 25ml sample diisikan dalam sel sample.
4. Satu kandungan 'NitraVer 5 Nitrate Reagent Powder Pillows' ditambahkan ke dalam sel (sample yang disediakan). Penutup dipasangkan.
5. 'SHIFT TIMER' ditekan. Sel digoncang sehingga tempoh masa 1 minit sampai.
6. Kemudian 'SHIFT TIMER' ditekan sekali lagi supaya tempoh tindakbalas 5 minit akan dimulakan.
7. 25 mL sampel diisikan di dalam satu sel yang lain (tanpa reagen).
8. Apabila tempoh masa 1 minit sampai, 'mg/L NO₃⁻ -N HR' akan dipaparkan. Sel tanpa reagen dimasukkan ke dalam pemegang sel. 'Light Shield' ditutupkan.
9. 'ZERO' ditekan. 'zeroing' dan kemudian '0.0 mg/L NO₃⁻ -N HR' akan dipaparkan.
10. Penutup ditanggalkan. Sampel yang disediakan diletakkan ke dalam pemegang sel. 'Light Shield' ditutup.
11. 'READ' ditekankan. 'Reading' akan dipaparkan. Kemudian keputusan dalam mg/L nitrat nitrogen (NO₃⁻ -N) akan dipaparkan dalam bentuk NO₃⁻ -N dan NO₃⁻

Penentuan Kepekatan Nitrit, LR (0 – 0.300 mg/L NO₂⁻ - N)

Hazotization Method

(Powder Pillows or Accuvac Ampuls)

USEPA Approved for reporting Waste Water Analysis

Dengan menggunakan 'Powder Pillows'

1. Nombor program untuk julat rendah nitrogen nitrat (NO₂⁻ - N) dimasukkan dengan '371' dan 'ENTER' ditekan. 'Dial nm to 507' akan dipaparkan.
2. 'Wavelength dial' dipusingkan sehingga '507 nm' ditunjukkan pada paparan kecil. Apabila frekuensi betul ditentukan, 'Zero Sample' dan kemudian 'mg/L NO₂⁻ - N LR' akan dipaparkan.
3. 10 mL peninggi sel diletakkan pada dasar pemegang sel.
4. 10 mL sampel diisikan ke dalam sel.
5. Satu kandungan 'Nitri Ver 3 Nitrite Reagent Powder Pillow' ditambahkan ke dalam sel (sampel yang disediakan). Penutup dipasangkan dan sel digoncang supaya serbuk dilarutkan.
6. 'SHIFT TIMER' ditekankan. Tempoh tindakbalas 20 minit dimulakan.
7. Apabila tempoh 20 minit sampai, 'mg/L NO₂⁻ - N LR' akan dipaparkan. 10 mL sample (tanpa reagen) diisikan ke dalam sel yang kedua.

8. Sel tanpa reagen dimasukkan ke dalam pemegang sel. 'Light Shield' ditutup.
9. 'ZERO' ditekan. 'Zeroing' dan kemudian '0.000 mg/L NO₂⁻ - N LR' akan dipaparkan.
10. Penutup pada sampel yang disediakan ditanggalkan. Sel diletakkan ke dalam pemegang sel. 'Light Shield' ditutup.
11. 'READ' ditekan. 'Reading' akan dipaparkan. Kemudian keputusan dalam mg/L nitrit diekspreskan sebagai nitrogen (NO₂⁻ - N) akan dipaparkan dalam bentuk NaNO₂, NO₂⁻ - N dan NO₂⁻

Penentuan Kepekatan Fosforus, Reaktif (0 – 2.50 mg/L PO₄³⁻)

(juga dikenali sebagai Ortofosfat) Phos Ver 3

Methodologi Asid Askorbik

(Powder Pillows or Accuvac Ampuls)

USEPA Accepted for Waste Water Analysis Reporting

Dengan menggunakan 'Powder Pillow'

1. Nombor program untuk reaktif fosforus, kaedah asid askorbik, 'powder pillows' dimasukkan dengan '490' dan 'ENTER' ditekan. 'Dial nm 890' akan dipaparkan.
2. 'Wavelength dial' dipusingkan sehingga 890nm ditunjukkan pada paparan kecil. Apabila frekuensi yang betul ditentukan, 'Zero Sample' dan kemudian 'mg/L PO₄³⁻PV' akan dipaparkan.
3. 10 mL peninggi sel diletakkan pada dasar pemegang sel.
4. 10 mL sample diisikan ke dalam sel.
5. Satu kandungan 'Phos Ver 3 Phosphate Powder Pillow' ditambahkan ke dalam 10 mL sampel dalam sel (sample yang telah disediakan). Penutup dipasang dan sel digoncangkan supaya serbuk larut secepat mungkin.
6. 'SHIFT TIMER' ditekan. Tempoh tindakbalas selama 2 minit ditetapkan.
7. 10 mL sampel (tanpa reagen) diisikan ke dalam sel 10 mL yang kedua.
8. Apabila tamat tempoh tindakbalas, 'mg/L PO₄³⁻PV' akan dipaparkan. Sel tanpa reagen dimasukkan ke dalam pemegang sel. 'Light Shield' ditutupkan.
9. 'ZERO' ditekan. 'Zeroing' dan kemudian '0.00 mg/L PO₄³⁻PV' akan dipaparkan.
10. Sel diletakkan ke dalam pemegang sel. 'Light Shield' ditutupkan.
11. 'READ' ditekan. 'Reading' dipaparkan. Kemudian keputusan dalam mg/L PO₄³⁻ akan dipaparkan dalam bentuk P, PO₄³⁻ dan P₂O₅.

Penentuan Kepekatan Nitrogen, Ammonia (0 – 2.50 mg/L NH₃-N)

Nessler Method

USEPA Accepted for Waste Water Analysis

Distillation is required

1. Nombor program untuk ammonia nitrogen ($\text{NH}_3\text{-N}$) dimasukkan dengan '380' dan 'ENTER' ditekan. 'Dial nm to 425' akan dipaparkan.
2. 'Wavelength dial' dipusingkan sehingga '425 nm' ditunjukkan pada paparan kecil. Apabila frekuensi betul ditentukan, 'Zero Sample' dan kemudian 'mg/L $\text{NH}_3\text{-N}$ Ness' akan dipaparkan.
3. Silinder 'mixing graduated' diisikan dengan 25mL sample (sample yang disediakan).
4. Silinder 'mixing graduated' yang kedua diisikan dengan 25 mL air suling.
5. Tiga titik 'Mineral stabilizer' dan tiga titik 'Polyvinyl Alcohol Dispersing Agent' ditambahkan ke dalam setiap silinder tersebut.
6. 1.0 mL 'Nessler Reagent' dicampurkan ke dalam setiap silinder. Penutup dipasang dan kedua-dua silinder digoncang beberapa kali supaya larutan dicampurkan.
7. 'SHIFT TIMER' ditekan. Tempoh tindakbalas 1 minit akan ditentukan.
8. Setiap larutan dituangkan ke dalam sel sample yang berasingan.
9. Apabila tempoh masa sampai, 'mg/L $\text{NH}_3\text{-N}$ Ness' akan dipaparkan. Sel dengan air suling di dalamnya diletakkan ke dalam pemegang sel. 'Light Shield' ditutup.
10. 'ZERO' ditekan. 'Zeroing' dan kemudian '0.00 mg/L $\text{NH}_3\text{-N}$ Ness' akan dipaparkan.
11. Sampel yang disediakan diletakkan ke dalam pemegang sel. 'Light Shield' ditutup.
12. 'READ' ditekan. 'Reading' akan dipaparkan. Kemudian keputusan dalam mg/L ammonia diekspres sebagai nitrogen ($\text{NH}_3\text{-N}$) akan dipaparkan dalam bentuk NH_4^+ , $\text{NH}_3\text{-N}$ dan NH_3 .

SENARAI ABSTRAK BUKU PROSIDING.

1. Afini, M. N. & Hashim, R. (2007). Fatty acid nutrition in bagrid catfish (*Mystus nemurus*): Effect of n-3 and n-6 ratio on growth performance, fatty acid and body composition. Abstract book of 8th Asian Fisheries Forum. 20 – 23 November 2007. Kochi, India.
2. Afini, M. N. & Hashim, R. (2007). Fatty acid requirement in baung (*Mystus nemurus*): Effect of n-3 and n-6 ratio on growth and body composition. Abstract book of 9th Symposium of Malaysian Society of Applied Biology. 30 – 31 May 2007. Georgetown, Penang.
3. Afini M. N. & Hashim, R. (2004). Effect of Dietary Protein-to-Lipid Ratio on Growth and Body Composition of *Mystus nemurus*. Abstract book of 7th Asian Fisheries Forum '04, Penang. 30 November – 4 December