

PENAMBAHAN VITAMIN C DALAM PAKAN UNTUK PERTUMBUHAN TERBAIK BENIH IKAN LELE DUMBO (*Clarias gariepinus* BURCHEEL)

ADELINA, IDASARY BOER DAN ZULKIFLI

Laboratorium Nutrisi Ikan Faperika UNRI

Diterima Tanggal : 7 September 2006

Disetujui Tanggal : 28 Oktober 2006

ABSTRACT

African catfish fingerling were fed diets containing different levels (0; 50; 100; 150; 200 mg/kg fish diet) of vitamin C. The experiment was conducted in aquaria with five treatment and three replication by Completed Randomized design. The fishes were fed three times daily at 10 % of body weigh for 56 day's rearing time. The result showed that the supplementation vitamin C gave very significant effect ($p < 0,01$) on growth and protein retention but there is no significant effect on feed efficiency and survival rate ($p > 0,01$). Based on Newman-Keuls test was known that dose of vitamin C 100, 150 and 200 mg/kg fish diet gave no different effect of growth, feed efficiency and protein retention. Based on the evaluation of upon parameter, supplementation of vitamin C 100 mg/kg fish diet is recommended for African catfish growth.

Key words : vitamin C, growth, *Clarias gariepinus*

PENDAHULUAN

Ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus* Burcheel) adalah spesies ikan air tawar yang mempunyai nilai ekonomis penting dan berpotensi cukup besar untuk dikembangkan sebagai ikan budidaya. Untuk meningkatkan produksi budidaya ikan ini dapat dicapai dengan mempercepat pertumbuhan yang dalam hal ini dibutuhkan pakan dengan kandungan nutrisi (protein, lemak, karbohidrat, vitamin dan mineral) yang sesuai dengan kebutuhan ikan tersebut. Percobaan tentang unsur makro dalam pakan ikan lele dumbo seperti protein, lemak dan karbohidrat telah banyak dilakukan, sedangkan penelitian tentang vitamin dan mineral masih sangat terbatas. Secara kuantitatif kebutuhan vitamin pada ikan lele dumbo belum banyak diketahui sehingga informasi tentang hal tersebut sangat dibutuhkan untuk melengkapi informasi yang telah ada sebelumnya.

Vitamin adalah senyawa kimia esensial yang walaupun dalam tubuh tersedia dalam jumlah sedikit, namun sangat diperlukan bagi kesehatan dan pertumbuhan tubuh yang normal. Vitamin harus diperoleh dalam

pakan karena tubuh tidak dapat memproduksinya sendiri.

Vitamin C merupakan salah satu vitamin yang berperan penting dalam pembentukan kolagen (sel endothelial), transformasi dan penggunaan asam folik, penyerapan besi, sintesis hormon steroid dan berpengaruh dalam reproduksi, mencegah infeksi, penyakit dan gangguan metabolic akibat stress. Defisiensi vitamin C dalam pakan menunjukkan gejala pertumbuhan yang lambat, miskinnya efisiensi pakan, anemia (hubungan dengan metabolisme Fe), peningkatan mortalitas, kelainan tulang belakang (lordosis dan skoliosis), lesi pada insang dan operculum, pendarahan pada berbagai organ (kulit, hati, ginjal, saluran pencernaan dan sisik) dan keterlambatan penyembuhan luka (Steffens, 1989).

Defisiensi vitamin C pada ikan secara umum berhubungan dengan pembentukan kolagen. Ikan segera menunjukkan hiperplasia kolagen dan kartilago kemudian skoliosis, lordosis dan pendarahan internal, kartilago abnormal pada insang, sirip, tulang punggung, dan pendarahan rahang dan mulut (Hepher dalam Halver, 1972). Kebutuhan vitamin C berhubungan dengan

stress, tingkat pertumbuhan, ukuran ikan dan keberadaan nutrisi lain dalam pakan.

Walaupun bukan merupakan sumber tenaga, vitamin C dibutuhkan sebagai katalisator terjadinya proses metabolisme di dalam tubuh. Jumlah yang dibutuhkan hanya sedikit tetapi bila kekurangan akan menimbulkan gangguan dan penyakit (Tang dan Zulkifli, 1999). Ikan channel catfish (*Ictalurus punctatus*) yang defisiensi vitamin C dalam pakan menunjukkan pertumbuhan lambat, kelainan tulang punggung (lordosis dan skoliosis), pendarahan di sekitar rongga tubuh dan pengrusakan warna menjadi gelap dengan penampakan garis terang langsung disamping sirip dada (Lovell dalam Steffens, 1989). Melihat pentingnya peranan

vitamin C untuk kelangsungan hidup dan pertumbuhan ikan, maka dicoba untuk mencari level optimum vitamin C yang dibutuhkan dalam pakan ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus* Burcheel).

METODE PENELITIAN

Pakan Uji

Pakan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah pakan buatan berupa pelet yang isonitrogenous (40 %). Vitamin C yang digunakan adalah jenis asam askorbat. Pakan percobaan tersebut terdiri atas lima kadar vitamin C yaitu : 0,00; 0,005; 0,01; 0,015 dan 0,02 %. Adapun komposisi pakan uji secara lengkap dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi Pakan Uji (%)

Bahan Pakan	Perlakuan (kadar vitamin C)				
	0,00	0,005	0,01	0,015	0,02
Tepung ikan	42,6	42,6	42,6	42,6	42,6
Tepung kedelai	41,2	41,2	41,2	41,2	41,2
Tepung terigu	3,2	3,2	3,2	3,2	3,2
Minyak Ikan	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Mineral mix. ¹	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
Vitamin mix. tanpa vit. C ²	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Vitamin C	0,0	0,005	0,01	0,015	0,02
CMC	6,5	6,495	6,49	6,485	6,48

Keterangan : 1. Komposisi mineral mix: NaCl 1,0 mg, MgSO₄·7H₂O 15,0 mg, NaH₂PO₄·H₂O 25 mg, KH₂PO₄ 32 mg, Ca(H₂PO₄)₂·H₂O 20 mg, Fe-citrate 2,5 mg, trace element mix 1 mg dan Ca-lactate 3,5 mg (Watanabe, 1988)

2. Komposisi vitamin mix. tanpa vit C : vit. B1 6 mg, vit B2 10 mg, vit B6 4 mg, vit B12 0,01 mg, Niacin 40 mg dan Ca pantonate 10 mg (Watanabe, 1988)

Pakan yang telah jadi kemudian dianalisis proksimat. Hasil analisis dapat dilihat pada Tabel 2. Analisis proksimat untuk penentuan protein kasar pakan dilakukan dengan metode Kjeldhal, lemak kasar dengan metode ekstraksi dengan alat soxhlet, kadar abu melalui pemanasan sampel dalam tanur pada suhu 400–600°C, serat kasar dengan menggunakan metode pelarutan sampel dengan asam dan basa kuat serta pemanasan dan kadar air dengan

metode pemanasan dalam oven pada suhu 105 – 110°C (Takeuchi, 1988).

Tabel 2. Analisa Proksimat Pakan Uji

Komposisi nutrisi	Jumlah dalam pakan (%)				
	P0	P1	P2	P3	P4
Protein kasar	42,3	39,7	39,9	41,3	40,5
Lemak kasar	2,3	1,9	1,5	1,2	1,8
Serat kasar	15,7	13,8	15,2	17,5	15,8
Abu	20,8	19,3	19,4	19,8	22,3
Air	6,1	8,3	8,5	7,2	7,3
BETN	12,8	17,1	15,6	12,9	12,3

Prosedur Penelitian

Ikan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah benih ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus* Burcheel) yang berasal dari satu induk dan berukuran sekitar 2 inchi. Benih diperoleh dari hasil pemijahan buatan. Ikan terlebih dahulu diaklimatisasikan terhadap lingkungan percobaan dan pakan kontrol selama satu minggu. Kemudian ikan diseleksi, yang dipakai adalah ikan yang sehat.

Ikan yang telah diseleksi selanjutnya dimasukkan ke dalam wadah berupa aquarium berukuran 60x30x35 cm. Tinggi air pada aquarium 20 cm. Ke dalam masing-masing wadah ditebar benih ikan sebanyak 20 ekor. Penempatan ikan kedalam aquarium dilakukan secara acak (Steel dan Torrie, 1993). Ikan uji dipuasakan satu hari kemudian ditimbang untuk mengetahui bobot awal ikan. Ikan uji diberi pakan sebanyak 10 % dari bobot tubuh ikan. Frekuensi pemberian pakan dilakukan 3 kali sehari yaitu pukul 08.00; 14.00 dan 20.00 WIB. Pemeliharaan ikan dilakukan selama 56 hari.

Analisis Statistik

Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 taraf perlakuan dan 3 kali ulangan. Sebagai perlakuan adalah berbagai tingkat kadar vitamin C pada pakan uji. Parameter yang diuji secara statistik adalah laju pertumbuhan harian, efisiensi pakan, retensi protein dan tingkat kelangsungan hidup. Untuk mengetahui pengaruh pakan uji terhadap setiap peubah yang diukur tersebut digunakan analisis ragam (uji F). Jika terdapat perbedaan antar perlakuan dilanjutkan dengan uji rentang Newman-Keuls (Stell dan Torrie, 1993).

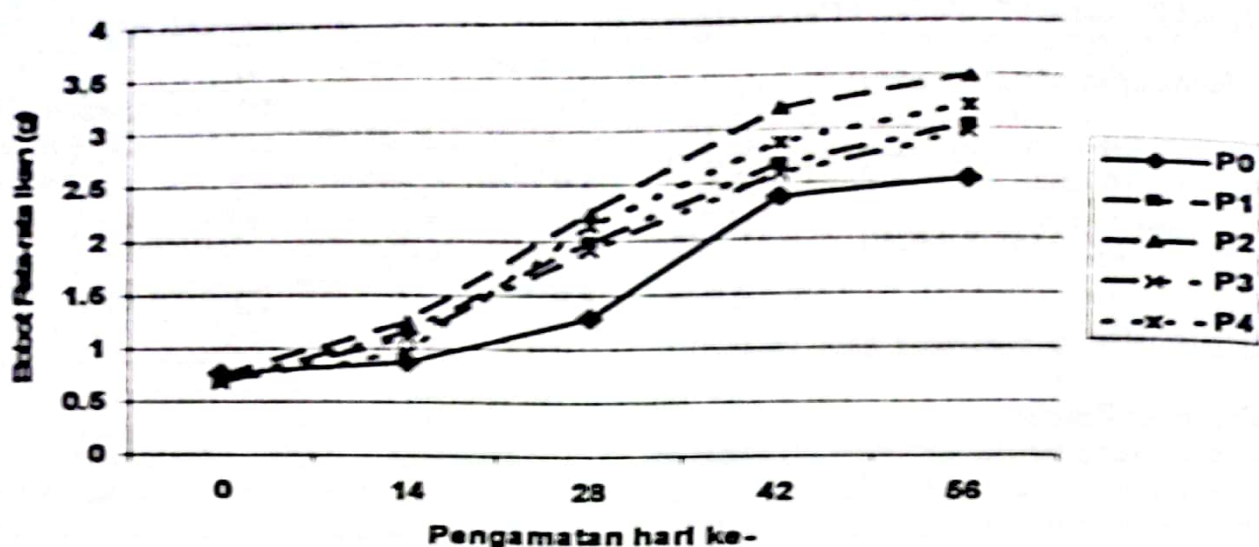
HASIL DAN PEMBAHASAN

Laju Pertumbuhan Ikan

Hasil pengamatan setiap empat belas hari terhadap bobot rata-rata ikan lele dumbo pada setiap perlakuan selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 3 dan Gambar 1.

Tabel 3. Bobot (gr) rata-rata benih ikan lele dumbo pada masing-masing perlakuan selama penelitian.

Perlakuan Vit. C (mg/Kg)	Pengamatan hari ke-				
	0	14	28	42	56
P0 (0,00)	0,759	0,865	1,279	2,383	2,538
P1 (50)	0,690	1,148	1,977	2,683	3,042
P2 (100)	0,751	1,240	2,238	3,207	3,491
P3 (150)	0,667	1,098	1,908	2,595	2,971
P4 (200)	0,701	0,959	2,141	2,873	3,211



Gambar 1. Perubahan bobot rata-rata benih ikan lele dumbo pada setiap perlakuan selama penelitian.

Pada Tabel 3 dan Gambar 1 dapat dilihat bahwa bobot ikan uji pada masing-masing perlakuan mengalami peningkatan selama penelitian. Ini berarti bahwa pakan yang diberikan dapat dimanfaatkan ikan uji untuk pertumbuhan. Pakan yang ditambah vitamin C menghasilkan pertumbuhan ikan lebih baik dibandingkan yang diberi pakan tanpa vitamin C. Peningkatan vitamin C di dalam

pakan hingga 100 mg/kg menghasilkan bobot rata-rata ikan tertinggi yaitu 3,49 g. Kemudian pemberian vitamin C di atas 100 mg/kg di dalam pakan (150 dan 200 mg/kg) menghasilkan pertumbuhan ikan kembali rendah. Untuk melihat pertumbuhan benih ikan lele dumbo setiap harinya didapat melalui perhitungan laju pertumbuhan harian yang datanya disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Laju pertumbuhan harian (%) benih ikan lele dumbo pada setiap perlakuan selama penelitian

Ulangan	Perlakuan (kadar vitamin C, mg/kg)				
	P0 (0,0)	P1 (50)	P2 (100)	P3 (150)	P4 (200)
1	2,39	2,77	2,71	2,73	3,01
2	2,08	2,66	2,85	2,79	2,35
3	2,04	2,62	2,79	2,76	2,82
Jumlah	6,51	8,05	8,35	8,11	8,18
Rata-rata	2,17 ^a	2,68 ^a	2,78 ^a	2,70 ^a	2,73 ^{a*}

Keterangan: * Huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan ada perbedaan antar perlakuan ($P < 0.01$)

Laju pertumbuhan harian ikan yang diberi pakan dengan penambahan vitamin C lebih baik dibandingkan ikan yang memperoleh pakan tanpa penambahan vitamin C. Penambahan kadar vitamin C 100 mg/kg pakan menghasilkan pertumbuhan ikan lele dumbo yang terbaik yaitu 2,78%. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa pemberian vitamin C sebanyak 100 mg/kg pakan tidak

menunjukkan perbedaan nyata dengan pemberian vitamin C 50, 150 dan 200 mg/kg pakan.

Tang dan Zulkifli (1999) dalam penelitiannya menemukan bahwa penambahan vitamin C dalam pakan ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) mempengaruhi pertumbuhan ikan tersebut. Kato et al (1994) juga melaporkan bahwa

persentase pertambahan bobot ikan yang tanpa penambahan vitamin C menunjukkan sedikit lebih rendah dibandingkan ikan yang diberikan vitamin C. Tingkat mortalitas ikan juga semakin meningkat apabila pakannya tidak diberi vitamin C dibandingkan dengan ikan yang diberi vitamin C. Adelina dan Suharman (2005) dalam penelitiannya terhadap ikan baung (*Mystus nemurus* C.V) menemukan bahwa pertumbuhan ikan yang terbaik dijumpai pada pakan yang mendapat vitamin C 200 mg/kg pakan. Walaupun bukan merupakan sumber tenaga, vitamin C dibutuhkan sebagai katalisator terjadinya proses metabolisme di dalam tubuh. Jumlah yang dibutuhkan hanya sedikit tetapi bila kekurangan akan menimbulkan gangguan dan penyakit.

Margarelli dan Calvin (1978) juga telah melakukan penelitian pada udang (*Monodon californiensis*) dan menyatakan bahwa vitamin C merupakan nutrisi yang penting bagi udang. Defisiensi vitamin C pada udang ditandai dengan pertumbuhan yang lambat, rendahnya konversi pakan, penurunan daya tahan tubuh terhadap stress dan terhambatnya sintesis kolagen. Halver (1969) menyatakan bahwa ikan rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) membutuhkan 100 mg vitamin C dalam 1 kg pakan kering untuk menjaga pertumbuhan yang normal, efisiensi pakan dan perbaikan jaringan.

Vitamin C dalam tubuh memainkan peranan yang penting dalam sintesis kolagen dan reaksi-reaksi metabolik asam amino dalam sel. Pembentukan kolagen ini sangat penting karena protein jaringan ikat tersebut mengikat sel-sel dan jaringan menjadi satu. Bahan tersebut membuat semua jenis jaringan menjadi kuat. Williams (1973) menyatakan bahwa vitamin C ini memiliki peranan yang sangat penting bagi pembentukan kolagen (daging dan tulang) tubuh. Apabila vitamin C tidak ada walaupun bahan-bahan dasar pembentuk kolagen ada, tidak akan dapat terbentuk kolagen. Semakin tinggi kadar protein dalam pakan maka kandungan asam-asam amino sebagai bahan dasar pembentuk

kolagen akan meningkat jumlahnya dan supaya bahan tersebut dapat dimetabolisme secara maksimal maka dibutuhkan vitamin C dalam jumlah yang optimal pula dalam tubuh ikan dan hal ini dapat diwujudkan melalui penambahan nutrisi tersebut ke dalam pakan.

Efisiensi Pakan

Jumlah pakan terbayak yang diberikan kepada ikan uji terdapat pada perlakuan penambahan vitamin C 100 mg/kg pakan yaitu 531,40 g, kemudian vitamin C 150 mg/kg sebanyak 526,54 g, vitamin C 200 mg/kg pakan sebanyak 499,51g, vitamin C 50 mg/kg pakan sebanyak 497,04 g, dan yang terendah pada perlakuan tanpa penambahan vitamin C yaitu 351,62 g. Dari data tersebut dapat dihitung nilai efisiensi pakan uji pada setiap perlakuan.

Tabel 5 menunjukkan bahwa efisiensi pakan ikan yang mengkonsumsi pakan dengan penambahan vitamin C lebih baik dibandingkan ikan yang mengkonsumsi pakan tanpa vitamin C. Peningkatan kandungan vitamin C dalam pakan hingga 100 mg/kg menghasilkan efisiensi pakan yang terbaik. Pemanfaatan vitamin C dalam tubuh erat kaitannya dengan meningkatnya jumlah kolagen yang dibentuk selama proses metabolisme. Hal ini sesuai dengan pendapat Steffens (1989) yang menyatakan bahwa defisiensi vitamin C dalam pakan menunjukkan gejala pada ikan seperti pertumbuhan yang lambat, rendahnya efisiensi pakan, anemia dan peningkatan mortalitas. Pemberian vitamin C dan vitamin mix 0.5 – 1.0 g per kg pakan pada budidaya ikan kerapu (*Cromileptes altivelis*) dapat meningkatkan vitalitas ikan, nafsu makan dan kesehatan ikan (Sutarmat, 2004). Menurut Halver (1969), ikan rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) membutuhkan 100 mg vitamin C dalam 1 kg pakan kering untuk menjaga pertumbuhan yang normal, efisiensi pakan dan perbaikan jaringan. Sementara pada ikan baung (*Mystus nemurus* C.V) diperoleh efisiensi pakan yang terbaik pada pemberian vitamin C 200 mg/kg pakan (Adelina dan Suharman, 2005).

Tabel 5. Efisiensi pakan benih ikan lele dumbo (%) pada setiap perlakuan selama penelitian

Ulangan	Perlakuan (kadar vitamin C. mg/kg)				
	P0 (0,0)	P1 (50)	P2 (100)	P3 (150)	P4 (200)
1	24,79	26,74	23,89	25,68	29,84
2	18,27	25,41	30,58	26,38	22,61
3	18,19	24,02	27,32	25,41	26,34
Jumlah	61,24	76,17	81,80	77,47	78,78
Rata-rata	20,41	25,39	27,27	25,82	26,26

Retensi Protein

Retensi protein sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan ikan yang dipelihara. Tabel 6 memperlihatkan nilai retensi protein ikan lele dumbo yang mengkonsumsi pakan dengan penambahan vitamin C lebih baik dibandingkan ikan yang mengkonsumsi pakan tanpa vitamin C. Hasil uji statistik

menunjukkan bahwa retensi protein ikan yang mendapat pakan dengan penambahan vitamin C 100 mg/kg pakan tidak berbeda nyata dengan ikan yang mendapat vitamin C 50, 150 dan 200 mg/kg pakan, tetapi berbeda nyata dengan ikan yang tidak mendapat vitamin di dalam pakannya.

Tabel 6. Retensi protein (%) benih ikan lele dumbo pada setiap perlakuan selama penelitian

Ulangan	Perlakuan (kadar vitamin C. mg/kg)				
	P0 (0,0)	P1 (50)	P2 (100)	P3 (150)	P4 (200)
1	7,67	12,94	9,73	12,03	13,08
2	7,19	12,82	14,36	12,62	10,17
3	5,41	10,42	13,46	12,13	9,02
Jumlah	20,26	36,18	37,55	36,78	32,28
Rata-rata	6,75 ^b	12,06 ^{ba}	12,52 ^a	12,26 ^a	10,76 ^{a*}

Keterangan : * Huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan ada perbedaan antar perlakuan ($P < 0.01$)

Meningkatnya protein tubuh ikan dalam penelitian ini berarti ikan telah mampu memanfaatkan protein yang diberikan melalui pakan secara optimal untuk kebutuhan ikan seperti metabolisme, aktivitas tubuh, perbaikan sel yang rusak dan selebihnya digunakan untuk pertumbuhan. Pakan yang menghasilkan retensi protein tubuh ikan yang tinggi akan menghasilkan laju pertumbuhan yang tinggi pula. Pakan dengan penambahan 100 mg vitamin C menghasilkan retensi protein tertinggi yaitu 12,52 % dan laju pertumbuhan harian yang tertinggi pula yaitu 2,78 %. Sedangkan retensi protein yang terendah terdapat pada perlakuan yang tidak mendapat tambahan vitamin C yaitu 6,75% menghasilkan laju pertumbuhan harian yang terendah pula yaitu 2,2 %.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi vitamin C dalam pakan akan meningkatkan retensi protein tubuh ikan. Hal ini sesuai dengan pendapat Williams (1973) yang menyatakan bahwa apabila vitamin C tidak tersedia maka bahan-bahan dasar kolagen (pembentuk daging dan tulang) tidak berkembang menjadi kolagen. Adanya penambahan vitamin C dalam pakan ikut serta berperan dalam metabolisme asam-asam amino yang sangat penting untuk memaksimalkan pemanfaatan protein dalam pakan menjadi protein dalam tubuh sehingga pertumbuhan ikan menjadi maksimal pula.

Kelulushidupan Ikan

Selama penelitian diketahui bahwa ada beberapa ikan uji yang mengalami kematian. Pada Tabel 7 terlihat bahwa kelangsungan hidup ikan lele dumbo yang

mendapat pakan dengan penambahan vitamin C jauh lebih baik dibandingkan ikan yang mendapat pakan tanpa penambahan vitamin C. Tingkat kelangsungan hidup ikan terbaik terdapat pada perlakuan yang mendapat vitamin C 150 mg/kg pakan dan

yang terendah terdapat pada ikan yang mengkonsumsi pakan tanpa penambahan vitamin C. Hal ini disebabkan karena vitamin C ikut meningkatkan kesehatan ikan sehingga dapat meningkatkan nafsu makan dan mengurangi stress pada ikan.

Tabel 7. Tingkat kelangsungan hidup benih ikan lele dumbo (%) pada setiap perlakuan selama penelitian

Ulangan	Perlakuan (kadar vitamin C. mg/kg)				
	P0 (0,0)	P1 (50)	P2 (100)	P3 (150)	P4 (200)
1	55	90	70	95	80
2	80	100	90	100	90
3	65	75	100	100	80
Jumlah	200	265	260	295	250
Rata-rata	66,67	88,33	86,67	98,33	83,33

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Penambahan vitamin C di dalam pakan berpengaruh terhadap laju pertumbuhan harian ikan dan retensi protein tubuh ikan, tetapi tidak berpengaruh terhadap efisiensi pakan dan tingkat kelulushidupan ikan lele dumbo. Perlakuan 100 mg/kg pakan menghasilkan pertumbuhan ikan lele dumbo yang terbaik.

Saran

Untuk pertumbuhan benih ikan lele dumbo yang baik, disarankan sebaiknya menggunakan vitamin C sebanyak 150 mg/kg pakan. Kemudian disarankan juga sebaiknya dilakukan penelitian lanjutan menggunakan jenis vitamin dan mineral lainnya yang penting bagi pertumbuhan ikan lele dumbo.

DAFTAR PUSTAKA

- Adelina dan I. Suharman. 2005. Pengaruh Penambahan Vitamin C Dalam Pakan Terhadap Pertumbuhan Juvenil Ikan baung (*Mystus nemurus* C.V). Jurnal Perikanan dan Kelautan 10(1).
- Halver, J. E. 1972. Fish Nutrition. Academic. Press. Inc, Florida, 713 P.

- Kato, K. Ishibashi, Y. Murata, O. Nasu, T. Ikeda, S. Kumai, H. 1994. Qualitative Water-soluble Vitamin Requirement of Tiger Puffer. Fisheries Science. 60 (5). 589-596.
- Margarelli, P. C. and L. B. Calvin. 1978. Deplation/Relpletion Dynamic of Ascorbic Acid in Two Species of Penaid : *Penaeus californiensis* and *penaeus stylirostris*.
- Steffens, W. 1989. Principles of Fish Nutrition. Ellis Harwood Limited. New York. 384 P.
- Stell, R.G.D., and J.H Torrie. 1993. Prinsip dan prosedur statistika : Suatu pendekatan biometrik. Edisi kedua. PT. Gramedia Jakarta. 772 hal.
- Tang, U. M, dan Effendie., 2000. Teknik Budidaya Ikan Baung (*Mystus nemurus* CV). Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Riau. Pekanbaru. 76 hal.
- Williams, R. 1973. Water Soluble Vitamin P.92-122 in Williams (Ed) Nutrition Diet Therapy. The Mosby Co, Sain Louis.
- Watanabe, T. 1988. Fish Nutrition and Marine Culture. Department of Aquatic Biosciencis. Tokyo University of Fisheries. Jica 233 pp.