

Suplementasi glutamin bebas dalam pakan meningkatkan respons fisiologis dan sintasan ikan botia *Chromobotia macracanthus* Bleeker, 1852

[Dietary free glutamine supplementation to increase physiological responses and survival rate of clown loach juvenile, *Chromobotia macracanthus* Bleeker, 1852]

Siti Murniasih¹, Dedi Jusadi², Mia Setiawati², Sri Nuryati²

¹Balai Riset Budidaya Ikan Hias, Kementerian Kelautan dan Perikanan
s.murniasih@yahoo.com

²Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB University
Jl. Agatis, Kampus IPB, Dramaga, Bogor 16680
siflounder@gmail.com, miasetiawati25@yahoo.com, sri.nuryati@gmail.com,

Diterima: 12 Juni 2019; Disetujui: 24 September 2019

Abstrak

Ikan botia merupakan salah satu spesies asli Indonesia. Permasalahan dalam budi daya ikan ini adalah pertumbuhan yang lambat dan sintasan yang rendah. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi penambahan glutamin bebas dengan beberapa level dosis pada pakan terhadap respons fisiologis, kinerja pertumbuhan, dan sintasan ikan botia. Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap, terdiri atas empat perlakuan dengan enam ulangan. Perlakuan berupa penambahan glutamin bebas pada pakan komersial dengan dosis berbeda yaitu 0, 1, 2, dan 3%. Ikan uji yang digunakan adalah yuwana ikan botia umur 40 hari, dipelihara dalam akuarium berukuran 40x30x30cm³ sebanyak 24 unit dengan padat tebar 50 ekor per akuarium. Pakan diberikan selama 60 hari dengan frekuensi pemberian empat kali sehari secara *at satiation*. Parameter yang diamati meliputi konsentrasi glutamin usus, morfometri vili dan usus, aktivitas protease usus, efisiensi pakan, retensi nutrien, pertumbuhan, sintasan, aktivitas *superoxide dismutase* (SOD), serta *malon-dialdehyde* (MDA). Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan glutamin bebas 1% menunjukkan nilai paling tinggi untuk parameter panjang dan luas permukaan vili yaitu 320,44±10,39 µm dan 27.046,79±250,54 µm². Dosis 1% menghasilkan pengaruh signifikan terhadap aktivitas protease (13,57±1,92 unit mg protein⁻¹) dibandingkan dosis 0%. Perlakuan dosis 2% menunjukkan aktivitas SOD (0,82±0,07 unit mg protein⁻¹) paling tinggi, sedangkan kadar MDA paling rendah terdapat pada dosis 3% (0,25±0,02 nmol mg protein⁻¹). Konsumsi pakan dengan penambahan glutamin bebas berpengaruh nyata terhadap sintasan dengan nilai tertinggi 97,00±1,00%, tetapi tidak berpengaruh nyata terhadap morfometri usus, efisiensi pakan, retensi nutrien, dan pertumbuhan. Penambahan glutamin bebas dalam pakan belum mampu meningkatkan kinerja pertumbuhan, namun mampu meningkatkan respons fisiologis dan sintasan ikan botia.

Kata penting: botia, fisiologis, glutamin bebas, sintasan

Abstract

Clown loach *Chromobotia macracanthus* is one of Indonesian native species and as a key species for ornamental aquaculture. The problem in mass production of this species are the low of growth rate which causes a long period of rearing and low of survival rate. The purpose of the present study was to evaluate free glutamine supplementation at different doses in diet to increase physiological response, growth performance and survival rate of clown loach. Experimental diets contained four different free glutamine levels, viz 0, 1, 2 and 3%. These diets were given to six replicate groups of 50 juvenile clown loaches. The fish were reared in each aquarium with dimensions of 40x30x30 cm³ for 60 days. Fish were fed four times a day at satiation. Parameters observed including intestinal glutamine concentration, villous and intestinal morphometry, intestinal protease activity, feed efficiency, nutrient retention, growth performance, survival rate, superoxide dismutase (SOD) activity, and malondialdehyde (MDA). The results showed that supplementation of 1% free glutamine significantly affected the morphometry of villi. The length and surface area of villi at a dose of 1% showed the highest values i.e., 320.44 ± 10.39 µm and 27,046.79 ± 250.54 µm², respectively. The 1% dose also had a significant effect on protease activity (13.57 ± 1.92 mg units of protein⁻¹) compared to the 0% dose. The 2% dose showed the highest SOD activity (0.82 ± 0.07 mg protein⁻¹ unit) and the lowest MDA level was found at a dose of 3% (0.25 ± 0.02 nmol mg protein⁻¹). Feed consumption with the supplementation of free glutamine has a significant effect on survival rate with the highest value reached 97.00 ± 1.00%, but no significant effect on intestinal morphometry, feed efficiency, nutrient retention and growth performance. Dietary with the supplementation of free glutamine is not able to improve growth performance, but can improve the physiological response and survival rate.

Keywords: clown loach, free glutamine, physiological response, survival rate

Pendahuluan

Botia (*Chromobotia macracanthus*) atau lebih dikenal dengan *clown loach* adalah salah satu jenis ikan hias air tawar asli Indonesia dengan wilayah distribusi perairan sungai di Sumatera dan Kalimantan (Kottelat *et al.* 1993). Menurut Slembrouck *et al.* (2012) ikan botia merupakan komoditas utama dalam perdagangan ikan hias air tawar internasional. Pemenuhan kebutuhan ekspor ikan hias botia hasil budi daya perlu dilakukan sehubungan dengan regulasi yang membatasi perdagangan ikan hias hasil tangkapan alam. Produksi massal ikan botia masih dihadapkan pada masalah pertumbuhan ikan yang lambat dan rendahnya sintasan (Permana *et al.* 2015). Upaya peningkatan produksi ikan hias botia dapat dilakukan melalui pendekatan nutrisi dengan penambahan glutamin dalam pakan.

Glutamin adalah salah satu jenis asam amino bebas yang melimpah di dalam plasma dan otot hewan (Wu *et al.* 1994). Glutamin berperan penting sebagai mediator dalam sejumlah proses metabolisme dan sebagai regulator proses fisiologis penting seperti sintesis glikogen, glukogenesis, dan lipolisis (Barbosa *et al.* 2006). Glutamin juga berperan dalam mengatur status oksidatif usus dan menjadi prekursor *glutathione* yang merupakan molekul antioksidan penting (Cheng *et al.* 2011). Glutamin merupakan sumber energi utama untuk proliferasi enterosit, limfosit, dan sel-sel mukosa usus. Metabolisme glutamin usus bergantung pada asupan glutamin pakan, sehingga pemeliharaan fungsi fisiologi usus normal juga bergantung pada ketersediaan nutrisi glutamin (Coutinho *et al.* 2016). Dalam kondisi stres dan kondisi yang berkaitan dengan patologi, jumlah glutamin yang dihasilkan melalui sintesis endogen tidak dapat memenuhi ke-

butuhan tubuh. Kebutuhan glutamin yang tidak tercukupi akan menyebabkan defisiensi dan meningkatkan katabolisme protein tubuh sehingga perlu ditambahkan (Petra *et al.* 2001). Peningkatan konsentrasi glutamin intraseluler mendorong sintesis protein dan menghambat proteolisis pada otot dan enterosit (Xi *et al.* 2011).

Glutamin terdapat dalam bentuk bebas (L-glutamin) dan dipeptida seperti alanyl-glutamin dan glysil-glutamin. Penambahan glutamin dalam bentuk bebas maupun dipeptida dalam pakan menunjukkan peningkatan kinerja pertumbuhan dan kesehatan pada banyak ikan. Pakan dengan penambahan glutamin meningkatkan bobot tubuh, efisiensi pakan, bobot usus, panjang vili, struktur histologi dan aktivitas enzim pencernaan pada ikan jian carp (Lin & Zhou 2006) dan red drum (Cheng *et al.* 2011). Penambahan glutamin bebas 0,5-2% dapat meningkatkan kemampuan antioksidan enzimatik dan resistensi stres (Liu *et al.* 2015). Wang *et al.* (2011) melaporkan bahwa penambahan alanyl-glutamin 0,5-1,0% dalam pakan terbukti meningkatkan pertumbuhan dan fungsi fisiologi larva sturgeon (*Acipenser* sp.), meningkatkan kapasitas antioksidan melalui peningkatan aktivitas enzim *superoxide dismutase* (SOD), dan secara signifikan menurunkan kadar *malondialdehyde* (MDA).

Berdasarkan pentingnya glutamin dalam fungsi fisiologis, pertumbuhan dan status kesehatan ikan, maka penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengevaluasi penambahan glutamin bebas berbagai level dosis dalam pakan terhadap respons fisiologis, kinerja pertumbuhan, dan sintasan ikan botia (*Chromobotia macracanthus*).

Bahan dan metode

Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret-November 2018. Pemeliharaan ikan uji, analisis proksimat, analisis kualitas air, analisis enzim, dan antioksidan dilaksanakan di Balai Riset Budidaya Ikan Hias, Depok, sedangkan pembuatan preparat histologi usus dilaksanakan di Laboratorium Kesehatan Ikan, Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.

Rancangan penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL), yang terdiri atas empat perlakuan dengan enam ulangan. Perlakuan pada penelitian ini berupa dosis penambahan glutamin bebas (L-Gln) pada pakan yaitu 0%, 1%, 2%, dan 3%.

Pakan uji

Pakan yang digunakan adalah pakan komersial yang ditambah glutamin bebas sesuai

dengan dosis perlakuan. Glutamin yang ditambahkan berupa glutamin bebas (L-Gln) produk komersial dari Gluta Pure, dengan tingkat kemurnian 99%. Pakan juga ditambahkan glisin sehingga semua perlakuan isoprotein dengan kandungan protein 51% (Tabel 1). Glisin dipilih karena tidak berperan sebagai prekursor glutamin dalam metabolismenya dan mempunyai struktur paling sederhana (Buentello & Gatlin 2000).

Penyiapan pakan uji diawali dengan menyiapkan wadah pakan sebanyak empat wadah sesuai dengan jumlah perlakuan. Glutamin bebas dan glisin yang telah ditimbang sesuai dengan dosis pada Tabel 1, dimasukkan ke dalam masing-masing wadah dan dicampurkan secara merata. Setelah itu pakan komersial secara bertahap ditambahkan ke dalam wadah tersebut sambil diaduk menggunakan *mixer* sehingga pakan, glutamin bebas, dan glisin tercampur secara merata. Sebelum diberikan pada ikan, pakan ditimbang dan ditambahkan air sebanyak 2 mL g⁻¹ pakan lalu dibentuk pasta.

Tabel 1 Pakan uji dan hasil analisis proksimat

| Komposisi (%) | Dosis penambahan glutamin bebas | | | |
|-------------------------------------|---------------------------------|--------|--------|--------|
| | 0% | 1% | 2% | 3% |
| Pakan komersial | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 |
| L-Gln | 0,00 | 1,00 | 2,00 | 3,00 |
| Glisin | 3,00 | 2,00 | 1,00 | 0,00 |
| Analisis proksimat (% bobot kering) | | | | |
| Kadar air | 5,90 | 6,00 | 6,10 | 6,10 |
| Protein | 51,41 | 51,53 | 51,82 | 51,85 |
| Lemak | 6,06 | 5,96 | 6,28 | 5,86 |
| Serat kasar | 2,23 | 3,19 | 1,70 | 1,92 |
| Kadar abu | 13,92 | 14,47 | 14,16 | 15,02 |
| BETN | 26,38 | 24,85 | 26,02 | 25,35 |
| GE (kkal 100 g ⁻¹) | 452,99 | 446,47 | 455,98 | 449,40 |
| C/P | 8,81 | 8,66 | 8,80 | 8,67 |

Keterangan: BETN = bahan ekstrak tanpa nitrogen, GE = *grossenergy* 1 g protein = 5,6 kkal GE, 1 g karbohidrat/BETN = 4,1 kkal GE, 1 g lemak = 9,4 kkal GE (Watanabe 1988), C/P: perbandingan rasio energi pakan dengan jumlah protein pakan

Penyiapan pakan uji diawali dengan menyiapkan wadah pakan sebanyak empat wadah sesuai dengan jumlah perlakuan. Glutamin bebas dan glisin yang telah ditimbang sesuai dengan dosis pada Tabel 1, dimasukkan ke dalam masing-masing wadah dan dicampurkan secara merata. Setelah itu pakan komersial secara bertahap ditambahkan ke dalam wadah tersebut sambil diaduk menggunakan *mixer* sehingga pakan, glutamin bebas, dan glisin tercampur secara merata. Sebelum diberikan pada ikan, pakan ditimbang dan ditambahkan air sebanyak 2 mL g⁻¹ pakan lalu dibentuk pasta.

Pemeliharaan ikan uji

Ikan uji yang digunakan adalah yuwana ikan botia berumur 40 hari diperoleh dari hasil pemijahan buatan dengan induksi hormonal. Ikan ditebar ke dalam wadah pemeliharaan yang berupa akuarium berukuran 40 x 30 x 30 cm³ sebanyak 24 buah dengan volume air 20 L. Pemeliharaan ikan selama 60 hari dengan kepadatan 50 ekor setiap akuarium pada sistem resirkulasi. Pakan uji diberikan secara satiasi sebanyak empat kali sehari pada pukul 08.00, 12.00, 16.00 dan 20.00 WIB. Sebelum diberikan pakan uji, ikan diadaptasikan dengan pakan kontrol tanpa penambahan glutamin bebas dan atau glisin selama 14 hari. Setiap 90 menit setelah pemberian pakan, sisa pakan disipon, dikeringkan dan ditimbang untuk menghitung konsumsi pakan. Selama pemeliharaan, kualitas air dijaga dengan penggantian air yang dilakukan setiap dua hari sekali sebanyak 75%. Pemantauan kualitas air dilakukan dengan pengukuran parameter suhu, kandungan oksigen terlarut, ammonia, pH, dan nitrit. Parameter suhu diukur menggunakan termometer, oksigen terlarut diukur dengan DO meter, pH diukur dengan pH meter sedangkan

ammonia dan nitrit diukur secara spektrofotometris menggunakan spektrofotometer.

Parameter penelitian

Parameter yang diamati meliputi konsentrasi glutamin usus, morfometri vili dan usus, aktifitas protease usus, efisiensi pakan, retensi nutrisi, pertumbuhan, sintasan, aktivitas *superoxide dismutase* (SOD), serta *malondialdehyde* (MDA). Pengukuran L-Gln dalam usus menggunakan Glutamine Colorimetric Assay Kit dari Abcam (Ab197011). Pembacaan serapan pada panjang gelombang 450 nm menggunakan *Elisa Reader*. Konsentrasi glutamin dinyatakan dalam satuan nmol mL⁻¹.

Morfometri vili diamati dengan membuat preparat histologis usus bagian depan yuwana botia dengan pewarnaan hematoksilin eosin. Pengukuran panjang vili dan perhitungan luas permukaan vili berdasarkan metode yang dikembangkan oleh Iji *et al.* (2001) yaitu rata-rata basal vili ditambah dengan rata-rata lebar vili apikal dibagi dengan dua kali rata-rata panjang/tinggi vili.

$$\text{Luas vili} = \frac{(b+c)}{2 \times a}$$

Keterangan: a = panjang/tinggi vili, b = lebar apikal vili, c = lebar basal vili

Aktivitas protease dianalisis menggunakan metode Bergmeyer *et al.* (1983). Kasein digunakan sebagai substrat dan tirosin sebagai standar. Penyerapan sampel dibaca pada panjang gelombang 578 nm. Satu unit protease mengekspresikan 1 mM tirosin yang dilepaskan oleh 1 g sampel per menit. Rumus yang digunakan untuk menghitung aktivitas protease adalah sebagai berikut:

$$UA = \frac{AB_{sp} - AB_{bl}}{AB_{st} - AB_{bl}} \times FP \times \frac{1}{T}$$

Keterangan: UA = Jumlah enzim yang dapat menghasilkan 1 μmol tirosin per menit (IU mL⁻¹), AB_{sp} =

absorbansi sampel, ABst = absorbansi standar, Abbl = absorbansi blanko, FP= faktor koreksi, T = waktu inkubasi

Aktivitas enzim protease selanjutnya dinyatakan dalam satuan unit mg^{-1} protein setelah diukur konsentrasi protein terlarut yang diukur dengan pembacaan absorbansi larutan sampel menggunakan alat Nano Drop pada panjang gelombang 280 nm.

Jumlah konsumsi pakan (JKP) setiap hari dihitung berdasarkan selisih pakan yang diberikan dengan sisa pakan. Efisiensi pakan, retensi protein, dan retensi lemak dihitung berdasarkan rumus perhitungan Watanabe (1988) sebagai berikut:

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

Keterangan: EP = efisiensi pakan (%), W_t =bobot rata-rata ikan pada akhir pemeliharaan (g), W_0 =bobot ikan pada awal pemeliharaan (g), W_d =bobot ikan yang mati selama masa pemeliharaan (g), F = jumlah pakan yang diberikan selama pemeliharaan (g)

Retensi nutrisi protein dan lemak merupakan prosentase peningkatan nutrisi dalam tubuh ikan per unit nutrisi yang dikonsumsi.

$$\text{Retensi nutrisi} = \frac{ND_t - ND_0}{JND} \times 100$$

Keterangan: ND_t =jumlah nutrisi dalam daging akhir (g), ND_0 =jumlah nutrisi dalam daging awal (g), JND= jumlah nutrisi yang dikonsumsi

Parameter pertumbuhan yang diamati meliputi pertumbuhan bobot mutlak dan laju pertumbuhan panjang harian. Pertumbuhan bobot mutlak dihitung menggunakan rumus:

$$PW = W_t - W_0$$

Keterangan: PW = pertumbuhan bobot mutlak (g), W_t = bobot rata-rata ikan pada akhir pemeliharaan (g), W_0 = bobot ikan pada awal pemeliharaan (g)

Laju pertumbuhan panjang harian dihitung berdasarkan rumus sebagai berikut:

$$LPPH = \frac{\ln L_t - \ln L_0}{t} \times 100$$

Keterangan: LPPH= laju pertumbuhan panjang harian (%), L_t = Panjang total rata-rata ikan pada akhir pemeliharaan (cm), L_0 = Panjang total rata-rata ikan pada awal pemeliharaan (cm), t= lama waktu pemeliharaan

lihaaran (cm), L_0 = Panjang total rata-rata ikan pada awal pemeliharaan (cm), t= lama waktu pemeliharaan

Sintasan ikan dihitung pada akhir masa pemeliharaan berdasarkan rumus Huisman (1987):

$$\text{Sintasan} = \frac{N_t}{N_0} \times 100$$

Keterangan: N_t = jumlah ikan pada akhir pemeliharaan (ekor), N_0 = jumlah ikan pada awal pemeliharaan (ekor).

Aktivitas SOD diukur berdasarkan metoda yang dikembangkan oleh Misra & Fridovich (1972). Pengukuran serapan menggunakan spektrofotometer pada menit ke-1, 2, 3, dan 4 setelah penambahan epinefrin 0,003M. Aktivitas SOD dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$A = \frac{B - C}{B} \times 100$$

Keterangan: A= % hambatan, B = Δ abs mnt^{-1} tanpa sampel, C = Δ abs mnt^{-1} sampel

Satuan aktivitas SOD selanjutnya dinyatakan dalam unit mg protein^{-1} dengan pembuatan kurva standar SOD. Kurva standar dibuat dari pengukuran serapan larutan standar yang telah diketahui aktivitasnya. Hasil serapan dikonversi ke dalam bentuk % hambatan (sumbu Y) dan aktivitas SOD dalam unit mg^{-1} protein (sumbu x).

Kadar MDA diukur mengikuti metode Singh *et al.* (2002). Standar yang digunakan adalah TEP (1,1,3,3-tetraetoksipropana). Larutan standar dibuat pada berbagai konsentrasi untuk mendapatkan kurva standar. Serapan supernatan sampel dan larutan standar dibaca pada panjang gelombang 480 nm. Kurva standar dibuat dengan memplotkan nilai serapan (sumbu Y) dengan konsentrasi standar (sumbu x). Kadar MDA sampel yang diperoleh dinyatakan dalam satuan nmol mg^{-1} protein.

Analisis statistik

Data konsentrasi glutamin bebas dalam usus dianalisis secara deskriptif. Data morfometri vili, aktivitas protease, status antioksidan, konsumsi pakan, efisiensi pakan, retensi nutrisi, parameter kinerja pertumbuhan, dan sintasan ikan diuji statistik satu arah dengan *analysis of variance* (ANOVA) menggunakan SPSS versi 21. Perbedaan antarperlakuan diuji lanjut dengan *Duncan's Multiple Range Test* pada selang kepercayaan 95%.

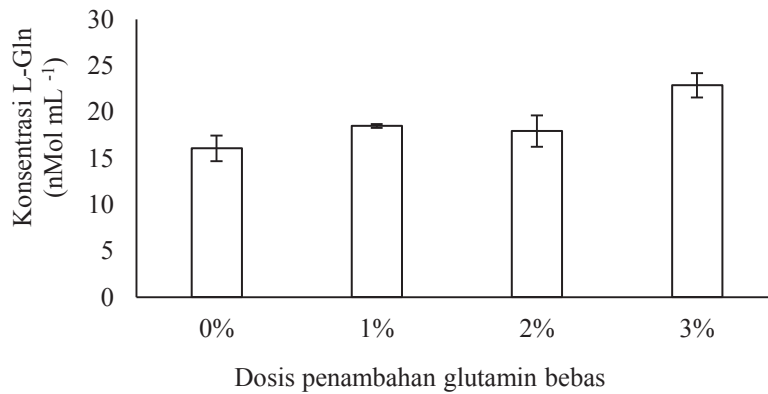
Hasil

Pemberian pakan dengan penambahan glutamin bebas selama 60 hari dapat meningkatkan konsentrasi L-Gln di dalam usus yuwana ikan botia. Asupan glutamin bebas menunjukkan penyerapan yang baik oleh usus. Pada ikan

yang tidak diberi tambahan glutamin bebas menunjukkan konsentrasi paling rendah (Gambar 1).

Hasil pengukuran vili ikan botia yang diberi pakan dengan dosis penambahan glutamin bebas berbeda disajikan pada Tabel 2. Penambahan glutamin bebas dalam pakan memberikan pengaruh signifikan terhadap morfometri vili baik panjang maupun luas area permukaan vili.

Nilai rata-rata panjang vili pada dosis 1-3% menunjukkan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) namun berbeda nyata dibandingkan dosis 0% ($P < 0,05$). Dosis 1% juga menunjukkan luas permukaan vili yang paling tinggi yaitu $27.046,79 \pm 250,5 \mu\text{m}^2$ dan berbeda nyata dibandingkan perlakuan lainnya. Luas vili paling rendah terdapat pada dosis 0% yaitu $20.352,23 \pm 414,36 \mu\text{m}^2$.



Gambar 1 Konsentrasi L-Gln usus ikan botia pada akhir pemeliharaan

Tabel 2 Morfometri vili ikan botia dengan dosis penambahan glutamin bebas berbeda

| Dosis penambahan glutamin bebas | Parameter | |
|---------------------------------|----------------------------------|---------------------------------------|
| | PV (μm) | LV (μm^2) |
| 0% | 256,36 \pm 6,11 ^a | 20.352,23 \pm 414,36 ^a |
| 1% | 320,44 \pm 10,39 ^b | 27.046,79 \pm 250,54 ^c |
| 2% | 290,17 \pm 12,89 ^{ab} | 23.212,68 \pm 798,28 ^b |
| 3% | 290,89 \pm 15,17 ^{ab} | 21.481,11 \pm 1.751,18 ^b |

Keterangan: PV=panjang vili, LV= luas permukaan vili. Nilai yang tertera adalah nilai rata-rata \pm simpangan baku. Huruf tika atas di belakang simpangan baku yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$)

Hasil pengukuran panjang usus, diameter usus, rasio panjang usus dengan panjang total ikan botia disajikan pada Tabel 3. Konsumsi pakan yang ditambah glutamin bebas menunjukkan nilai morfometrik usus yang tidak berbeda nyata antar perlakuan ($P>0,05$).

Pengaruh penambahan glutamin bebas dalam pakan terhadap aktivitas enzim protease usus ikan botia disajikan pada Gambar 2. Aktivitas enzim protease pada dosis glutamin 1%, 2% dan 3% tidak berbeda nyata tetapi lebih tinggi dan berbeda nyata dibandingkan dosis 0%.

Hasil pengamatan kinerja pertumbuhan dan sintasan ikan botia yang diberi pakan dengan dosis penambahan glutamin bebas berbeda selama 60 hari disajikan pada Tabel 4. Perbeda-

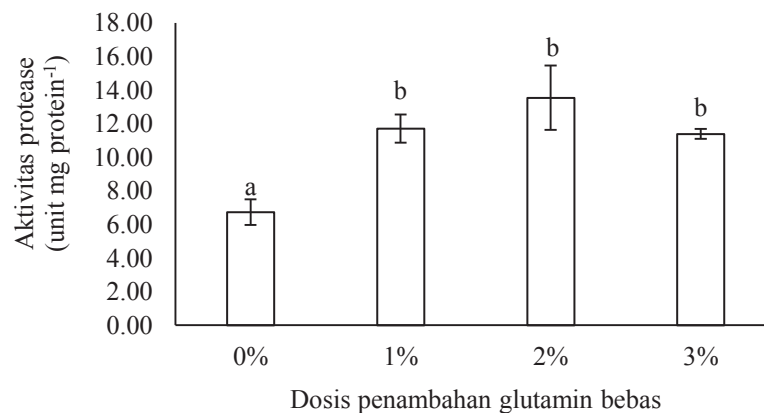
an dosis glutamin tidak berpengaruh nyata terhadap LPPH, JKP, EP, RP dan RL tetapi berpengaruh nyata terhadap sintasan. Sintasan pada dosis glutamin 1%, 2% dan 3% tidak berbeda nyata tetapi lebih tinggi dan berbeda nyata dibandingkan dosis 0%.

Aktivitas SOD pada dosis 2% tidak berbeda nyata dengan dosis 3% namun berbeda nyata dibandingkan pada dosis 1% dan 0% (Gambar 3). Ikan botia yang mengkonsumsi pakan dengan penambahan glutamin bebas 3% menghasilkan MDA paling rendah ($0,25\pm 0,01$ nmol mg protein⁻¹) dan berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Kadar MDA paling tinggi terdapat pada dosis 0% yaitu $0,59\pm 0,01$ nmol mg protein⁻¹.

Tabel 3 Morfometri usus ikan botia dengan dosis penambahan glutamin bebas berbeda

| Dosis penambahan glutamin bebas | Parameter | | |
|---------------------------------|-------------------|-------------------|------------------------|
| | PU (cm) | PU/PT | DU (μ m) |
| 0% | $2,12 \pm 0,04^a$ | $0,50 \pm 0,01^a$ | $1.387,95 \pm 22,96^a$ |
| 1% | $2,27 \pm 0,07^a$ | $0,52 \pm 0,02^a$ | $1.473,60 \pm 41,14^a$ |
| 2% | $2,19 \pm 0,08^a$ | $0,51 \pm 0,01^a$ | $1.321,26 \pm 8,94^a$ |
| 3% | $2,19 \pm 0,04^a$ | $0,50 \pm 0,01^a$ | $1.384,76 \pm 55,83^a$ |

Keterangan: PU = panjang usus, PU/PT = rasio panjang usus/panjang tubuh, DU = diameter usus. Nilai yang tertera adalah nilai rata-rata \pm simpangan baku. Tika atas yang sama di belakang nilai simpangan baku pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($P>0,05$)

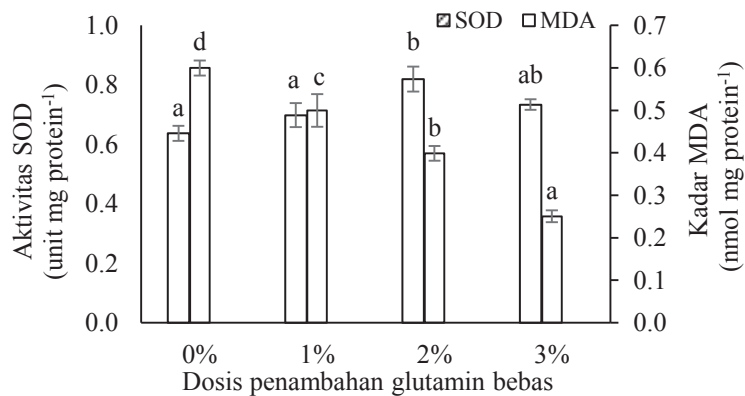


Gambar 2 Aktivitas enzim protease usus ikan botia dengan dosis penambahan glutamin bebas berbeda. Huruf berbeda di atas garis simpangan baku menunjukkan pengaruh berbeda nyata ($p<0,05$)

Tabel 4 Kinerja pertumbuhan dan sintasan ikan botia dengan dosis penambahan glutamin bebas berbeda

| Parameter | Dosis penambahan glutamin bebas | | | |
|---------------------------------|---------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | 0% | 1% | 2% | 3% |
| PW (g) | 0,68±0,04 ^a | 0,73±0,13 ^a | 0,71±0,08 ^a | 0,74±0,13 ^a |
| LPPH (%) | 0,85±0,03 ^a | 0,89±0,04 ^a | 0,89±0,03 ^a | 0,91±0,02 ^a |
| JKP (g individu ⁻¹) | 4,58±0,06 ^a | 4,41±0,06 ^a | 4,34±0,06 ^a | 4,29±0,10 ^a |
| EP (%) | 23,09±1,06 ^a | 21,65±2,87 ^a | 23,15±1,84 ^a | 21,65±6,40 ^a |
| RP (%) | 7,61±0,22 ^a | 7,96±0,45 ^a | 6,80±1,26 ^a | 7,09±1,18 ^a |
| RL (%) | 34,84±7,52 ^a | 36,06±8,13 ^a | 35,88±7,65 ^a | 35,86±2,73 ^a |
| Sintasan (%) | 90,00±2,36 ^a | 96,33±1,66 ^b | 97,00±1,00 ^b | 96,67±1,83 ^b |

Keterangan: PW = pertumbuhan bobot mutlak, LPPH = laju pertumbuhan panjang harian, JKP = jumlah konsumsi pakan, EP = efisiensi pakan, RP = retensi protein, RL = retensi lemak. Nilai yang tertera adalah nilai rata-rata±simpangan baku. Huruf tika atas yang sama di belakang nilai simpangan baku pada baris yang sama menunjukkan pengaruh tidak berbeda nyata (P>0,05)



Gambar 3 Aktivitas *superoxide dismutase* dan kadar *malondialdehyde* ikan botia dengan dosis penambahan glutamin bebas berbeda. Huruf berbeda di atas garis simpangan baku menunjukkan pengaruh berbeda nyata (p<0.05)

Pembahasan

Usus adalah organ utama yang memanfaatkan glutamin (Windmueller & Spaeth 1980). Katabolisme glutamin oleh enterosit usus dimanfaatkan untuk pertahanan, integritas dan fungsi usus. Jiang *et al.* (2009) menyatakan bahwa glutamin memacu proliferasi enterosit pada ikan. Proliferasi sel dalam saluran pencernaan terjadi pada bagian basal lipatan mukosa dan diikuti perpindahan seluler ke ujung lipatan (Bakke-Mckellep *et al.* 2007). Proliferasi dan migrasi membutuhkan ketersediaan energi dan nutrisi yang besar. Wu *et al.* 2011 menyatakan bahwa glutamin merupakan sumber energi untuk pembelahan sel-sel, seperti limfosit, entero-

sit, dan sel mukosa usus. Dengan penambahan glutamin bebas, menambah ketersediaan energi untuk proliferasi enterosit. Pembelahan dan perkembangan sel enterosit mengakibatkan bertambahnya panjang dan luas area permukaan vili ikan botia. Peningkatan morfometri vili pada ikan botia tidak menyebabkan peningkatan morfometri usus. Peningkatan ukuran vili juga terjadi pada ikan mirror carp (*Cyprinus carpio*) seiring dengan penambahan level alanin-glutamin 0,75-1,5% (Xu *et al.* 2014). Pada ikan red drum (*Sciaenops ocellatus*) penambahan 2% glutamin menghasilkan rasio panjang usus paling besar dan meningkatkan ukuran mikrovili dan enterosit (Cheng *et al.* 2011).

Peningkatan morfometri vili pada penelitian ini menyebabkan meningkatnya fungsi usus yang ditunjukkan dengan adanya peningkatan aktivitas protease secara signifikan. Penambahan glutamin sebesar 1% sudah mampu meningkatkan aktivitas protease. Hal serupa ditemukan pada penelitian Xu *et al.* (2014) yaitu penambahan glutamin hingga 1,5% meningkatkan aktivitas protease ikan mas (*Cyprinus carpio* L). Hasil penelitian Lin dan Zhou (2006) juga menunjukkan peningkatan aktivitas protease pada usus yuwana ikan *Cyprinus carpio* var. Jian seiring dengan tingkat penambahan glutamin dari 0,4-1,2%.

Peningkatan morfometri vili dan aktivitas enzim protease meningkatkan kapasitas pencernaan protein pada ikan botia, namun demikian belum mampu memberikan efek positif terhadap efisiensi pakan, retensi protein dan lemak. Nilai retensi lemak pada semua level dosis lebih tinggi dibandingkan dengan nilai retensi protein. Hal ini menunjukkan ikan lebih banyak memanfaatkan energi dari protein untuk aktivitasnya, sehingga sedikit protein yang digunakan untuk pertumbuhannya. Parameter bobot dan panjang ikan akhir, serta laju pertumbuhan panjang harian pada penelitian ini belum mampu ditingkatkan dengan penambahan glutamin bebas. Hal ini serupa dengan hasil penelitian Pohlenz *et al.* (2012) pada ikan channel catfish yang diberi penambahan glutamin bebas selama 10 minggu. Coutinho *et al.* (2016) juga melaporkan tidak ada perbedaan pertumbuhan pada ikan gilthead sea bream dengan penambahan glutamin bebas. Penelitian yang menggunakan glutamin dipeptida (alanyl-glutamin) menunjukkan peningkatan pertumbuhan yang signifikan. Penambahan alanyl-glutamin (Aln-Gln) sebanyak 0,75-1,5% meningkatkan bobot tubuh 26,3- 29,36% pada

ikan mirror carp (Xu *et al.* 2014). Pada larva sturgeon (*Acipenser* sp), penambahan sebesar 0,5-1,0% meningkatkan pertumbuhan harian 3,83-4,10% (Wang *et al.* 2011).

Penggunaan glutamin bebas pada ikan botia kurang efektif memengaruhi pertumbuhannya. Hal ini diduga karena glutamin bebas lebih cepat diserap dan lebih cepat pula dilepaskan kembali, sehingga sedikit yang dapat dimanfaatkan untuk memenuhi kebutuhan untuk pertumbuhannya. Tingkat pengangkutan glutamin bebas ke dalam plasma juga rendah, mengindikasikan tingkat ekstraksi yang tinggi pada sel-sel usus, sehingga lebih efektif mendukung fungsi sel usus (Harris *et al.* 2012). Oleh karena glutamin dalam plasma sedikit, pemenuhan kebutuhan sel yang bergantung pada plasma dapat menyebabkan pelepasan glutamin dari otot dan mengurangi cadangan glutamin otot. Boza *et al.* (2000) menyatakan bahwa konsentrasi glutamin lebih rendah dengan penambahan glutamin bebas dibandingkan dalam bentuk dipeptida. Konsekuensinya, penurunan cadangan glutamin otot berpotensi menurunkan sintesis protein sehingga tidak mendukung untuk pertumbuhan.

Meskipun tidak berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan, penambahan glutamin bebas pada penelitian ini meningkatkan sintasan hidup ikan botia. Hasil ini selaras dengan penelitian Liu *et al.* (2015) pada larva *Cynoglossus semilaevis*. Penelitian Wang *et al.* (2011) pada hibrid sturgeon juga menunjukkan sintasan lebih tinggi pada ikan yang diberi penambahan glutamin. Peningkatan sintasan ikan botia seiring dengan peningkatan kemampuan antioksidan yang dibuktikan dengan peningkatan aktivitas SOD serta penurunan MDA yang dihasilkan. Aktivitas SOD pada penelitian ini meningkat sedangkan kadar MDA menurun seiring bertambahnya do-

sis penambahan glutamin bebas. Kondisi serupa ditemukan juga pada ikan sturgeon (Wang *et al.* 2011) dan mirror carp (Xu *et al.* 2014). Ighodaro & Akinloye (2018) menyatakan bahwa SOD merupakan enzim antioksidan endogen paling kuat dalam sel yang bertindak sebagai komponen sistem pertahanan garis depan terhadap senyawa radikal bebas *reactive oxygen species* (ROS).

ROS dihasilkan selama proses metabolisme. Ketika tingkat ROS mencapai di atas ambang batas, peningkatan peroksidasi lipid terjadi baik pada sel maupun membran organel dan selanjutnya memengaruhi fungsi sel normal. Peroksidasi lipid meningkatkan stress oksidatif melalui produksi radikal yang diturunkan dari lipid itu sendiri yang dapat bereaksi dengan protein dan DNA yang menyebabkan kerusakan (Sharma *et al.* 2012). Peroksidasi lipid menghasilkan produk akhir MDA dalam jumlah tinggi, sehingga dijadikan biomarker utama kerusakan oksidatif. Penambahan glutamin bebas meningkatkan kemampuan antioksidan secara enzimatik melalui peningkatan aktivitas SOD. SOD mengkatalisis pemutusan dua molekul anion superoksida (O_2^-) menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) dan molekul oksigen (O_2), sehingga mengurangi potensi bahaya anion superoksida (Ighodaro & Akinloye 2018). Peningkatan aktivitas SOD berpotensi mengurangi ROS dan menyebabkan menurunnya produksi MDA. Penurunan MDA juga dapat disebabkan oleh peningkatan molekul antioksidan *glutathione* (GSH) sebagai akibat penambahan glutamin bebas. Peningkatan sintasan ikan botia juga diduga karena glutamin menyediakan substrat energi untuk limfosit (Newsholme, 2001) sehingga meningkatkan status kesehatan ikan.

Simpulan

Pemberian pakan dengan penambahan glutamin bebas belum mampu meningkatkan kinerja pertumbuhan pada ikan botia. Penambahan glutamin bebas meningkatkan respons fisiologis dan sintasan ikan botia.

Daftar pustaka

- Bakke-McKellep AM, Penn HM, Salas PM, Refstie S, Sperstad S, Landsverk T, Ringø E, Krogdah AS. 2007. Effects of dietary soybean meal, inulin and oxytetracycline on intestinal microbiota and epithelial cell stress, apoptosis and proliferation in the teleost Atlantic salmon (*Salmo salar L.*). *British Journal of Nutrition*, 97(4): 699-713.
- Barbosa R, Guimaraes S, Vasconcelos P, Chaves C. 2006. Metabolic effects of l-alanyl-glutamine in burned rats. *Burns*, 32(6): 721-727.
- Bergmeyer HU, Grossl M, Walter HE. 1983. Samples, reagents, assessment of results Vol. 2, In: Bergmeyer HU (ed). *Methods in enzymatic analysis 3rd edition*. Academic Press, The University of Michigan. 539 p.
- Boza JJ, Maire JC, Bovetto L. 2000. Plasma glutamine response to enteral administration of glutamine in human volunteers (free glutamine versus protein-bound glutamine). *Nutrition*, 16(11-12): 1037-1042.
- Buentello JA, Gatlin DM. 2000. The dietary arginine requirement of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) is influenced by endogenous synthesis of arginine from glutamic acid. *Aquaculture*, 188(3-4): 311-321.
- Cheng ZY, Buentello A, Gatlin DM. 2011. Effects of dietary arginine and glutamine on growth performance, immune responses and intestinal structure of red drum, *Sciaenops ocellatus*. *Aquaculture*, 319(1-2): 247-252.
- Coutinho F, Castro C, Palomares ER, Grande BO, Gallardo MA, Teles AO, Peres H. 2016. Dietary glutamine supplementation effect on amino acid metabolism, intestinal nutrient absorption capacity and anti-

- oxidant response of gilthead sea bream *Sparatus aurata* juveniles. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, 191: 9-17.
- Harris R, Hoffman JR, Allsopp A, Routledge NBH. 2012. L-glutamine absorption is enhanced after ingestion of L-alanyl glutamine compared with the free amino acid or wheat protein. *Nutrition Research*, 32(4): 272-277.
- Huisman EA. 1987. *The Principles of Fish Culture Production*. Department of Aquaculture. Wageningen University. Netherland. 170 p.
- Igodharo OM, Akinloye OA. 2018. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*, 54(8): 287-293.
- Iji PA, Saki A, Tivey DR. 2001. Body and intestinal growth of broiler chicks on commercial starter diet. I. intestinal weight and mucosal development. *British Poultry Science*, 42(4): 505-513.
- Jiang J, Zheng T, Zhou XQ, Liu Y, Feng L. 2009. Influence of glutamine and vitamin E on growth and antioxidant capacity of fish enterocytes. *Aquaculture Nutrition*, 15(4): 409-414.
- Kottelat M, Whitten AJ, Kartikasari SN, Wirjotmodjo. 1993. *Freshwater fishes of western Indonesia and Sulawesi*. Hongkong (HK). Periplus Editions. 221 p.
- Lin Y, Zhou XQ. 2006. Dietary glutamine supplementation improves structure and function of intestine of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). *Aquaculture*, 256(1-4): 389-394.
- Liu J, Mai K, Xu W, Zhang Y, Zhou H, Ai Q. 2015. Effects of dietary glutamine on survival, growth performance, activities of digestive enzyme, antioxidant status and hypoxia stress resistance of half-smooth tongue sole (*Cynoglossus semilaevis* Günther) post larvae. *Aquaculture*, 446: 48-56.
- Misra HP, Fridovich I. 1972. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and simple assay for superoxide dismutase. *Journal of Biological Chemistry*, 247(12): 3170-3175.
- Newsholme P. 2001. Why is L-glutamine metabolism important to cells of the immune system in health, postinjury, surgery or infection. *Journal of Nutrition*, 131(9 Suppl): 2515-2522.
- Permana A, Priyadi A, Ginanjar R, Hadie W, Alimuddin. 2015. Pemberian rekombinan hormon pertumbuhan ikan kerapu kertang rEIGH secara oral melalui pakan alami pada benih ikan botia (*Chromobotia macracanthus* Bleeker 1852). In: Sugama K, Kristanto AH, Radiarta IN, Lusiastuti AM, Kusdiarti, Priono B, Insan I, Dewi RRSPPS, Gardenia L (Editor). 2015. *Prosiding Forum Inovasi Akuakultur*. Bogor 8-9 Juni 2015. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan Budi daya. Jakarta. pp 303-309.
- Petra GB, Robert JN, Alexander PJH, Sybren M, Paul AM, Van L. 2001. Glutamine alimentation in catabolic state. *Journal of Nutrition*, 131(9): 2569S-2577S.
- Pohlenz C, Buentello A, Bakke AM, Gatlin DM. 2012. Free dietary glutamine improves intestinal morphology and increases enterocyte migration rates, but has limited effects on plasma amino acid profile and growth performance of channel cat fish *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture*, 370-371: 32-39.
- Singh RP, Murthy KNC, Jayaprakasha GK. 2002. Studies on antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extract using in vitro model. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(1): 81-86.
- Sharma P, Jha AB, Dubey RS, Pessarakli M. 2012. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of Botany*, 2012: 1-26.
- Slembrouck J, Priyadi A, Permana A, Ginanjar R, Baras E, Satyani D, Sudarto, Pouyaud L, Legendre M. 2012. Biology and culture of the clown loach *Chromobotia macracanthus* (Cypriniformes, Cobitidae): 2-Importance of water movement and temperature during egg incubation. *Aquatic Living Resource*, 25(2): 109-118.
- Wang CA, Xu QY, Xu H, Zhu Q, Yang JL, Sun DJ. 2011. Dietary L-alanyl-L-glutamine

- supplementation improves growth performance and physiological function of hybrid sturgeon *Acipenser schrenckii*♀ × *A. Baerii* ♂. *Journal of Applied Ichthyology*, 27(2): 727-732.
- Watanabe T. 1988. Fish nutrition and mariculture. Department of aquatic Bioscience. Tokyo University of Fisheries. Japan International Cooperation Agency. 233 p.
- Windmueller HG, Spaeth AE. 1980. Respiratory fuels and nitrogen metabolism in vivo in small intestine of red rats: quantitative importance of glutamine, glutamate, and aspartate. *Journal of Biological Chemistry*, 255(1):107-112.
- Wu G, Knabe DA, Flynn NE. 1994. Synthesis of citrulline from glutamine in pig enterocytes. *Biochemical Journal*, 299(1): 115-121.
- Wu G, Bazer FW, Johnson GA, Knabe DA, Burghardt RC, Spencer TE, Li XL, Wang JJ. 2011. Triennial growth symposium: important roles for L- glutamine in swine nutrition and production. *Journal of Animal Science*, 89(7): 2017-2030.
- Xi P, Jiang Z, Zheng C, Lin Y, Wu G. 2011. Regulation of protein metabolism by glutamine: implications for nutrition and health. *Frontiers in Bioscience*, 16(2): 578-597.
- Xu H, Zhu Q, Wang C, Zhao Z, Luo L, Wang LS, Li J, Xu QY. 2014. Effect of dietary alanyl-glutamine supplementation on growth performance, development of intestinal tract, antioxidant status and plasma non-specific immunity of young mirror carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Northeast Agricultural University*, 21(4): 37-46.