

Evaluasi penambahan glutamin pada pakan terhadap struktur dan fungsi usus, serta pertumbuhan benih ikan lele, *Clarias gariepinus* (Burchell 1822)

[Evaluation of glutamine supplementation in the diet on the structure and function of the intestine and the growth performance of African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell 1822) juvenile]

Ismail Rahmat, Dedi Jusadi*, Mia Setiawati, Ichsan Ahmad Fauzi

¹Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor

Surel:ismailrahmatmunthe@gmail.com
dedidj@apps.ipb.ac.id; siflounder@gmail.com
miasetia@apps.ipb.ac.id
ichsan.a.fauzi@gmail.com
*Kontributor utama

Diterima: 13 Januari 2021; Disetujui: 29 Mei 2021

Abstrak

Penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi penambahan Glutamin bebas (Gln) pada pakan yang menghasilkan struktur dan fungsi usus, serta kinerja pertumbuhan benih ikan lele *Clarias gariepinus* yang terbaik. Pakan komersil disuplementasi Gln sebanyak 0% (kontrol), 0,7%, 1,4% dan 2,1%. Ikan lele ukuran $2 \pm 0,02$ cm ditebar ke dalam 12 akuarium $50 \times 40 \times 35$ cm³ yang diisi air setinggi 30 cm dengan kepadatan 2000 ekor m⁻². Ikan dipelihara selama 30 hari, dan diberi pakan sesuai perlakuan tiga kali sehari sekenyangnya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa laju pertumbuhan dan biomassa ikan di akhir penelitian memiliki respon kuadrat, dengan pertumbuhan maksimal tercapai pada perlakuan Gln 0,7%. Pola respon pertumbuhan ikan sejalan dengan distribusi panjang ikan. Ikan pada perlakuan 0,7% Gln memiliki jumlah ikan berukuran 5-6 cm lebih sedikit 12% dibandingkan dengan perlakuan lainnya, sedangkan ikan dengan ukuran 7-8 cm lebih banyak dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Lebih tingginya pertumbuhan di perlakuan 0,7% Gln berkorelasi dengan vili yang lebih panjang, retensi protein yang lebih tinggi, yang pada akhirnya efisiensi pakan juga tinggi. Peningkatan asupan Gln di pakan juga menyebabkan peningkatan aktivitas enzim protease usus, dan akumulasi Gln di hati, namun tidak meningkatkan aktivitas enzim Superoksidase Dimutase (SOD) hati. Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa penambahan Gln 0,7% pada pakan dapat memperbaiki struktur dan fungsi usus, serta meningkatkan target ukuran produksi benih ikan lele.

Kata penting: enzim, glutamin, lele, pertumbuhan, usus

Abstract

A triplicate experiment was conducted to evaluate the effect of the diet supplemented with free glutamine (Gln) on intestinal structure and function, as well as the growth performance of African catfish *Clarias gariepinus* juvenile. The commercial feed was supplemented with Gln of either 0% (control), 0.7%, 1.4% or 2.1%. Fish measuring 2 ± 0.02 cm were stocked in 12 aquariums $50 \times 40 \times 35$ cm filled with water at a volume of 50 L with a density of 2,000 fish m⁻². Fish were cultured for 30 days and fed on the diets three times a day at satiation. Results showed that the growth rate and biomass of the fish at the end of the experiment had a quadratic response, with the maximum growth achieved at 0.7% Gln treatment. The response pattern of fish growth was in line with the distribution of fish length. Fish in 0.7% Gln treatment had number fish measuring 5-6 cm more than 12% less than other treatments, while fish measuring 7-8 cm were more than other treatments. Higher growth in the 0.7% Gln treatment correlated with longer villi, higher protein retention, and ultimately higher feed efficiency. Increased intake of Gln in the diet also caused an increase in intestinal protease enzyme activity, and accumulation of Gln in the liver, but did not increase the enzymes activity of the liver Superoxidase Dismutase (SOD). It can be concluded that feeding

on a diet supplemented with 0.7% Gln can improve the structure and function of the intestine, as well as increase the target size of catfish juvenile production.

Keywords: catfish, enzyme, glutamine, growth, intestine

Pendahuluan

Pendederan ikan lele *Clarias gariepinus* merupakan salah satu segmen usaha yang menunjang keberhasilan produksi ikan lele untuk usaha pembesaran. Permasalahan yang sering dijumpai dalam proses pendederan adalah beragamnya ukuran benih yang dihasilkan. Pada akhir fase pemeliharaan, biasanya benih lele yang dipanen memiliki lebih dari 3 kriteria ukuran panjang. Beragamnya ukuran benih lele diduga akibat dari kurang optimalnya penyerapan nutrisi serta persaingan konsumsi pakan akibat padat tebar yang tinggi. Kualitas dan jumlah pakan yang dikonsumsi ikan akan berpengaruh pada morfologi usus (Onura *et al.* 2018). Hal ini akhirnya akan berpengaruh pada efisiensi pencernaan dan penyerapan nutrisi (Khojasteh 2012). Perlu upaya peningkatan struktur dan fungsi usus melalui pemberian bahan tambahan agar penyerapan nutrisi lebih efisien. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Shen *et al.* (2013) terdapat hubungan antara pemberian glutamine dengan variasi ukuran antar bobot ikan.

Glutamin (Gln) merupakan asam amino yang dapat disintesa dalam tubuh, namun pada kondisi tertentu, misalnya fase pertumbuhan yang tinggi di stadia larva dan benih, kebutuhan Gln oleh tubuh meningkat, sehingga Gln harus diperoleh dari pakan (Onura *et al.* 2018). Pemberian Gln dilakukan agar

dapat memacu pertumbuhan usus dan panjang vili (Yan dan Qiu-Zhou 2006) pada ikan mirror carp *Cyprinus carpio* (Hong *et al.* 2014), red drum *Sciaenops ocellatus* (Cheng *et al.* 2011), channel catfish *Ictalurus punctatus* (Pohlenz *et al.* 2012), serta ikan patin *Pangasius hypophthalmus* (Dewi 2019). Perubahan morfologi yang terjadi ditandai dengan peningkatan jumlah dan tinggi lipatan usus serta peningkatan mikrovili dan enterosit ikan (Hong *et al.* 2014; Cheng *et al.* 2011; Pohlenz *et al.* 2012). Perbaikan morfologi usus tersebut berkaitan dengan peran glutamin sebagai bahan bakar utama sel epitel usus (Li *et al.* 2019; Luquetti *et al.* 2016), serta sebagai prekursor biosintesis nukleotida purin dan gula amino yang berperan penting untuk pertumbuhan dan diferensiasi sel (Liu *et al.* 2015; Li *et al.* 2017; Li *et al.* 2018; Curi *et al.* 2005; Carey *et al.* 2015; Zhao *et al.* 2017). Perbaikan morfologi dan fungsi usus ikan tersebut, menyebabkan efisiensi pemanfaatan pakan meningkat, sehingga pertumbuhan meningkat (Cheng *et al.* 2011; Wang *et al.* 2011; Pereira *et al.* 2017; Zhang *et al.* 2017; Yuet *et al.* 2016).

Gln memiliki peran serbaguna bagi metabolisme ikan seperti pertumbuhan, pertahanan, antioksidan, perkembangan usus, detoksifikasi ammonia serta imunitas (Li *et al.* 2009). Pada ikan, pakan yang ditambah Gln dapat meningkatkan sistem imun bawaan

(Cheng *et al.* 2012). Gln dapat meningkatkan aktivitas superoksida dismutase (SOD) pada saluran usus serta meningkatkan retensi protein ikan gilthead sea bream *Sparus aurata* (Coutinho *et al.* 2016; Solares *et al.* 2015). Ikan yang diberi pakan yang ditambah Gln juga memiliki perlindungan stress oksidatif yang lebih baik (Han *et al.* 2014; Ding *et al.* 2017; Hu *et al.* 2015). Konsumsi glutamin juga dapat meningkatkan aktifitas antioksidan tubuh sehingga mencegah terjadinya stress oksidatif (Murniasih *et al.* 2019). SOD merupakan enzim antioksidan dalam sel yang berperan sebagai pertahanan terhadap senyawa radikal bebas seperti ROS (*reactive oxygen species*) yang dihasilkan selama metabolisme. Peningkatan aktivitas SOD akan memacu sintesis GSH sehingga meningkatkan kapasitas eliminasi radikal bebas serta melindungi sel dari kerusakan (Shi *et al.* 2016).

Pada berbagai penelitian, Gln juga memiliki fungsi sebagai *growth enhancer* pada berbagai jenis ikan. Pada ikan Jian carp, mirror carp, red drum, channel catfish dan patin, hasil optimal diperoleh setelah masing-masing mengkonsumsi pakan yang ditambah Gln sebesar 1,2 %, 0,82 %, 2%, 2%, dan 1 % (Yan dan Qiu-Zhou 2006; Hong *et al.* 2014; Cheng *et al.* 2011; Pohlenz *et al.* 2012; Dewi 2019). Dosis optimal penambahan Gln juga berbeda pada ikan lainnya, seperti pada hybrid striped bass *Morone chrysops* × *Morone saxatilis*, ikan botia *Chromobotia macracanthus*, Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* dan half-smooth tongue sole (*Cynoglossus semilaevis* Günther). Kinerja

pertumbuhan ikan yang lebih baik didapatkan jika masing-masing ikan tersebut diberi pakan dengan dosis Gln sebesar 1%, 1%, 1,5 % dan 0,63% (Cheng *et al.* 2012; Murniasih *et al.* 2019; Han *et al.* 2014; Liu *et al.* 2015). Berdasarkan data kebutuhan Gln dari setiap spesies ikan, perlu dicari dosis optimal penambahan Gln untuk ikan lele. Penambahan Gln dengan dosis yang tepat pada pakan diharapkan dapat memperbaiki struktur dan fungsi usus ikan lele, sehingga penyerapan nutrisi meningkat. Perbaikan struktur dan fungsi saluran pencernaan juga diharapkan dapat menyeragamkan konsumsi pakan serta mengurangi keragaman ukuran benih ikan lele. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh penambahan Gln pada pakan terhadap struktur dan fungsi usus, serta kinerja produksi benih ikan lele.

Bahan dan metode

Rancangan penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan analisis data menggunakan metode sidik ragam (ANOVA) pada tingkat kepercayaan 95% serta dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan. Percobaan terdiri atas 4 perlakuan dengan 3 ulangan. Sebagai perlakuan adalah pemberian pakan yang ditambah Gln pada dosis yang berbeda untuk benih ikan lele. Perlakuan yang dicobakan yaitu penambahan Gln pada pakan dengan dosis 0,0%, 0,7%, 1,4% dan 2,1% (Tabel 1).

Tabel 1 Perlakuan pada penelitian penambahan glutamin pada pakan benih ikan lele

Perlakuan	Keterangan
Gln 0,0	Pakan ditambah glutamin bebas 0,0%
Gln 0,7	Pakan ditambah glutamin bebas 0,7%
Gln 1,4	Pakan ditambah glutamin bebas 1,4%
Gln 2,1	Pakan ditambah glutamin bebas 2,1%

Tabel 2 Kandungan asam amino pakan (% berat kering)

Asam amino	Kadar
Aspartic acid	3,72
Threonine	1,64
Serine	1,84
Glutamate	7,44
Proline	2,12
Glycine	2,42
Alanine	2,46
Cystine	0,55
Valine	2,13
Methionine	0,60
Ileusine	1,71
Leusine	3,57
Tyrosine	1,07
Phenylalanine	2,27
Histidine	1,40
Lysine	2,88
Arginine	2,85
Amino acid total	40,66

Pakan uji

Pakan uji yang digunakan adalah pakan buatan komersial (PF 500) dengan penambahan Gln sesuai dengan dosis yang sudah dijelaskan di atas. Hasil analisis asam amino pakan komersial disajikan di Tabel 2. Pakan mengandung asam amino esensial yang dibutuhkan ikan. Asam amino Glutamate (7,44%) memiliki nilai terbesar. Di dalam tabel tersebut asam glutamat merupakan representasi dari glutamat dan Gln. Gln yang

digunakan adalah merek dagang *Glutapure* dari *Ultimate Nutrition* dengan kemurnian 100%. Penambahan Gln pada pakan dilakukan dengan menggunakan metode *salut/coating* (Febrianiet al. 2013). Pakan di semua perlakuan dibuat isoprotein dan energi, dengan cara menambahkan glisin di setiap perlakuan sebesar 3%, 2,3%, 1,6 % dan 0,9% untuk masing-masing perlakuan Gln 0,0%, 0,7%, 1,4% dan 2,1% (Tabel 3). Penambahan glisin sebagai penyeimbang protein pakan

Tabel 3 Komposisi pakan penelitian (%) dan hasil analisis proksimat pakan (%)

Komposisi	Dosis penambahan Gln (%)			
	0,0	0,7	1,4	2,1
Pakan komersil (%)	100	100	100	100
Gln (%)	0	0,7	1,4	2,1
Glysin (%)	3	2,3	1,6	0,9
Analisis Proksimat				
Kadar air	6,14	5,17	5,43	5,46
Protein	40,05	41,83	41,4	40,63
Lemak	5,12	6,97	6,49	6,5
Serat kasar	2,86	2,02	2,78	2,22
Kadar abu	8,35	8,62	8,15	8,44
BETN	37,47	35,38	35,75	36,76
Energi bruto (kkal kg ⁻¹)	4302,98	4390,03	4394,3	4349,05
C/P	10,74	10,5	10,62	10,7

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

mengacu pada Liu *et al.* (2015). Hasil analisis proksimat pakan disajikan pada Tabel 3.

Pemeliharaan ikan

Ikan yang digunakan adalah benih ikan lele berumur 2 minggu dengan ukuran 2,22±0,14 cm, berat 0,09±0,02 g. Ikan lele berasal dari pembudidaya ikan di Dramaga, Bogor. Ikan dipelihara pada wadah akuarium berukuran 50x50x40 cm³ sebanyak 12 unit. Akuarium diisi air dengan ketinggian 30 cm sehingga volume air 75 L. Ikan ditebar sebanyak 200 ekor dalam setiap akuarium. Ikan disortir agar ukuran yang digunakan relatif sama. Ikan ditimbang bobotnya menggunakan timbangan digital ketelitian 0,01 g. Pemeliharaan ikan dan pemberian pakan uji dilakukan selama 30 hari. Ikan diberi pakan uji dengan frekuensi pemberian pakan 3 kali

sehari yakni pada pukul 08.00, 13.00 dan 18.00 WIB. Proses ganti air dilakukan selama tiga hari sekali sebesar 20%.

Pemberian pakan dilakukan dengan metode *at satiation* (sampai ikan kenyang). Jumlah konsumsi pakan selama pemeliharaan dihitung dan dicatat. Pada penelitian ini, sistem yang digunakan sudah optimal untuk pemeliharaan larva lele. Pemantauan kualitas air dilakukan dengan pengukuran suhu, konsentrasi oksigen terlarut (DO) dan pH air. Pengukuran suhu dilakukan setiap hari pada pagi dan siang, sedangkan pengukuran oksigen terlarut dan pH dilakukan pada awal, tengah dan akhir pemeliharaan. Rata-rata kualitas air selama pemeliharaan meliputi oksigen terlarut sebesar 5,09 mg L⁻¹, suhu 26-28 °C serta pH 7,46. Kondisi DO, suhu, dan pH masih berada dalam rentang optimum

berdasarkan penelitian Akinwole & Faturoti (2007), Britz & Hecth (1987), dan Ndubuisi *et al.* (2015).

Pengambilan dan preparasi sampel

Pada awal pemeliharaan sebanyak 50 ekor ikan diambil secara acak dan dilakukan pengukuran biomassa dan panjang awal. Sebanyak 50 ekor ikan disimpan dalam *freezer* -20 °C untuk analisis proksimat tubuh awal. Analisis proksimat sesuai dengan AOAC (1999). Pada akhir pemeliharaan, ikan dipuasakan selama 24 jam, kemudian dilakukan proses sortasi, penghitungan jumlah ikan dan pengukuran bobot biomassa ikan. Pengukuran distribusi ukuran ikan dilakukan dengan cara memisahkan ikan berdasarkan ukuran panjang. Proses pemisahan ikan dilakukan menggunakan ember sortir tipe 5-6, 6-7, 7-8, 8-9 dan >9. Sebanyak 40 ekor ikan per akuarium diambil dan disimpan dalam *freezer*-20 °C untuk analisis proksimat tubuh.

Pada akhir pemeliharaan, 20 ekor ikan dari setiap akuarium dibedah untuk pengukuran panjang usus, lalu sebanyak 5 sampel usus tersebut dimasukkan ke dalam larutan Bouin untuk pembuatan preparat histologi. Proses preparasi histologi yang dilakukan berdasarkan metode yang dilakukan oleh Dewi (2019). Preparat histologi digunakan untuk pengukuran diameter usus, tinggi vili dan luas permukaan vili. Preparat histologi diamati dengan menggunakan mikroskop Olympus, kemudian diameter usus, tinggi vili, dan lebar basal vili diukur dengan bantuan *software image J*. Sebanyak 10 ekor

ikan dari setiap akuarium diambil untuk analisis glutamin hati. Sampel ikan dibedah dan diambil hatinya kemudian disimpan pada suhu -80°C. Sampel hati dianalisis konsentrasi glutaminnya menggunakan *Glutamine Determination Kit Abcam* dan diukur pada panjang gelombang 450 nm menggunakan *Elisa Reader*.

Analisis aktivitas enzim protease menggunakan metode Walter (1984). Analisis aktivitas enzim protease menggunakan sampel sebanyak 5 ekor ikan dari setiap akuarium. Berat sampel usus yang digunakan berkisar antara 0,2–0,5 g. Analisis SOD dan malondialdehida (MDA) dilakukan dengan mengambil organ hati dari 10 ekor ikan uji pada akhir pemeliharaan. Organ hati yang diambil dimasukkan ke dalam larutan nitrogen cair, lalu disimpan di dalam *freezer* -80°C. Analisis SOD dilakukan dengan *SOD colorimetric test kit*, Abcam, UK. Enzim SOD (EC 1.15.1.1) digunakan sebagai larutan standar pada analisis ini. Analisis MDA dilakukan dengan menggunakan *MDA lipid peroxidation colorimetric tes kit*, Abcam, UK.

Parameter uji

Jumlah keseluruhan pakan yang dikonsumsi pada setiap unit percobaan selama 30 hari dicatat sebagai data jumlah konsumsi pakan. Nilai retensi protein dan efisiensi pakan dihitung menggunakan formula dari Watanabe (1988). Pengukuran laju pertumbuhan spesifik ikan uji dihitung menggunakan persamaan dari Huisman

(1987). Tingkat kelangsungan hidup dihitung dengan membagi ikan yang hidup di akhir penelitian dibagi jumlah ikan awal. Konsentrasi glutamin di hati pada setiap perlakuan ditentukan menggunakan *Glutamine Determination Kit Abcam* dengan pembacaan *Elisa Reader*. Pengukuran SOD dilakukan dengan *SOD colorimetric test kit*, Abcam, UK. Enzim SOD (EC 1.15.1.1) digunakan sebagai larutan standar pada analisis ini.

Pengamatan morfologi usus meliputi nisbah panjang usus dibanding panjang tubuh (RPU), tinggi vili (TV), basal vili (BV), luas permukaan vili (LV) dan diameter usus (DU). RPU dihitung berdasarkan rumus Nasir (2002) sebagai berikut.

$$RPU = \frac{Lu}{Lt}$$

Keterangan:

RPU = Rasio panjang usus dengan panjang tubuh ikan

Lu = Panjang usus ikan pada akhir pemeliharaan (cm)

Lt = Panjang total ikan pada akhir pemeliharaan (cm)

Pengukuran luas permukaan vili dihitung menggunakan metode Iji *et al.* (2001) dengan rumus sebagai berikut.

$$LV = \frac{c+b}{2} \times a$$

Keterangan:

LV = Luas permukaan vili (mm²)

a = Tinggi vili (µm)

b = Lebar apikal vili (µm)

c = Lebar basal vili (µm)

Pengujian aktivitas enzim protease pada saluran pencernaan dilakukan di akhir

penelitian. Analisis aktivitas enzim protease menggunakan metode Walter (1984). Aktivitas enzim protease dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut.

$$UA = \frac{ABsp-ABbl}{ABst-ABbl} \times FP \times \frac{1}{T}$$

Keterangan:

UA = Jumlah enzim yang dapat menghasilkan 1 µmol tirosin per menit (IU mL⁻¹).

Absp= Absorbansi sampel

Abbl= Absorbansi blanko

Abst = Absorbansi standar

FP = Faktor koreksi

T = Waktu inkubasi

Untuk mengetahui aktivitas enzim protease spesifik dilakukan dengan terlebih dahulu menentukan konsentrasi protein sampel (usus) dengan menggunakan metode Bradford (1976), selanjutnya aktivitas spesifik dapat dihitung. Aktivitas spesifik merupakan jumlah enzim yang dapat menghasilkan 1 µmol tirosin per menit berdasarkan konsentrasi protein.

Analisis data

Data jumlah biomassa akhir ikan (Bt), laju pertumbuhan harian (LPH), jumlah konsumsi pakan (JKP), retensi protein (RP), tingkat kelangsungan hidup (TKH), efisiensi pakan (EP), tinggi vili (TV), basal vili (BV), luas permukaan vili (LV), nisbah panjang usus dengan panjang tubuh (RPU), diameter usus (DU), aktivitas enzim protease serta SOD dan MDA dianalisis menggunakan metode sidik ragam (ANOVA) pada tingkat

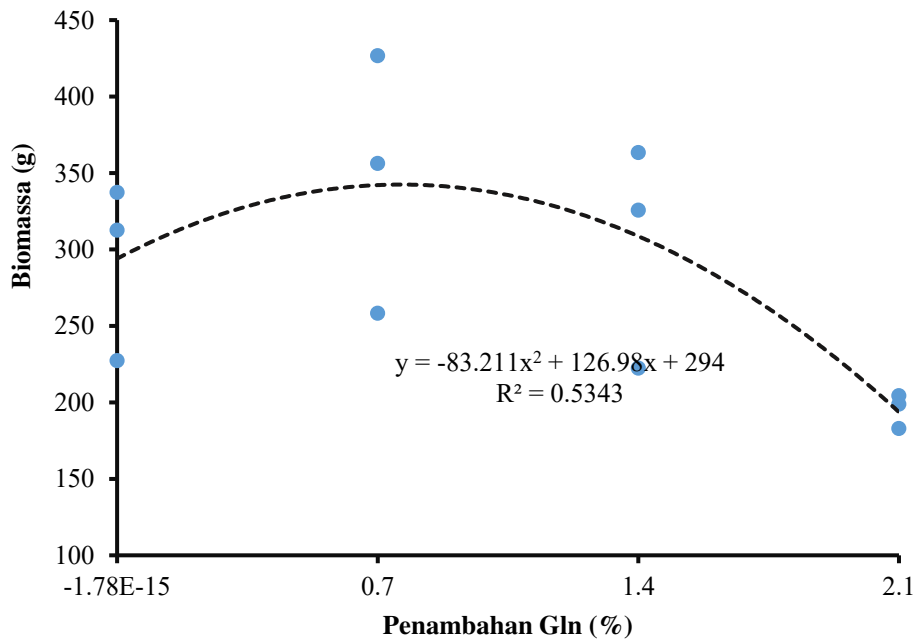
kepercayaan 95% serta dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan. Penghitungan dosis penambahan glutamin yang optimal dilakukan dengan menggunakan regresi, sedangkan penentuan kurva (*curve fitting*) dilakukan

dengan polinomial ortogonal. Analisis data dilakukan menggunakan program perangkat lunak *Microsoft Excel* dan *SPSS 23*. Data konsentrasi glutamine hati dianalisis secara deskriptif dengan grafik.

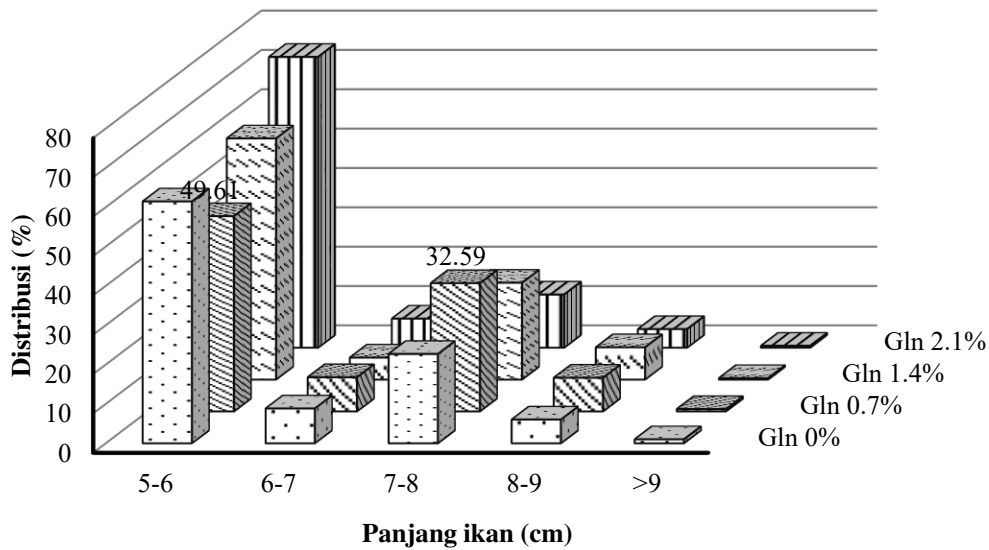
Tabel 4 Kinerja pertumbuhan ikan lele yang diberi pakan dengan penambahan Gln dosis berbeda

Parameter	Dosis penambahan Gln (%)			
	0,0	0,7	1,4	2,1
Bt (g)	292,36±57,69 ^{ab}	347,00±84,53 ^b	303,77±72,96 ^{ab}	195,32±11,13 ^a
LPH (%)	10,81±0,55 ^{ab}	11,24±0,9 ^b	10,73±0,5 ^{ab}	9,88±0,65 ^a
JKP (g)	195,30±24,52 ^a	223,84±46,91 ^a	199,69±37,50 ^a	161,15±10,99 ^a
RP (%)	49,50 ^{ab}	52,86 ^b	50,39 ^{ab}	40,44 ^a
TKH (%)	83 ± 6,38 ^a	87,16±6,01 ^a	87,83±11,02 ^a	72,66 ±9,24 ^a
EP (%)	140,53±14,26 ^b	146,92±11,51 ^b	142,80±11,57 ^b	111,72±11,75 ^a

Keterangan: Bt= biomassa ikan akhir, LPH = laju pertumbuhan harian, JKP= jumlah konsumsi pakan, RP = retensi protein, TKH = tingkat kelangsungan hidup, EP=efisiensi pakan. Huruf tika atas berbeda di belakang nilai simpangan baku menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata (P<0,05).



Gambar 1 Kurva respons biomassa ikan di akhir penelitian terhadap penambahan Gln pada dosis berbeda di pakan.



Gambar 2 Distribusi ukuran panjang ikan pada akhir penelitian.

Hasil

Kinerja pertumbuhan benih ikan lele yang diberi pakan dengan penambahan Gln pada dosis berbeda selama 30 hari disajikan pada Tabel 4. Penambahan Gln pada dosis yang berbeda berpengaruh pada kinerja pertumbuhan lele yang meliputi pertumbuhan biomassa, laju pertumbuhan harian ikan, retensi protein, serta efisiensi pakan. Nilai efisiensi pakan pada keempat perlakuan memiliki pola yang sama yakni meningkat pada perlakuan Gln 0,7% kemudian turun kembali pada perlakuan Gln 1,4%. Kurva respon hubungan perlakuan Gln yang berbeda terhadap biomassa ikan dapat dilihat pada Gambar 1. Kurva respon ini dibuat mengingat adanya korelasi antara biomassa dengan keragaman ukuran ikan seperti di Gambar 2. Berdasarkan kurva respon dapat diketahui bahwa titik optimal Gln yang

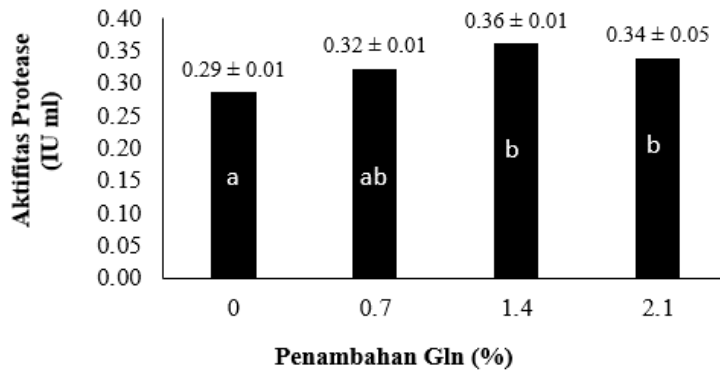
memberikan biomassa maksimal terjadi pada dosis Gln 0,76%. Nilai efisiensi pakan perlakuan Gln 0,0%, 0,7% dan 1,4% tidak berbeda nyata, namun pada Gln 2,1% nilai efisiensi pakan menurun secara signifikan. Meskipun terdapat perbedaan pertumbuhan ikan antar perlakuan, jumlah konsumsi pakan serta kelangsungan hidup ikan di seluruh perlakuan tidak berpengaruh nyata.

Panjang ikan di akhir penelitian terdistribusi menjadi 4 kelompok (Gambar 2). Distribusi ukuran panjang ikan di semua perlakuan didominasi kelompok ukuran 5-6 cm. Pada kelompok 5-6 cm, nilai terkecil ada pada perlakuan Gln 0,7%, sedangkan tertinggi pada perlakuan Gln 2,1%. Distribusi ukuran terbanyak berikut ada pada kelompok panjang 7-8 cm. Pada kelompok 7-8 cm, distribusi tertinggi ada di perlakuan Gln 0,7%, yakni $32,59 \pm 14,18\%$. Distribusi yang

Tabel 5 Morfometri usus ikan lele yang diberi pakan dengan penambahan Gln dosis berbeda

Parameter	Dosis penambahan Gln (%)			
	0,0	0,7	1,4	2,1
TV(μm)	217,92±9,12 ^a	274,31±14,28 ^b	259,65±9,09 ^{ab}	256,06±47,96 ^{ab}
BV (μm)	79,70±4,44 ^a	75,54±6,72 ^a	74,29±4,55 ^a	69,18±5,70 ^a
LV (μm ²)	12813±1368 ^a	14684±683 ^a	13971±626 ^a	12750±3143 ^a
RPU	0,79±0,09 ^a	0,71±0,05 ^a	0,78±0,23 ^a	0,65±0,09 ^a
DU (mm)	911,7±29,1 ^a	952,8±21,1 ^a	917,5±34,8 ^a	950,3±122,5 ^a

Keterangan: TV= tinggi vili, BV= basal vili, LV= luas permukaan vili, RPU= nisbah panjang usus dengan panjang tubuh, DU= diameter usus. Nilai yang tertera merupakan nilai rata-rata dan simpangan baku. Huruf tika atas berbeda di belakang nilai simpangan baku menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata (P<0,05).



Keterangan: huruf berbeda di atas garis simpangan baku menunjukkan pengaruh berbeda nyata (p<0,05)

Gambar 3 Aktivitas enzim protease usus ikan lele yang diberi pakan dengan penambahan Gln dosis berbeda.

terendah di kelompok 5-6, serta tertinggi di kelompok 7-8 diduga menjadi sebab kinerja pertumbuhan Gln 0,7% paling tinggi dibanding perlakuan lainnya.

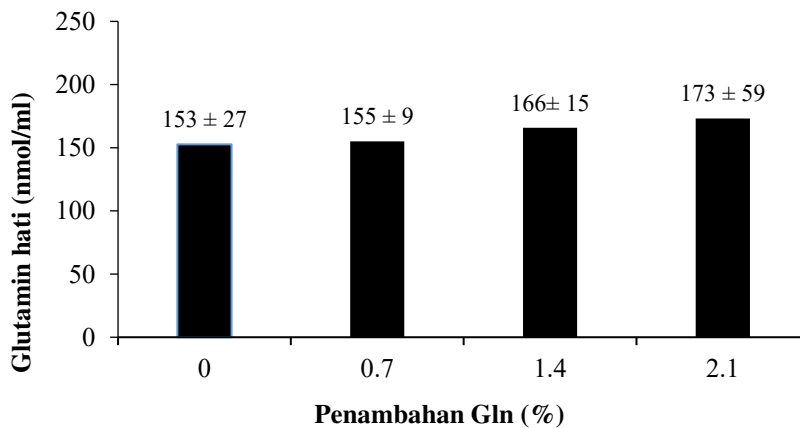
Hasil pengukuran morfometri usus benih ikan lele meliputi tinggi vili (TV), basal vili (BV), luas permukaan vili (LV), nisbah panjang usus dengan panjang tubuh (RPU) serta diameter usus (DU) disajikan pada

Tabel 5. Pada parameter TV, berbeda nyata hanya ditemukan antara perlakuan Gln 0,0% dan Gln 0,7%. Tidak ada perbedaan nyata antara perlakuan Gln 0,7%, 1,4% dan 2,1%, maupun antara perlakuan Gln 0,0%, 1,4% dan 2,1%. Tinggi vili ikan di perlakuan Gln 0,7% secara signifikan lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan Gln 0,0%.

Tabel 6 Aktivitas SOD dan kadar MDA pada hati ikan lele yang diberi pakan dengan penambahan Gln dosis berbeda

Parameter	Penambahan Gln (%)			
	0	0,7	1,4	2,1
SOD (unit g protein ⁻¹)	8,27 ± 0,54 ^a	8,43 ± 0,96 ^a	8,75 ± 0,73 ^a	7,77 ± 0,35 ^a
MDA (ppm)	0,96 ± 0,19 ^a	0,75 ± 0,19 ^a	0,97 ± 0,15 ^a	0,98 ± 0,26 ^a

Keterangan: huruf tika atas pada tabel menunjukkan pengaruh tidak berbeda nyata ($p < 0,05$).

**Gambar 4** Konsentrasi glutamin hati ikan lele yang diberi pakan dengan penambahan Gln dosis berbeda.

Aktifitas enzim protease usus ikan meningkat dengan adanya konsumsi pakan yang ditambah Gln (Gambar 3). Aktivitas enzim protease penambahan Gln 1,4% tidak berbeda nyata dengan 0,7% dan 2,1%, tetapi lebih tinggi dan berbeda nyata dibandingkan tanpa penambahan Gln, antara penambahan 0,0% dan 0,7% tidak berbeda nyata

Hasil pengamatan aktifitas SOD dan MDA hati ikan lele disajikan pada Tabel 6. Konsumsi pakan yang ditambah Gln pada penelitian ini tidak memberikan peningkatan aktivitas antioksidasi pada benih ikan lele, dicirikan dengan tidak ditemukan adanya perbedaan nyata pada nilai SOD dan MDA di semua perlakuan.

Pemberian pakan dengan penambahan Gln selama 30 hari cenderung meningkatkan kandungan glutamin pada hati ikan lele (Gambar 4). Konsentrasi Gln pada hati ikan menunjukkan Gln diserap dengan baik oleh ikan.

Pembahasan

Glutamin merupakan asam amino yang berfungsi sebagai sumber energi utama dalam pembelahan sel epitel usus (Luquetti *et al.* 2016, Li *et al.* 2019, Li *et al.* 2020). Asam amino ini juga berperan sebagai prekursor biosintesis nukleotida purin dan gula amino yang penting untuk pertumbuhan dan diferensiasi sel (Curi *et al.* 2005; Liu *et al.*

2015; Zhao et al. 2017). Pada penelitian ini, Gln yang ditambahkan pada pakan dapat diserap dengan baik oleh ikan lele, hal ini dapat terlihat dari nilai kadar glutamin yang lebih tinggi pada perlakuan dengan suplementasi glutamin (Gambar 5). Nilai Gln yang lebih tinggi dalam tubuh ikan dapat meningkatkan ketersediaan biologis glutamin untuk berbagai proses metabolisme, seperti proliferasi dan diferensiasi sel, sehingga dapat digunakan untuk meningkatkan penyerapan nutrisi melalui perkembangan vili usus.

Umumnya, tinggi dan luas permukaan lipatan usus atau vili pada hewan air merupakan sebagai tanda kemampuan penyerapan nutrisi (Olli et al. 1994; Farhangi et al. 2001). Pada parameter morfometrik usus dalam penelitian ini, hanya tinggi vili pada perlakuan 0,7% Gln yang menunjukkan perbedaan nyata dibandingkan dengan kontrol. Nilai tinggi vili usus yang lebih baik dibandingkan dengan kontrol pada penelitian ini sejalan dengan penelitian lain oleh Qiyu et al. (2011) pada ikan hybrid sturgeon (*Acipenser schrenckii* ♀ × *Huso dauricus* ♂) dan pada penelitian Pohlenz et al. (2012) dengan menggunakan ikan channel catfish (*Ictalurus punctatus*). Meskipun hasil panjang vili usus pada penelitian ini sejalan dengan kedua penelitian lain yang disebutkan sebelumnya, terdapat perbedaan hasil pada parameter pertumbuhan.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Qiyu et al. (2011) suplementasi pakan dengan glutamin dapat meningkatkan performa pertumbuhan. Hasil pada penelitian

ini serta penelitian yang dilakukan oleh Pohlenz et al. (2012) menunjukkan walaupun ada perbedaan yang nyata pada parameter panjang vili usus antara perlakuan, tidak ada perbedaan performa pertumbuhan antara perlakuan kontrol dan perlakuan dengan suplementasi glutamin. Spesies ikan yang berbeda diduga memiliki respon yang berbeda dalam merespon suplementasi glutamin terhadap pakan. Selain itu terdapat kemungkinan bahwa perbedaan hasil pertumbuhan antara penelitian ini dengan penelitian yang dilakukan oleh Qiyu et al. (2011) dikarenakan perbedaan umur ikan yang digunakan, dimana pada penelitian ini menggunakan ikan yang baru berubah dari larva menjadi benih. Pada parameter performa pertumbuhan lainnya, penambahan Gln pada dosis berbeda berpengaruh pada nilai biomassa, laju pertumbuhan harian ikan, retensi protein, namun hanya antara perlakuan 0,7% Gln dan perlakuan dengan 1,4% Gln. Tidak terdapat perbedaan nyata antara perlakuan kontrol dengan semua perlakuan dengan suplementasi Gln.

Berdasarkan analisis regresi terlihat bahwa kinerja pertumbuhan mengalami peningkatan dengan pola kuadrat pada kurva respon hubungan perlakuan. Diketahui bahwa nilai biomassa maksimal terjadi pada dosis suplementasi Gln 0,76% walaupun nilai R^2 pada kurva respons biomas menunjukkan bahwa datanya hanya sesuai (*fit*) dengan model sampai dengan 53,4%.

Pada beberapa parameter performa pertumbuhan (BT, LPH, RP, dan EP) beda nyata

juga ditemukan antara perlakuan Gln 0,7% dan 2,1% dimana perlakuan Gln 2,1% secara statistic lebih rendah nilai-nilainya pada parameter yang disebutkan diatas. Penelitian terhadap pengaruh buruk suplementasi glutamin pada ikan sebagai hewan model memang belum banyak dilakukan, namun pada hewan mamalia, Cynober *et al.* (2010) menyatakan bahwa glutamin merupakan indikator kualitas/ketersediaan protein dimana apabila glutamin atau arginin mempunyai peran menjaga kesetimbangan nitrogen sehingga apabila jumlahnya berlebih maka tubuh akan secara berupaya untuk mengelimintasi kelebihan nitrogen tersebut. Ada kemungkinan bahwa proses pengelimintasi nitrogen yang berlebih mempengaruhi performa pertumbuhan ikan lele yang terlihat pada studi ini. Namun diperlukan penelitian yang lebih mendalam untuk bisa mengetahui apakah hal ini juga berlaku pada ikan.

Tidak ada perbedaan nyata pada parameter TKH dan JKP pada semua perlakuan. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa pemberian glutamin dapat meningkatkan JKP namun hasil ini tidak terlihat pada penelitian ini. Beberapa asam amino diketahui dapat meningkatkan respon makan namun berdasarkan penelitian Hara (2006) efek tersebut umumnya spesifik pada spesies tertentu. Sementara itu, parameter TKH tidak berbeda nyata karena larva ikan lele berada pada kondisi optimum. Pada penelitian lain, glutamin memang dapat meningkatkan imun pada ikan (Li *et al.* (2020) namun umumnya penelitian terkait dengan imun dilakukan

dengan menggunakan ujiantang baik terhadap stress maupun menggunakan patogen. Pada penelitian ini ujiantang tidak dilakukan.

Pada kegiatan pembenihan ikan lele, proses sortasi perlu dilakukan untuk mengelompokkan ikan berdasarkan ukuran panjang (Sutrisno 2012). Hal ini dilakukan pembudidaya agar ikan yang dipelihara tumbuh lebih baik dan seragam untuk mencapai target produksi benih ikan lele. Proses sortasi yang dilakukan umumnya menggunakan alat berupa ember sortasi yang memiliki sejumlah lubang kecil (Badruzzaman *et al.* 2020). Ukuran lubang pada ember sortasi disesuaikan dengan ukuran lingkarpada benih ikan lele. Hal ini mencerminkan ukuran panjang ikan yang akan disortir. Panjang ikan menjadi acuan penting dalam proses pemasaran benih ikan lele. Terdapat beberapa tipe ember sortasi ikan lele yang biasa digunakan diantaranya tipe 5-6, 6-7, 7-8, 8-9cm. Ikan yang telah melalui ember sortir tipe tertentu berarti memiliki panjang sesuai dengan tipe ember sortirnya.

Proses sortasi juga akan memberikan gambaran sejauh apa perkembangan benih ikan lele mendekati target produksi. Ikan yang menjadi target produksi dalam kegiatan pembenihan ataupun pendederan umumnya ialah ikan dengan ukuran 7-8, 8-9 serta 9-10 cm. Ukuran ikan tersebut sudah layak untuk dipasarkan pada konsumen yang umumnya pembudidaya pembesaran ikan lele. Ikan dengan ukuran di bawah 7-8cm belum banyak diminati pasar karena ukuran

yang kecil memerlukan waktu pemeliharaan yang lebih lama serta resiko kematian yang lebih tinggi. Pada penelitian ini proses sortasi menggunakan ember dengan tipe 5-6, 6-7, 7-8, 8-9 dan >9. Ikan dilewatkan melalui ember sortasi selanjutnya dikelompokkan serta diukur panjang, bobot serta jumlahnya. Oleh karena itu terdapat sebaran ukuran panjang ikan yang terbagi menjadi kelompok 5-6, 6-7, 7-8, 8-9 dan >9 cm yang dapat digunakan untuk melihat kinerja pertumbuhan ikan lele.

Distribusi ukuran panjang ikan pada semua perlakuan dalam penelitian ini didominasi dua kelompok besar yaitu kelompok ukuran 5-6 cm dan kelompok 7-8cm. Penambahan Gln 0,7% menyebabkan 32,59% ikan lele berada pada kelompok 7-8cm dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Perlakuan 0,7% Gln memiliki frekuensi ukuran 7-8 cm yang lebih besar. Ukuran 7-8cm merupakan ukuran benih ikan lele yang siap jual dikarenakan ukuran 7-8cm umum digunakan serta siap untuk ditebar pada kegiatan pembesaran. Pada penelitian ini juga terlihat bahwa jumlah ikan dari kelompok 5-6 cm relatif lebih kecil pada perlakuan 0,7% Gln jika dibandingkan dengan perlakuan lain. Hal ini memberikan indikasi bahwa penambahan Gln 0,7% mendukung untuk memperoleh keuntungan yang optimal pada usaha pembenihan karena jumlah benih yang siap jual lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lain.

Kinerja pertumbuhan terlihat menurun pada penambahan Gln dengan dosis yang

lebih tinggi. Penambahan Gln 2,1% menghasilkan nilai efisiensi pakan yang rendah dan berbeda secara signifikan. Hal ini diduga bahwa penambahan Gln sudah melebihi titik optimal pada ikan lele. Kinerja usus dan pertumbuhan terlihat mengalami penurunan pada perlakuan Gln 1,4% dan 2,1% dengan nilai yang lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan 0,7% (Tabel 4). Pemberian Gln diatas 0,7% diduga sudah melebihi kebutuhan ikan lele sehingga Gln akan dimetabolisme menjadi glutamat dan amonia (Garlick 2001). Yan dan Zhou (2006) menyatakan bahwa penambahan Gln pada ikan jian carp optimal sampai dosis 1,2%. Liu *et al.* (2015) menunjukkan bahwa pakan dengan penambahan Gln menghasilkan pertumbuhan optimal pada dosis 0,63% pada ikan half-smooth tongue sole. Menurut Dewi (2019) penambahan Gln sampai 2% menjadi titik optimal bagi pertumbuhan ikan patin.

Penambahan Gln 0,7% - 2,1% mampu meningkatkan aktivitas enzim protease, khususnya perlakuan 1,4% dan 2,1% peningkatan aktivitas protease terjadi secara signifikan. Peningkatan aktivitas protease ini mengingat Gln sebagai asam amino merupakan derivat dari protein dan enzim protease yang berperan dalam pencernaan protein. Peningkatan aktivitas enzim protease sebagai akibat dari penambahan Gln juga berkaitan dengan pengembangan hepatopankreas ikan. Hepatopankreas berperan dalam menghasilkan enzim pencernaan ikan (Cahu *et al.* 1995). Penelitian Yan dan Zhou (2006) menunjukkan kaitan penambahan Gln dengan

peningkatan protease ikan ditandai dengan peningkatan hepatosomatic index dan konten protein hepatopankreas ikan yang lebih tinggi pada ikan yang diberi Gln. Pengembangan hepatopankreas memperkuat memperkuat fungsi pancreatic exocrine ikan, ditunjukkan dengan peningkatan rasio Tri-Is (menggambarkan tingkat tripsin) pada ikan yang diberi pakan dengan penambahan Gln (Liu *et al.* 2015). Sejalan dengan penelitian Murniasih *et al.* (2019) penambahan glutamin bebas sebesar 1% pada pakan mampu meningkatkan aktivitas protease. Kondisi ini sesuai dengan penelitian Hong *et al.* (2014) yang menunjukkan bahwa penambahan Gln dipeptida hingga 1,5% berkorelasi dengan peningkatan aktivitas enzim protease pada benih ikan mirror carp. Hal serupa juga ditemukan pada ikan young hybrid sturgeon oleh Qiyu *et al.* (2011).

Penambahan Gln pada penelitian ini belum mampu meningkatkan aktivitas antioksidan SOD secara signifikan. Aktivitas MDA pada hati ikan lele juga tidak terdapat penurunan secara nyata. Berbeda dengan temuan Qiyu *et al.* (2011) dan Liu *et al.* (2015) Gln mampu meningkatkan aktivitas SOD serta menurunkan aktivitas MDA. Temuan pada penelitian ini diduga peran Gln pada ikan lele sebagai antioksidan terbatas dibandingkan ikan lain. Meskipun demikian tingkat aktivitas SOD benih ikan lele pada penelitian ini cukup tinggi dibandingkan dengan aktivitas MDA. SOD merupakan enzim antioksidan kuat yang berperan sebagai pertahanan terhadap senyawa radikal

bebas ROS (reactive oxygen species) hasil dari metabolisme (Hong *et al.* 2014; Shi *et al.* 2016). ROS dapat mempengaruhi makromolekul seperti protein, karbohidrat dan lemak sehingga menyebabkan kerusakan oksidatif (stres oksidatif) (Finkel dan Holbrook 2000, Kehrer & Klotz 2015).

Peningkatan ROS menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid serta dapat mempengaruhi sel normal. Peroksidasi lipid akan menghasilkan produk radikal yang dapat bereaksi dengan protein dan DNA sehingga berakibat kerusakan. Produk akhir peroksidasi lipid tersebut adalah MDA yang dapat memperparah stres oksidatif (Chen *et al.* 2009). Oleh karena itu pertahanan enzimatik diperlukan agar produksi ROS dapat dikontrol sehingga tidak terjadi stres oksidatif. Menurut Hong *et al.* (2014) peningkatan aktivitas antioksidan mampu menghambat peroksidasi lipid dan mendorong perbaikan membran sel. Tingkat aktivitas SOD ikan lele yang tinggi pada penelitian ini menunjukkan bahwa ikan lele tidak mengalami stres oksidatif. Aktivitas antioksidan yang baik juga mendukung sintasan ikan tetap tinggi (Dewi 2019).

Simpulan

Penambahan Gln 0,7% pada pakan dapat meningkatkan struktur dan fungsi usus serta kinerja produksi ikan, yang dicirikan dengan peningkatan jumlah ikan lele berukuran 7-8 cm.

Persantunan

Penelitian ini didanai seutuhnya oleh Kemenristek Dikti/BRIN dengan nomor: 2819/IT3.L1/PN/2020 dengan amandemen nomor: 4243/IT3.L1/PN/2020 tahun anggaran 2020.

Daftar pustaka

- AOAC. 1999. Official Methods of Analysis of AOAC International, 16th ed. AOAC International. Gaithersburg, Maryland.
- Akinwale AO, & Faturoti EO. 2007. Biological performance of African Catfish (*Clarias gariepinus*) cultured in recirculating system in Ibadan. *Aquacultural Engineering*. 36(1): 18-23. DOI: 10.1016/j.aquaeng.2006.05.001
- Badruzzaman, Tito E, Meri R, Faishal F. 2020. Analisis proses pengujian kinerja mesin fish grading untuk sortir ikan lele kapasitas 5 kg. Industrial Research Workshop and National Seminar, Politeknik Negeri Bandung. 978.979.3541.60
- Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2): 248-254. DOI: 10.1016/0003-2697(76)90527-3
- Britz PJ, Hecht T. 1987. Temperature preferences and optimum temperature for growth of African sharptooth catfish (*Clarias gariepinus*) larvae and postlarvae. *Aquaculture*. 63(1-4): 205-214. DOI: 10.1016/0044-8486(87)90072-X
- Cahu CL, Infante JLZ. 1995. Maturation of the pancreatic and intestinal digestive functions in sea bass (*Dicentrarchus labrax*): effect of weaning with different protein sources. *Fish Physiology and Biochemistry*. 14(6): 431-437. DOI: 10.1007/BF00004343
- Carey BW, Finley LW, Cross JR, Allis CD, Thompson CB. 2015. Intracellular alphaketoglutarate maintains the pluripotency of embryonic stem cells. *Nature*. 518(7539): 413-416. DOI: 10.1038/nature13981
- Chen J, Zhou XQ, Feng L, Jiang J. 2009. Effects of glutamine on hydrogen peroxide-induced oxidative damage in intestinal epithelial cells of Jian carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture*. 288(3-4): 285-289. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2008.10.053
- 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. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2011.06.025
- Cheng Z, Gatlin DM, Buentello A. 2012. Dietary supplementation of arginine and/or glutamine influences growth performance, immune responses and intestinal morphology of hybrid striped bass (*Morone chrysops*×*Morone saxatilis*). *Aquaculture*. 362-363: 39-43. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2012.07.015
- Coutinho F, Castro C, Rufino-Palomares E, Ordóñez-Grande B, Gallardo MA, Oliva-Teles A, Peres H. 2016. Dietary glutamine supplementation effects on amino acid metabolism, intestinal nutrient absorption capacity and antioxidant response of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) juveniles. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 191: 9-17. DOI: 10.1016/j.cbpa.2015.09.012
- Curi R, Lagranha CJ, Doi SQ, Sellitti DF, Procopio J, Pithon-Curi TC, Corless M, Newsholme P. 2005. Molecular mechanisms of glutamine action. *Journal of Cellular Physiology*. 204(2): 392-401. DOI: 10.1002/jcp.20339
- Cynober L, Moinard C, De Bandt JP. 2010. The 2009 ESPEN Sir David Cuthbertson. Citrulline: a new major

- signaling molecule or just another player in the pharmaconutrition game?. *Clinical Nutrition*, 29(5): 545-551. DOI: 10.1016/j.clnu.2010.07.006
- Dewi U. 2019. Penambahan glutamin pada pakan untuk meningkatkan kinerja pertumbuhan, struktur dan fungsi usus benih ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) [tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Ding Z, Li W, Huang J, Yi B, Xu Y. 2017. Dietary alanyl-glutamine and vitamin E supplements could considerably promote the expression of GPx and PPAR α genes, antioxidation, feed utilization, growth, and improve composition of juvenile cobia. *Aquaculture*. 470(1): 95–102. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2016.12.015
- Farhangi M, Carter CG. 2001. Growth, physiological and immunological responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to different dietary inclusion levels of dehulled lupin (*Lupinus angustifolius*). *Aquaculture Research*, 32(1): 329–340. DOI: 10.1046/j.1355-557x.2001.00044.x
- Febriani D, Sukenda, Nuryati S. 2013. Kappa-karagenan sebagai imunostimulan untuk pengendalian penyakit infectious myonecrosis (IMN) pada udang vaname *Litopenaeus vannamei*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*.12(1): 70–78.
- Finkel T, Holbrook NJ. 2000. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, 408(6809): 239-247. DOI: 10.1038/35041687
- Garlick PJ. 2001. Assessment of the safety of glutamine and other amino acids. *The Journal of Nutrition*. 131(9): 2556S–2561S. DOI: 10.1093/jn/131.9.2556s
- Han Y, Koshio S, Jiang, Z, Ren T, Ishikawa M, Yokoyama S, Gao J. 2014. Interactive effects of dietary taurine and glutamine on growth performance, blood parameters and oxidative status of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture*. 434: 348–354. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2014.08.036
- Hara TJ. 2006. Feeding behaviour in some teleosts is triggered by single amino acids primarily through olfaction. *Journal of Fish Biology*, 68(3): 810-825. DOI: 10.1111/j.0022-1112.2006.00967.x
- Hong X, Qing Z, Chang-an W, Zhi-gang Z, Ling L, Lian-sheng W, Jin-nan L, Qi-you X. 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* L.). *Journal of Northeast Agricultural University*. 21(4): 37–46. DOI: 10.1016/S1006-8104(15)30018-0
- Hu K, Zhang JX, Feng L, Jiang WD, Wu P, Liu Y, Jiang J, Zhou XQ. 2015. Effect of dietary glutamine on growth performance, non-specific immunity, expression of cytokine genes, phosphorylation of target of rapamycin (TOR), and anti-oxidative system in spleen and head kidney of Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). *Fish Physiology and Biochemistry*. 41(3): 635–649. DOI: 10.1007/s10695-015-0034-0
- Huisman EA. 1987. Principles of fish production. Wageningen (ND) : Department of Fish Culture and Fisheries, Wageningen Agriculture University. 170 p.
- Iji PA, Saki A, Tivey DR. 2001. Body and Intestinal Growth of Broiler Chicks Oncommercial Starter Diet. 1. Intestinal Weight and Mucosal Development. *Brit Poultry Sci*. 42(4): 505-513. DOI: 10.1080/00071660120073151.
- Kehrer JP, Klotz LO. 2015. Free radicals and related reactive species as mediators of injury and disease: implications for health. *Critical review in Toxicology*. 45(9):765-798. DOI: 10.3109/10408444.2015.1074159

- Khojasteh SMB. 2012. The morphology of the post-gastric alimentary canal in teleost fishes: a brief review. *International Journal of Aquatic Science*. 3(2): 71-88.
- Li C, Zhang M, Li M, Zhang Q, Qian Y, Wang R. 2018. Effect of dietary alanyl-glutamine dipeptide against chronic ammonia stress induced hyperammonemia in the juvenile yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*. 213: 55–61. DOI: 10.1016/j.cbpc.2018.08.001
- Li HT, Jiang WD, Liu Y, Jiang J, Zhang YA, Wu P, Zeng YY, Zhou XQ, Feng L. 2017. Dietary glutamine improves the function of erythrocytes through its metabolites in juvenile carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). *Aquaculture*. 474: 86–94. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2017.03.041
- Li P, Mai K, Trushenski J, Wu G. 2009. New developments in fish amino acid nutrition: towards functional and environmentally oriented aquafeeds. *Springer*. 37(1): 43-53. DOI: 10.1007/s00726-008-0171-1
- Li S, Guo Q, Li S, Zheng H, Chi S, Xu Z, Wang Q. 2019. Glutamine protects against LPS-induced inflammation via adjusted NODs signaling and enhanced immunoglobulins secretion in rainbow trout leukocytes. *Developmental and Comparative Immunology*. 98: 148–156. DOI: 10.1016/j.dci.2019.05.006
- Li X, Zheng S, & Wu G. 2020. Nutrition and metabolism of glutamate and glutamine in fish. *Amino acids*. 52: 671-691. DOI: 10.1007/s00726-020-02851-2
- 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. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2015.04.012
- Luquetti BC, Alarcon MFF, Lunedo R, Campos DMB, Furlan RL, Macari M. 2016. Effects of glutamine on performance and intestinal mucosa morphometry of broiler chickens vaccinated against coccidiosis. *Scientia Agricola*. 73(4): 322–327. DOI: 10.1590/0103-9016-2015-0114
- Murniasih S, Jusadi D, Setiawati M, Nuryati S. 2019. Suplementasi glutamin bebas dalam pakan meningkatkan respons fisiologis dan sintasan ikan botia *Chromobotia macracanthus* Bleeker, 1852. *Jurnal Iktiologi Indonesia* 19(3): 437-448. DOI: 10.32491/jii.v19i3.466
- Nasir M. 2002. Pengaruh kadar selulosa yang berbeda dalam pakan terhadap panjang usus dan aktivitas enzim pencernaan benih ikan gurami (*Osporonemus gouramy* Lac.) Tesis. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Ndubuisi UC, Chimezie AJ, Chinedu UC, Chikwem IC, Alexander U. 2015. Effect of pH on the growth performance and survival rate of *Clarias gariepinus* fry. *International Journal of Research in Biosciences*. 4(3): 14-20.
- Olli JJ, Krogdahl Å, van den Ingh TS, & Brattås LE. 1994. Nutritive value of four soybean products in diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.). *Acta Agriculturae Scandinavica*, 44: 50-60.
- Onura CN, Broeck WVde, Nevejan N, Muendo P, Stappen GV. 2018. Growth performance and intestinal morphology of African catfish (*Clarias gariepinus* Burchell 1822) larvae fed on live and dry feeds. *Aquaculture*. 17: 70-79. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2018.01.046
- Pereira RT, Rosa PV, Gatlin DM. 2017. Glutamine and arginine in diets for Nile tilapia : Effects on growth, innate immune responses, plasma amino acid profiles and whole-body composition. *Aquaculture*. 473: 135–144. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2017.01.033
- 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 catfish *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture*. 370-371: 32-39. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2012.10.002
- Qiyou X, Qing Z, Hong X, Chang'an W, Dajiang S. 2011. Dietary glutamine supplementation improves growth performance and intestinal digestion/absorption ability in young hybrid sturgeon (*Acipenser schrenckii* female × *Huso dauricus* male). *Journal of Applied Ichthyology*. 27(2): 721–726. DOI: 10.1111/j.1439-0426.2011.01710.x
- Shen B, Han Y, Lu H, Niu X, Li Z, Zhao C, Wang G. 2013. Effects of Ala-Gln on growth and feed intake of *Cyprinus carpio* var. Jian reared at different stocking densities. *Journal of South China Agricultural University*. 34: 241–247. DOI: 10.1016/j.fsi.2016.02.034
- Shi L, Feng L, Jiang WD, Liu Y, Jiang J, Wu P, Zhou XQ. 2016. Immunity decreases, antioxidant system damages and tight junction changes in the intestine of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) during folic acid deficiency: Regulation of nf- κ b, nrf2 and mlck mRNA levels. *Journal Fish and Shellfish Immunology*. 51: 405–419. DOI: 10.1016/j.fsi.2016.02.029
- Solares AC, Viegas I, Salgado MC, Siles AM, Sáez A, Metón I, Baanante IV, Fernández F. 2015. Diets supplemented with glutamate or glutamine improve protein retention and modulate gene expression of key enzymes of hepatic metabolism in gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. *Aquaculture*. 444 : 79–87. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2015.03.025
- Sutrisno AY. 2012. Analisis kelayakan usaha pembenihan dan pembesaran ikan lele sangkuriang (Studi kasus: Perusahaan Parakbada, Kelurahan Katulampa, Kota Bogor, Provinsi Jawa Barat) [Skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Walter. 1984. Proteinases: methods with hemoglobin, casein and azocoll as substrates. In: Bergmeyer. *Methods of Enzymatic Analysis*. Weinheim.
- Wang C.A, 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 Applied Ichthyology*. 27: 727–732. DOI: 10.1111/j.1439-0426.2011.01673.x
- Watanabe T. 1988. *Fish Nutrition and Mariculture*. Department of Aquatic Bioscience. Tokyo University of Fisheries. JICA.
- Yan L, Qiu-Zhou X. 2006. Dietary glutamine supplementation improve structure and function of intestine of juvenile jian carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture*. 256(1-4): 389-394. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2006.02.011
- Yu H, Gao Q, Dong S, Lan Y, Ye Z, Wen B. 2016. Regulation of dietary glutamine on the growth, intestinal function, immunity and antioxidant capacity of sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka). *Fish and Shellfish Immunology*, 50: 56–65. DOI: 10.1016/j.fsi.2016.01.024
- Zhang K, Mai K, Xu W, Liufu Z, Zhang Y, Peng M, Jinghua C, Ai Q. 2017. Effects of dietary arginine and glutamine on growth performance, nonspecific immunity, and disease resistance in relation to arginine catabolism in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquaculture*. 468(1): 246–254. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2016.10.021
- Zhao Z, Song F, Xu Q. 2017. Effects of glutamine and its precursors on the growth performance and relevant protein synthesis pathway of mirror carp *Cyprinus carpio*. *Fisheries Science*. 83: 1019–1026. DOI: 10.1007/s12562-017-1124-y