

KADAR VITAMIN C DALAM TUBUH *Daphnia* sp. YANG DIPERKAYA DENGAN VITAMIN C PADA LAMA WAKTU PENGKAYAAN YANG BERBEDA

Vitamin C Content in *Daphnia* sp. Enriched with L-ascorbic Acid Ethyl Cellulose at Different Enrichment Period

D. Jusadi, I. Meylani dan N. B. P. Utomo

Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga, Bogor. 16680

ABSTRACT

Daphnia with a density of 10,000 ind./l medium were enriched with either 0.1, 0.5 or 1 g l-ascorbic acid ethyl cellulose (VC) per 1 culture medium. In this triplicate experiment, *Daphnia* were enriched with VC in a 12 litre aquaria for 0, 3, 6 or 9 h. Results showed that the maximum VC content in *Daphnia* enriched with 0.1, 0.5 and 1 g VC/l medium was 347, 471 and 482 $\mu\text{g VC/g Daphnia}$ (dry basis), respectively. This VC content was obtained after 5 h, 5 h 12 min and 5 h 18 min of enrichment period. During 9 h enrichment period, the survival rate of *Daphnia* enriched with 0.1, 0.5 and 1 g VC/l medium was decrease linearly from 100% to 55.6%, 50.1% and 47.9%, respectively.

Keywords: *Daphnia*, vitamin C, enrichment

ABSTRAK

Dalam penelitian ini, *Daphnia* dengan padat tebar 10.000 ekor/l diperkaya dengan vitamin C (VC) pada tiga dosis yang berbeda, yaitu dosis 0,1, 0,5 dan 1 g VC/l media untuk masing-masing penelitian 1, 2 dan 3. *Daphnia* diperkaya dalam wadah volume 12 liter selama 0, 3, 6 dan 9 jam. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali ulangan. Hasil analisa respon menunjukkan bahwa waktu pengkayaan yang optimum untuk masing-masing dosis pengkayaan 0,1, 0,5 dan 1 g VC/l media secara berturut-turut adalah 5 jam, 5 jam 12 menit dan 5 jam 18 menit dengan kadar VC masing-masing sebesar 347, 471 dan 482 $\mu\text{g VC/g Daphnia}$. Tingkat kelangsungan hidup *Daphnia* sp. menunjukkan terjadinya penurunan secara linier dengan semakin bertambahnya waktu pengkayaan. Tingkat kelangsungan hidup *Daphnia* sp. setelah 9 jam masa pengkayaan ialah sebesar 55,63%, 50,12% dan 47,92% untuk dosis 0,1, 0,5 dan 1 g VC/l media.

Kata kunci: *Daphnia*, vitamin C, pengkayaan

PENDAHULUAN

Daphnia sp. merupakan salah satu pakan alami yang umum digunakan bagi larva ikan air tawar. Sebagai pakan alami, *Daphnia* sp. relatif mudah untuk diperoleh antara lain dengan cara pemupukan. Kadarwan (1974) berdasarkan hasil penelitiannya mengemukakan bahwa media organik terbaik untuk pupuk di dalam budidaya *Daphnia* sp. adalah kotoran ayam. Selain dengan cara pemupukan, budidaya *Daphnia* sp. ini dapat juga dilakukan dengan pemberian dedak halus padi (De Pauw *et al.*,

1981) atau menggunakan ragi (Dedi *et al.*, 2005).

Budidaya *Daphnia* sp. dengan ragi ini didasarkan pada pengalaman bahwa penggunaan ragi roti *Saccharomyces cerevisiae* sudah banyak dilakukan dalam produksi massal rotifera *Brachionus plicatilis* yang menghasilkan rotifera dalam jumlah banyak, dalam jangka waktu relatif pendek (Hirayama dan Funamoto, 1983), serta peluang tidak ditemukannya kotoran ayam di daerah tertentu yang jauh dari peternakan. Watanabe *et al.* (1983) menyatakan bahwa penggunaan ragi roti pada kegiatan budidaya *Brachionus plicatilis* kadang-kadang

menyebabkan kematian massal pada larva ikan yang dipelihara dengan *Brachionus* tersebut. Salah satu unsur nutrisi penting dalam pakan yang dapat mempengaruhi pertumbuhan dan kelangsungan hidup ikan diantaranya adalah vitamin C. Diduga bahwa, terjadinya kematian pada larva ikan yang diberi rotifer yang memanfaatkan ragi roti sebagai pakannya, adalah akibat defisiensi vitamin C karena menurut Merchie *et al.* (1995a) rotifer yang dibudidayakan dengan ragi hanya mengandung vitamin C sebesar 148 µg/g bobot kering.

Berdasarkan fenomena tersebut, maka diduga perlu adanya upaya untuk meningkatkan kandungan vitamin C dalam tubuh *Daphnia* sp. yang dibudidayakan dengan ragi, antara lain melalui teknik pengkayaan. Teknik pengkayaan sangat mungkin dilakukan karena *Daphnia* sp. bersifat *non selective filter feeder* sehingga penambahan vitamin dapat dilakukan melalui media sebelum diberikan ke larva ikan. Dalam teknik pengkayaan diperlukan informasi tentang dosis dan waktu pengkayaan yang efektif, agar kandungan vitamin C di dalam tubuh *Daphnia* sp. cukup bagi ikan. Oleh karena itu, maka perlu dilakukan penelitian tentang dosis dan waktu pengkayaan yang optimum yang dapat menghasilkan kandungan vitamin C maksimum dalam tubuh *Daphnia* sp. sehingga mencukupi kebutuhan ikan.

BAHAN DAN METODA

Prosedur Budidaya Massal *Daphnia* sp. dengan Ragi

Wadah budidaya berupa bak *fiber glass* dengan kapasitas 1 ton disiapkan. Ke dalamnya diisi dengan air kolam yang terlebih dahulu ditampung di dalam tandon selama 24 jam, sebanyak 800 liter dan diberi kapur pertanian (CaCO_3) sebanyak satu genggam (60 g) untuk meningkatkan pH air. Pengaturan aerasi ditempatkan pada lima titik yang berbeda dan wadah budidaya yang telah berisi air tadi diaerasi selama 24 jam. Sebelum penebaran, dilakukan analisa kualitas air yang meliputi suhu sebesar 27°C,

pH sebesar 6,83 dan oksigen terlarut sebesar 6,24 ppm. Kemudian dilakukan penebaran *Daphnia* sp. dengan kepadatan 100 *Daphnia*/l. Pada bak dipasang sebuah lampu pijar 75 Watt yang ditempatkan di dalam toples dan digantungkan mengambang di permukaan air. Pakan yang diberikan selama pemeliharaan adalah ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*) sebanyak empat kali sehari yaitu pada pukul 08.00, 12.00, 16.00 WIB dan pada malam hari diberikan melalui botol infus yang dilengkapi dengan aerasi, masing-masing pemberian sebanyak 4 g. Selama pemeliharaan dilakukan penyiponan dasar setiap hari sebanyak 20% dari volume bak dan dilakukan penggantian air menggunakan air kolam dengan volume yang sama dengan volume penyiponan. Selain itu juga dilakukan penggantian air sebanyak 25% dari volume total bak *fiber* setiap dua hari sekali. Puncak populasi umumnya terjadi setelah 7 – 10 hari sejak penebaran awal. Pada saat terjadi *blooming* inilah dilakukan pemanenan yang akan digunakan untuk penelitian.

Pengkayaan *Daphnia* sp.

Sembilan buah wadah air mineral yang berkapasitas 19 liter, diisi dengan air kolam masing-masing sebanyak 12 liter dan diaerasi selama 24 jam. Pengaturan aerasi dengan kecepatan sedang yang bertujuan untuk pengadukan bahan emulsi pengkaya. *Daphnia* sp. hasil budidaya massal dalam bak *fiber* bervolume 1 ton dipanen dengan menggunakan selang dan disaring dengan dua kali penyaringan. Ukuran saringan yang digunakan yaitu 2 mm dan 0,5 mm, dan setelah diperoleh *Daphnia* sp. berukuran sedang (0,8 – 1,16 mm), kemudian dipindahkan ke dalam wadah air mineral yang telah disiapkan sebelumnya. *Daphnia* sp. dengan kepadatan 10.000 *Daphnia*/l dimasukkan ke dalam wadah air mineral tersebut. Selanjutnya disiapkan bahan pengaya untuk setiap perlakuan pada penelitian 1, 2 dan 3 yaitu berupa vitamin C (VC) jenis *Ascorbic acid* (min. 97,5%) yang dilapisi *ethyl-cellulose* dengan dosis 0,1; 0,5 dan 1 g/l media budidaya. Sebelum diberikan ke *Daphnia* sp. VC tersebut

dicampur dengan ragi, minyak ikan, kuning telur ayam dan 100 ml air untuk selanjutnya dihomogenkan dengan menggunakan alat pengaduk (*mixer*) selama 3 menit. Secara ringkas, dikemukakan di bawah ini jumlah pakan yang diberikan pada tiap perlakuan untuk 1 liter media budidaya *Daphnia*:

Penelitian 1: Ragi 83 mg + minyak ikan 0,1 ml + kuning telur 83 μ l + VC 0,1 g

Penelitian 2: Ragi 83 mg + minyak ikan 0,1 ml + kuning telur 83 μ l + VC 0,5 g

Penelitian 3: Ragi 83 mg + minyak ikan 0,1 ml + kuning telur 83 μ l + VC 1,0 g

Setelah membentuk emulsi, bahan-bahan tersebut dimasukkan ke dalam media budidaya *Daphnia* sp. Proses pengkayaan berlangsung selama 0, 3, 6 dan 9 jam. Pada saat waktu pengkayaan tersebut dilakukan pengambilan contoh (*sampling*) untuk mengetahui kelangsungan hidup *Daphnia* sp. *Sampling Daphnia* sp. ini dilakukan dengan cara pengambilan 100 ml air wadah budidaya, kemudian dipindahkan ke dalam wadah 1000 ml (pengenceran 10 kali). Dari 1 liter air tersebut diambil 100 ml sebanyak 3 kali dan dihitung jumlah *Daphnia* sp. yang ada di masing-masing media budidaya. Selain *sampling*, juga dilakukan pemanenan *Daphnia* sp. setiap selang waktu 3 jam dengan cara mengambil 3 liter air media pengkaya lalu disaring. Selanjutnya *Daphnia* sp. yang telah tersaring dibilas dengan air bersih, ditiriskan dan dimasukkan ke dalam kantong plastik kedap udara. Contoh *Daphnia* sp. yang telah diperkaya tersebut kemudian disimpan dalam *freezer* sampai dilakukan analisa kadar air dan kadar vitamin C yang terakumulasi dalam tubuh *Daphnia* sp.

Analisa Statistik

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Tiga penelitian *Daphnia* sp. yang diperkaya dengan vitamin C jenis *Ascorbic acid* (min. 97,5%) yang dilapisi dengan *ethyl-cellulose* pada tiga tingkatan dosis yaitu 0,1, 0,5 dan 1

g VC/l media. Perlakuan yang diujicobakan pada penelitian 1, 2 dan 3 adalah lama waktu pengkayaan yang berbeda, yaitu 0, 3, 6 dan 9 jam. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali ulangan. Untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh perlakuan terhadap parameter uji digunakan uji F pada taraf kepercayaan 95% dan dilanjutkan dengan analisa respon menggunakan program SPSS versi 11.0. Parameter yang diukur meliputi kelangsungan hidup dan kandungan VC dalam tubuh *Daphnia* sp.

Analisa Kimia

Analisa kimia yang dilakukan adalah analisa kadar air dan analisa VC dalam tubuh *Daphnia* sp. yang telah diperkaya dengan VC. Analisis VC menggunakan alat Spektrofotometer menurut metode Farmakope (1995).

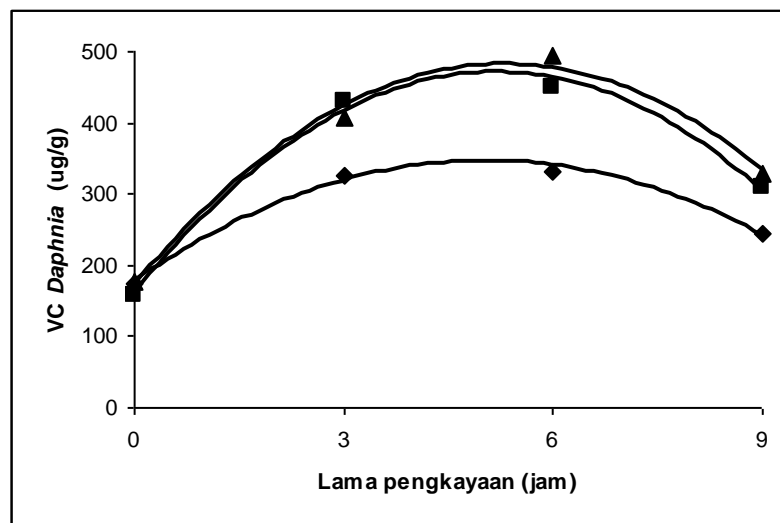
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Hasil analisa kandungan VC pada tubuh *Daphnia* sp. setelah diperkaya dengan dosis 0,1, 0,5 dan 1 g VC/l media selama 0, 3, 6 dan 9 jam disajikan dalam Tabel 1. Analisa respon dari kandungan VC di dalam *Daphnia* sp. dapat dilihat di Gambar 1. Berdasarkan hasil analisa respon diketahui bahwa hubungan antar waktu pengkayaan dengan kadar VC di dalam tubuh *Daphnia* sp. bersifat kuadratik, dengan persamaan $y = -6,7x^2 + 67,3x + 176,8$; $R^2 = 0,99$ untuk dosis 0,1 g VC/l media, $y = -11,5x^2 + 119,4x + 160,8$; $R^2 = 0,99$ untuk dosis 0,5 g VC/l media, serta $y = -11x^2 + 117,1x + 170,7$; $R^2 = 0,99$ untuk dosis 1 g VC/l media. Titik maksimum waktu pengkayaan di ketiga penelitian relatif sama, yakni sekitar lima jam. Perbedaan hanya pada konsentrasi VC yang terakumulasi di dalam tubuh *Daphnia*; semakin tinggi dosis VC yang diberikan dalam media pengkaya, maka kandungan VC di dalam tubuh *Daphnia* pun semakin tinggi. Namun demikian, konsentrasi maksimum VC di dalam tubuh relatif hampir sama antara dosis 0,5 dengan 1 mg VC/l. Titik maksimum kandungan VC di dalam tubuh

Tabel 1. Konsentrasi VC ($\mu\text{g/g}$ berat kering) di dalam tubuh *Daphnia* setelah diperkaya dengan VC

Dosis VC (g VC/l media)	Lama pengkayaan (jam)			
	0	3	6	9
0,1	174 \pm 22,50	327 \pm 53,69	332 \pm 46,00	245 \pm 37,04
0,5	156 \pm 18,03	430 \pm 30,24	449 \pm 6,58	309 \pm 46,50
1	176 \pm 30,66	407 \pm 23,25	493 \pm 83,61	328 \pm 19,92



Gambar 1. Hubungan waktu pengkayaan dengan kadar vitamin C tubuh *Daphnia* sp. yang diperkaya dengan VC. \blacktriangle adalah dosis 1 g VC/l; \blacksquare adalah dosis 0,5 g VC/l; \blacklozenge adalah dosis 0,1 g VC/l.

Daphnia sp. yang diperkaya dengan 0,1, 0,5 dan 1 g VC/l media berturut-turut adalah 347, 471 dan 482 $\mu\text{g/g}$ *Daphnia* dengan lama pengkayaan 5 jam, 5 jam 12 menit, serta 5 jam 18 menit.

Tingkat kelangsungan hidup *Daphnia* sp. setelah diperkaya dengan dosis 0,1, 0,5 dan 1 g VC/l media selama 0, 3, 6 dan 9 jam disajikan dalam Tabel 2. Tingkat kelangsungan hidup *Daphnia* sp. yang diperkaya dengan VC terus mengalami penurunan, mulai dari awal penebaran yaitu pada waktu pengkayaan jam ke-0 hingga waktu pengkayaan mencapai 9 jam. Hubungan antara waktu pengkayaan dengan tingkat kelangsungan hidup *Daphnia* sp. yang diperkaya dengan VC memperlihatkan respon yang linier seperti yang terlihat pada Gambar 2, dengan persamaan $y = -4,8x + 99,8$; $R^2 = 0,99$ untuk dosis 0,1 g VC/l

media, $y = -5,4x + 100,8$; $R^2 = 0,99$ untuk dosis 0,5 g VC/l media. Dari Gambar 2 tersebut juga dapat dilihat bahwa tingkat kelangsungan hidup *Daphnia* tidak dipengaruhi oleh dosis VC yang diberikan ke dalam media budidaya.

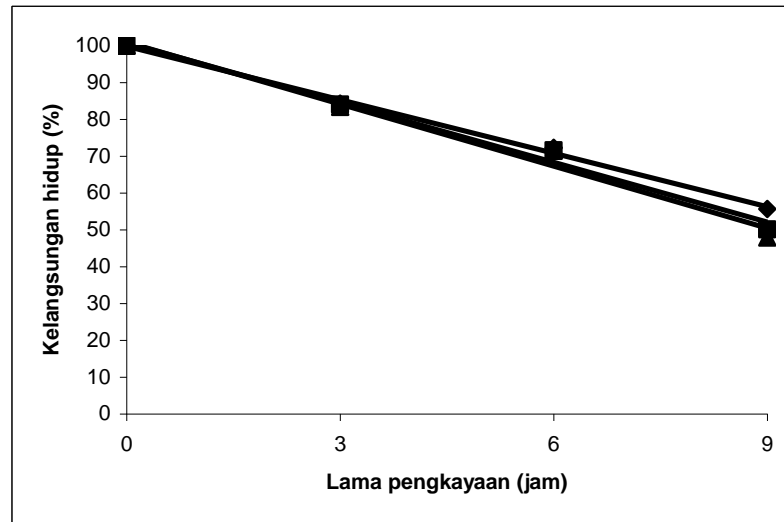
Pembahasan

Pada penelitian ini, adanya pengkayaan VC jenis *Ascorbic acid* (min. 97,5%) yang dilapisi dengan *ethyl-cellulose* ke dalam media budidaya *Daphnia* sp. berpengaruh terhadap kandungan VC *Daphnia* sp. Dari sini dapat disimpulkan bahwa VC yang dilapisi dengan *ethyl-cellulose* dapat terakumulasi di dalam tubuh *Daphnia* sp.

Apabila dibandingkan dengan sumber vitamin C dengan jenis berbeda yakni L-Ascorbyl-2-Phosphate-Magnesium (APM) maka kadar VC pada tubuh *Daphnia* sp. yang

Tabel 2. Kelangsungan hidup (%) *Daphnia* setelah diperkaya dengan VC

Dosis VC (g VC/l media)	Lama pengkayaan (jam)			
	0	3	6	9
0,1	100±0	84,3±1,0	72,3±0,7	55,6±3,5
0,5	100±0	84,0±1,0	71,6±0,9	50,1±1,2
1	100±0	83,0±1,0	71,5±0,8	47,9±3,4



Gambar 2. Hubungan waktu pengkayaan dengan kelangsungan hidup *Daphnia* sp. yang diperkaya vitamin C. ▲ adalah dosis 1 g VC/l; ■ adalah dosis 0,5 g VC/l; ♦ adalah dosis 0,1 g VC/l.

dihasilkan dalam penelitian ini lebih rendah. Pada penelitian yang dilakukan oleh Yeniche (2003) kadar VC dalam tubuh *Daphnia* sp. tertinggi dihasilkan setelah 5 jam 18 menit diperkaya dengan APM, dengan nilai sebesar 1497 µg/g *Daphnia*. Sedangkan kadar VC pada tubuh *Daphnia* sp. yang diperkaya dengan VC pada penelitian ini, nilai maksimum hanya sebesar 482 µg/g *Daphnia* setelah diperkaya selama 5 jam 18 menit. Diduga bahwa terjadinya perbedaan kadar VC dalam tubuh *Daphnia* sp. pada kedua jenis sumber VC tersebut, adalah dikarenakan ketersediaan secara biologis (*bioavailabilitas*) yang berbeda dari masing-masing jenis sumber VC yang digunakan. Tingginya ketersediaan secara biologis vitamin C jenis APM daripada *Ascorbic acid* yang dilapisi dengan *ethyl-cellulose*, disebabkan adanya kemampuan ikatan fosfat yang akan melindungi dioksidasinya asam

askorbat di dalam sistem pencernaan (Wilson *et al.*, 1989). Sedangkan pada pengkayaan dengan menggunakan VC jenis *Ascorbic acid* yang dilapisi dengan *ethyl-cellulose* efisiensi penyerapan VC rendah, karena *Daphnia* sp. tidak dapat mencerna selulosa yang melapisi VC tersebut. Telah diketahui bahwa *Daphnia* sp. tidak memproduksi enzim selulase, tetapi mencerna bahan tanaman melalui fermentasi microbial usus. Stickney dan Shumway (1987) menyatakan bahwa selulase diproduksi oleh mikroflora usus, aktivitas selulase dalam usus terkait dengan bakteri selulolitik yang terdapat di dalam saluran pencernaan. Diduga jumlah enzim yang dikeluarkan oleh mikroflora usus lebih rendah jika dibandingkan dengan jumlah VC yang dikonsumsi oleh *Daphnia* sp.

Berbagai penelitian akan kebutuhan VC pada ikan dan udang telah banyak dilakukan. Antara lain penelitian yang dilakukan oleh

Dedi *et al.* (2000), yang meneliti kebutuhan VC untuk pertumbuhan benih ikan gurame ukuran $0,78 \pm 0,26$ g. Berdasarkan hasil penelitiannya diketahui bahwa dosis VC (APM) sebesar 250 mg/kg pakan menghasilkan pertumbuhan benih ikan gurame yang tertinggi. Peranan VC dalam pakan terhadap pertumbuhan ikan dijelaskan oleh Masumoto *et al.* (1991) yang berkaitan dengan pembetukan kolagen pada ikan. Pembentukan kolagen sangat penting untuk pertumbuhan normal, karena kolagen merupakan komponen utama pada matriks tulang. Menurut Wilson dan Poe (1973) kolagen terutama terdiri dari hidroksiprolin dan hidroksilysin. Hidroksi prolin dan lysin terjadi setelah bersatunya prolin dan lysin dalam rantai peptida. Proses ini membutuhkan oksigen, ion besi, α -ketoglutarat dan vitamin C. Ikan yang masih muda yang menderita skoliosis dan lordosis dikarenakan karena kecilnya hidroksiprolin dan lysin pada kolagen yang terjadi dalam vertebrae. Hidroksilasi prolin maupun lysin dilakukan oleh enzim *protokolagen hidrosilase* (Masumoto *et al.*, 1991).

Kebutuhan VC untuk ikan-ikan air tawar lainnya seperti ikan mas dan ikan nila, telah diketahui bahwa dibutuhkan VC sebesar 1250 mg/kg pakan untuk pertumbuhan pada ikan nila (Tacon, 1991). Sedangkan pada ikan mas tidak memerlukan penambahan VC dalam pakannya karena ikan mas sanggup untuk memenuhi kebutuhan VC dalam tubuhnya sendiri (Sato dan Ikeda *dalam* Azwar, 1997). Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini, kadar VC dalam tubuh *Daphnia* sp. yang diperkaya 0,1 g VC/l media yakni sebesar 347 μ g VC/g *Daphnia*, dimana nilai tersebut setara dengan 347 mg/kg pakan. Kadar VC sebesar 347 mg/kg pakan dapat digunakan pada benih ikan gurame untuk mendapatkan pertumbuhan tertinggi. Sedangkan pada ikan nila, nilai maksimum VC yang diperoleh (482 μ g VC/g *Daphnia*) dari pengkayaan dengan 1 g VC/l media tidak dapat memenuhi kebutuhan ikan nila akan adanya penambahan VC dari luar. Hal tersebut memperlihatkan bahwa diperlukan kadar VC dalam tubuh *Daphnia* sp. yang lebih besar

dari 482 mg/kg pakan atau sebesar 1250 mg/kg pakan.

Sedangkan tingkat kelangsungan hidup *Daphnia* sp. menunjukkan terjadinya penurunan secara linier dengan semakin bertambahnya waktu pengkayaan. Tingkat kelangsungan hidup *Daphnia* sp. setelah 9 jam masa pengkayaan ialah sebesar 55,63% (dosis 0,1 g VC/l media), 50,12% (dosis 0,5 g VC/l media) dan 47,92% (dosis 1 g VC/l media). Diduga bahwa terjadinya penurunan tingkat kelangsungan hidup *Daphnia* sp. ini adalah dikarenakan daya dukung lingkungan yang tidak sesuai dengan kepadatan *Daphnia* sp. dalam wadah budidaya. Tingginya kepadatan *Daphnia* sp. yang digunakan dalam penelitian ini, merupakan salah satu faktor dalam media budidaya yang dapat mengakibatkan kematian bagi *Daphnia* sp. dimana hal tersebut dikarenakan keterbatasan ruang gerak *Daphnia* sp. Rata-rata kepadatan populasi *Daphnia* sp. dalam 1 l media budidaya, pada penelitian yang dilakukan oleh Dedi *et al.* (2005) saat puncak adalah 1603 *Daphnia*/l. Jumlah *Daphnia* sp. yang hidup hingga akhir masa pengkayaan dalam penelitian ini sebanyak 2700 *Daphnia*/l media. Dapat dilihat disini bahwa kepadatan *Daphnia* sp. yang digunakan hingga akhir penelitian, masih melebihi batas normal kemampuan wadah budidaya untuk dapat menampung seluruh *Daphnia* sp.

DAFTAR PUSTAKA

- Azwar Z. I. 1997. Pengaruh ascorbyl phosphate magnesium sebagai sumber vitamin C terhadap perkembangan ovarium dan penampilan larva ikan nila (*Oreochromis* sp.). Disertasi Program Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 180 hal.
- Dedi J., A. Muis., I. Mokoginta. 2000. Kebutuhan vitamin C benih ikan gurame *Osphronemus gouramy*. J. Ilmu-Ilmu Perairan Indonesia, Vol. 7: 17 – 26.
- Dedi J., D. Sulasingkin dan I. Mokoginta. 2005. Pengaruh konsentrasi ragi yang

- berbeda terhadap pertumbuhan populasi *Daphnia* sp. Jurnal Ilmu-ilmu Perairan dan Perikanan Indonesia, 12: 17-21.
- De Pauw H., P. Laureys, and J. Morales. 1981. Mass cultivation of *Daphnia magna* Strauss on rice bran. *Aquaculture*, 25: 141-152.
- Hirayama K. and H. Funamoto. 1983. Supplementary effect of several nutrients on nutritive deficiency of baker's yeast for population of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 49 (4): 505-510.
- Kadarwan. 1974. Studi kultur *Daphnia* sp. di laboratorium dengan menggunakan beberapa jenis pupuk kandang. Fakultas Perikanan. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 55 hal.
- Masumoto T., H. Hosokawa and S. Shimeno. 1991. Ascorbic acid's role in Aquaculture Nutrition. In *Proceedings of the Aquaculture Feed Processing and Nutrition workshop*. Edited by D. M. Akiyama and R. K. H. Tan. Thailand and Indonesia September 19-25, 1991. American Soybean Association, Singapore. pp: 42-48.
- Merchie G., P. Lavens, P. Dhert, M. Dehasque, H. Nelis, A. De Leenheer, and P. Sorgeloos. 1995. Variation of ascorbic acid content in different live food organisms. *Aquaculture*, 134: 325-337.
- Stickney R. R. and S.E. Shumway. 1974. Occurrence of cellulose activity in the stomach of fish. *J. Fish Biol.*, 6: 779.
- Tacon, A. G. J. 1991. Vitamin nutrition in shrimp and fish, p. 10-41. In *Proceeding of The Aquaculture Feed Processing and Nutrition Workshop*. Dean M. Akiyama and Ronnie K.H. Tan (Eds.). American Soybean Association. Singapore. pp:10-41.
- Watanabe T., C. Kitajima, and S. Fujita. 1983. Nutritional value of live organisms used in Japan for mass propagation of fish: A review. *Aquaculture*, 34:115-143.
- Wilson, P. R. and W.E. Poe. 1973. Impaired collagen formation in the scorbutic channel catfish. *J. Nutr.* 103 : 1359-1364.
- Wilson, R. P.; W.E. Poe, and E.H. Robinson. 1989. Effect of L-Ascorbyl-2-Polyphosphate (AsPP) as a dietary ascorbic acid for channel catfish. *Aquaculture* 81 : 129-136.
- Yeniche. 2003. Akumulasi vitamin C dalam tubuh *Daphnia* yang diperkaya dengan L-ascorbyl-2-phosphate magnesium pada dosis yang berbeda. Program Studi Budidaya Perairan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.