

## RESPONS PERTUMBUHAN, PEMANFAATAN NUTRIEN, DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN IKAN TORSORO (*Tor soro*) YANG DIBERI PAKAN DENGAN SUPLEMENTASI GLUTAMIN

**Reza Samsudin<sup>1,2</sup>, Dedi Jusadi<sup>1\*</sup>, Mia Setiawati<sup>1</sup>, Widanarni<sup>1</sup>, Alimuddin<sup>1</sup>, dan Mas Tri Djoko Sunarno<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB University, Jalan Agatis, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680, Jawa Barat

<sup>2</sup>Pusat Riset Zoologi Terapan, Badan Riset dan Inovasi Nasional, Jalan Raya Jakarta – Bogor KM 46, Cibinong 16911, Jawa Barat

<sup>3</sup>Pusat Riset Perikanan, Badan Riset dan Inovasi Nasional, Jalan Raya Jakarta – Bogor KM 46, Cibinong 16911, Jawa Barat

*(Submission: 10 July 2024; Final revision: 29 July 2024; Accepted: 29 July 2024)*

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh suplementasi glutamin terhadap pertumbuhan dan aktivitas antioksidan pada ikan Torsoro (*Tor soro*). Ikan uji yang digunakan adalah juvenil ikan dengan berat awal rata-rata  $5,21 \pm 0,04$  g. Perlakuan yang diberikan terdiri atas suplementasi glutamin bebas dengan dosis yang berbeda (0; 0,5; 1,0; 1,5; dan 2%) dan alanil-glutamin (0,84; 1,67; 2,51; dan 3,35%) pada pakan, setiap perlakuan memiliki lima kali ulangan. Perlakuan pakan diberikan tiga kali sehari sekenyangnya. Ikan uji dipelihara selama 60 hari. Parameter yang diamati meliputi performa pertumbuhan, pemanfaatan nutrisi, indeks biologis, dan aktivitas antioksidan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pakan yang disuplementasi glutamin bebas berpengaruh nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap performa pertumbuhan, pemanfaatan nutrisi, indeks biologis, dan aktivitas antioksidan ikan uji. Hasil uji lebih lanjut menunjukkan bahwa suplementasi alanil-glutamin dalam pakan sebesar 2,51% memberikan hasil terbaik terhadap bobot akhir, laju pertumbuhan spesifik, retensi protein, rasio efisiensi protein, konversi pakan, rasio viseral somatik, rasio panjang usus, aktivitas superoksida dismutase, glutation peroksidase, dan katalase pada ikan Torsoro. Berdasarkan evaluasi keseluruhan terhadap parameter yang diamati, penelitian ini menunjukkan bahwa suplementasi alanil-glutamin dalam pakan pada tingkat 2,51% mampu meningkatkan kinerja pertumbuhan, pemanfaatan nutrisi, indeks biologis, dan aktivitas antioksidan pada ikan Torsoro.

**KATA KUNCI:** antioksidan; glutamin; ikan Torsoro; pertumbuhan

**ABSTRACT:** *The Growth, Nutrient Utilization, and Antioxidant Activity Responses of Indonesian Mahseer (*Tor soro*) Fed with Glutamine-Supplemented Feed*

*This study aimed to evaluate the effects of glutamine supplementation on the growth of and antioxidant activity in Torsoro fish (*Tor soro*). The test fish used were Torsoro fish juveniles with an average initial weight of  $5.21 \pm 0.04$  g. The treatments consisted of different supplementation levels of free glutamine (0; 0.5; 1.0; 1.5; and 2%) and alanyl-glutamine*

\*Korespondensi: Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB University, Jalan Agatis, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680, Jawa Barat  
Email: siflounder@gmail.com

(0.84; 1.67; 2.51; and 3.35%) in feed, where each treatment had five replicates. The feed treatments were given three times a day ad satiation. The experimental fish were reared for 60 days. The parameters observed included growth performance, nutrient utilization, biological indices, and antioxidant activity. The results showed that free glutamine-supplemented feed significantly affects ( $p<0.05$ ) the growth performance, nutrient utilization, biological indices, and antioxidant activity of the tested fish. Further test results showed that alanyl glutamine supplementation in feed at 2.51% produced the best results on the final weight, specific growth rate, protein retention, protein efficiency ratio, feed conversion, somatic visceral ratio, intestine length ratio, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and catalase activities of Torsoro fish. Based on the overall achievement of the observed parameters, this study determines that alanyl-glutamine supplementation in feed at 2.51% improves the growth performance, nutrient utilization, biological indices, and antioxidant activity of Torsoro fish.

**KEYWORDS:** antioxidant; glutamine; growth; Torsoro

## PENDAHULUAN

Glutamin baik dalam bentuk glutamin bebas maupun glutamin dipeptida dianggap sebagai asam amino yang bersifat nonesensial secara nutrisi untuk ikan (Li *et al.*, 2020a). Namun berdasarkan beragam penelitian, glutamin telah diklasifikasikan sebagai “asam amino fungsional” karena beberapa fungsinya pada hewan, termasuk mendorong pertumbuhan, meningkatkan kesehatan usus, dan modulasi imun (Qu *et al.*, 2019; Teng *et al.*, 2021). Meskipun kebutuhan fisiologis glutamin sangat tinggi pada beragam hewan, termasuk ternak, unggas, dan ikan namun sumber protein konvensional dalam pakan seperti bungkil kedelai (18 mg per kg) dan tepung ikan (12,3 mg per kg) hanya mengandung sedikit glutamin (Li *et al.*, 2020a; Li *et al.*, 2020b). Oleh karena itu, perlu upaya untuk melengkapi pakan ternak dan ikan dengan jumlah glutamin yang sesuai. Selama beberapa dekade, banyak penelitian pada ternak dan unggas menunjukkan bahwa suplementasi glutamin dalam pakan dengan kadar yang sesuai memiliki beragam manfaat, termasuk mendorong pertumbuhan, menjaga fungsi usus, dan meningkatkan kekebalan tubuh (Ji *et al.*, 2019; Shan *et al.*, 2012). Dalam beberapa tahun terakhir telah terjadi peningkatan penelitian tentang suplementasi glutamin pada beragam spesies akuatik. Beberapa

penelitian menunjukkan bahwa suplementasi glutamin pada jumlah yang tepat pada pakan dapat meningkatkan kinerja pertumbuhan, kesehatan usus, dan ketahanan terhadap penyakit pada beragam jenis ikan seperti ikan lele kuning (*Pelteobagrus fulvidraco*) (Ye *et al.*, 2016), ikan nila (*Oreochromis niloticus*) (Silva *et al.*, 2010), ikan lidah (*Cynoglossus semilaevis* Günther) (Liu *et al.*, 2015), ikan kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*) (Jusadi *et al.*, 2015), dan ikan mas Jian (*Cyprinus carpio* var. Jian) (Hu *et al.*, 2015). Glutamin juga terbukti mengurangi peradangan usus dan melindungi sel epitel usus dari dampak negatif stres oksidatif pada ikan lele kuning (Jiao *et al.*, 2021) dan ikan mas Jian (Chen *et al.*, 2009). Beragam penelitian ini mendukung penggunaan glutamin pada spesies akuatik untuk meningkatkan kinerja pertumbuhan dan memperbaiki struktur usus.

Ikan Torsoro (*Tor soro*) termasuk famili Cyprinidae yang memiliki wilayah penyebaran meliputi Pulau Sumatera, Jawa, dan Kalimantan (Asih *et al.*, 2011). Ikan Torsoro di Sumatera Utara dikenal dengan ikan Batak (ihan), di Jawa barat, daerah Kuningan dan Sumedang dikenal dengan nama ikan Dewa, di Blitar dikenal dengan nama Sekareng dan di Kalimatan dikenal dengan ikan Semah. Kottelat (2013) memasukkan ikan Torsoro ke dalam Genus *Neolissochilus* dengan nama spesies *Neolissochilus soro* (Valenciennes 1842). Genus *Neolissochilus* sudah terancam punah dan masuk

dalam *Red List Status* di *International Union for Conservation of Nature and Natural Resources* (IUCN) dengan Kode Ref.57073 sejak tahun 1996 ([www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org)). Populasi ikan ini di alam cenderung semakin sedikit. Berdasarkan hasil penelitian Rumondang (2017), diketahui bahwa selain perubahan habitat ikan Torsoro, penangkapan berlebih juga memengaruhi penurunan populasi ikan Torsoro di alam.

Secara umum habitat ikan Torsoro dan kelompok ikan Tor atau Mahseer lainnya merupakan penghuni sungai pada hutan tropis terutama pada wilayah pegunungan. Habitat asli ikan Torsoro umumnya pada bagian hulu sungai di daerah perbukitan dengan air yang jernih dan berarus kuat (Haryono & Subagja, 2008). Ikan *Tor* sp. bersifat pemakan segala atau omnivora (Haryono & Subagja 2007). Di habitat aslinya, ikan ini memakan tumbuhan dan hewan yang terdapat di substrat atau kerikil (Sulastri *et al.*, 1985), sedangkan pada kondisi *ex-situ* Haryono & Subagja (2007) melaporkan bahwa ikan *Tor* sp. memakan cacing dan pakan buatan. Pada fase benih dalam wadah budidaya, ikan Torsoro diketahui mampu memanfaatkan *Moina* sp., *Daphnia* sp., dan cacing sutra hingga pakan buatan (Asih *et al.*, 2011).

Upaya domestikasi ikan Torsoro dimulai sejak tahun 1996 sampai 2010 telah menghasilkan teknologi produksi benih secara masal (pemijahan alami atau buatan), pendederasan dan pembesarannya. Sampai saat ini telah diperoleh calon induk generasi dua (F2) hasil domestikasi (Asih *et al.*, 2011). Menurut Asaduzzaman *et al.* (2018) ikan *Tor* sp. memiliki laju pertumbuhan yang rendah. Laju pertumbuhan ikan Torsoro hanya 10–20% dari laju pertumbuhan ikan mas. Upaya peningkatan tingkat pertumbuhan ikan Torsoro dapat dilakukan melalui pendekatan nutrisi ikan, salah satunya dengan suplementasi glutamin dalam pakan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan tingkat suplementasi glutamin, baik dalam bentuk bebas maupun dipeptida (alanil-glutamin) untuk menunjang pertumbuhan dan kelangsungan hidup ikan Torsoro.

## BAHAN DAN METODE

### Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar dan Penyuluhan Perikanan (BRPBATPP), Kementerian Kelautan dan Perikanan. Pemeliharaan dan pengujian ikan dilakukan di Laboratorium Basah Nutrisi Ikan, BRPBATPP. Analisis proksimat, indikator stres oksidatif, kandungan glutamin dan aktivitas enzim dilaksanakan di Laboratorium Kimia Nutrisi Ikan BRPBATPP. Analisis histologi dilaksanakan di Instalasi Riset Pengendalian Penyakit Ikan (IRPPI), Depok. Analisis asam amino dilaksanakan di Laboratorium uji Saraswanti Indo Genetech (SIG), Bogor. Analisis gambaran darah dilakukan di Laboratorium *Immunohistochemistry, Indonesia Medical Education and Research Institute* (IMERI), Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

### Rancangan Percobaan

Penelitian ini dilakukan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan sembilan perlakuan suplementasi glutamin dengan masing-masing lima ulangan. Pakan uji menggunakan pakan formula dengan kadar protein kasar 40% yang disuplementasi dengan glutamin bebas (gln) dan glutamin dipeptida (alanil-glutamin, ala gln). Dosis suplementasi glutamin bebas yaitu 0; 0,5; 1; 1,5; dan 2% sedangkan dosis glutamin dipeptida (alanil-glutamin) sebesar 0,84; 1,67; 2,51; dan 3,35%. Dasar penentuan dosis ini mengacu pada dosis suplementasi glutamin pada penelitian sebelumnya (Ding *et al.*, 2017).

### Ikan Uji dan Wadah Percobaan

Ikan uji yang digunakan berupa benih ikan Torsoro dengan bobot awal rata-rata  $5,21 \pm 0,04$  g per ekor. Ikan uji yang digunakan berasal dari Instalasi Riset Plasma Nutfah Perikanan Budidaya Air Tawar, Cijeruk, Bogor. Seluruh ikan uji yang digunakan berasal dari induk yang sama. Keseluruhan kegiatan pemeliharaan ikan

uji pada penelitian ini sesuai dengan aturan penyelenggaraan kesejahteraan ikan pada ikan budidaya yang tercantum dalam Permen KP No. 6/PERMEN-KP/2020. Sebelum digunakan seluruh ikan uji diadaptasikan selama 45 hari dalam empat wadah bak *fiber* bervolume 1000 L. Selama masa adaptasi ikan uji diberi pakan komersial (protein pakan 40%) secara *ad satiation*. Wadah yang digunakan untuk penelitian berupa akuarium berdimensi 60 x 50 x 50 cm<sup>3</sup> dengan volume air efektif 125 L. Setiap wadah percobaan dilengkapi dengan resirkulasi dan aerasi dengan laju kecepatan aerasi sebesar 500 mL menit<sup>-1</sup>. Ikan uji ditebar dengan padat penebaran 1 ekor per 5 L (25 ekor per wadah) dengan masing-masing perlakuan terdiri dari lima ulangan. Pemberian pakan suplementasi glutamin sesuai dengan perlakuan dilakukan selama 60 hari.

### Pakan Uji

Penelitian ini menggunakan sembilan jenis pakan dengan kandungan protein dan energi yang sama yaitu 40% dan 4200 GE kkal kg<sup>-1</sup> (Islam & Tanaka, 2004; Ng *et al.*, 2008). Glutamin yang digunakan adalah glutamin bebas (Salus Inc. China; berat molekul 146,14 g mol<sup>-1</sup>; kemurnian 99,0 %) dan glutamin peptida (alanil-glutamin) (Lyphar Biotech Inc. China; berat molekul 217,225 g mol<sup>-1</sup>; kemurnian 99,0%). Pakan uji yang dibuat berupa pakan tenggelam. Pakan uji dibuat berdasarkan formula yang telah ditetapkan (Tabel 1). Bahan pakan yang telah tercampur selanjutnya dicetak menggunakan cetakan pelet vertikal dengan diameter pencetak 3 mm. Pakan selanjutnya dibentuk menjadi bentuk *crumble* menggunakan *crumbler* hingga berbentuk remahan berukuran 1-2 mm. Pakan selanjutnya disimpan dalam *freezer* hingga siap digunakan.

Sebelum digunakan, sebanyak 20 g pakan uji dianalisis kandungan proksimat lengkap berdasarkan metode yang terdapat pada AOAC (1995) di Laboratorium Kimia Nutrisi Ikan BRPBATPP - Bogor. Selain itu diambil sampel pakan sebanyak 50 g untuk dianalisis kandungan asam aminonya. Penentuan

kandungan asam amino menggunakan *high performance liquid chromatography* (HPLC) yang dilakukan di Laboratorium Saraswanti Indo Genetech (SIG) – Bogor. Hasil analisis asam amino disajikan pada Tabel 2.

### Pengukuran Rasio Panjang Usus dan Indeks Biologi

Pada akhir pemeliharaan, sebanyak lima ekor ikan dari masing-masing perlakuan diambil dan dimatikan dengan segera menggunakan MS222 pada konsentrasi 300 mg L<sup>-1</sup> (American Veterinary Medical Association, 2020). Selanjutnya ikan ditimbang bobotnya dan diukur panjang total. Tiap sampel ikan selanjutnya dibedah, diambil isi perut (visera), dan ditimbang. Selanjutnya usus dan hati dipisahkan. Organ hati ditimbang sedangkan usus diukur panjangnya dan ditimbang bobotnya. Parameter yang diamati pada bagian ini yaitu indeks intenstinal somatik, indeks viseral somatik, indeks hepato somatik, dan rasio panjang usus : panjang tubuh. Prosedur dan persamaan yang digunakan pada pengamatan parameter ini berdasarkan Carvalho *et al.* (2023).

$$\text{Indeks intestinal somatik (IIS)} = \frac{\text{bobot usus}}{\text{bobot tubuh}} \times 100 \% \quad \dots(1)$$

$$\text{Indeks viseral somatik (IVS)} = \frac{\text{bobot isi perut (viserra)}}{\text{bobot tubuh}} \times 100 \% \quad \dots(2)$$

$$\text{Indeks hepato somatik (IHS)} = \frac{\text{bobot hati}}{\text{bobot tubuh}} \times 100 \% \quad \dots(3)$$

$$\text{Rasio panjang usus : panjang tubuh (RPB)} = \frac{\text{panjang usus}}{\text{panjang total ikan}} \times 100 \% \quad \dots(4)$$

### Analisis Kimia

Analisis kimia yang dilakukan terdiri atas analisis proksimat pakan dan tubuh ikan serta analisis asam amino tubuh ikan uji. Komposisi kimiawi dari sampel bahan baku, pakan

Tabel 1. Formulasi dan analisis proksimat pakan uji untuk ikan Torsoro dengan suplementasi glutamin dan alanil-glutamin pada dosis yang berbeda

*Table 1. Formulation and proximate analysis of experimental diet for Torsoro fish with glutamine and alanyl-glutamine supplementation at different doses*

Bahan baku pakan <i>Feed ingredients</i>	Suplementasi glutamin <i>Glutamine supplementation</i>								
	Gln (%)					Ala Gln (%)			
	0	0,5	1,0	1,5	2,0	0,84	1,67	2,51	3,35
Tepung ikan <i>Fish meal</i>	25	25	25	25	25	25	25	25	25
Bungkil kedelai <i>Soybean meal</i>	19,3	19,3	19,3	19,3	19,3	19,3	19,3	19,3	19,3
Tepung tulang dan daging <i>Meat and bone meal</i>	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Dedak padi <i>Ricebran</i>	29	29	29	29	29	29	29	29	29
Minyak ikan <i>Fish oil</i>	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Minyak jagung <i>Corn oil</i>	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Vitamin premiks* <i>Vitamin mix*</i>	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Mineral premiks** <i>Mineral mix**</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Kolin Klorida <i>Choline chloride</i>	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Karboksi metil selulosa <i>Carboxy methyl cellulose</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Metionin <i>Methionine</i>	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Lisin <i>Lysine</i>	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Glisina <i>Glycine</i>	4,20	3,70	3,20	2,70	2,20	3,36	2,53	1,69	0,85
Glutamin <i>Glutamine</i>	0	0,5	1,0	1,5	2,0	0	0	0	0
Alanil-glutamin <i>Alanyl-glutamine</i>	0	0	0	0	0	0,84	1,67	2,51	3,35
Total <i>Total</i>	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Analisis Proksimat <i>Proximate analysis</i>									

Bahan baku pakan <i>Feed ingredients</i>	Suplementasi glutamin <i>Glutamine supplementation</i>								
	Gln (%)					Ala Gln (%)			
	0	0,5	1,0	1,5	2,0	0,84	1,67	2,51	3,35
Kadar air (%) <i>Moisture (%)</i>	8,47	8,65	7,89	8,18	8,52	8,70	8,13	8,31	7,81
Protein Kasar (%) <i>Crude protein (%)</i>	40,32	40,35	40,31	40,38	40,35	40,37	40,30	40,27	40,47
Lemak (%) <i>Lipid (%)</i>	10,70	10,74	10,43	10,55	10,36	10,47	10,46	10,63	10,16
Abu (%) <i>Ash (%)</i>	10,43	10,57	10,24	10,22	10,21	10,31	10,24	10,37	10,26
Serat Kasar (%) <i>Crude fiber (%)</i>	8,75	8,93	8,62	8,72	8,59	8,68	8,54	8,63	8,57
BETN (%)*** <i>NFE (%)***</i>	21,33	20,75	22,51	21,97	21,98	21,48	22,33	21,79	22,73

Keterangan: \* Vitamin premiks ( $\text{g kg}^{-1}$  premiks): Asam askorbat 45; inositol 5; kolin klorida 75; niasin 4,5; riboflavin 1; piridoksin. HCL 1; thiamin mononitrat 0,92; kalsium d-pantotenat 3; asam retinil 0,6; kolekalsiferol 0,083; menadion sodium bisulfida 1,67; DL- $\alpha$ -tokoperol asetat (500 IU  $\text{g}^{-1}$ ) 8; d-biotin 0,02; asam folat 0,09; vitamin B12 0,00135; selulosa 845,11 (Ng et al., 2008).

\*\* Mineral premiks ( $\text{g kg}^{-1}$  premiks): kalsium fosfat.  $\text{H}_2\text{O}$  270,98; kalsium laktat 327; besi sulfat.  $\text{H}_2\text{O}$  25; magnesium sulfat.  $7\text{H}_2\text{O}$  132; kalium klorida 50; sodium klorida 60; kalium iodida 0,15; tembaga sulfat  $5\text{H}_2\text{O}$  0,785; mangan oksida 0,8; kobal karbonat 1; seng oksida 3; sodium selenit  $5\text{H}_2\text{O}$ , 0,011; kalsium karbonat 129,27 (Ng et al., 2008).

\*\*\* BETN = Bahan ekstrak tanpa nitrogen

Tabel 2. Hasil analisis asam amino (%) pakan uji yang diberikan pada ikan Torsoro dengan suplementasi glutamin dan alanil-glutamin pada dosis yang berbeda

Table 2. Amino acid analysis results (%) of experimental diet fed to Torsoro fish with glutamine and alanyl-glutamine at different doses

Asam amino <i>Amino acids</i>	Suplementasi glutamin <i>Glutamine supplementation</i>								
	Gln (%)					Ala Gln (%)			
	0	0,5	1,0	1,5	2,0	0,84	1,67	2,51	3,35
Arginin <i>Arginine</i>	2,436	2,388	2,378	2,457	2,454	2,492	2,477	2,438	2,488
Histidin <i>Histidine</i>	0,575	0,578	0,567	0,574	0,579	0,575	0,579	0,567	0,575
Isoleusin <i>Isoleucine</i>	1,019	1,008	1,020	1,031	1,106	1,028	1,020	1,050	1,105
Leusin <i>Leucine</i>	2,921	2,973	2,891	2,945	2,951	2,921	2,995	2,946	2,954
Lisin <i>Lysine</i>	4,029	4,060	3,975	4,075	4,049	4,043	4,110	4,095	4,077
Metionin <i>Methionine</i>	1,320	1,330	1,328	1,344	1,352	1,353	1,335	1,381	1,318
Fenilalanin <i>Phenylalanine</i>	1,736	1,743	1,769	1,730	1,743	1,742	1,712	1,723	1,758

Asam amino Amino acids	Suplementasi glutamin Glutamine supplementation								
	Gln (%)					Ala Gln (%)			
	0	0,5	1,0	1,5	2,0	0,84	1,67	2,51	3,35
Treonin <i>Threonine</i>	0,711	0,722	0,717	0,712	0,727	0,735	0,722	0,711	0,736
Triptofan <i>Tryptophan</i>	0,375	0,373	0,378	0,372	0,377	0,383	0,373	0,377	0,382
Valin <i>Valine</i>	2,039	2,021	2,032	2,029	2,035	2,035	2,036	2,030	2,049
Sistein <i>Systeine</i>	0,456	0,454	0,452	0,460	0,461	0,452	0,451	0,462	0,460
Tirosin <i>Tyrosine</i>	0,757	0,762	0,748	0,736	0,766	0,726	0,755	0,726	0,715
Glutamat <i>Glutamic acid</i>	3,976	3,971	3,979	3,958	3,972	4,030	3,946	3,997	3,954
Aspartat <i>Aspartate</i>	1,734	1,722	1,741	1,721	1,756	1,722	1,774	1,744	1,734
Glisin <i>Glycine</i>	6,787	6,288	5,785	5,282	4,778	5,958	5,111	4,265	3,419
Serin <i>Serine</i>	1,491	1,487	1,481	1,467	1,452	1,473	1,473	1,434	1,465
Alanin <i>Alanine</i>	2,166	2,188	2,177	2,147	2,144	2,471	2,749	3,031	3,313
Glutamin <i>Glutamine</i>	5,206	5,711	6,213	6,716	7,220	5,770	6,327	6,891	7,455

Note:

\* Vitamin mix ( $\text{g kg}^{-1}$  premix): Ascorbic acid 45; inositol 5; choline chloride 75; niacin 4,5; riboflavin 1; pyridoxine.HCL 1; thiamin mononitrate 0,92; calcium d-pantthenate 3; retinyl acetate 0,6; cholecalciferol 0,083; menadione sodium bisulfide 1,67; DL- $\alpha$ -tocopheryl acetate (500 IU  $\text{g}^{-1}$ ) 8; d-biotin 0,02; folic acid 0,09; vitamin B12 0,00135; cellulose 845,11 (Ng et al., 2008).

\*\* Mineral mix ( $\text{g kg}^{-1}$  premix): calcium phosphate. $\text{H}_2\text{O}$  270,98; calcium lactate 327; ferrous sulfate  $\text{H}_2\text{O}$  25; magnesium sulfate  $7\text{H}_2\text{O}$  132; potassium chloride 50; sodium chloride 60; potassium iodide 0,15; copper sulfate  $5\text{H}_2\text{O}$  0,785; manganese oxide 0,8; cobalt carbonate 1; zincoxide 3; sodium selenite  $5\text{H}_2\text{O}$ , 0,011; calcium carbonate 129,27 (Ng et al., 2008).

\*\*\* NFE = Nitrogen-free extract

uji serta tubuh ikan sebelum dan setelah pemeliharaan dianalisis mengikuti prosedur standar (AOAC, *Association of Official Analytical Chemists*, 1995). Sampel dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C sampai berat konstan untuk menentukan kandungan bahan kering. Protein kasar ditentukan dengan metode Kjeldahl (Kjeltec TM 8400, FOSS, Tecator, Swedia) dan dihitung dengan mengalikan nitrogen dengan 6,25; lemak kasar diukur dengan ekstraksi eter menggunakan metode Soxhlet (B-801, Swiss); abu diperiksa dengan pembakaran dalam tungku pada suhu 550°C selama 16 jam. Analisis duplo dilakukan untuk setiap sampel. Analisis asam amino menggunakan metode HPLC.

## Respons Pertumbuhan dan Pemanfaatan Nutrien

Respons pertumbuhan diamati meliputi parameter laju pertumbuhan harian dan sintasan. Nilai laju pertumbuhan harian dan sintasan dihitung berdasarkan Qu et al. (2019) menggunakan persamaan 5 dan 6. Setelah 60 hari pemeliharaan, ikan uji dipuaskan selama 24 jam sebelum penimbangan bobot individu dan dihitung jumlah yang masih hidup. Ikan uji dipingsangkan menggunakan MS-222 pada konsentrasi 75 mg  $\text{L}^{-1}$  (National Research Council, 2011) untuk proses penimbangan ikan uji. Tingkat sintasan ikan diamati pada akhir masa pemeliharaan. Parameter lain yang

diamati meliputi konsumsi pakan, konversi pakan, rasio efisiensi protein serta retensi protein dan lemak. Nilai konversi pakan, rasio efisiensi protein serta retensi protein dan lemak dihitung berdasarkan Ahmed *et al.* (2022) menggunakan persamaan 7, 8, dan 9.

$$\text{Laju pertumbuhan spesifik (\% hari}^{-1}\text{)} = \frac{\ln \text{ bobot akhir} - \ln \text{ bobot awal}}{\text{lama waktu pemeliharaan}} \times 100\% \quad \dots\dots(5)$$

$$\text{Sintasan (\%)} = \frac{\text{jumlah ikan uji pada akhir pemeliharaan}}{\text{Jumlah ikan uji pada awal pemeliharaan}} \times 100\% \quad \dots\dots(6)$$

$$\text{Konversi pakan} = \frac{\text{Jumlah pakan yang dikonsumsi}}{\text{Kenaikan biomassa ikan}} \quad \dots\dots\dots\dots\dots\dots\dots(7)$$

$$\text{Rasio efisiensi protein} = \frac{\text{kenaikan biomassa ikan}}{\text{jumlah protein yang dikonsumsi}} \quad \dots\dots\dots\dots\dots\dots\dots(8)$$

$$\text{Retensi protein/lemak (\%)} = \frac{\text{protein/lemak akhir pemeliharaan - protein/lemak awal pemeliharaan}}{\text{protein/lemak dalam pakan yang dikonsumsi}} \quad \dots\dots\dots\dots\dots\dots\dots(9)$$

### Uji Biokimia

Pada akhir pemeliharaan, sebanyak tiga ekor ikan dari masing-masing perlakuan diambil dan dimatikan dengan segera menggunakan MS222 pada konsentrasi 300 mg L<sup>-1</sup> (American Veterinary Medical Association, 2020). Selanjutnya ikan dibedah, diambil organ hati, usus, ginjal, dan sebagian daging di punggung. Seluruh organ ini dicelupkan dalam nitrogen cair kemudian disimpan pada lemari pendingin

pada suhu -80°C hingga siap dianalisis. Analisis status antioksidan dilakukan menggunakan *fish MDA kit assay* (Mybiosource, MBS1601664) untuk analisis *malondialdehyde* (MDA), *SOD assay kit* (Mybiosource, MBS705758) untuk analisis *superoxide dismutase* (SOD), *fish glutathione peroxidase assay kit* (Mybiosource, MBS1603287) untuk analisis *glutathione peroxidase* (GPx), dan *fish catalase assay kit* (Elabscience, EBC-K031-S) untuk aktivitas katalase.

### Analisis Data

Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk rata-rata ± standar deviasi dari lima ulangan setiap perlakuan. Data dianalisis dengan *one-way ANOVA* dan uji lanjut Duncan pada selang kepercayaan 95% menggunakan *software SPSS* versi 22.00.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Kinerja Pertumbuhan Ikan Torsoro

Suplementasi glutamin dengan dosis yang berbeda tidak memberikan pengaruh nyata ( $p>0,05$ ) terhadap sintasan ikan uji. Suplementasi glutamin memberikan pengaruh nyata ( $p<0,05$ ) pada bobot akhir individu (Bt) dan laju pertumbuhan spesifik (LPS). Secara umum suplementasi glutamin (baik dalam bentuk bebas maupun dipeptida) pada pakan memberikan pengaruh positif terhadap pertumbuhan ikan uji. Suplementasi alanil-glutamin pada tingkat 2,51% memberikan hasil terbaik terhadap parameter panjang akhir, bobot akhir serta laju pertumbuhan spesifik panjang dan berat. Data kinerja pertumbuhan ikan uji ditampilkan pada Tabel 3.

Kinerja pertumbuhan pada ikan Torsoro secara nyata mengalami peningkatan ketika diberi suplementasi glutamin baik dalam bentuk bebas maupun dalam bentuk dipeptida. Beberapa penelitian terdahulu juga menunjukkan efektivitas suplementasi glutamin pada beberapa jenis ikan di antaranya pada ikan kerapu hibrida (He *et al.*, 2022), ikan sturgeon hibrida (Yue *et al.*, 2022), ikan

Tabel 3. Kinerja pertumbuhan ikan Torsoro yang diberi pakan uji dengan suplementasi glutamin dan alanil-glutamin pada dosis yang berbeda selama 60 hari masa pemeliharaan

Table 3. Growth performance of Torsoro fish fed test diet with glutamine and alanyl-glutamine at different doses during 60 days rearing period

Suplementasi glutamin (%) Glutamine supplementation (%)	Parameter uji Parameters			
	B0 (g)	Bt (cm)	LPS (% hari <sup>-1</sup> ) SGR (% day <sup>-1</sup> )	S (%)
Gln 0	5,20 ± 0,005	13,05 ± 0,04 <sup>f</sup>	1,53 ± 0,01 <sup>g</sup>	100,00 ± 0,00
Gln 0,5	5,21 ± 0,003	13,08 ± 0,06 <sup>f</sup>	1,54 ± 0,01 <sup>g</sup>	100,00 ± 0,00
Gln 1,0	5,20 ± 0,003	13,83 ± 0,08 <sup>e</sup>	1,63 ± 0,01 <sup>f</sup>	100,00 ± 0,00
Gln 1,5	5,21 ± 0,004	14,74 ± 0,05 <sup>d</sup>	1,73 ± 0,01 <sup>e</sup>	100,00 ± 0,00
Gln 2,0	5,20 ± 0,006	16,05 ± 0,09 <sup>c</sup>	1,88 ± 0,01 <sup>c</sup>	100,00 ± 0,00
Ala Gln 0,84	5,21 ± 0,005	14,99 ± 0,07 <sup>d</sup>	1,76 ± 0,01 <sup>d</sup>	100,00 ± 0,00
Ala Gln 1,67	5,21 ± 0,005	16,68 ± 0,08 <sup>b</sup>	1,94 ± 0,01 <sup>b</sup>	100,00 ± 0,00
Ala Gln 2,51	5,20 ± 0,005	17,89 ± 0,05 <sup>a</sup>	2,06 ± 0,01 <sup>a</sup>	100,00 ± 0,00
Ala Gln 3,35	5,21 ± 0,003	17,78 ± 0,12 <sup>a</sup>	2,05 ± 0,01 <sup>a</sup>	100,00 ± 0,00

Keterangan: Data dinyatakan dalam rata-rata ± SD (standar deviasi) (n = 5). Huruf *superscript* yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ( $p < 0,05$ ). B0 = bobot rata-rata awal, Bt = bobot rata-rata akhir, LPS = laju pertumbuhan spesifik bobot, dan S = sintasan

Note: Data were showed as average ± SD (deviation standard) (n=5). Values with different superscript letters in the same column indicate significantly different results ( $p < 0,05$ ). B0 = initial weight, Bt = final body weight, SGR = specific growth rate, and S = survival rate

nila (Carvalho *et al.*, 2023), ikan *Xenocypris davidi* (Wang *et al.*, 2023), ikan turbot (Liu *et al.*, 2018), ikan karper rumput (Ma *et al.*, 2022; Qu *et al.*, 2019), ikan zebra (Tian *et al.*, 2020), dan ikan trahira raksasa (Ramos *et al.*, 2022). Peran positif suplementasi glutamin terhadap pertumbuhan berhubungan dengan peran glutamin pada ikan sebagai salah satu sumber energi yang efektif bagi ikan sehingga asam asam amino yang lainnya dapat digunakan untuk membentuk jaringan tubuh yang baru (Cruzat *et al.*, 2018).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa glutamin sebagai substrat utama untuk produksi ATP pada ikan (Jia *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2020a). Suplementasi alanil-glutamin dalam pakan memberikan tingkat pertumbuhan yang lebih tinggi bagi ikan Torsoro dibanding penggunaan glutamin bebas pada tingkat yang setara. Suplementasi alanil-glutamin sebesar 2,51% (setara dengan penggunaan glutamin

1,5%) memberikan laju pertumbuhan tertinggi bagi ikan Torsoro dibanding perlakuan lainnya. Hal ini sejalan dengan penelitian Xu *et al.* (2009) pada ikan karper kaca (*Cyprinus carpio*) di mana suplementasi alanil-glutamin setara 1,5-2,0% memberikan tingkat pertumbuhan dan efisiensi pakan terbaik. Ikan Torsoro tampaknya lebih sensitif terhadap suplementasi glutamin dibandingkan dengan ikan lele Afrika. Hasil penelitian Rahmat *et al.* (2021) menunjukkan suplementasi glutamin hingga 2% pada ikan lele Afrika belum memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan. Pada penelitian ini, penambahan glutamin 2% mampu memberikan respons yang lebih baik dibandingkan dengan kontrol (tanpa suplementasi glutamin). Hasil penelitian suplementasi glutamin pada ikan Torsoro sejalan dengan hasil penelitian Pereira *et al.* (2017) dimana suplementasi glutamin sebesar 2% memberikan laju pertumbuhan terbaik pada ikan nila.

## Kinerja Pemanfaatan Nutrien pada Ikan Torsoro

Hasil penelitian menunjukkan bahwa suplementasi glutamin memberikan pengaruh nyata ( $p<0,05$ ) terhadap nilai konsumsi pakan, retensi protein, retensi lemak, rasio efisiensi protein serta rasio konversi pakan. Suplementasi alanil-glutamin sebesar 2,51% dan 3,35% memberikan hasil terbaik terhadap nilai konsumsi pakan dan rasio konversi pakan ikan Torsoro pada akhir masa pemeliharaan. Suplementasi alanil-glutamin pada tingkat 2,51% memberikan hasil terbaik terhadap parameter retensi protein dan rasio efisiensi protein, sedangkan suplementasi alanil-glutamin pada tingkat 3,35% memberikan hasil terbaik terhadap parameter retensi lemak. Data kinerja pemanfaatan nutrien ikan Torsoro selama 60 hari masa pemeliharaan disajikan pada Tabel 4.

Suplementasi glutamin dapat meningkatkan nilai konsumsi pakan ikan uji. Peningkatan konsumsi pakan disebabkan peran glutamin sebagai atraktan dalam pakan seperti yang dilaporkan oleh Saglio *et al.* (1990). Hasil penelitian Li *et al.* (2022) menunjukkan bahwa suplementasi beberapa jenis asam amino yang berfungsi sebagai atraktan dapat meningkatkan konsumsi dan pemanfaatan pakan pada ikan mas. Peningkatan nilai konsumsi pakan menyebabkan semakin bertambahnya beragam nutrien yang dapat dioptimalkan untuk meningkatkan pertambahan bobot dan pertumbuhan ikan uji. Peningkatan konsumsi pakan secara langsung mampu meningkatkan konsumsi glutamin. Glutamin dapat diubah menjadi  $\alpha$ -ketoglutarat di enterosit melalui perannya dalam siklus TCA untuk memperoleh lebih banyak ATP untuk metabolisme ikan (He *et al.*, 2023). Peningkatan pertambahan berat ikan juga disebabkan oleh kapasitas glutamin untuk mendorong sintesis asam amino nonesensial untuk deposit protein otot dan pada saat bersamaan glutamin sekaligus mengurangi katabolisme protein-protein yang ada (Carvalho *et al.*, 2023). L-glutamin penting sebagai prekursor untuk sintesis peptida dan

protein, sintesis gula amino, purin dan pirimidin dan sintesis asam nukleat dan nukleotida, dan juga menyediakan sumber karbon untuk oksidasi di beberapa sel (Newsholme *et al.*, 2003). Hal ini dibuktikan oleh tingginya nilai retensi protein melalui suplementasi glutamin baik menggunakan glutamin bebas maupun dipeptida dibandingkan dengan tanpa suplementasi glutamin (kontrol). Pada penelitian ini memiliki kecenderungan terjadi peningkatan nilai retensi protein seiring dengan penambahan tingkat suplementasi glutamin baik dalam bentuk bebas maupun dipeptida. Nilai retensi protein tertinggi diperoleh pada suplementasi alanil glutamin pada tingkat 2,51% dengan nilai retensi protein sebesar 46,81%. Suplementasi dipeptida alanil-glutamin memberikan efek yang lebih baik terhadap nilai retensi protein dan pertumbuhan ikan Torsoro karena multi peran dari alanil-glutamin. Gugus alanin berperan sebagai penyedia energi sedangkan glutamin berperan dalam sintesis protein. Alanina dioksidasi dalam siklus asam trikarboksilat (TCA) menghasilkan malat, yang melalui aksi enzim malat yang bergantung pada NADP<sup>+</sup>, menghasilkan piruvat. NADH dan FADH<sub>2</sub>, yang dihasilkan melalui jalur ini digunakan untuk donasi elektron ke rantai transpor elektron di mitokondria dan dengan demikian mendorong sintesis ATP sebagai bentuk energi (Newsholme *et al.*, 2003).

## Indeks Biologi

Suplementasi glutamin dalam pakan memberikan pengaruh nyata ( $p<0,05$ ) terhadap nilai indeks somatik – usus dan rasio panjang usus – tubuh ikan uji pada akhir masa pemeliharaan. Di lain pihak suplementasi glutamin tidak memberikan pengaruh ( $p>0,05$ ) terhadap nilai indeks viseral somatik dan indeks hepato somatik. Data indeks intestinal somatik, indeks viseral somatik, indeks hepato somatik dan rasio panjang usus – tubuh disajikan pada Tabel 5.

Indeks intestinal somatik dan rasio panjang usus : panjang tubuh menggambarkan

Tabel 4. Kinerja pemanfaatan nutrien ikan Torsoro yang diberi pakan uji dengan suplementasi glutamin dan alanil-glutamin pada dosis yang berbeda selama 60 hari masa pemeliharaan  
*Tabel 4. Nutrient utilization performance of Torsoro fish fed test diet with glutamine and alanyl-glutamine at different doses during 60 days rearing period*

Suplementasi glutamine (%) <i>Glutamine supplementation (%)</i>	Parameter uji <i>Parameter</i>				
	KP (g)	RP (%)	RL (%)	REP	RKP
Gln 0	378,82 ± 5,60 <sup>de</sup>	31,13 ± 0,43 <sup>e</sup>	40,88 ± 0,85 <sup>e</sup>	1,28 ± 0,01 <sup>f</sup>	1,93 ± 0,02 <sup>e</sup>
Gln 0,5	370,20 ± 3,99 <sup>e</sup>	31,41 ± 0,53 <sup>e</sup>	41,55 ± 1,07 <sup>e</sup>	1,32 ± 0,02 <sup>f</sup>	1,88 ± 0,02 <sup>e</sup>
Gln 1,0	362,52 ± 1,79 <sup>f</sup>	37,61 ± 0,57 <sup>d</sup>	54,45 ± 0,87 <sup>d</sup>	1,47 ± 0,01 <sup>e</sup>	1,68 ± 0,01 <sup>d</sup>
Gln 1,5	376,86 ± 4,55 <sup>de</sup>	38,82 ± 0,41 <sup>d</sup>	58,27 ± 1,54 <sup>c</sup>	1,57 ± 0,02 <sup>d</sup>	1,58 ± 0,02 <sup>c</sup>
Gln 2,0	408,66 ± 1,44 <sup>c</sup>	40,69 ± 0,42 <sup>c</sup>	55,94 ± 0,73 <sup>d</sup>	1,64 ± 0,02 <sup>c</sup>	1,51 ± 0,01 <sup>b</sup>
Ala Gln 0,84	380,06 ± 3,74 <sup>d</sup>	38,84 ± 0,79 <sup>d</sup>	56,55 ± 1,76 <sup>cd</sup>	1,59 ± 0,02 <sup>d</sup>	1,55 ± 0,02 <sup>c</sup>
Ala Gln 1,67	427,10 ± 3,63 <sup>b</sup>	40,27 ± 0,30 <sup>c</sup>	58,94 ± 0,73 <sup>c</sup>	1,67 ± 0,01 <sup>c</sup>	1,49 ± 0,01 <sup>b</sup>
Ala Gln 2,51	443,24 ± 3,27 <sup>a</sup>	46,81 ± 0,39 <sup>a</sup>	68,83 ± 1,13 <sup>b</sup>	1,78 ± 0,01 <sup>a</sup>	1,40 ± 0,01 <sup>a</sup>
Ala Gln 3,35	442,42 ± 5,92 <sup>a</sup>	44,93 ± 0,40 <sup>b</sup>	71,20 ± 1,10 <sup>a</sup>	1,76 ± 0,01 <sup>b</sup>	1,41 ± 0,01 <sup>a</sup>

Keterangan: Data dinyatakan dalam rata-rata ± SD (standar deviasi) (n = 5). Huruf *superscript* yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ( $p < 0,05$ ). KP = konsumsi pakan, RP = retensi protein, RL = retensi lemak, REP = rasio efisiensi protein, dan RKP = rasio konversi pakan

Note: Data were showed as average ± SD (deviation standard) (n=5). Values with different superscript letters in the same column indicate significantly different results ( $p < 0.05$ ). KP = feed consumption, RP = protein retention, RL = lipid retention, REP = protein efficiency ratio, and RKP = feed conversion ratio

Tabel 5. Nilai indeks intestinal somatik, indeks viseral somatik, indeks hepato somatik, dan rasio panjang usus : panjang tubuh, ikan Torsoro yang diberi pakan uji dengan suplementasi glutamin dan alanil-glutamin pada dosis yang berbeda di akhir masa pemeliharaan

*Table 5. Intestinal somatic index, visceral somatic index, hepatosomatic index, and intestinal : total body length ratio values of Torsoro fish fed test diet with glutamine and alanyl-glutamine at different doses at end of rearing period*

Suplementasi glutamin (%) <i>Glutamine supplementation (%)</i>	Parameter uji <i>Parameter</i>			
	IIS	IVS	IHS	RPU
Gln 0	1,87 ± 0,04 <sup>g</sup>	7,96 ± 0,34	1,40 ± 0,08	1,88 ± 0,02 <sup>e</sup>
Gln 0,5	1,94 ± 0,05 <sup>g</sup>	8,18 ± 0,09	1,41 ± 0,05	1,91 ± 0,03 <sup>de</sup>
Gln 1,0	2,11 ± 0,05 <sup>f</sup>	8,27 ± 0,26	1,49 ± 0,03	1,93 ± 0,01 <sup>cd</sup>
Gln 1,5	2,43 ± 0,06 <sup>e</sup>	8,06 ± 0,06	1,46 ± 0,04	1,97 ± 0,02 <sup>c</sup>
Gln 2,0	2,72 ± 0,03 <sup>d</sup>	8,08 ± 0,14	1,46 ± 0,06	2,04 ± 0,02 <sup>b</sup>
Ala Gln 0,84	2,46 ± 0,02 <sup>e</sup>	8,10 ± 0,20	1,41 ± 0,04	1,97 ± 0,01 <sup>c</sup>
Ala Gln 1,67	2,81 ± 0,02 <sup>c</sup>	8,01 ± 0,20	1,40 ± 0,07	2,03 ± 0,01 <sup>b</sup>
Ala Gln 2,51	3,08 ± 0,01 <sup>a</sup>	8,03 ± 0,28	1,39 ± 0,03	2,10 ± 0,01 <sup>a</sup>
Ala Gln 3,35	2,98 ± 0,05 <sup>b</sup>	8,09 ± 0,08	1,44 ± 0,04	2,08 ± 0,02 <sup>a</sup>

Keterangan: Data dinyatakan dalam rata-rata  $\pm$  SD (standar deviasi) ( $n = 5$ ). Huruf *superscript* yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ( $p < 0,05$ ). IIS = indeks intestinal somatik, IVS = indeks viseral somatik, IHS = indeks hepato somatik, dan RPU = Rasio panjang usus : tubuh

Note: Data were shown as average  $\pm$  SD (deviation standard) ( $n=5$ ). Values with different superscript letters in the same column indicate significantly different results ( $p<0.05$ ). IIS = intestinal somatic index; IVS = visceral somatic index; IHS = hepatosomatic index; RPU = intestinal: total body length ratio

adanya modifikasi saluran pencernaan. Hasil positif suplementasi glutamin terhadap kinerja pertumbuhan berkorelasi dengan peran glutamin pada usus ikan Torsoro. Hal ini didukung dari hasil penelitian yang menunjukkan perbedaan signifikan antara morfologi usus dan peningkatan efisiensi pakan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa suplementasi alanil glutamin dalam pakan hingga 2,51% ternyata mampu meningkatkan efisiensi pakan dan hasil ini sesuai dengan beberapa penelitian lain misalnya pada ikan mas Jian (Chen *et al.*, 2009), sturgeon hibrida (Qiyou *et al.*, 2011), dan ikan nila (Pereira *et al.*, 2017). Efek positif ini dapat dikaitkan dengan modifikasi struktur usus yang didorong oleh penambahan glutamin dan pola makan ikan Torsoro. Perubahan tersebut dapat dimodulasi dengan mengubah komposisi pakan (De Silva & Anderson, 1995). Faktanya pada penelitian ini suplementasi glutamin mampu memodifikasi struktur usus ikan Torsoro secara makroskopis. Respons positif tergantung dosis glutamin yang disuplementasikan dalam pakan. Suplementasi alanil-glutamin sebesar 2,51-3,35% dalam pakan mendorong peningkatan nilai indeks intestinal somatik dan rasio panjang usus : panjang tubuh ikan torsoro yang terbaik dibandingkan dengan tanpa suplementasi glutamin.

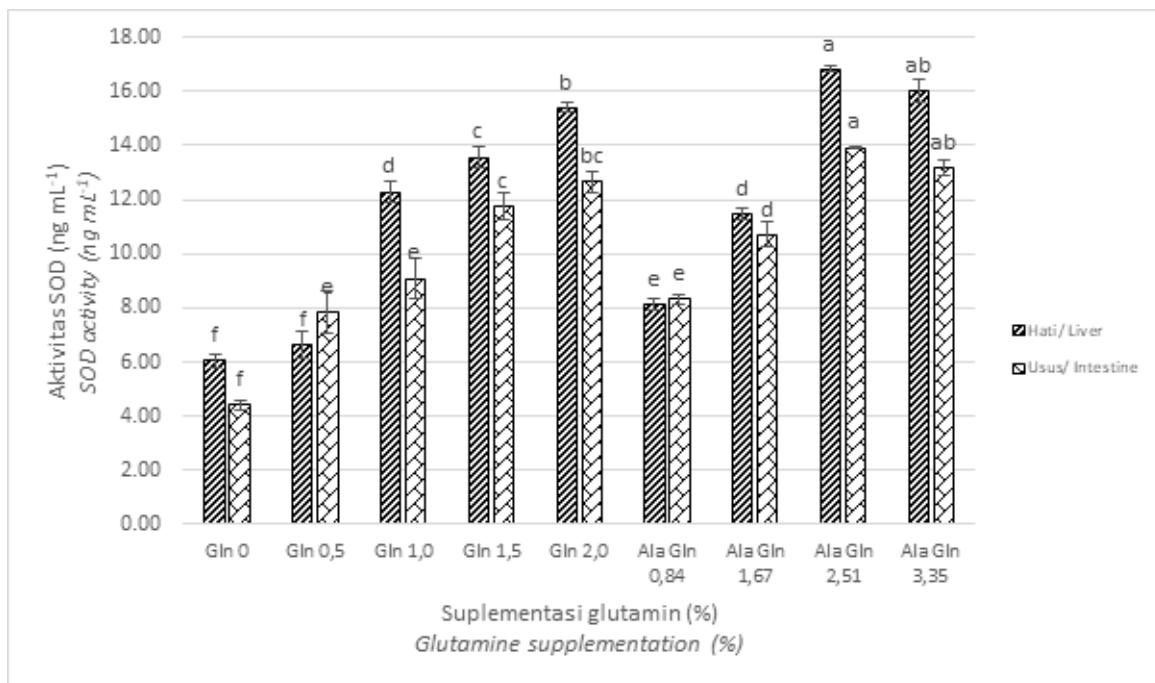
Perubahan struktur usus ini terkait dengan jalur metabolisme glutamin. Asam amino ini merupakan substrat energi penting untuk pembelahan sel dengan cepat seperti enterosit, menyediakan ATP untuk pergantian protein intraseluler, transportasi nutrisi melintasi membran plasma, pertumbuhan dan migrasi sel, serta pemeliharaan integritas seluler (Wu, 2013). Berdasarkan peran glutamin yang ada, peningkatan parameter morfometri usus diharapkan bertambah sesuai dengan suplementasi glutamin dalam pakan tersedia

pada tingkat yang memadai. Hasil serupa juga diamati pada ayam pedaging (Bartell & Batal, 2007; Murakami *et al.*, 2007; Soltan, 2009), babi (Wu *et al.*, 1996), dan berbagai spesies ikan (Cheng *et al.*, 2012; Pohlenz *et al.*, 2012; Qiyou *et al.*, 2011;). Perbaikan struktur usus makro yang disebabkan oleh suplementasi glutamin tampaknya dapat berkontribusi terhadap penyerapan nutrisi dan berdampak terhadap kinerja pertumbuhan ikan Torsoro yang lebih baik.

### Aktivitas Superoxide Dismutase (SOD)

Suplementasi glutamin memberikan pengaruh nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap aktivitas antioksidan pada ikan Torsoro. Pada tingkat yang sama, suplementasi glutamin dalam bentuk dipeptida (alanil-glutamin) memberikan respons aktivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan suplementasi glutamin dalam bentuk bebas. Aktivitas *superoxide dismutase* (SOD) tertinggi diperoleh pada suplementasi alanil-glutamin pada tingkat 2,51%. Data aktivitas SOD di organ hati dan usus pada akhir masa pemeliharaan disajikan pada Gambar 1.

Superoksid dismutase (SOD) adalah sejenis metaloenzim yang ditemukan di semua makhluk hidup. Superoksid dismutase (SOD) membentuk garis depan pertahanan terhadap cedera yang disebabkan oleh spesies oksigen reaktif (ROS) (Zhang *et al.*, 2020). Protein ini mengkatalisis dismutasi radikal bebas anion superoksid ( $O_2^-$ ) menjadi molekul oksigen dan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) dan menurunkan kadar  $O_2^-$  yang merusak sel pada konsentrasi berlebihan (Yasui & Baba, 2006). Efek modulasi enzim antioksidan dalam tubuh ikan Torsoro tampaknya sangat dipengaruhi oleh suplementasi glutamin dalam pakan. Menariknya, efek modulasi tersebut memiliki



**Gambar 1.** Aktivitas *superoxide dismutase* (SOD) di organ hati dan usus ikan Torsoro yang diberi pakan uji dengan suplementasi glutamin dan alanil-glutamin pada dosis yang berbeda pada akhir masa pemeliharaan. Superskrip yang berbeda pada organ target yang sama menunjukkan perbedaan yang signifikan pada tingkat kepercayaan 95% ( $p<0,05$ )

**Figure 1.** *Superoxide dismutase (SOD) activity in liver and intestine of Torsoro fish fed test diet with glutamine and alanyl-glutamine at different doses at the end of the rearing period. Different superscripts in the same target organ indicate significant differences at a confidence level of 95% ( $p<0.05$ )*

pola yang sama antarjenis enzim yang berbeda, namun dengan tingkat aktivitas yang berbeda. Suplementasi alanil-glutamin pada tingkat 2,51% memberikan nilai aktivitas SOD tertinggi baik pada organ hati maupun usus ikan torsoro. Hal ini sejalan dengan penelitian Liu *et al.* (2015) di mana suplementasi glutamin dalam pakan dapat meningkatkan aktivitas SOD pada ikan sebelah. Hasil penelitian ini juga sejalan dengan hasil penelitian Hong *et al.* (2014) dimana ikan karper kaca yang diberi pakan mengandung glutamin memiliki aktivitas SOD yang lebih tinggi dibandingkan dengan tanpa suplementasi glutamin. Superoksid dismutase (SOD) melindungi beragam organ dari kerusakan akibat stres oksidatif. SOD mengubah radikal superokida yang sangat reaktif menjadi  $\text{H}_2\text{O}_2$  yang kurang reaktif, yang selanjutnya dapat bereaksi dengan GPX

dan/atau CAT dan terurai menjadi  $\text{H}_2\text{O}$  yang tidak beracun. Studi Santiard *et al.* (1995) menunjukkan bahwa produksi ROS yang berlebihan akan menghambat fungsi SOD. Suplementasi glutamin dalam bentuk dipeptida alanil-glutamin dalam pakan dapat memodulasi aktivitas antioksidan khususnya SOD sehingga dapat meningkatkan penangkapan radikal-radikal bebas dan pada akhirnya memberikan perlindungan lebih pada beragam organ dari kerusakan akibat stres oksidatif.

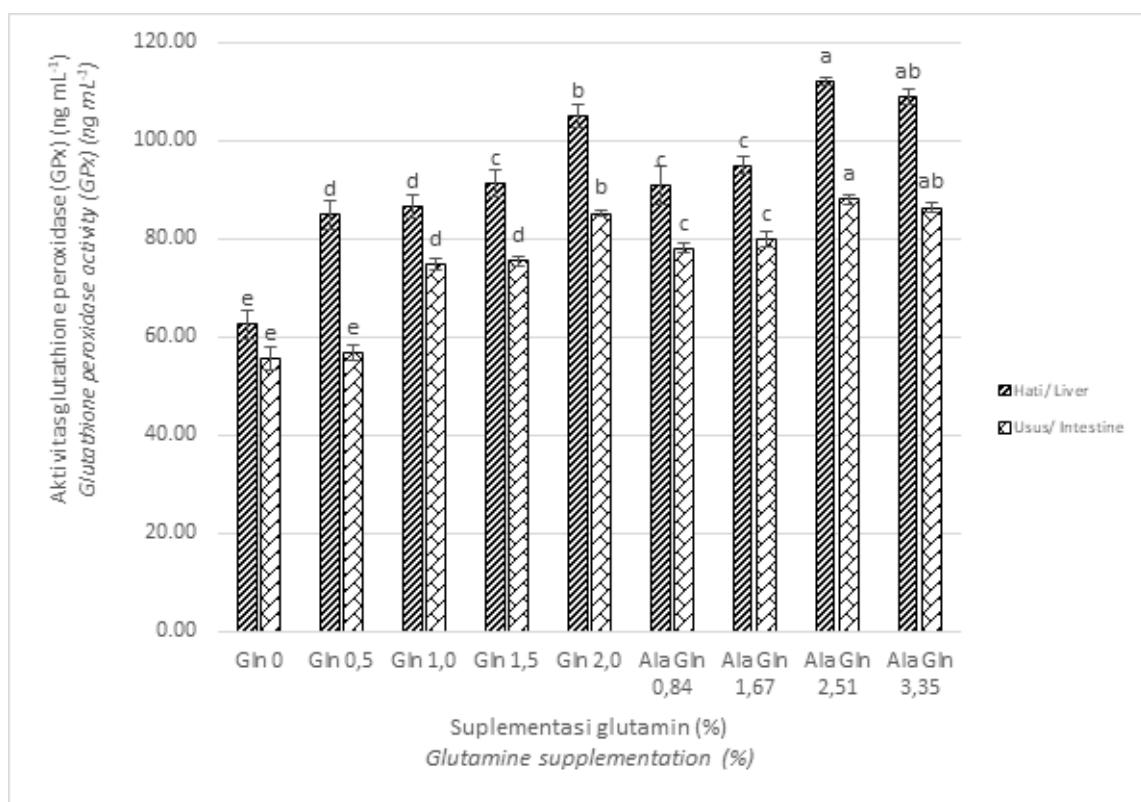
#### Aktivitas Glutathione Peroxidase (GPx)

Selanjutnya glutathione peroxidase (GPx) memiliki aktivitas tertinggi pada perlakuan suplementasi alanil glutamin pada tingkat 2,51% baik pada organ hati maupun usus. Nilai aktivitas GPx pada suplementasi glutamin 2,51%

tidak berbeda nyata dengan suplementasi alanil glutamin pada tingkat 3,35%. Aktivitas GPx terendah baik pada organ hati maupun pada usus diperoleh pada perlakuan kontrol/tanpa suplementasi glutamin. Aktivitas GPx di organ hati dan usus pada akhir pemeliharaan ikan uji disajikan pada Gambar 2.

Sejalan dengan parameter SOD, aktivitas GPx dipengaruhi oleh suplementasi glutamin dalam pakan ikan Torsoro. Suplementasi alanil-glutamin pada tingkat 2,51-3,35% memberikan hasil yang sama terhadap aktivitas GPx di organ hati dan usus. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Hong *et al.* (2014) dimana suplementasi alanil glutamin dalam pakan ikan karper kaca mampu meningkatkan aktivitas GPx. Peningkatan aktivitas GPx diharapkan

dapat memberikan perlindungan yang lebih dari berbagai organ dari kerusakan akibat stres oksidatif. *Glutathione peroxidase* (GPx) mengkatalisis reduksi lipid peroksid (LOOH) dan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) kembali menjadi alkohol (LOH) dan air. GPx menghambat molekul LOOH dan  $H_2O_2$  untuk berpartisipasi dalam pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS) dan spesies nitrogen reaktif (RNS) agresif yang dikatalisis logam, seperti radikal alksil ( $LO\cdot$ ) dan hidroksil ( $HO\cdot$ ) (Buijsse *et al.*, 2012). *Glutathione peroxidase* (GPx) menggunakan tripeptida  $\gamma$ -glutamylcysteinylglycine (glutathione; GSH) sebagai substrat untuk mereduksi kedua peroksidasi dan menghasilkan glutathione teroksidasi (GSSG) sebagai produk utama dari reaksi ini (Deponce, 2017). Oleh karena itu, proses reduksi jumlah peroksidasi secara efisien



Gambar 2. Aktivitas *glutathione peroxidase* (GPx) di organ hati dan usus ikan Torsoro yang diberi pakan uji dengan suplementasi glutamin dan alanil-glutamin pada dosis yang berbeda pada akhir masa pemeliharaan. Superskrip yang berbeda pada organ target yang sama menunjukkan perbedaan yang signifikan pada tingkat kepercayaan 95% ( $p<0,05$ )

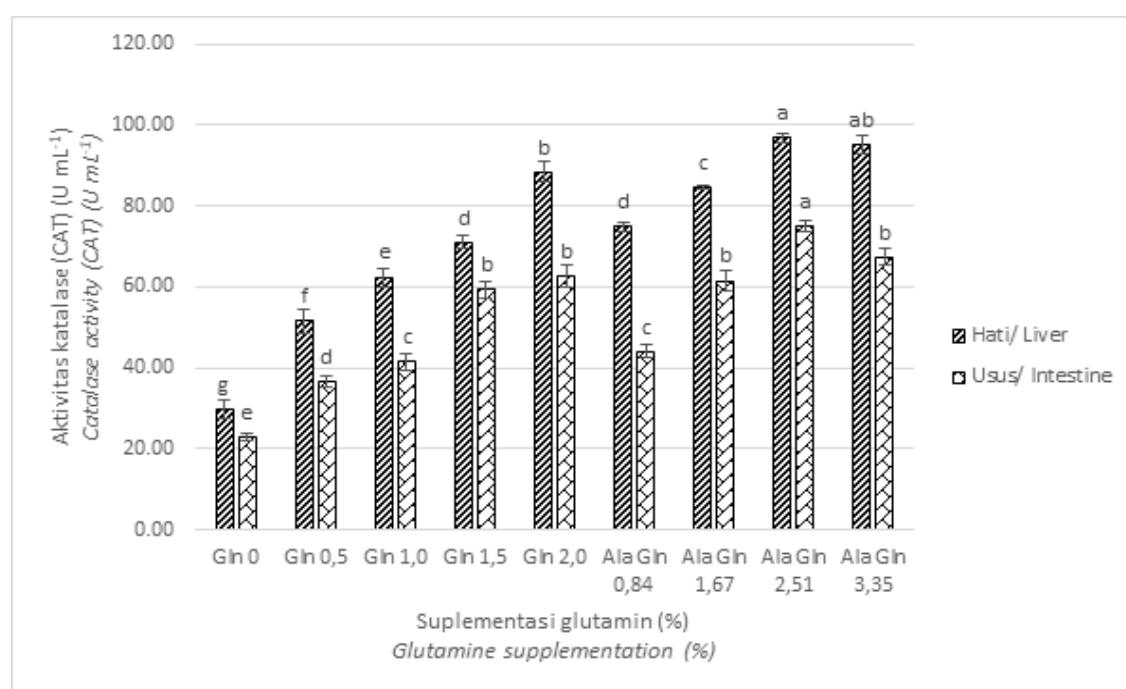
*Figure 2. Glutathione peroxidase (GPx) activity in liver and intestine of Torsoro fish fed test diet with glutamine and alanyl-glutamine at different doses at the end of the rearing period. Different superscripts in the same target organ indicate significant differences at a confidence level of 95% ( $p<0.05$ )*

dari sistem vaskular bergantung pada reduksi terbalik  $\text{GSSG} \rightarrow 2\text{GSH}$ , sebuah reaksi yang menggunakan NADPH sebagai kofaktor untuk aktivitas glutathione reduktase (GR) pada berbagai tipe sel (Deponte, 2017). Oleh karena itu, sistem antioksidan glutathione terkait erat dengan metabolisme energi perantara karena jalur pentosa fosfat (PPP) diduga merupakan jalur metabolisme utama untuk memasok kofaktor NADPH dalam proses biosintesis dan sistem antioksidan berbasis tiol (Jin *et al.*, 2020). Glutamin memegang peran penting dalam jalur metabolisme pembentukan GSH. Glutamin yang terdapat dalam mitokondria sel mengubah glutamin menjadi L-glutamat. Selanjutnya glutamat bersama beberapa jenis asam amino menjadi prekursor GSH, molekul yang sangat berperan sebagai substrat GPx untuk mereduksi  $\text{LOOH}$  dan  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Newsholme *et al.*, 2003).

## Aktivitas Katalase

Hasil penelitian menunjukkan bahwa suplementasi glutamin dalam pakan memberikan pengaruh nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap aktivitas katalase. Aktivitas katalase (CAT) tertinggi diperoleh pada perlakuan suplementasi alanil-glutamin sebesar 2,51% baik pada organ hati maupun usus. Aktivitas CAT di organ hati pada perlakuan suplementasi alanil-glutamin 3,35% memberikan hasil yang sama dengan suplementasi alanil-glutamin 2,51%. Aktivitas CAT terendah diperoleh pada perlakuan kontrol atau tanpa suplementasi glutamin baik di organ hati maupun usus. Data aktivitas CAT di organ hati dan usus pada akhir masa pemeliharaan disajikan pada Gambar 3.

Katalase dan GPx memiliki peran yang sama terhadap reduksi  $\text{H}_2\text{O}_2$  menjadi material



Gambar 3. Aktivitas katalase (CAT) di organ hati dan usus ikan Torsoro yang diberi pakan uji dengan suplementasi glutamin dan alanil-glutamin pada dosis yang berbeda pada akhir masa pemeliharaan. Superskrip yang berbeda pada organ target yang sama menunjukkan perbedaan yang signifikan pada tingkat kepercayaan 95% ( $p < 0,05$ )

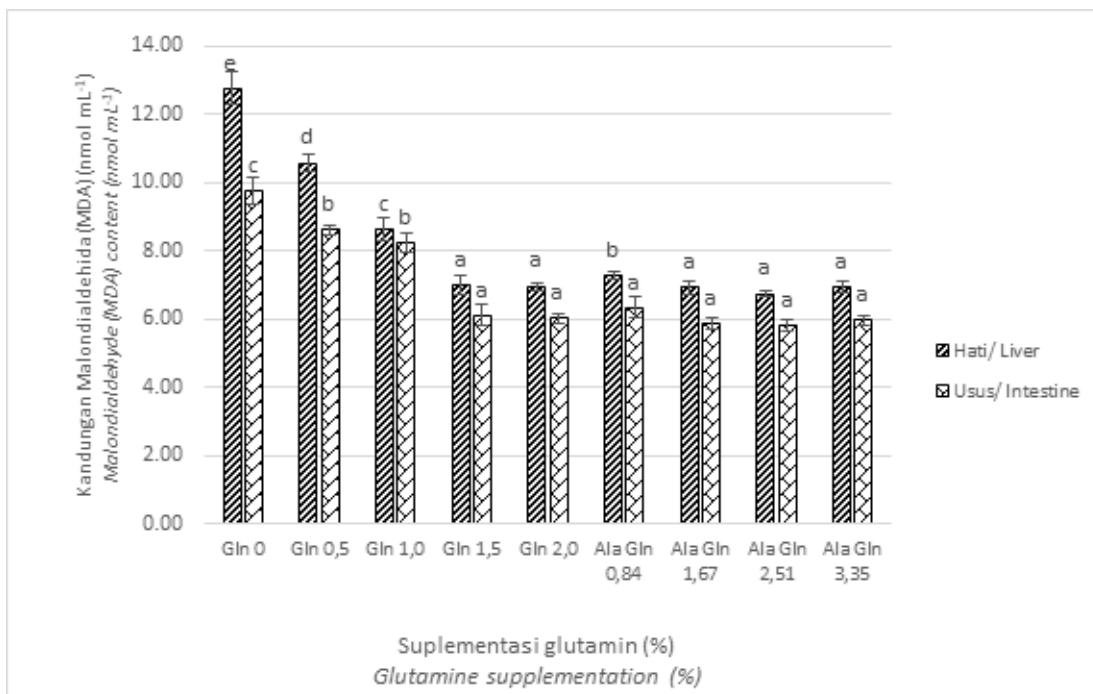
*Figure 3. Catalase (CAT) activity in liver and intestine of Torsoro fish fed test diet with glutamine and alanyl-glutamine at different doses at the end of the rearing period. Different superscripts in the same target organ indicate significant differences at a confidence level of 95% ( $p < 0.05$ )*

yang tidak berbahaya bagi tubuh ikan. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa suplementasi alanil glutamin pada tingkat 2,51% memberikan aktivitas katalase tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hasil penelitian ini sedikit berbeda dengan hasil penelitian Liu *et al.* (2015) di mana suplementasi glutamin tidak memberikan pengaruh nyata terhadap aktivitas katalase pada larva ikan kerapu. Perbedaan stadia dan kondisi fisiologis ikan tampaknya memiliki peran terhadap perbedaan aktivitas katalase. Pada tingkat selular, katalase mengkatalisis penguraian  $H_2O_2$  menjadi  $H_2O$  dan molekul oksigen ( $O_2$ ). Reaksi ini sangat penting karena hidrogen peroksida, produk sampingan dari berbagai proses seluler termasuk respirasi aerob, dapat menjadi racun jika dibiarkan terakumulasi (Nandi *et al.*, 2019; Yuan *et al.*, 2021). Katalase secara efisien mengurangi toksitas ini dengan cepat memecah hidrogen peroksida menjadi zat yang tidak berbahaya. Katalase memainkan peran penting dalam fisiologi seluler sehingga enzim ini bertindak sebagai salah satu mekanisme pertahanan utama terhadap ROS dengan secara efisien mengubah hidrogen peroksida, prekursor radikal hidroksil yang sangat reaktif, menjadi air dan oksigen, sehingga mencegah stres oksidatif (Yuan *et al.*, 2021).

### Kandungan Malondialdehida (MDA)

Suplementasi glutamin dalam pakan memberikan pengaruh nyata ( $p<0,05$ ) terhadap kandungan malondialdehida di hati dan usus ikan Torsoro pada akhir masa pemeliharaan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa suplementasi glutamin pada tingkat 1,5% dan 2,0% serta suplementasi alanil glutamin pada tingkat 1,67%, 2,51%, dan 3,35% memberikan hasil yang sama terhadap nilai MDA. Kandungan MDA tertinggi baik di hati maupun di usus diperoleh pada perlakuan kontrol atau tanpa suplementasi glutamin. Data kandungan MDA di hati dan di usus pada akhir masa pemeliharaan ikan Torsoro disajikan pada Gambar 4.

Malondialdehida (MDA) merupakan indikator utama stres oksidatif dan peningkatan kadar serum menunjukkan peningkatan stres oksidatif (Sarban *et al.*, 2005). Hasil penelitian mengenai suplementasi glutamin dalam pakan ikan Torsoro mengindikasikan bahwa secara keseluruhan glutamin berperan dalam melindungi ikan uji dari dampak negatif stres oksidatif radikal bebas. Penurunan kandungan MDA pada perlakuan yang diberikan suplementasi glutamin baik dalam bentuk glutamin bebas maupun dalam bentuk dipeptida (alanil-glutamin) membuktikan peran glutamin sebagai salah satu asam amino yang berperan dalam mengatasi stres oksidatif pada organisme akuatik. Suplementasi glutamin bebas pada dosis 1,5-2,0% serta alanil-glutamin 0,84-3,35% memberikan dampak yang sama terhadap kandungan MDA di tubuh ikan Torsoro. Dalam penelitian ini, penurunan signifikan kandungan MDA hati dan usus jelas menunjukkan bahwa suplementasi glutamin menghambat peroksidasi lipid dan mendorong restorasi membran sel. Temuan serupa telah dilaporkan dalam penelitian lain (Joon *et al.*, 2003; Prabhu *et al.*, 2003). Hal ini mungkin menunjukkan bahwa efek antioksidan glutamin khususnya alanil-glutamin mungkin disebabkan oleh kemampuannya meningkatkan kapasitas penangkapan radikal bebas. Penurunan kandungan MDA akibat suplementasi glutamin pada ikan Torsoro sejalan dengan beberapa hasil penelitian terdahulu pada ikan yang berbeda misalnya pada ikan *sturgeon* hibrida (Wang *et al.*, 2011), ikan lidah (Liu *et al.*, 2015) dan ikan cobia (Ding *et al.*, 2017). Berdasarkan data-data yang ada dapat membuktikan bahwa penurunan kandungan MDA dapat mengakibatkan penurunan stres oksidatif dan suplementasi asam amino seperti glutamin yang bermanfaat dalam mengendalikan kondisi stres pada ikan seperti pada periode pemeliharaan dengan padat tebar tinggi atau kondisi dengan jumlah stressor yang cukup banyak.



**Gambar 4.** Kandungan malondialdehida (MDA) di organ hati dan usus ikan torsoro yang diberi pakan uji dengan suplementasi glutamin dan alanil-glutamin pada dosis yang berbeda pada akhir masa pemeliharaan. Superskrip yang berbeda pada organ target yang sama menunjukkan perbedaan yang signifikan pada tingkat kepercayaan 95% ( $p<0,05$ )

*Figure 4. Malondialdehyde (MDA) content in liver and intestine of Torsoro fish fed test diet with glutamine and alanyl-glutamine at different doses at the end of rearing period. Different superscripts in the same target organ indicate significant differences at a confidence level of 95% ( $p<0.05$ )*

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa suplementasi glutamin dalam pakan memberikan pengaruh nyata terhadap nilai bobot akhir, laju pertumbuhan spesifik, konsumsi pakan, retensi protein, retensi lemak, rasio efisiensi protein, konversi pakan, indeks intestin somatik, rasio panjang usus : panjang tubuh, aktivitas SOD, GPx, katalase, dan MDA pada ikan Torsoro. Suplementasi alanil-glutamin 2,51% memberikan nilai terbaik pada parameter nilai bobot akhir, laju pertumbuhan spesifik, konsumsi pakan, retensi protein, rasio efisiensi protein, konversi pakan, indeks intestin somatik, rasio panjang usus : panjang tubuh, aktivitas SOD, GPx, dan katalase. Alanil-glutamin memiliki potensi dalam meningkatkan pertumbuhan

dan modulasi antioksidan pada ikan Torsoro. Untuk meningkatkan pertumbuhan dan aktivitas antioksidan disarankan agar pakan ikan Torsoro dapat diberikan suplemen alanil-glutamin sebesar 2,51%.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini sebagian dibiayai dari bantuan dana penelitian Badan Riset dan Sumber Daya Manusia Kelautan Perikanan, Kementerian Kelautan dan Perikanan tahun anggaran 2022. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dr. Adang Saputra, Khazaidan S.Pi., Hendra S.Pi., Aditya Nugraha S.Pi., Sri Sundari, ST., Mika Darullah, Bambang Priadi, dan Ahmad Wahyudi, A.Md. yang telah membantu terlaksananya penelitian ini.

## PENDANAAN

Penelitian ini sebagian dibiayai dari bantuan dana penelitian Badan Riset dan Sumber Daya Manusia Kelautan Perikanan tahun anggaran 2021.

## KONTRIBUSI PENULIS

RS: konseptualisasi, kurasi data, analisis formal, akuisisi pendanaan, investigasi, metodologi, administrasi proyek, sumber daya, perangkat lunak, visualisasi, dan penulisan – draf asli; DJ: supervisi, konseptualisasi, metodologi, validasi, penulisan – *review*, dan *editing*; MS: supervisi, konseptualisasi, metodologi, validasi, penulisan – *review*, dan *editing*; WW: supervisi, konseptualisasi, metodologi, validasi, penulisan – *review*, dan *editing*; AA: supervisi, konseptualisasi, metodologi, validasi, penulisan – *review*, dan *editing*; MS: supervisi, konseptualisasi, metodologi, validasi, penulisan – *review* dan *editing*, analisis, akuisisi pendanaan serta administrasi proyek.

## PERNYATAAN COMPETING INTEREST

Penulis menyatakan bahwa tidak ada *competing interest* pada kegiatan ini.

## DAFTAR ACUAN

Ahmed, I., Ahmad, I., Malla, B. A., Shah, B. A., Wani, Z. A., & Khan, Y. M. (2022). Dietary arginine modulates growth performance, hemato-biochemical indices, intestinal enzymes, antioxidant ability and gene expression of Tor and 4E-BP1 in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* fingerlings. *Frontiers in Marine Science*, 9, 908581. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.908581>

American Veterinary Medical Association. (2020). *Guidelines for the euthanasia of animals*. 1931 N. Meacham Road Schaumburg.

- Association of Official Analytical Chemists. (1995). *Official methods of analysis of official analytical chemists international*. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists.
- Asaduzzaman, M. D., Sofia, E., Shakila, A., Haque, N. F., Khan, M. N. A., Ikeda, D., Kinoshita, S., & Abol-Munafi, A. B. (2018). Host gut-derived probiotic bacteria promote hypertrophic muscle progression and upregulate growth-related gene expression of slow-growing Malaysian Mahseer *Tor tambroides*. *Aquaculture Reports*, 9, 37–45. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2017.12.001>
- Asih, S., Subagja, J., Kristanto, A. H., Nugroho, E., & Gustiano, R. (2011). Dokumen permohonan pelepasan ikan Torsoro (*Tor soro*) hasil domestikasi. Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar.
- Bartell, S. M., & Batal, A. B. (2007). The effect of supplemental glutamine on growth performance, development of the gastrointestinal tract, and humoral immune response of broilers. *Poultry Science*, 86, 1940-1947. <https://doi.org/10.1093/ps/86.9.1940>
- Buijsse, B., Lee, D. H., Steffen, L., Erickson, R. R., Luepker, R. V., & Jacobs, D. R. (2012). Low serum glutathione peroxidase activity is associated with increased cardiovascular mortality in individuals with low HDLc's. *PLoS ONE*, 7(6), e38901. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0038901>
- Carvalho, L. P. F., William, S. X., Matheus, G. G., Edgar, J. D., Rodrigues, W., Furuya, M., Yamamoto, Y., Luiz, E., Pezzato, Gatlin, D. M., & Margarida, M. B. (2023). Dietary glutamine improves growth and intestinal morphology of juvenile GIFT tilapia (*Oreochromis niloticus*) but has limited effects on innate immunity and antioxidant capacity. *Aquaculture*, 563, 738976. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.-2022.738976>

- Chen, J., Zhou, X. Q., Lin, F., Liu, Y., & Jiang, J. (2009). Effects of glutamine on hydrogen peroxide-induced oxidative damage in intestinal epithelial cells of Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). *Aquaculture*, 288, 285–289. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.-2008.10.053>
- Cheng, Z., Gatlin III, D. M., & Buentello, A. (2012). Dietary supplementation of arginine and/or glutamine influences growth performance, immune responses and intestinal morphology of hybrid striped bass (*Morone chrysops* X *Morone saxatilis*). *Aquaculture*, 362, 39-43. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.07.015>
- Cruzat, V., Rogero, M. M., Keane, K. N., Rui, R., & Newsholme, P. (2018). Glutamine: metabolism and immune function, supplementation and clinical translation. *Nutrients*, 10, 1564–1595. <https://doi.org/10.3390/nu10111564>
- Deponte, M. (2017). The incomplete glutathione puzzle: just guessing at numbers and figures? *Antioxidants & Redox Signaling*, 27(15), 1130–1161. <https://doi.org/10.1089/ars.2017.7123>
- De Silva, S. S., & Anderson, T. A. (2005). *Fish nutrition in aquaculture*. Chapman and Hall.
- 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 $\alpha$  genes, antioxidation, feed utilization, growth, and improve composition of juvenile cobia. *Aquaculture*, 47, 95–102 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.12.015>
- Haryono, & Subagja, J. (2007). Pertumbuhan ikan Tambra (*Tor tambroides*) dan Kancera (*Tor solo*) pada proses domestikasi dan jenis pakan yang berbeda. *Jurnal Biologi Indonesia*, 4(3), 167–175. <https://doi.org/10.14203/jbi.v4i3.3261>
- Haryono, & Subagja, J. (2008). Populasi dan habitat ikan Tambra, *Tor tambroides* (Bleeker, 1854) di Perairan Kawasan Pegunungan Muller Kalimantan Tengah. *Biodiversitas*, 9(4), 306–309. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d090414>
- He, Y., Liang, J., Dong, X., Yang, Q., Liu, J., Zhang, S., Chi, S., & Tan, B. (2022). Glutamine alleviates  $\beta$ -conglycinin-induced enteritis in juvenile hybrid groupers *Epinephelus fuscoguttatus* $\varphi$   $\times$  *Epinephelus lanceolatus* $\delta$  by suppressing the MyD88/NF- $\kappa$ B pathway. *Aquaculture*, 549, 737735. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.-2021.737735>
- He, S., Zhang, S., Yao, Y., Xu, B., Niu, Z., Liao, F., Wu, J., Song, Q., Li, M., & Liu, Z. (2023). Turbulence of glutamine metabolism in pan-cancer prognosis and immune microenvironment. *Frontiers in Oncology*, 12, 1064127. <https://doi.org/10.3389/fonc.2023.-1064127>
- Hong, X., Zhu, Q., Wang, C., Zhao, Z., Luo, L., Wang, L., Li, J., & Xu, Q. (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, 37–46. [https://doi.org/10.1016/S1006-8104\(15\)30018-0](https://doi.org/10.1016/S1006-8104(15)30018-0)
- Hu, K., Zhang, J. X., Feng, L., Jiang, W. D., Wu, P., Liu, Y., Jiang, J., & Zhou, X. Q. (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, 635–649. <https://doi.org/10.1007/s10695-015-0034-0>

- Hu, R. F., Qu, J., Tang, Q., Zhao, J., Yan, Z., Zhou, Y., Zho, Z., & Liu. (2017). Cloning, expression, and nutritional regulation of the glutamine synthetase gene in *Ctenopharyngodon idellus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 212, 70–76. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2017.06.004>
- Islam, M. S., & Tanaka, M. (2004). Optimization of dietary protein requirement for pond-reared mahseer *Tor putitora* Hamilton (Cypriniformes: Cyprinidae). *Aquaculture Research*, 35, 1270–1276. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2004.01149.x>
- Ji, F. J., Wang, L. X., Yang, H. S., Hu, A., & Yin, Y. L. (2019). Review: The roles and functions of glutamine on intestinal health and performance of weaning pigs. *Animal*, 13, 2727–2735. <https://doi.org/10.1017/S1751731119001800>
- Jia, S. C., Li, X. Y., Zheng, S. X., & Wu, G. (2017). Amino acids are major energy substrates for tissues of hybrid striped bass and zebrafish. *Amino Acids*, 49, 2053–2063. <https://doi.org/10.1007/s00726-017-2481-7>
- Jiao, C., Zou, J., Chen, Z., Zheng, F., Xu, Z., Lin, Y. H., & Wang, Q. (2021). Dietary glutamine inclusion regulates immune and antioxidant system, as well as programmed cell death in fish to protect against *Flavobacterium columnare* infection. *Antioxidants*, 11(1), 44. <https://doi.org/10.3390/antiox11010044>
- Jin, E. S., Lee, M. H., & Malloy, C. R. (2020). Divergent effects of glutathione depletion on isocitrate dehydrogenase 1 and the pentose phosphate pathway in hamster liver. *Physiological Reports*, 8(16), e14554. <https://doi.org/10.14814/phy2.14554>
- Joon, S. G., Youn, Y. K., & Song, H. G. (2003). The effect of glutamine on inducible nitric oxide synthase gene expression in intestinal ischemia reperfusion injury. *Nutrition Research*, 23, 131–140. [https://doi.org/10.1016/S0271-5317\(02\)00479-7](https://doi.org/10.1016/S0271-5317(02)00479-7)
- Jusadi, D., Aprilia, T., Suprayudi, M. A., & Yaniharto, D. (2015). Pengkayaan rotifer dengan asam amino bebas untuk larva kerapu bebek *Cromileptes altivelis*. *Jurnal Ilmu Kelautan*, 20(4), 207–214. <https://doi.org/10.14710/ik.ijms.20.4.207-214>
- Kottelat, M. (2013). The fishes of the inland waters of Southeast Asia: a catalogue and core bibliography of the fishes known to occur in freshwaters, mangroves and estuaries. *The Raffles Bulletin of Zoology*, 27, 1–663.
- Li, X., Zheng, S., & Wu, G. (2020a). Nutrition and metabolism of glutamate and glutamine in fish. *Amino Acids*, 52, 671–691. <https://doi.org/10.1007/s00726-020-02851-2>
- Li, X., Shixuan, Z., Jia, S., Song, F., Zhou, C., & Wu, G. (2020b). Oxidation of energy substrates in tissues of largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Amino Acids*, 52, 1017–1032. <https://doi.org/10.1007/s00726-020-02871-y>
- Li, X., Fang, T., Wang, J., Wang, Z., Guan, D., Sun, H., Yun, X., & Zhou, J. (2022). The efficiency of adding amino acid mixtures to a diet free of fishmeal and soybean meal as an attractant in yellow river carp (*Cyprinus carpio* var.). *Aquaculture Reports*, 24, 101189. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2022.101189>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.04.-012>
- Liu, Y., Chen, Z. C., Dai, J. H., Yang, P., Hu, H. B., & Ai, Q. H. (2018). The protective role of glutamine on enteropathy induced by high dose of soybean meal in turbot, *Scophthalmus maximus* L. *Aquaculture*, 497, 510–519. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.08.021>

- Ma, X. Z., Feng, L., Wu, P., Liu, Y., Kuang, S. Y., Tang, L., Zhou, X. Q., & Jiang, W. D. (2020). Enhancement of flavor and healthcare substances, mouthfeel parameters and collagen synthesis in the muscle of on-growing grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fed with graded levels of glutamine. *Aquaculture*, 528, 735486. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735486>
- Murakami, A. E., Sakamoto, M. I., Natali, M. R. M., Souza, L. M. G., & Franco, J. R. G. (2007). Supplementation of glutamine and vitamin E on the morphometry of the intestinal mucosa in broiler chickens. *Poultry Science*, 86, 488-495. <https://doi.org/10.1093/ps/86.3.488>
- Nandi, A., Yan, L. J., Jana, C. K., & Das, N. (2019). Role of catalase in oxidative stress- and age-associated degenerative diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 9613090. <https://doi.org/10.1155/-2019/9613090>
- Newsholme, P., Lima, M. M., Procopio, J., Pithon-Curi, T. C., Doi, S. Q., Bazotte, R. B., & Curi, R. (2003). Glutamine and glutamate as vital metabolites. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 36(2), 153–63. <https://doi.org/10.1590/s0100-879x2003000200002>
- Ng, W. K., Abdullah, N., & De Silva, S. S. (2008). The dietary protein requirement of the Malaysian mahseer, *Tor tambroides* (Bleeker) and the lack of protein-sparing action by dietary lipid. *Aquaculture*, 284, 201–206. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.-2008.07.051>
- National Research Council. (2011). *Guide laboratory animals for the care and use of laboratory animal*. 11<sup>th</sup> eds. The National Academies Press.
- Pereira, R. T., Rosa, P. V., & Gatlin, D. M. (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. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.-2017.01.033>
- Pohlenz, C., Buentello, A., Bakke, A. M., & Gatlin III, D. M. (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, 32-39. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.-2012.10.002>
- Prabhu, R., Thomas, S., & Balasubramanian, K. A. (2003). Oral glutamine attenuates surgical manipulation-induced alterations in the intestinal brush border membrane. *Journal of Surgical Research*, 115, 148–156. [https://doi.org/10.1016/s0022-4804\(03\)00212-9](https://doi.org/10.1016/s0022-4804(03)00212-9)
- Qiyou, X., Qing, Z., Hong, X., Changan, W., & Daqiang, S. (2011). Dietary glutamine improves growth performance and intestinal digestion/ absorption ability in young hybrid sturgeon (*Acipenser schrenckii* ♀ × *Huso dauricus* ♂). *Journal of Applied Ichthyology*, 27, 721–726. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2011.01710.x>
- Qu, F., Liu, Z., Hu, Y., Zhao, Q., Zhou, Y., Liu, Z., Zhong, L., Lu, S., & Li, J. (2019). Effects of dietary glutamine supplementation on growth performance, antioxidant status and intestinal function in juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Aquaculture Nutrition*, 25(3), 609–621. <https://doi.org/10.1111/anu.12883>
- Rahmat, I., Jusadi, D., Setiawati, M., & Fauzi, I. (2021). 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. *Jurnal Iktiliologi Indonesia*, 21, 131-149. <https://doi.org/10.32491/jii.v21i2.575>
- Ramos, A. P., Campelo, D. A. F., da Silva Carneiro, C. L., Zuanon, J. A. S., da Matta, S. L. P., Furuya, W. M., & Salaro, A. L. (2022). Optimal dietary L-glutamine level improves growth performance and intestinal histomorphometry of juvenile giant trahira (*Hoplias lacerdae*). *Aquaculture*, 547, 737469. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.-2021.737469>

- Rumondang, A. M. (2017). Growth and mortality of tor fish (*Tor soro* Valenciennes 1842) in Asahan river. *International Journal of Fisheries and Aquatic Research*, 2(4), 22–26.
- Saglio, P., Fauconneau, B., & Blanc, J. M. (1990). Orientation of carp, *Cyprinus carpio* L., to free amino acids from *Tubifex* extract in an olfactometer. *Journal of Fish Biology*, 37, 887–898. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1990.tb03592.x>
- Santiard, D., Ribi  re, C., Nordmann, R., & Hollee-Levin, C. (1995). Inactivation of Cu, Zn superoxide dismutase by free radicals derived from ethanol metabolism:  $\alpha$   $\gamma$  radiolysis study. *Free Radical Biology and Medicine*, 19, 121–127. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(95\)00008-1](https://doi.org/10.1016/0891-5849(95)00008-1)
- Sarban, S., Kocigit, A., Yazar, M., & Isikan, U. E. (2005). Plasma total antioxidant capacity, lipid peroxidation, and erythrocyte antioxidant enzyme activities in patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Clinical Biochemistry*, 38(11), 981–986. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2005.08.003>
- Shan, Y., Shan, A., Li, J., & Zhou, C. (2012). Dietary supplementation of arginine and glutamine enhances the growth and intestinal mucosa development of weaned piglets. *Livestock Science*, 150, 369–373.
- <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2012.10.006>
- Silva, L. C. R. D., Furuya, W. M., Natali, M. R. M., Schamber, C. R., & Vidal, L. (2010). Productive performance and intestinal morphology of Nile tilapia juvenile fed diets with L-glutamine and L-glutamate. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39, 1175–1179. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982010000600002>
- Soltan, M. A. (2009). Influence of dietary glutamine supplementation on growth performance, small intestinal morphology, immune response and some blood parameters of broiler chickens. *International Journal of Poultry Science*, 8, 60–68. <https://doi.org/10.3923/ijps.2009.60.68>
- Sulastri, I., Rachmatika, & Hartoto, D. I. (1985). Pola makan dan reproduksi ikan *Tor* spp. sebagai dasar budi dayanya. *Berita Biologi*, 3(3), 84–91.
- Teng, P. Y., Choi, J., Yadav, S., Tompkins, Y. H., & Kim, W. K. (2021). Effects of low-crude protein diets supplemented with arginine, glutamine, threonine, and methionine on regulating nutrient absorption, intestinal health, and growth performance of *Eimeria*-infected chickens. *Poultry Science*, 100(11), 101427. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101427>
- Tian, J., Gen, H., Mai, K., Liu, K., Zhou, H., & Wen, H. (2020). Dietary Ala-Gln ameliorated

- growth suppression and intestinal injury induced by soya saponin in zebrafish, *Aquaculture*, 529, 735748. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735748>
- Wang, Y., Peng, Z., Yan, L., Gao, X., Wu, L., Cui, S., Zhou, M., Ren, T., Wang, W., Sun, S., Han, Y., & Sun, H. (2023). Effects of dietary glutamine supplementation on growth performance, intestinal digestive ability, antioxidant status and hepatic lipid accumulation in *Xenocypris davidi* (Bleeker, 1871). *Aquaculture Reports*, 32, <https://doi.org/10.1007/s10499-023-01187-4>
- Wu, G., Meier, S. A., & Knabe, D. A. (1996). Dietary glutamine supplementation prevents jejunal atrophy in weaned pigs. *The Journal of Nutrition*, 126, 2578-2585. <https://doi.org/10.1093/jn/126.1-0.2578>
- Wu, G. (2013). Functional amino acids in nutrition and health. *Amino Acids*, 45, 407-411. <https://doi.org/10.1007/s00726-013-1500-6>
- Xu, Q., Wang, C., Xu, H., Yin, J., & Ma, J. (2009). Effects of alanyl-glutamine on growth and antioxidant capacity of Hucho taimen larva. *Chinese Journal*