

### Efektifitas arang aktif dalam pakan terhadap gambaran histopatologi limpa ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang terpapar insektisida organofosfat

### The effectiveness of activated charcoal in feed on histopathological features of the spleen of tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to organophosphate insecticides

Received: 01 November 2022, Accepted: 26 January 2023  
DOI: 10.29103/aa.v1i2.9223

Nurhayati<sup>a\*</sup>, Shahibul Auzan<sup>a</sup>, Lia Handayani<sup>b</sup>, Azwar Thaib<sup>a</sup>, T. M. Haja Almuqaramah<sup>a</sup> dan Faisal Syahputra<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan, Universitas Abulyatama

<sup>b</sup>Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan, Universitas Abulyatama

<sup>c</sup>Program Studi Pemanfaatan Sumberdaya Perikanan, Fakultas Perikanan, Universitas Abulyatama

#### Abstrak

Penggunaan insektisida secara berlebihan dan secara berkala memberikan dampak negatif terhadap kawasan perairan dan biota di dalamnya. Pestisida yang terakumulasi pada lingkungan perairan mempengaruhi kehidupan organisme non target seperti ikan. Selain itu, pestisida dapat menyebabkan kerusakan organ insang, hati, usus dan limpa. Organ ini berperan penting dalam sistem kekebalan tubuh. Dengan demikian diperlukan alternative untuk mengatasi masalah ini salah satunya adalah penambahan arang aktif dalam pakan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penggunaan arang aktif dalam pakan terhadap gambaran histopatologi limpa ikan nila yang terpapar pestisida golongan organofosfat. Penelitian dilakukan secara eksperimental dengan mengaplikasikan 4 perlakuan dan 2 kali ulangan sebagai perlakuan yang digunakan antara lain T1 (0% arang aktif); T2 (1% arang aktif); T3 (2% arang aktif) dan T4 (3% arang aktif). Ikan uji yang digunakan adalah ikan nila berukuran panjang  $7 \pm 0,4$  cm dengan padat tebar 30 ekor/wadah. Parameter yang diamati adalah gambaran histopatologi limpa ikan nila pada pra pemaparan, pasca pemaparan dan setelah pemberian arang aktif. Hasil pengamatan terhadap kerusakan jaringan dianalisis secara deskriptif kualitatif dan disajikan dalam bentuk gambar. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan arang aktif 2% (T3) dalam pakan mampu mereduksi kerusakan limpa akibat terpapar insektisida golongan organofosfat.

**Kata kunci:** Arang aktif; insektisida; limpa; pakan

#### Abstract

Excessive and periodic use of insecticides has a negative impact on aquatic areas and the biota in them. Pesticides that accumulate in the aquatic environment affect the life non target organisms such as fish. In addition, pesticides can cause damage to the gills, liver, intestines and spleen. This organ plays an important role in the immune system. Thus, an alternative is needed to overcome this problem, one of which is the addition of activated charcoal in the feed. The aims of study to determine the effect of the use of activated charcoal in feed on the histopathological description of the spleen of tilapia exposed to organophosphate pesticides. The study was conducted experimentally by applying 4 treatments and 2 replications as the treatments used included T1 (0% activated charcoal); T2 (1% activated charcoal); T3 (2% activated charcoal); T4 (3% activated charcoal). The test fish used were tilapia measuring  $7 \pm 0,4$  cm long with a stocking density of 30 fish/container. Parameters observed were histopathological description of tilapia spleen at pre exposure, post exposure and after administration of activated charcoal. The results of observations of tissue damage were analyzed descriptively qualitatively and presented in the form of images. The results showed that the addition of 2% activated charcoal (T3) in the feed was able to reduce damage to the spleen due to exposure to organophosphate insecticides.

**Keywords:** Activated charcoal; feed; insecticide; spleen

\* Korespondensi: Prodi Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan, Universitas Abulyatama. Lampoh Keudee Kabupaten Aceh Besar, Aceh, Indonesia.  
e-mail: nurhayati\_perairan@abulyatama.ac.id

#### 1. Introduction

##### 1.1. Latar belakang

Indonesia merupakan negara agraris yang mayoritas penduduknya berkerja pada sektor pertanian (Suharno, 2018). Semakin tinggi pertumbuhan penduduk maka kebutuhan pangan semakin meningkat (Khairati & Syahni, 2016). Peningkatan

kebutuhan pangan memicu para petani untuk meningkatkan hasil panen secara kualitatif maupun kuantitatif. Dalam meningkatkan hasil panen, petani menggunakan pestisida untuk mengurangi serangan hama pengganggu (Darwis *et al.*, 2021). Petani menyakini bahwa semakin banyak pestisida yang digunakan maka semakin tinggi pula hasil yang didapatkan. Seiring waktu, penggunaan pestisida semakin meningkat (Zulfikar, 2017). Pestisida yang umum digunakan petani adalah pestisida jenis organofosfat (Nugroho *et al.*, 2015).

Menurut Adharini, Suharno, & Hartiko (2016) penggunaan insektisida organofosfat secara berlebihan dan secara terus menerus memberikan dampak negative terhadap kawasan perairan dan biota di dalamnya seperti berkurangnya keanekaragaman hayati dan terakumulasi pada lingkungan perairan sehingga mempengaruhi kehidupan organisme non target seperti ikan. Menurut Nurhayati, Mukarramah, Deksuar, Handayani, & Muhazzir, (2022) Insektisida dapat bersifat persistensi sehingga terjadi bioakumulasi dalam rantai makanan yang akhirnya berpengaruh pada kehidupan ikan. Selain itu, menurut Soares *et al.*, (2016) bahwa ikan yang terpapar pestisida mempunyai kemungkinan melakukan adaptasi tambahan terhadap tekanan kimiawi, apabila berhasil maka organisme tersebut melanjutkan fungsi normalnya di lingkungan dan sebagian organisme menunjukkan terganggunya fungsi fisiologis.

Limpa dan ginjal pada ikan merupakan organ utama yang berperan pada sistem imun untuk mengeliminasi benda asing serta menjaga kestabilan lingkungan (He *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2013). Selain itu, limpa termasuk organ vital yang berperan dalam sistem hematologi dan *retikuloendotelial* (RES) (Kapila *et al.*, 2022). Apabila organ tersebut terkonfigurasi benda asing maka sistem pertahanan tubuh ikan akan menjadi lemah bahkan dapat menyebabkan kematian pada ikan. Beberapa penelitian yang telah dilakukan terkait kerusakan organ ikan yang terpapar insektisida diantaranya (Alfis *et al.*, 2022; Melia *et al.*, 2022; Nurhayati *et al.*, 2022). Penimbunan insektisida yang tidak terurai di perairan dapat menimbulkan residu yang kemudian akan diserap kedalam tubuh ikan, sehingga proses metabolisme tubuh ikan terganggu dan menghambat laju pertumbuhan ikan. Mengingat bahayanya residu insektisida, maka perlu dilakukannya upaya pengendalian. Upaya yang dapat dilakukan adalah salah satunya dengan penambahan arang aktif sebagai adsorben.

Adsorben adalah zat padat berpori yang mampu menghisap dan melepaskan komponen tertentu dari suatu fase fluida. Adsorben yang dapat digunakan berupa arang aktif. Arang aktif merupakan bahan padat berpori yang memiliki fungsi untuk menyerap amonia, nitrogen dan juga menghilangkan racun dan kotoran di media budidaya, sehingga dapat dijadikan sebagai adsorben. Ada beberapa kriteria yang harus dipenuhi sebagai bahan dasar yang akan digunakan sebagai adsorben, yaitu memiliki unsur anorganik yang rendah, ketersediaan bahan mudah didapat. Oleh sebab itu, tulang ikan sebagai salah satu limbah perikanan berpotensi di jadikan adsorben. Beberapa penelitian terkait penggunaan arang aktif dari limbah perikanan sebagai suplemen pakan dan reduksi ammonia pada media budidaya (Nurhayati *et al.*, 2021; Risna *et al.*, 2020; Thaib, Handayani *et al.*, 2021; Thaib, Reta, *et al.*, 2021). Berdasarkan uraian diatas maka arang aktif yang ditambahkan dalam pakan untuk memperbaiki kerusakan limpa akibat terpapar insektisida organofosfat perlu dilakukan.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Waktu dan tempat

Penelitian ini dilaksanakan selama 50 hari yang bertempat di Laboratorium Basah Fakultas Perikanan Universitas

Abulyatama. Analisis histopatologi limpa ikan dilakukan di Central Pet Banda Aceh.

### 2.2. Bahan dan alat penelitian

Adapun bahan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan nila berukuran panjang 7 cm, arang aktif, pellet, pestisida berbahan aktif diazinon. Sedangkan alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah bak beton, akuarium yang berukuran 60 x 40 x 40 cm, aerator, selang untuk penyiponan, timbangan, serok, sikat, kamera, buku tulis dan kebutuhan lainnya.

### 2.3. Rancangan penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental, yang dilakukan untuk meneliti pemberian pakan mengandung arang aktif terhadap gambaran histopatologi limpa ikan nila. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial, yaitu 4 perlakuan. Adapun perlakuan yang diberikan adalah:

T1	: Arang aktif 0%
T2	: Arang aktif 1%
T3	: Arang aktif 2%
T4	: Arang aktif 3%

### 2.4. Prosedur penelitian

#### 2.4.1. Persiapan wadah penelitian

Wadah penelitian yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari dua jenis. Wadah pertama berupa bak beton digunakan untuk uji tangkai ikan nila menggunakan pestisida selama 96 jam, berukuran 455 x 110 x 40 cm. Wadah kedua berupa akuarium yang berukuran 60 x 40 x 40 cm. Wadah yang digunakan sebanyak satu unit bak beton dan 8 unit akuarium. Sebelum digunakan terlebih dahulu bak dan akuarium sampai bersih, kemudian dikeringkan. Setelah itu, pemasangan aerator dan dilanjutkan dengan pengisian air setinggi 30 cm sehingga volume air dalam akuarium tersebut adalah 72 liter. Air yang digunakan berasal dari sumur bor yang telah diendapkan terlebih dahulu.

#### 2.4.2. Biota uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan nila berukuran panjang  $7 \pm 0,4$  cm dengan padat tebar 30 ekor/wadah, berasal dari pembudidaya di daerah Seulimum, Seneubok, Aceh Besar. Dalam tahap pemeliharaan hewan uji, ikan dipelihara terlebih dahulu dikolam selama 4 hari sebagai adaptasi kemudian dilanjutkan uji tangkai menggunakan pestisida dengan konsentrasi 1,94 ppm selama 96 jam. Ikan yang bertahan dari uji tersebut dipindahkan ke akuarium untuk dilakukan penelitian lanjutan menggunakan arang aktif dalam pakan. Konsentrasi arang aktif yang digunakan sesuai perlakuan masing – masing.

#### 2.4.3. Persiapan arang aktif tulang ikan

Arang aktif yang digunakan dalam penelitian bersumber dari tulang ikan kambing – kambing. Tulang ikan tersebut didapatkan dari Tempat Pelelangan Ikan (TPI) Lampulo. Langkah pertama yang dilakukan adalah pencucian tulang ikan sampai bersih, selanjutnya perebusan selama 30 menit, kemudian dijemur selama 3-4 hari sampai kering dan rapuh agar mudah dihaluskan. Tulang ikan yang telah dihancurkan kemudian di *furnace* pada suhu 600°C selama 2 jam. Tahapan selanjutnya adalah setelah di *furnace* tulang ikan dihaluskan dan diayak dengan ayakan berukuran 200 mesh. Kemudian diaktivasi menggunakan larutan aktivator ZnCl<sub>2</sub> dengan konsentrasi 10% yang dilarutkan dalam akuades 100 ml. Proses aktivasi selama 24 jam. Selanjutnya netralisasi residu menggunakan akuades hingga

pH arang aktif menjadi netral atau berada pada kisaran 6,5-7. Kemudian arang aktif disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan filtrat dengan residu kemudian dikeringkan menggunakan oven pada suhu 200 °C selama 1 jam dan dihasilkan serbuk arang aktif yang siap diaplikasikan.

#### 2.4.5. Persiapan pakan uji

Pakan uji yang digunakan adalah pakan komersial F 999 dengan kandungan protein 35%. Pakan tersebut di repeleting kemudian ditambahkan arang aktif sesuai dengan perlakuan masing – masing antara lain 0%, 1%, 2% dan 3%. Pakan diberikan secara *ad libitum* dengan frekuensi 2 kali sehari yaitu pada pukul 08.00 WIB dan 17.00 WIB.

#### 2.4.6. Pembuatan konsentrasi perlakuan

Insektisida yang digunakan berbentuk cairan dan berbahan aktif diazinon 600 g/l. Konsentrasi yang digunakan pada perlakuan uji tangant selama 96 jam adalah adalah 1,94 ppm. Konsentrasi tersebut dipilih atas dasar penelitian sebelumnya yakni 1,94 ppm merupakan nilai ambang batas bawah yang digunakan (Alfis et al., 2022; Melia et al., 2022). Rumus pengenceran yang digunakan dalam pembuatan konsentrasi insektisida sebagai berikut:

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

Keterangan:

- $V_1$  = Volume awal (ml)
- $N_1$  = Konsentrasi awal (ppm)
- $V_2$  = Volume akhir (ml)
- $N_2$  = Konsentrasi akhir (ppm)

#### 2.5. Parameter uji

##### 2.5.1. Pengamatan histopatologi limpa

Parameter yang diamati pada penelitian ini adalah perubahan pada jaringan limpa melalui pemeriksaan histopatologi limpa ikan. Pemeriksaan histopatologi dilakukan sebanyak 3 kali yakni pada pra paparan pestisida, pasca paparan pestisida dan pasca pemberian arang aktif. Organ limpa diambil dari ikan yang telah dibedah, kemudian dimasukkan kedalam larutan *Neutral Buffered Formaldehyde* (NBF) 10% dan selanjutnya dibawa ke laboratorium. Pemeriksaan histopatologi limpa dilakukan pada laboratorium Central Pet, Rukoh, Banda Aceh. Pengamatan dilakukan dengan melihat perubahan jaringan pada preparat limpa yang diwarnai menggunakan Hematoxylin – Eosin (HE). Kelainan atau kerusakan jaringan dapat dideteksi melalui bantuan mikroskop MT 4200L dengan pembesaran 10x dan 40x.

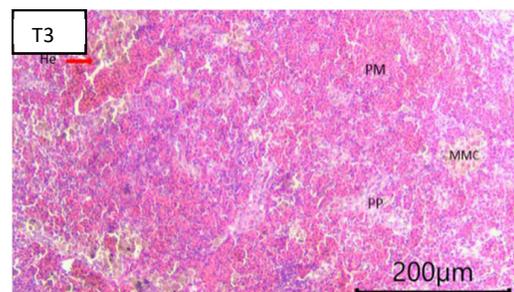
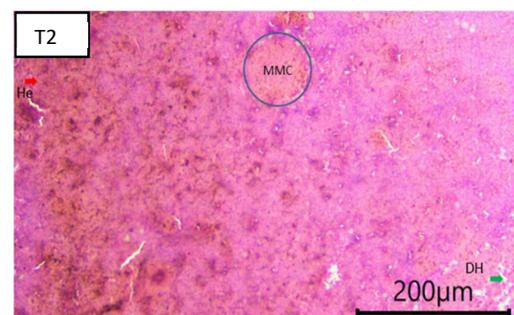
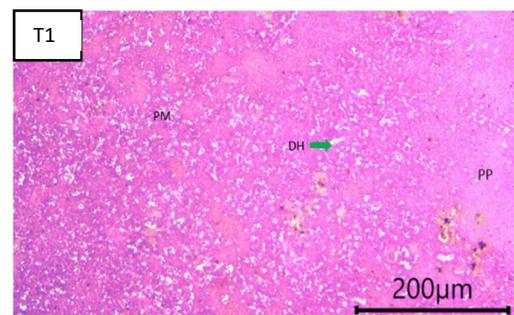
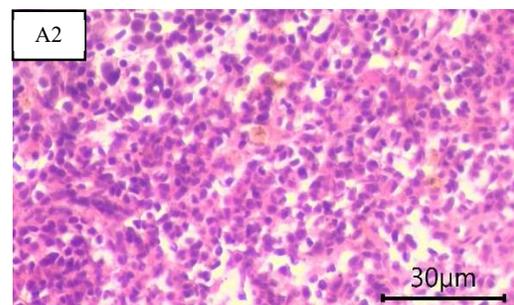
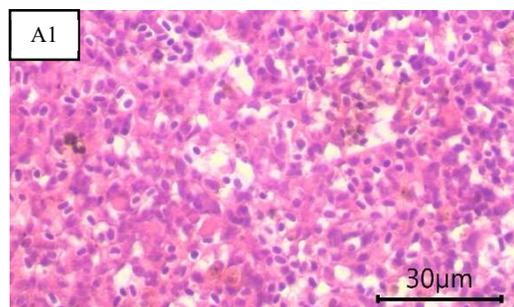
#### 2.6. Analisis data

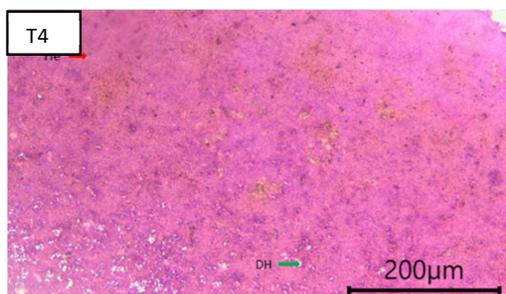
Hasil pengamatan terhadap kerusakan jaringan dianalisis secara deskriptif kualitatif dan disajikan dalam bentuk gambar.

### 3. Result and Discussion

#### 3.1. Histopatologi limpa

Hasil penelitian terhadap perubahan gambaran histopatologi limpa ikan yang terpapar pestisida golongan organosfosfat berbahan aktif diazinon setelah di beri pakan yang di campur arang aktif disajikan pada Gambar 1.





Gambar 1. Histopatologi limpa ikan nila. Pembesaran 40x dan pewarnaan HE pada uji pra pemaparan, pasca pemaparan insektisida organofosfat dan pasca penambahan arang aktif dalam pakan. A1. Pra pemaparan; A2. Pasca Pemaparan; Pemberian Arang aktif T1 (0%); T2 (1%); T3 (2%); dan T4 (3%). Keterangan: MMC (Melano Macrophage Centers), DH (Degenerasi Hidrofik), He (Hemoragi), PM (Pupil Merah), PP (Pupil Putih).

Berdasarkan Gambar 1 hasil pengamatan terhadap struktur jaringan limpa ikan nila, diduga bahwa insektisida golongan organofosfat memberikan efek toksik. Sebelum pemaparan pestisida organ limpa terlihat masih sehat. Namun, setelah dipapar insektisida terlihat adanya kerusakan organ. Pada perlakuan T1 (0%) ditemukan Pupil Merah (PM), Degenerasi Hidrofik (DH) dan Pupil Putih (PP). Pada perlakuan yang diberi pakan dan dicampurkan arang aktif 1% (T2) terjadi kerusakan berupa Degenerasi Hidrofik (DH), *Melano Macrophage Center* (MMC) dan Hemoragi (He). Demikian pula pada perlakuan pakan yang dicampurkan arang aktif 2% (T3) limpa mengalami Hemoragi (He), Pulpa Merah (PM), Pulpa Putih (PP) dan *Melano Macrophages Center* (MMC). Sementara pada perlakuan T4 (3%) arang aktif hanya ditemukan Degenerasi Hidrofik (DH) dan Hemoragi (He).

Perlakuan T2 dan T3 ditemukan adanya MMC. *Melano Macrophage Center* merupakan elemen penting pada sistem kekebalan tubuh ikan termasuk fagositosis dan mengeliminasi antigen. Pada perlakuan T0 dan T4 tidak ditemukan adanya MMC. Ini terlihat bahwa perlakuan pemberian arang aktif 1% dan 2% mampu memicu timbulnya MMC. Hal tersebut diduga bahwa pemberian arang aktif mampu menyerap insektisida yang terpapar pada organ limpa sehingga limpa mampu menstimulasi munculnya MMC. Menurut Mubarakah *et al.*, (2019) melano-makrofag adalah akumulasi atau agregat dari makrofag, yang dapat ditemukan di limpa, hati dan ginjal. Sedangkan menurut Wynn *et al.*, (2013) menyebutkan makrofag memiliki fungsi sebagai sel fagosit utama yang berperan dalam proses fagositosis dan melano-makrofag memainkan peranan penting dalam respon ikan terhadap benda asing yang masuk kedalam tubuh. Hasil penelitian Banaee *et al.*, (2013) menyebutkan bahwa perubahan patologis pada jaringan hati, limpa dan insang ikan yang diberi paraquat menyebabkan terganggunya proses fisiologi dan homeostasis pada hewan tersebut. Terganggunya fungsi fisiologi tersebut dapat menyebabkan kematian dari ikan.

Perlakuan T1 dan T3 ditemukan pulpa merah dan pulpa putih. Pulpa putih merupakan tempat utama memproduksi limfosit dan berisi limfonoduli. Pulpa putih berasal dari limfosit yang padat dan nampak sebagai daerah yang bewarna kelabu. Daerah pulpa putih menangkap antigen yang beredar dan penting untuk sistem kekebalan pada limpa. Pulpa merah terdiri atas jaringan sel retikuler dan sinusoid yang berisi sel darah merah. Menurut Banaee (2013) menyebutkan bahwa limpa memiliki kapsul fibrosa dan trabekula kecil meluas ke parenkim yang dapat dibadi menjadi pulpa merah dan putih. Pada semua perlakuan diatas juga ditemukan degenerasi hidrofik dan hemoragi. Degenerasi hidrofik menyebabkan penciutan sel sehingga menjadi tertekan. Degenerasi hidrofik dapat

menyebabkan terjadinya penciutan sel dan kemudian berdampak pada kematian sel (Zulfahmi *et al.*, 2017). Dari hasil penelitian tersebut diduga pemberian arang aktif dalam pakan sebanyak 1% dan 2% memberikan dampak positif terhadap kerusakan limpa akibat terpapar insektisida organofosfat. Hal ini terlihat dari munculnya *Melano Macrophage Center*, pulpa merah serta pulpa putih. Menurut (Pirarat *et al.*, 2015) bahwa penggunaan arang aktif melebihi konsentrasi optimal dalam pakan memberikan efek negative terhadap perkembangan organ pencernaan dan mengganggu penyerapan nutrisi dari pakan. Dari hal tersebut dapat diasumsikan bahwa penggunaan arang aktif dalam jangka waktu yang lama juga dapat menimbulkan dampak negative pada ikan.

#### 4. Conclusion

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa penambahan arang aktif 2% (T3) dalam pakan mampu mereduksi kerusakan limpa akibat terpapar insektisida golongan organofosfat.

#### Bibliograph

- Adharini, R. I., Suharno, D., & Hartiko, H. (2016). Pengaruh Kontaminasi Insektisida Profenofos terhadap Fisiologis Ikan Nila Merah (*Oreochromis sp.*). *Jurnal Manusia Dan Lingkungan*, 22(2), 365–373.
- Alfis, N. F., Handayani, L., & Nurhayati. (2022). Gambaran Histologi Insang Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Yang Terpapar Pestisida Golongan Organofosfat. *Jurnal Tilapia*, 3(1), 28–37.
- Banaee, M. (2013). *Physiological Dysfunction in Fish After Insecticides Exposure* (Stanislav Trdan (ed.)). <https://www.intechopen.com/books/3055>
- Banaee, M., Davoodi, M. H., & Zoheiri, F. (2013). Histopathological Changes Induced by Paraquat on Some Tissues of Gourami Fish (*Trichogaster trichopterus*). *Open Veterinary Journal*, 3(1), 36–42. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26623309> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC4629585>
- Darwis, V., Muslim, C., & Anugerah, I. S. (2021). Perilaku Petani Dalam Penggunaan Pestisida Pada Budidaya Bawang Merah di Kabupaten Cirebon. *Jurnal of Food System and Agribusiness*, 5(2), 166–176.
- He, Y., Wang, E., Wang, K., Wang, J., Fan, W., Chen, D., & Yang, Q. (2021). Morphology of the Spleen in *Oreochromis niloticus*: Splenic Subregions and the Blood-Spleen Barrier. *Jurnal Animal*, 1–12.
- Kapila, V., Wehrle, C. J., & Tuma, F. (2022). *Physiology, Spleen*. StatPearls Publishing LLC. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537307/>
- Khairati, R., & Syahni, R. (2016). Respons Permintaan Pangan terhadap Pertambahan Penduduk di Sumatera Barat. *Jurnal Pembangunan Nagari*, 1(2), 19–36.
- Melia, Y., Handayani, L., & Nurhayati. (2022). Gambaran Histologi Hati Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Yang Terpapar Pestisida Golongan Organofosfat. *Jurnal Tilapia*, 3(1), 38–46.

- Mubarokah, L., Tjahjaningsih, W., & Sulmartiwi, L. (2019). Efek Immunotoksik Logam Berat Merkuri Klorida (HgCl<sub>2</sub>) terhadap Perubahan Ukuran Melano - Makrofag Ginjal Ikan Mas (*Cyprinus carpio*). *Journal of Aquaculture and Fish Health*, 5(3), 126. <https://doi.org/10.20473/jafh.v5i3.11334>
- Nugroho, B. Y. H., Wulandari, S. Y., & Ridlo, A. (2015). Analisis Residu Pestisida Organofosfat di Perairan Mlonggo Kabupaten Jepara. *Jurnal Oseanografi*, 4(3), 1–6.
- Nurhayati, Mukarramah, T. M. H. Al, Defsuar, E., Handayani, L., & Muhazzir, S. (2022). Pemberian Pakan Bersuplemen Arang Aktif dari Tulang Ikan terhadap Reduksi Insektisida Diazinon dalam Tubuh Ikan Nila: Studi Kasus Histologi Insang Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Tilapia*, 3(2), 29–34.
- Nurhayati, Nazlia, S. N., Fattah, A. F., Pradinata, Y., Handayani, L., & Harun. (2021). Kinerja Pertumbuhan Ikan Gurami, *Osphronemus gouramy* dengan Penambahan Arang Aktif Tulang Ikan Kambing-kambing dalam Pakan. *Jurnal Media Akuakultur*, 16(2), 87–93. <https://doi.org/10.15578/ma.16.2.2021.87-93>
- Pirarat, N., Boonananthanasarn, S., Krongpong, L., Katagiri, T., & Maita, M. (2015). Effect of Activated Charcoal-Supplemented Diet on Growth Performance and Intestinal Morphology of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Thai Journal of Veterinary Medicine*, 45(1), 113–119.
- Risna, F., Handayani, L., & Nurhayati. (2020). Pengaruh Penambahan Arang Aktif Tulang Ikan dalam Pakan terhadap Histologi Usus Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Tilapia*, 1(2), 28–33.
- Soares, P. R. L., Andrade, A. L. C. de, Santos, T. P., Silva, S. C. B. L. da, Souza, J. F. da S., Santos, A. R. dos, Souza, E. H. L. da S., Cunha, F. M. da, Teixeira, V. W., Cadena, M. R. S., Sa, F. B. de, Junior, L. B. de C., & Cadena, P. G. (2016). Acute and Chronic Toxicity of the Benzoylurea Pesticide, Lufenuron, in the Fish, *Colossoma macropomum*. *Jurnal Chemosphere*, 161, 412–421. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.07.033>
- Suharno. (2018). Revitalisasi Agrikultur Untuk Pertumbuhan Ekonomi: Perspektif Ekonomi Islam. *Jurnal Ekonomi Islma*, 141–155.
- Thaib, A., Handayani, L., Hanum, A., Nurhayati, N., & Syahputra, F. (2021). Evaluating the addition of starry triggerfish (*Abalistes stellaris*) bone charcoal as a feed supplement to the growth performance and intestinal villi length of nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Ilmu-Ilmu Perairan, Pesisir Dan Perikanan*, 10(March), 194–200. <https://doi.org/10.13170/depik.10.2.20367>
- Thaib, A., Reta, A., & Nurhayati. (2021). Pengaruh Pemberian Charcoal Tulang Ikan Kambing-Kambing (*Abalistes stellaris*) Pada Pakan Untuk Mereduksi Kadar Amonia Pada Media Budidaya Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal T*, 2(2), 73–80.
- Wang, X., Xing, H., Jiang, Y., Wu, H., Sun, G., Xu, Q., & Xu, S. (2013). Accumulation, Histopathological Effects and Response of Biochemical Markers in The Spleens and Head Kidneys of Common carp Exposed to Atrazine and Chlorpyrifos. *Jurnal Food and Chemical Toxicology*, 62, 148–158. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.08.044>
- Wynn, T. A., Chawla, A., & Jeffrey W. Pollar. (2013). Macrophage biology in development, homeostasis and disease. *Nature*, 496, 445–455.
- Zulfahmi, I., Muliari, & Mawaddah, I. (2017). Toksisitas Limbah Cair Kelapa Sawit terhadap Ikan Nila (*Oreochromis niloticus* Linneus 1758) dan Ikan Bandeng (*Chanos-chanos* Froskall 1755). *Jurnal Agricola*, 7(1), 44–55.
- Zulfikar. (2017). *Tingkat Penggunaan Pestisida pada Tanaman Bawang Merah di Kecamatan Anggeraja, Kabupaten Enrekang*.