

## GAMBARAN HISTOPATOLOGIS HATI IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) YANG DIBERI CEKAMAN PANAS DAN TEPUNG DAUN JALOH (*Salix tetrasperma* Roxb)

### *Histopathological Changes of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Liver Treated with Heat Stress and Administered by *Salix tetrasperma* Roxb Leaves Powder*

Yakin Ikhwan<sup>1</sup>, Nazaruddin<sup>2</sup>, dan Dwinna Aliza<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

<sup>2</sup>Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

E-mail: yakinikhwan@gmail.com

#### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh pemberian pakan komersil yang disuplementasi tepung daun jalloh (*Salix tetrasperma* Roxb) dengan dosis 0, 5, 10, dan 15% terhadap gambaran histopatologi hati ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diberi cekaman panas. Hewan percobaan yang digunakan adalah ikan nila gesit dengan berat badan berkisar 35-40 g dan sampel yang digunakan adalah hati ikan nila. Penelitian ini dirancang dengan rancangan acak lengkap (RAL) pola searah dengan 5 perlakuan dan 3 ulangan. Ikan nila pada setiap perlakuan di beri cekaman panas pada suhu  $35 \pm 1^\circ \text{C}$  selama 4 jam setiap hari. Kelompok kontrol negatif (K-) tidak diberi cekaman panas dan tanpa tepung daun jalloh, sedangkan kelompok kontrol positif (K+) diberi cekaman panas saja. Kelompok perlakuan I, II, III (PI, PII, PIII) diberi cekaman panas dan tepung daun jalloh dengan konsentrasi masing-masing 5, 10, dan 15%. Perlakuan dilakukan selama 30 hari secara berturut-turut. Pada hari ke-31 dilakukan pengambilan hati ikan nila untuk pembuatan dan pemeriksaan histopatologi. Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis varian. Rata-rata jumlah nekrosis pada perlakuan K-, K+, PI, PII, dan PIII secara berturut-turut adalah 10,5; 30,2; 20,2; 25,6; dan 26,0. Rata-rata jumlah melanomakrofag secara berturut-turut adalah 0; 387,7; 363,7; 381,7; dan 383,0, sedangkan rata-rata jumlah infiltrasi sel radang secara berturut-turut adalah 78,3; 267,7; 255,0; 264,0; dan 271,0. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa pemberian tepung daun jalloh berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap tingkat nekrosis hati ikan nila yang diberi cekaman panas pada suhu  $35 \pm 1^\circ \text{C}$ , namun tidak berbeda nyata ( $P > 0,05$ ) terhadap jumlah melanomakrofag dan infiltrasi sel radang. Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa tepung daun jalloh yang disuplementasikan pada pakan komersil dengan dosis 5% (PI), dapat menurunkan tingkat nekrosis, melanomakrofag dan infiltrasi sel radang jaringan hati ikan nila.

Kata kunci: jalloh, nila, histopatologi, hati

#### ABSTRACT

This study aims to ascertain the effect of commercial feed supplemented with *Salix tetrasperma* Roxb leaves powder with doses of 0, 5, 10 and 15% of the histopathological changes of Nile tilapia fish (*Oreochromis niloticus*) under groned head stress. Experimental animals used were the gesit tilapia fish with body weight ranging from 35-40 g and saample used were Nile tilapia's liver. This study was design with a completely randomized design (CRD) unidirectional pattern with 5 treatments and 3 replications. The treatment of heat stress for tilapia fish was given temperature at  $35 \pm 1^\circ \text{C}$  for 4 hours each. Negative control group (K-) are not given heat stress nor *Salix tetrasperma* Roxb leaves powder. Where as the positive (K+) were heat stress only. Treatment groups I, II, and III (PI, PII, and PIII) were heat stress and *Salix tetrasperma* Roxb leaf powder with each Concentration of 5%, 10%, 15% respectively. The treatment was carried out for 30 days consecutive. On day 31, liver from all fish were taken for histopathological examination. Data were analyzed with analysis of variance. The average degree of livers necrosis in the treatment of K-, K+, PI, PII, and PIII respectively was 10.5; 30.2; 20.2; 25.6; and 26.0. The average number of melanomacrophages in a row row 0, 387.7, 363.7, 381.7, and 383, 0. however the avarage The average number of inflammatory cell infiltration respectively was 78.3, 267.7; 255.0; 264.0 and 271.0. Statistic analysis showed that administration of *Salix tetrasperma* Roxb leaves powder reduce number of degree liver necrosis with heat at  $35 \pm 1^\circ \text{C}$ , but not significantly different ( $P > 0.05$ ) to the number melanomakrofag and infiltration of inflammatory cell. Based on the result of research, it can be concluded that the *Salix tetrasperma* Roxb leaf powder o commercial feed supplementation of 5% (PI), can reduce the level of necrosis, melanomacrophage and infiltration of inflammatory celss the liver tissue os talapia.

Key words: *Salix tetrasperma* Roxb, Nile tilapia, histopathological, liver

#### PENDAHULUAN

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan spesies yang berasal dari kawasan Sungai Nil dan danau-danau sekitarnya di Afrika. Saat ini, ikan nila telah tersebar ke negara beriklim tropis dan subtropis, sedangkan pada wilayah beriklim dingin tidak dapat hidup dengan baik (Anonimus, 2010). Menurut Suyanto (2005) ciri khas ikan nila adalah garis vertikal yang berwarna gelap di sirip ekor sebanyak enam buah. Garis seperti itu juga terdapat di sirip punggung dan sirip dubur. Nila dapat tumbuh di lingkungan air tawar,

air payau, air asin (Suyanto, 2005), sungai, danau, rawa-rawa (Ghufran dan Kordi, 2010), waduk, sawah, kolam, hingga tambak (Khairuman dan Amri, 2003). Kadar garam air yang disukai antara 0-35 per mil. Untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan, suhu optimum bagi ikan nila menurut Rukmana (1997) adalah  $25-30^\circ \text{C}$ .

Sebagaimana makhluk hidup lainnya, ikan nila membutuhkan lingkungan yang nyaman agar dapat hidup sehat dan tumbuh optimal. Menurut Baticados dan Paclibare (1992) penanganan dalam budidaya yang kurang baik dapat menyebabkan ikan mengalami stres,

sehingga daya tahan tubuhnya menurun dan mudah terserang penyakit. Stres merupakan respons bertahan pada ikan terhadap penyebab stres (*stressor*). Semua perubahan pada lingkungan dianggap sebagai penyebab stres bagi ikan. Beberapa faktor stres misalnya meningkatnya suhu air dan salinitas (Ghufran dan Kordi, 2010). Suhu atau temperatur air sangat berpengaruh terhadap metabolisme dan pertumbuhan organisme (Wiryanto *et al.*, 2010).

Pemberian cekaman (stres) panas secara kronis menyebabkan ditemukannya secara nyata perubahan mikroskopis pada jaringan hati dan ginjal (Aengwanich dan Simaraks, 2004 yang disitasi Sugito, 2007). Pernyataan tersebut sesuai dengan hasil penelitian Sugito *et al.* (2007) yang menemukan adanya degenerasi lemak, nekrosis, dan infiltrasi sel-sel radang pada hati ayam broiler yang mengalami cekaman panas.

Di Provinsi Aceh terdapat sejenis tanaman perdu yang dalam bahasa Aceh disebut jaloh (*bak sijalōh*). Tanaman ini biasa digunakan sebagai bahan obat penurunan panas. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa jaloh termasuk famili *Salicaceae*, yaitu *Salix tetrasperma* Roxb (Sugito 2007). Dalam ekstrak senyawa kimia, antara lain golongan glukosida. Salah satu golongan glukosida sebagai kandungan aktifnya adalah salisilat yang merupakan prekursor salisin dan turunan-turunannya (Chrubasic, 2001)

Menurut Irianto (2005), ada berbagai cara yang dapat dilakukan untuk mencegah stres pada ikan, misalnya dengan menjaga kualitas air, nutrisi yang baik, dan sanitasi. Penggunaan tanaman obat sebagai anti stres pada ikan belum pernah dilakukan. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui apakah tepung daun jaloh dapat mengurangi stres pada ikan nila.

## MATERI DAN METODE

Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) nonfaktorial. Sebelum perlakuan, ikan terlebih dahulu diadaptasikan selama 3 hari. Masing-masing perlakuan terdiri dari 5 kelompok. Perlakuan K- sebagai kontrol tanpa pemberian cekaman panas dan tepung daun jaloh. Perlakuan K+ sebagai kontrol yang diberi cekaman panas tanpa pemberian tepung daun jaloh. Perlakuan PI ikan diberi cekaman panas dan tepung daun jaloh 5%. Perlakuan PII ikan diberi cekaman panas dan tepung daun jaloh 10%. Perlakuan PIII ikan diberi cekaman panas dan tepung daun jaloh 15%. Setiap perlakuan diberi cekaman panas pada suhu  $35 \pm 1^\circ \text{C}$ . Perlakuan ini dilakukan selama 30 hari berturut-turut.

Pada masing-masing perlakuan, suhu dalam akuarium ditingkatkan secara bertahap dengan menggunakan *heater*. *Heater* memiliki sensor termoregulator otomatis. *Heater* mulai dinyalakan pada pukul 09.00 WIB. Secara bertahap akan meningkat dari suhu lingkungan mencapai suhu cekaman panas ( $35 \pm 1^\circ \text{C}$ ) selama 4 jam yaitu pada pukul 13.00-17.00 WIB. Setelah itu *heater* dimatikan. Air akuarium diganti setiap 3 hari sekali sebanyak 80% dari total volume akuarium.

## Prosedur Penelitian

### Pembuatan tepung daun jaloh

Daun jaloh diambil dari pohon di daerah rawa-rawa. Daun yang telah diambil kemudian dikering-anginkan di bawah sinar matahari selama 3 hari. Setelah daun menjadi kering, daun dihaluskan dengan menggunakan blender dan diayak sehingga menjadi serbuk seperti tepung.

### Pembuatan Pakan Yang Disuplementasi Tepung Daun Jaloh

Bahan pakan komersil ikan dihaluskan dengan menggunakan blender. Setelah halus kemudian dicampur dengan tepung daun jaloh sesuai masing-masing kelompok perlakuan dengan konsentrasi 5, 10, dan 15%. Setelah dicampur kemudian ditambahkan 1% binder dan diaduk secara merata. Setelah merata kemudian diseduh dengan air hangat hingga terbentuk adonan seperti pasta. Selanjutnya adonan dicetak dengan *meat grinder*. Kemudian dikeringkan dengan cahaya matahari selama 1 hari. Setelah kering kemudian dipotong kecil-kecil seperti pelet.

### Pengambilan Sampel

Ikan nila yang telah diberi perlakuan maupun yang digunakan sebagai kontrol dikropsi dengan membuka kavum abdomen menggunakan gunting bedah *sharp-blunt* yang dimulai dengan memotong lewat kloaka ke arah depan sampai belakang operculum, dilanjutkan pemotongan ke arah dorsal sampai kloaka lagi sehingga terlihat organnya. Organ-organ dikeluarkan dari cavum abdomen secara hati-hati dan dipisahkan. Organ hati dipisahkan dari pankreas dan difiksasi dalam formalin 10% selama  $\pm 24$  jam kemudian dibuat preparat histopatologi dan diwarnai dengan pewarnaan HE sesuai dengan prosedur yang dilakukan di Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala. Pengamatan preparat histopatologi hati ikan nila dilakukan dengan mikroskop cahaya biokuler. Kemudian dilakukan penyekoran terhadap jumlah nekrosis, melanomakrofas, dan infiltrasi sel radang. Setiap perlakuan memiliki 3 x ulangan, setiap ulangan memiliki 3 sayatan jaringan hati, dan setiap sayatan untuk penyekoran diamati dengan 3 x pandang. Jarak pandang diperkecil menggunakan kertas persegi dengan ukuran  $1 \times 1 \times 1 \text{ cm}$  yang ditempelkan pada mikroskop. Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah ditemukannya secara nyata perubahan histopatologis pada jaringan hati, yaitu nekrosis, melanomakrofas dan infiltrasi sel-sel radang.

### Analisis Data

Data dianalisis dengan analisis varian (Anova), dan dilanjutkan dengan uji Duncan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

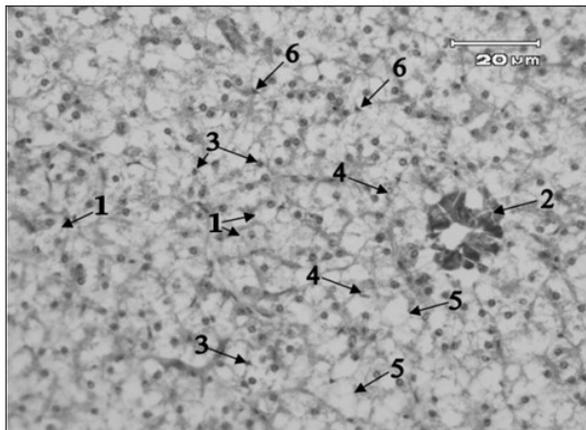
Hasil penelitian tentang histopatologi hati ikan nila yang diberi cekaman panas dan tepung daun jaloh disajikan pada Gambar 1, 2, 3 dan Tabel 1.

**Tabel 1.** Rata-rata jumlah nekrosis pada jaringan hati kan nila

	Perlakuan				
	K-	K+	PI	PII	PIII
Rata-rata	10.49	30.21	20.1	25.64	26.02
	80 <sup>a</sup>	27 <sup>b</sup>	972 <sup>c</sup>	45 <sup>d</sup>	83 <sup>d</sup>

<sup>a, b, c, d</sup>Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05)

Pada Tabel 1, hasil statistik menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05) antara masing-masing perlakuan. Kelompok K- berbeda sangat nyata dengan perlakuan K+, PI, PII, dan PIII disebabkan ikan tidak diberikan perlakuan cekaman panas maupun suplementasi tepung daun jaloh. Hal ini diduga karena ikan diberi perlakuan cekaman panas sehingga meningkatkan kadar nekrosis. Kadar nekrosis pada perlakuan ini merupakan yang tertinggi dari semua perlakuan. Hal ini sesuai dengan penjelasan Parat (1997) bahwa stres oksidatif dapat mengakibatkan terjadinya kematian sel (nekrosis).



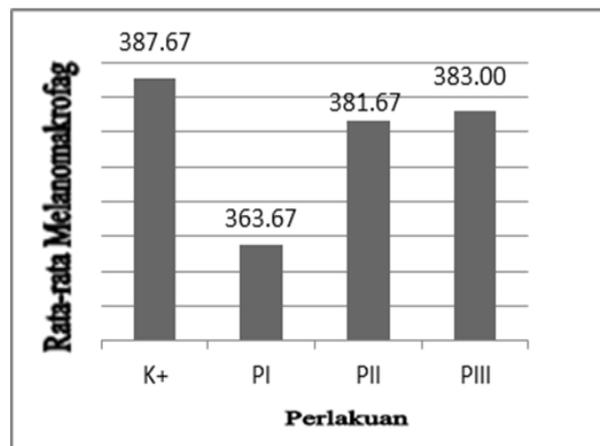
**Gambar 1.** Histopatologi hati ikan nila yang menunjukkan sel hati normal (1), hepatopankreas (2), piknosis (3), karioreksis (4), kariolisis (5), sel kuffer (6) pewarnaan hematoxililn dan eosin, 400x

Suhu berpengaruh langsung terhadap proses fisiologi hewan air, khususnya derajat metabolisme dan siklus reproduksinya. Selain itu, suhu juga berpengaruh secara tidak langsung terhadap kelarutan O<sub>2</sub> yang digunakan untuk respirasi. Menurut hukum *Vant Hoffs*, kenaikan temperatur sebesar 10° C (hanya pada kisaran temperatur yang masih dapat ditolerir) akan meningkatkan laju metabolisme dari organisme 2-3 kali lipat. Meningkatnya laju metabolisme tersebut akan meningkatkan konsumsi oksigen, sementara di lain pihak dengan naiknya temperatur akan mengakibatkan kelarutan oksigen di dalam air menjadi berkurang. Hal ini menyebabkan hewan air akan mengalami kesulitan untuk melakukan respirasi (Barus, 2004).

Stres panas pada ikan berdampak terhadap stres oksidatif (Cahyono, 2006). Stres oksidatif adalah keadaan jumlah radikal bebas di dalam tubuh melebihi kapasitas tubuh untuk menetralsirnya. Radikal bebas

dan senyawa oksigen reaktif yang diproduksi dalam jumlah yang normal, penting untuk fungsi biologis, seperti sel darah putih yang menghasilkan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> untuk membunuh beberapa jenis bakteri dan jamur serta pengaturan pertumbuhan sel, namun ia tidak menyerang sasaran spesifik, sehingga ia juga akan menyerang asam lemak tidak jenuh ganda dari membran sel, organel sel, atau DNA, hal ini dapat menyebabkan kerusakan struktur dan fungsi sel (Winarsi, 2007).

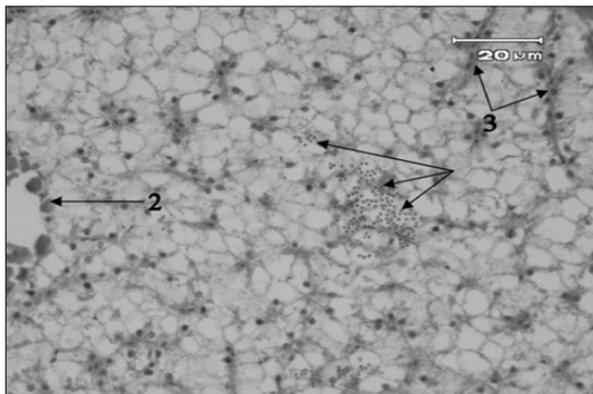
Selanjutnya, pada PI jumlah nekrosis mengalami penurunan yang signifikan dari jumlah nekrosis pada perlakuan K+. Namun, jumlah nekrosis meningkat kembali secara nyata pada perlakuan PII dan PIII. Sementara, kadar nekrosis pada PII dan PIII meningkat dan menurun secara nyata terhadap perlakuan pada PI dan K+. Penurunan secara nyata antara PI, PII, dan PIII dengan K+ diduga karena pemberian jaloh berpengaruh terhadap kadar nekrosis ikan yang mengalami cekaman panas.



**Gambar 2.** Rata-rata jumlah melanomakrofaq pada organ hati ikan nila

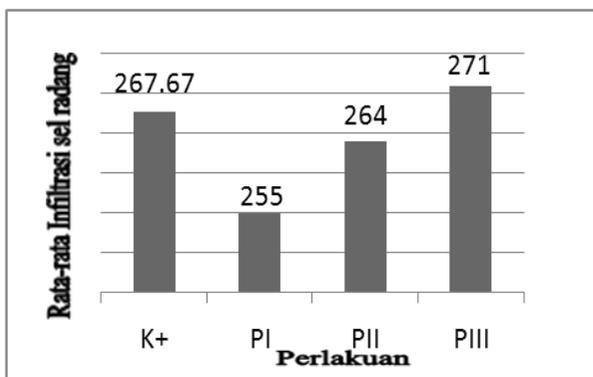
Pemberian suplementasi tepung daun jaloh tidak berbeda nyata (P>0,05) terhadap kadar melanomakrofaq hati ikan nila yang mengalami cekaman panas. Pada K- tidak ditemukan melanomakrofaq. Jika dilihat berdasarkan grafik, rata-rata jumlah melanomakrofaq pada perlakuan PI adalah yang terendah, yaitu 363,67, kemudian diikuti dengan PII dan PIII (381,67 dan 383,00), dan kadar melanomakrofaq tertinggi terdapat pada K+ dengan rata-rata 387,67. Hal ini menandakan bahwa terjadi penurunan jumlah melanomakrofaq pada perlakuan dengan suplementasi tepung daun jaloh.

Melanomakrofaq adalah sel yang berbentuk bulat padat yang memiliki jumlah pigmen bervariasi. Biasanya terdapat pada ikan yang sehat, akan tetapi jumlahnya meningkat pada kasus stres kronis. Oleh sebab itu melanomakrofaq merupakan indikator stres kronis meskipun tidak selalu persisten (Haaparanta *et al.*, 1996 yang disitasi Noga, 2010). Pigmen pada melanomakrofaq termasuk lipofuscin dari oksidasi asam lemak tak jenuh, hemosiderin dari degradasi hemoglobin, dan melanin sebagai senyawa radikal bebas (Lewbart, 1998 yang disitasi Noga, 2010).



**Gambar 3.** Histopatologi hati ikan nila yang menunjukkan melanomakrofag (1), hepatopankreas (2), sinusoid (3) pewarnaan hematoxilin dan eosin, 400x

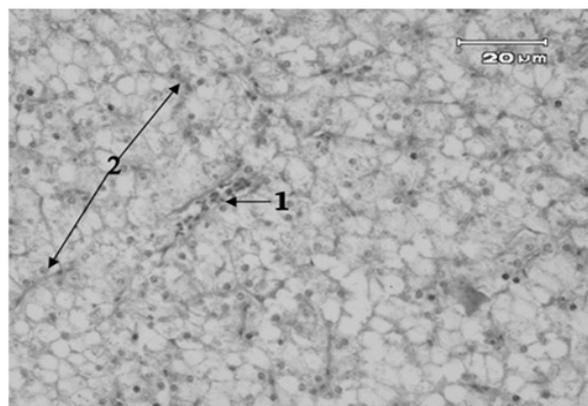
Penurunan jumlah melanomakrofag, diduga karena pemberian tepung daun jalloh yang mengandung senyawa flavonoid. Kahkonen (1999), mengatakan bahwa jalloh adalah salah satu tumbuhan yang berfungsi sebagai antioksidan karena mengandung senyawa flavonoid. Kebanyakan sumber antioksidan alami adalah tumbuhan dan umumnya merupakan senyawa fenolik yang tersebar di seluruh bagian tumbuhan baik di kayu, biji, daun, buah, akar, bunga maupun serbuk sari (Sarastani *et al.*, 2002). Senyawa fenolik atau polifenolik antara lain dapat berupa golongan flavonoid. Kemampuan flavonoid sebagai antioksidan telah banyak diteliti belakangan tahun ini, yakni flavonoid memiliki kemampuan untuk merubah atau mereduksi radikal bebas dan juga sebagai antiradikal bebas (Giorgio, 2000).



**Gambar 4.** Rata-rata jumlah infiltrasi sel radang pada jaringan hati ikan nila

Pemberian suplementasi tepung daun jalloh tidak berbeda nyata ( $P > 0.05$ ) terhadap jumlah infiltrasi sel radang pada hati ikan nila yang mengalami cekaman panas. Kelompok K+ sebagai kontrol tanpa pemberian cekaman panas dan tepung daun jalloh memiliki rata-rata infiltrasi sel radang yang terendah dibandingkan perlakuan lainnya yaitu 78,33. Meskipun tidak berbeda nyata, jika dilihat berdasarkan grafik, pada perlakuan yang diberi cekaman panas tanpa pemberian tepung daun jalloh memiliki rata-rata jumlah infiltrasi sel radang tertinggi diikuti PIII dan PII dan yang terendah terdapat perlakuan PI.

Respons inflamasi terdiri dari non-spesifik dan mekanisme pertahanan langsung, yang melibatkan fenomena vaskular-eksudatif, seperti vasodilatasi dan peningkatan permeabilitas, serta infiltrasi dari sel inflamasi, seperti sel mast, neutrofil, dan makrofag (Abbas dan Lichtman, 2003). Terjadinya nekrosis yang merupakan dampak negatif dari stres oksidatif, diduga merupakan penyebab infiltrasi sel radang pada jaringan hati ikan nila. Sebagaimana yang dikatakan oleh Bruno *et al.* (2010), sel-sel radang tertarik ke daerah radang karena adanya kerusakan jaringan, produk bakteri berupa lipopolisakarida (LPS) dan faktor komplemen (C5a).



**Gambar 5.** Histopatologi hati ikan nila yang menunjukkan infiltrasi sel radang (1), sinusoid (2), pewarnaan hematoxilin dan eosin, 400x

Rata-rata jumlah nekrosis, melanomakrofag, dan infiltrasi sel radang tertinggi pada perlakuan yang diberi cekaman panas dan tepung daun jalloh terdapat pada PIII diikuti PII dan yang terendah terdapat pada PI. Ini menandakan bahwa, semakin tinggi persentase tepung daun jalloh yang diberikan semakin tinggi pula rata-rata jumlah nekrosis, melanomakrofag, dan infiltrasi sel radang yang terjadi. Hal ini tidak sesuai dengan hipotesis, yaitu semakin tinggi persentase tepung daun jalloh semakin berkurang perubahan yang terjadi. Terdapat beberapa kemungkinan terhadap hasil penelitian tersebut, antara lain kurangnya pengaruh senyawa kimia pada daun jalloh dan rendahnya kualitas pakan.

Kandungan tannin pada jalloh menurut Biswas (2003) sebesar 8-20 % yang mengakibatkan rasa pelet menjadi pahit, dan rasa pahit ini tidak disukai oleh ikan. Effendie (2002), mengatakan bahwa ikan tidak menyukai rasa pahit yang berlebihan sehingga menyebabkan menurunnya metabolisme akibat berkurangnya nafsu makan. Menurut Tjokroadikoesoemo (1986) pembuatan pelet terdiri dari proses pencetakan, pendinginan dan pengeringan. Perlakuan akhir terdiri dari proses sortasi, pengepakan dan pergudangan. Parker (1988), mengatakan bahwa, proses penting dalam pembuatan pelet adalah pencampuran (*mixing*), pengaliran uap (*conditioning*), pencetakan (*extruding*) dan pendinginan (*cooling*). Jika dilihat berdasarkan referensi di atas, banyak sekali kekurangan yang tidak dilakukan pada proses pembuatan pakan penelitian ini. Penjemuran

secara alami tentu sangat tergantung kepada cuaca, higinitas atau kebersihan pakan harus dijaga dengan baik, apabila tercemar debu atau kotoran dan gangguan hewan atau unggas dikhawatirkan akan membawa penyakit terhadap ikan. Pada penelitian ini, proses suplementasi dilakukan secara manual dengan menggunakan alat yang sederhana, dimulai dari pembuatan tepung daun jaloh dan proses penghalusan pelet komersil dengan menggunakan blender, proses pencetakan dengan menggunakan *meat grinder*, proses penjemuran di bawah sinar matahari, dan pemotongan pakan dengan gunting. Pembuatan dengan cara seperti ini berpeluang besar untuk menurunkan kualitas pakan karena tidak dikerjakan oleh mesin melainkan manusia.

Daya tahan pakan di dalam air juga dapat digunakan sebagai indikator kualitas pakan. Pakan buatan yang terlalu lama bertahan di dalam air biasanya sulit dicerna, sedangkan pakan yang mudah hancur akan segera larut sehingga sulit ditemukan oleh ikan (Afrianto dan Liviawaty, 2005). Pada penelitian ini, pakan yang dihasilkan tergolong ke dalam pakan buatan yang strukturnya lebih keras dibandingkan pelet biasa, sehingga akan sulit larut di dalam air. Menurut Takeuchi (1988), pelet yang baik memiliki kadar air maksimal 10%.

### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa tepung daun jaloh yang disuplementasikan pada pakan komersil dapat menurunkan tingkat nekrosis, melanomakrofag, dan infiltrasi sel radang jaringan hati ikan nila.

### DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A.K. and A.H. Lichtman. 2005. **Cellular and Molecular Immunology**. 5<sup>th</sup> ed. Elsevier Saunders, Philadelphia.
- Aengwanich, W. And S. Simaraks. 2004. Pathology of heart, lung, liver and kidney in broilers under chronic heat stress. **Songklanakarin J. Sci. Technol.** 26:417-424.
- Afrianto, E. dan E. Liviawaty. 2005. **Pakan Ikan dan Perkembangannya**. Kanisius, Yogyakarta
- Amri, K. dan Khairuman. 2003. **Budidaya Ikan Nila Secara Intensif**. Agromedia Pustaka, Jakarta
- Anonimus. 2010. [www.smeada.com/file/budidaya/ikan\\_nila](http://www.smeada.com/file/budidaya/ikan_nila).
- Barus, T. A. 2004. **Pengantar Limnologi Studi Tentang Ekosistem Air Daratan**. USU Press, Medan.
- Baticados, M.C.L. and J.O. Paclibare. 1992. The use of chemotherapeutic agents in aquaculture in the Philippines. **Diseases in Asian Aquaculture. Proceedings of the First Symposium on Diseases in Asian Aquaculture, 26-29 November 1990**. Bali, Indonesia
- Bruno, K. F., J.A. Silva, T.A. Silva, A.C. Batista, A.H.G. Alencar dan C. Estrela. 2010. Characterization of inflammatory cell infiltrate in human dental pulpitis. **International Endodontic Journal.** 43:1013-1021.
- Cahyono, B. 2000. **Budidaya Ikan Air Tawar**. Kanisius, Yogyakarta.
- Effendie, M.I. 2002. **Biologi Perikanan**. Yayasan Pustaka Nusatama, Yogyakarta.
- Ghufro, H. M. dan K. Kordi. 2004. **Penanggulangan Hama dan Penyakit Ikan**. Penerbit Rineka Cipta dan Bina Adiaksara, Jakarta.
- Giorgio, P. 2000. Flavonoid an Antioxidant. **Journal National Product.** 63:1035-1045.
- Irianto, A. 2005. **Patologi Ikan Teleosti**. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta
- Kahkonen, M.P., A.I. Hopia, H.J. Vuorela, J.P. Rauha, K. Pihlaja, T.S. Kujala dan M. Heinonen. 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. **Journal of Agriculture and Chemistry** 47:3954-3962.
- Noga, E.J. 2010. **Fish Diseases: Diagnosis and Treatment**. 2<sup>nd</sup> ed. Wiley Balckwell, Iowa.
- Parat M.O., M.J. Richard, J.C. Beani, and A. Favier. 1997. Involvement of zinc in intracellular oxidant/antioxidant balance. **Biol. Trace Elem. Res.** 60:187-204.
- Pfost, H. B. 1964. The effect of lignin binders, die thickness and temperature on the pelleting process. **Feedstuffs.** 36:20-54.
- Sarastami, D., S.T. Soekarto, T.R. Muchtiadi, D. Fardiaz, dan A. Apriyanto. 2002. Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Ekstrak Biji Atung. **Jurnal Teknologi dan Industri Pangan.** XIII(2): 149-156.
- Sugito, W. Manalu, D.A. Astuti, E. Handharyani, dan Chairul. 2007. Histopatologi Hati dan Ginjal pada Ayam Broiler yang Dipapar Cekaman Panas dan Diberi Ekstrak Kulit Batang Jaloh (*Salix tetrasperma* Roxb). **Disertasi**. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Suyanto, S.R. 2005. **Nila**. Penebar Swadaya, Bogor.
- Takeuchi T. 1988. Laboratory work chemical evaluation of dietary nutrient. In **Fish nutrient and mariculture**. Watanabe, T. (ed). Kanagawa International Fisheries Training Centre, Tokyo.
- Tjokroadikoesoemo, P.S. 1986. **HFS dan Industri Ubi Kayu Lainnya**. PT Gramedia. Jakarta.
- Winarsi, H. 2007. **Antioksidan Alami dan Radikal Bebas**. Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
- Wiryanto, B.T.W., Sunaryo., Astuti., dan M.B. Kurniawan. 2010. **Buku Pintar Budi Daya dan Bisnis Ikan Nila**. Agromedia Pustaka, Jakarta.