

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ikan Nila

2.1.1 Kalasifikasi dan Morfologi`

Klasifikasi ikan nila (*Oreochromis niloticus*) menurut Myers *et al*, (2006) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordata
Sub Phylum	: Verteberata
Class	: Osteictyes
Sub Class	: Acanthopterygii
Ordo	: Percomorpy
Sub Ordo	: Percoidei
Family	: Cichlidae
Genus	: <i>Oreocromis</i>
Species	: <i>Oreocromis niloticus</i>

Ikan nila merupakan ikan yang berasal dari sungai Nil di Benua Afrika. Secara umum, ikan nila mempunyai bentuk tubuh panjang dan ramping dengan sisik berukuran besar, menonjol, dan bagian tepinya berwarna putih. Gurat sisi (*linea literalis*) terputus dibagian tengah badan kemudian berlanjut, tetapi letaknya lebi ke bawah dari pada letak garis yang memanjang di atas sirip dada. Jumlah sisik, dan sirip anal mempunyai jari-jari lemak tetapi keras dan tajam seperti duri. Sirip punggung dan sisip dadanya berwarna hitam. Bagian pinggir sirip punggung berwarna abu-abu atau hitam (Khairuman dan Amri, 2008).

Ikan nila mempunyai lima buah sirip, yakni sirip punggung (*dorsal fin*), sirip dada (*pectoral fin*), sirip perut (*venteral fin*), sirip anus (*anal fin*) sirip ekor (*caudal fin*). Sirip punggungnya memanjang, dari bagian tutup atas tutup insang hingga bagian sirip ekor. Ada sepanjang sirip dada dan perut yang berukuran kecil sirip anus hanya satu buah dan berbentuk agak panjang. Sedangkan sirip ekornya berbentuk bulat dan hanya berjumlah satu buah (Arie, 2007). Morfologi ikan nila dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)
(Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2017)

2.1.2 Habitat dan Penyebaran

Ikan nila memiliki kemampuan menyesuaikan diri yang baik dengan lingkungan sekitarnya. Ikan nila juga memiliki toleransi yang tinggi terhadap lingkungan hidupnya, sehingga bisa dipelihara di daratan yang rendah yang berair payau maupun di daratan yang tinggi dengan suhu yang rendah. Ikan nila mampu hidup pada suhu 14-38°C dengan suhu terbaik adalah 25-30°C. Hal yang paling berpengaruh dengan pertumbuhannya adalah salinitas atau kadar garam berkisar 0-29 ‰ sebagai kadar maksimal untuk tumbuh dengan baik. Meskipun dapat hidup pada kadar garam sampai 35 ‰ namun jika ikan nila sudah tidak dapat tumbuh berkembang dengan baik (Ramdhan, 2010)

Sebagai organisme air, ikan nila memerlukan kadar oksigen terlarut dalam air. Kadar oksigen yang baik untuk penyebaran ikan nila berkisar antara 3-5 ppm, sedangkan derajat keasaman (pH) berkisar 7-8. Kandungan CO_2 yang dapat ditoleransi oleh ikan nila yaitu 25-30 ppm, sedangkan NH_3 dan H_2S tidak boleh lebih dari 0,3 ppm (Santoso, 1996).

Penyebaran ikan nila dimulai dari daerah asalnya yaitu Afrika bagian Timur, seperti sungai Nil (Mesir), Danau Tanganyika, Chad, Nigeria dan Kenya. Ikan jenis ini di budidayakan di 110 negara. Di Indonesia, ikan nila telah di budidayakan di seluruh provinsi (Suyanto, 2010).

2.2 Daun Kayu Manis

Cinnamomum sp. merupakan tanaman rempah dari *famili Lauraceae* yang terdiri dari beberapa spesies (Rismunandar dan Paimin 2001). Di pasaran kayu manis dikenal dengan sebutan *casiavera* atau cinamon (Nazaruddin 1993) sedangkan di beberapa daerah dikenal dengan nama huru mentek, ki amis (Sunda), manis jangan (Jawa), kenyengar (Madura), matang siak-siak (Toba), kulik manih (Minangkabau), onte (sasak), kuninggu (Sumba), puundinga (Flores), cingar (Bali), kacingar, dan kasingar (Nusa Tenggara) (Syukur dan Hernani 2002; Sutarto dan Atmowidjojo 2001). Menurut Rusli dan Abdullah (1998) di dunia terdapat 54 spesies kayu manis. Sedangkan yang terkenal dalam perdagangan hanya 4 spesies yaitu *C. zeylanicum*, *C. cassia*, *C. burmanni*, dan *C. Culilawan* (Rismunandar dan Paimin 2001). Menurut Rismunandar dan Paimin (2001) ada beberapa faktor yang mempengaruhi pertumbuhan, perkembangan, dan kualitas kayu manis. Faktor-faktor tersebut adalah ketinggian tempat, curah hujan, kondisi tanah, topografi, dan air tanah. Kayu manis dapat tumbuh hingga ketinggian 2000 m dari permukaan laut, membutuhkan iklim tropis basah dengan curah hujan 2000-2500 mm/tahun. Pohon ini dapat tumbuh pada tanah *latosol*, *andosol*, *podsolik* merah kuning, dan mediteran dengan topografi bergelombang atau miring dan air tanah yang dalam.

Deskripsi tanaman kayu manis berupa pohon, tumbuh tegak, tahunan, dan tingginya bisa mencapai 15 m. Batang berkayu, bercabang, dan berwarna hijau kecoklatan. Daun tunggal, berbentuk lanset, ujung dan pangkal meruncing, tepi rata, saat masih muda berwarna merah tua atau hijau ungu, dan daun tua berwarna hijau. Bunga majemuk malai, muncul dari ketiak daun, berambut halus, dan mahkota berwarna kuning. Buah berwarna hijau saat muda dan hitam setelah tua. Kulit batang mengandung damar, lendir, dan terutama minyak atsiri yang mudah larut dalam air. Komponen terbesar minyak atsiri kayu manis adalah sinamaldehida (Syukur dan Hernani 2002).

Kayu manis menyimpan khasiat yang luar biasa. Hasil utama dari tanaman ini adalah kulit yang digunakan sebagai rempah. Selama ini kayu manis hanya dimanfaatkan ibu-ibu rumah tangga sebagai bumbu dapur dan bahan pembuatan jamu karena aromanya yang harum menyengat serta rasanya yang manis sehingga cocok sekali untuk campuran kue dan cake (Sutarno dan Atmowidjojo 2001).

Menurut penjelasan pakar obat-obatan herbal, Prof. Hembing Wijayakusuma, kayu manis berkhasiat untuk obat asam urat, tekanan darah tinggi, maag, tidak nafsu makan, sakit kepala (*vertigo*), masuk angin, diare, perut kembung, muntah-muntah, hernia, susah buang air besar, asma, sariawan, sakit kencing, dan lain-lain. Selain itu, kayu manis memang memiliki efek farmakologis yang dibutuhkan dalam obat-obatan. Kulit batang, daun, dan akarnya dapat dimanfaatkan sebagai obat antirematik, peluruh keringat (*diaphoretik*), peluruh kentut (*carminative*), meningkatkan nafsu makan (*istomachica*), dan menghilangkan sakit (Rismunandar dan Paimin 2001). Saat ini kayu manis sudah menjadi bahan baku dalam industri kosmetik, kecantikan, dan parfum (Sutanto dan Atmowidjojo 2001). Sifat fisik dari kayu manis ialah hangat, pedas, wangi, dan sedikit manis.

Kandungan kimianya antara lain minyak atsiri, *safrole*, *sinamaldehide*, *eugenol*, *tanin*, *damar*, *kalsiumoksanat*, dan zat penyamak. Sinamaldehida merupakan turunan dari senyawa *fenol*. Menurut Moestafa (1988) dan Chairul (1994) minyak atsiri dari *C. burmanni* memiliki komponen utama sinamaldehida dan dehidrokarveol asetat sedangkan menurut Gunawan dan Mulyani (2004) minyak atsiri *C. burmanni* mengandung sinamil aldehida, eugenol, linalool, kariofilena, dan asam sinamat. Senyawa lain yang ditemukan adalah flavonoid, tanin, triterpenoid dan saponin. Berdasarkan penelitian Moestafa (1988) komponen utama minyak atsiri daun *C. burmanni* adalah linalool 24,33 %, sinamilasetat 10,75 %, kariofilena 9,08 %, dan trans-sinamaldehyd 7,29 %. Minyak atsiri berkhasiat sebagai senyawa antimikrob (Sukandar *et al.* 1999) yang diekstrak dengan penyulingan (*destilasi uap*) (Harris 1994).

Berdasarkan penelitian Damayanti (2004) minyak atsiri rempah mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Samonella typhimurium*. Sedangkan menurut Sukandar *et al.* (1999), minyak *atsiridaun* kayu manis sebagai antimikrob palingkuat untuk jenis *Samonella typhimurium* dan juga



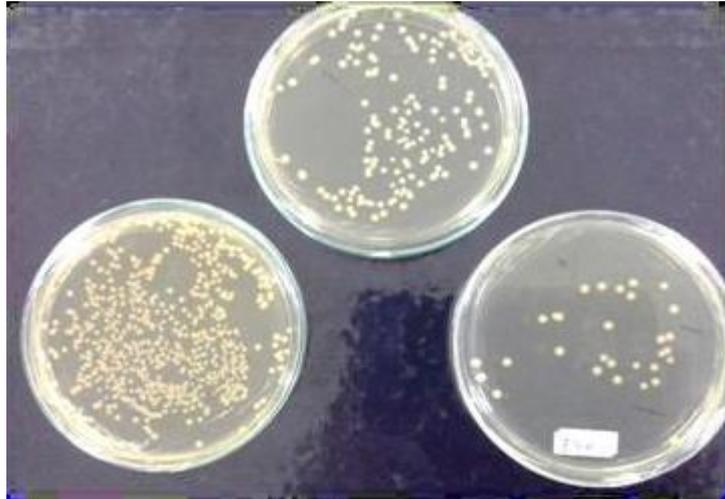
Gambar 2. Daun kayu manis (*Cinamomum burmani*)
(Sumber: Dokumentasi pribadi 2017)

Candida albicans sedangkan minyak atsiri kulit kayu manis *Bacillus substilis* dan *Candida albicans* dari 14 jenis bakteri dan 18 jenis fungi yang diuji. Ada beberapa faktor yang mempengaruhi efektivitas dari suatu antimikrob yaitu konsentrasi, suhu, waktu, sifat fisik, dan kimia substrat (pH, kadar air, jenis, dan jumlah zat terlarut). Mekanisme kerja dari antibakteri dapat dikelompokkan menjadi (1) menghambat sintesis dinding sel bakteri, (2) menghambat ketahanan permeabilitas dinding sel bakteri, (3) menghambat sintesis protein sel bakteri, dan (4) menghambat sintesis asam nukleat. Penelitian ini menggunakan mikroba yang umum ditemukan di sekitar lingkungan hidup kita yaitu *Bacillus substilis* (*B. substilis*) dari bakteri Gram positif, *Escherichia coli* (*E. coli*) dari bakteri Gram negatif dan *Candida albicans* (*C. albicans*) dari fungi.

2.3 Klasifikasi Dan Morfologi Bakteri *Streptococcus agalactiae*

Klasifikasi bakteri *Streptococcus agalactiae* menurut Lehmann and Neumann (1896) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Ordo	: Lactobacillales
Family	: Streptococcaceae
Genus	: Streptococcus
Spesies	: <i>Streptococcus agalactiae</i>



Gambar 3. Koloni bakteri *Streptococcus agalactiae* pada media cawan petri
(Sumber : Rahmawati, 2015)

Streptococcus adalah sel yang bulat atau sferis, tersusun berpasangan atau dalam bentuk rantai, merupakan bakteri Gram positif, mampu memproduksi kapsul polisakarida, dan mampu bertahan pada inang dalam temperatur tinggi (Lehmann dan Neumann, 1896). *Streptococcus* adalah golongan bakteri yang heterogen. Semua spesiesnya merupakan bakteri *non motil*, *non sporing* dan menunjukkan hasil negative untuk tes katalase, dengan syarat nutrisi kompleks. Semuanya anaerob fakultatif, kebanyakan berkembang di udara tetapi beberapa membutuhkan CO^2 untuk berkembang. Semua spesies pada *Streptococcus* tidak dapat mereduksi nitrat. *Streptococcus* memfermentasi *glukosa* dengan produk utama adalah asam laktat, tidak pernah berubah gas. Banyak spesies merupakan anggota dari *mikroflora* normal pada membran mukosa pada manusia ataupun hewan, dan bersifat patogenik.

Streptococcus digolongkan berdasarkan kombinasi sifatnya, antara lain sifat pertumbuhan koloni (**Gambar 3.**), pola hemolisis pada agar darah (*hemolisis α* , *hemolisis β* , atau *non hemolisis*), susunan antigen padat dinding sel yang spesifik untuk golongan tertentu dan reaksi-reaksi biokimia. Sifat antigenik *S. agalactiae* berasal dari poduk ekstraseluler yakni polisakarida, protein permukaan, dan protein disekresikannya. Komponen lainnya adalah hemagglutinin

yang berperan sebagai adhesin (Wahyuni *et al.*, 2006) sehingga *S. agalactiae* dapat menempel pada permukaan epitel mammae.

2.4 Sistem Imun / Pertahanan Ikan Nila

Kata imun berasal dari bahasa latin imunitas yang berarti pembebasan (kekebalan) yang kemudian berkembang sehingga pengertiannya berubah menjadi perlindungan terhadap penyakit, dan lebih spesifik lagi terhadap penyakit menular. Sel dan molekul yang bertanggungjawab dalam imunitas adalah sistem imun, dan keseluruhan sistem yang mengatur respon terhadap pengenalan substansi asing disebut dengan respon imun (Abbas & Lichtman, 2005). Sistem imun adalah semua mekanisme yang digunakan tubuh untuk melindungi dan mempertahankan keutuhan tubuh dari bahaya yang menyerang tubuh (Tjandrawinata *et al.*, 2005). Menurut Baratawidjaya (1994) sistem imun itu terdiri dari komponen genetik, molekuler, dan seluler yang berinteraksi secara luas dalam merespon antigen endogenus dan eksogenus. Tugas dasar sistem imunitas tersebut antara lain adalah membedakan „dirinya sendiri“ (seluruh sel di dalam tubuh) dengan „agen asing“ (bakteri, virus, toksik, jamur, serta jaringan asing). Menghadapi agen asing tadi, sistem imunitas harus membentuk sel khusus melalui sel darah putih, untuk mengeliminasi pendatang asing tersebut. Karena manusia berinteraksi dengan lingkungan sekitar, sistem imunitas mampu beradaptasi dengan kondisi sehari-hari. Sistem imun terdiri dari sistem imun spesifik dan sistem imun nonspesifik, keduanya berperan terutama dalam proses fagositosis.

a. Sistem imun non spesifik.

Sistem ini merupakan pertahanan pertama melawan infeksi. Mekanisme sistem imun non spesifik tetap ada meskipun tidak ada induksi mikroba ke dalam tubuh dan secara cepat diaktifkan oleh mikroba sebelum perkembangan lebih lanjut ke respon imun yang spesifik. Komponen sistem imun nonspesifik (*Innate Immunity*) yaitu :

- 1) Hambatan fisika dan kimia yang terdiri dari kulit, lapisan mukosa, dan enzim.
- 2) Protein darah seperti komplemen
- 3) Sel fagositosis (makrofag, neutrofil) dan *natural killer cells* (Abbas dan Lichtmann, 2005).

Komponen-komponen sistem imun bawaan selalu berada dalam keadaan siaga, siap melaksanakan tindakan-tindakan pertahanan yang terbatas dan relatif “kasar” terhadap semua dan semua penyerang. Dalam sistem imun nonspesifik dikenal sel fagositosis yaitu neutrofil dan makrofag yang memiliki protein membran plasma *toll-like receptors* (TLR) untuk memicu fagositosis. Apabila karbohidrat yang biasanya terdapat pada dinding sel bakteri dan materi lain yang dianggap sebagai substansi asing masuk ke dalam tubuh maka akan mengaktifkan sistem imun nonspesifik. *Toll-like receptors* tersebut sebagai sensor yang mengenali dan mengikat penanda-penanda di bakteri sehingga sistem imun nonspesifik mengetahui substansi asing yang masuk ke dalam tubuh merupakan musuh yang harus dimusnahkan. Reseptor ini berfungsi sebagai pemicu fagosit untuk menelan, menghancurkan mikroorganisme dan memicu fagosit mengeluarkan mediator peradangan (Takeda dan Akira, 2004). *Toll-like receptors* menghubungkan sistem imun spesifik dan nonspesifik karena sitokin dan mediator lain yang dikeluarkan oleh fagosit penting untuk memicu sistem imun spesifik. Antibodi melalui reseptor Fc dan komplemen melalui reseptornya akan membantu makrofag dalam menelan dan mencerna benda asing dan bahan yang sudah dirusak.

b. Sistem imun spesifik (adaptif)

Sistem imun spesifik mempunyai kemampuan untuk mengenal benda asing yang dianggap asing bagi dirinya. Agen asing yang pertama kali muncul dalam tubuh segera dikenal oleh sistem imun spesifik sehingga terjadi sensitisasi sel-sel sistem imun tersebut. Agen asing yang sama bila terpapar ulang akan dikenal lebih cepat, kemudian dihancurkan. Oleh karena sistem tersebut hanya dapat menyingkirkan agen asing yang sudah dikenal sebelumnya, maka sistem ini disebut spesifik (Baratawidjaja, 2006).

Sistem imun spesifik (adaptif) ini terdapat dua tipe, yaitu *cell mediated immunity* dan *humoral mediated immunity*. Sistem imun spesifik dapat bekerja tanpa bantuan sistem imun non spesifik, tetapi pada umumnya terjadi kerjasama yang baik antara antibodi, komplemen dan fagosit dengan sel-T makrofag. Antibodi akan muncul apabila ada antigen yang masuk ke dalam tubuh.

Sistem imun spesifik hanya dapat menghancurkan antigen yang telah dikenalnya (Kresno, 2001).

2.5 Proses Aktivitas Fagositosis

Fagositosis merupakan proses penelanan yang dilanjutkan dengan pencernaan seluler terhadap bahan-bahan asing yang masuk ke dalam tubuh dengan maksud mengganggu sistem homeostasis tubuh. Proses fagositosis secara garis besar dapat dibedakan dalam 3 tahap :

- a. Pengenalan dan pengikatan bahan asing.
- b. Penelanan (*ingestion*)
- c. Pencernaan

Fagositosis sebagian besar diperankan oleh makrofag sebab kemampuan fagositosisnya jauh lebih kuat dibandingkan dengan sel fagosit yang lain. Segera setelah menelan bahan asing tersebut, membran makrofag akan menutup. Partikel tersebut digerakkan ke dalam sitoplasma sel dan terbentuk vakuol fagosit. Lisosom adalah kantung-kantung dengan enzim, bersatu dengan fagosom membentuk fagolisosom. Pada keadaan ini dimulailah proses pencernaan intraseluler dan pembentukan zat bakterisidal jika lisosom gagal menerima bahan-bahan asing yang masuk ke dalam tubuh. Makrofag jaringan mempunyai kemampuan serupa makrofag aktif yang mampu mengembara ke seluruh jaringan, yaitu memfagosit bahan-bahan asing.

2.6 Diferensiasi Leukosit

2.6.1 Jenis Sel Darah Putih

2.6.1.1 Bergranula

Neutrofil

Neutrofil (Polimorf), sel ini berdiameter 12–15 μm memiliki inti yang khas padat terdiri atas sitoplasma pucat di antara 2 hingga 5 lobus dengan rangka tidak teratur dan mengandung banyak granula merah jambu (azurophilik) atau merah lembayung. Granula terbagi menjadi granula primer yang muncul pada stadium promielosit, dan sekunder yang muncul pada stadium mielosit dan terbanyak pada neutrofil matang. Kedua granula berasal dari lisosom, yang primer

mengandung mieloperoksidase, fosfatase asam dan hidrolase asam lain, yang sekunder mengandung fosfatase lindi dan lisosom (Hoffbrand, dan Pettit 1996).

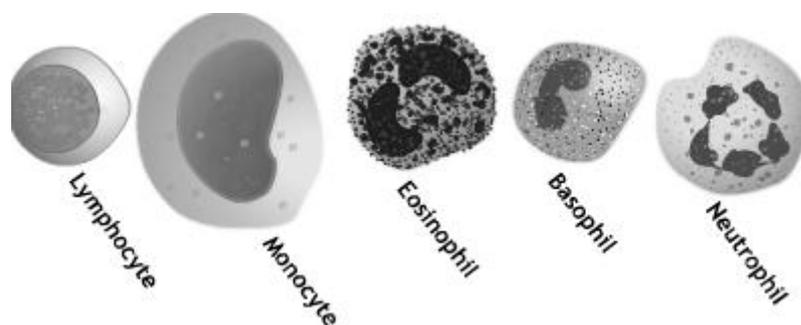
2.6.1.2 Tidak Bergranula

Monosit

Rupa monosit bermacam-macam, dimana ia biasanya lebih besar daripada leukosit darah tepi yaitu diameter 16-20 μm dan memiliki inti besar di tengah oval atau berlekuk dengan kromatin mengelompok. Sitoplasma yang melimpah berwarna biru pucat dan mengandung banyak vakuola halus sehingga memberi rupa seperti kaca. Granula sitoplasma juga sering ada. Prekursor monosit dalam sumsum tulang (monoblas dan promonosit) sukar dibedakan dari mieloblas dan monosit (Hoffbrand, dan Pettit 1996).

Limfosit

Sebagian besar limfosit yang terdapat dalam darah tepi merupakan sel kecil yang berdiameter kecil dari 10 μm . Intinya yang gelap berbentuk bundar atau agak berlekuk dengan kelompok kromatin kasar dan tidak berbatas tegas. Nukleoli normal terlihat. Sitoplasmanya berwarna biru-langit dan dalam kebanyakan sel, terlihat seperti bingkai halus sekitar inti. Kira-kira 10% limfosit yang beredar merupakan sel yang lebih besar dengan diameter 12-16 μm dengan sitoplasma yang banyak yang mengandung sedikit granula azuropilik. Bentuk yang lebih besar ini dipercaya telah dirangsang oleh antigen, misalnya virus atau protein asing (Hoffbrand, dan Pettit 1996).



Gambar 4. Jenis sel darah putih (Dikutip dari White Blood Cell Function, Contributor Information and Disclosures.) Kempert P.H., University of California at Los Angeles, Mattel Children's Hospital and UCLA Medical Center

2.7 Kualitas Air

Kualitas air merupakan salah satu faktor yang berperan penting dalam kegiatan budidaya. Biota budidaya tumbuh optimal pada kualitas air yang sesuai dengan kebutuhannya (Ghufran, 2009). Beberapa parameter kualitas air yang penting dalam budidaya ikan nila adalah suhu, pH, oksigen terlarut, dan TAN. Agar pertumbuhan dan perkembangan ikan nila berjalan dengan baik maka parameter kualitas air tersebut harus tetap terjaga sehingga pertumbuhan benih ikan nila dapat berlangsung optimal (Popma dan Masser, 1999).

a. Suhu

Suhu yang masih bisa ditolerir benih ikan nila adalah 15-37°C, namun ikan nila akan tumbuh optimal pada suhu 25-30°C (Wiryanta *et al*, 2010). Ghufran (2009) menjelaskan bahwa suhu berpengaruh terhadap kehidupan dan pertumbuhan biota air. Perubahan suhu yang tinggi dapat mematikan biota budidaya karena terjadi perubahan daya angkut darah. Kemudian peningkatan suhu juga dapat mempengaruhi penurunan kelarutan kadar oksigen di perairan (Effendi, 2000).

b. pH (derajat keasaman)

pH merupakan gambaran keberadaan ion hidrogen di dalam suatu perairan. Klasifikasi nilai pH =7 bersifat netral. Kemudian nilai $0 < \text{pH} < 7$ bersifat asam. Sedangkan nilai $7 < \text{pH} < 14$ bersifat basa (Effendi, 2000). Popma dan Masser (1999) menjelaskan bahwa ikan nila dapat bertahan pada pH 6-9. Namun pertumbuhan benih ikan nila akan optimal pada kisaran pH 7-8 (Ghufran, 2009). Fluktuasi pH harian di kolam dipengaruhi oleh proses fotosintesis dan respirasi biota. Pada saat sore hari, nilai pH akan meningkat karena pengaruh dari proses fotosintesis. Pada saat nilai pH tinggi dan kondisi suhu air hangat di sore hari, amoniak akan mendominasi perairan tersebut. Semakin tinggi nilai pH, maka tingkat toksisitas amoniak akan semakin meningkat (Hargreaves dan Tucker, 2004).

c. DO (Oksigen terlarut)

Ikan nila merupakan spesies yang tahan terhadap kekurangan oksigen terlarut dalam air. Namun pertumbuhan ikan nila akan optimal jika kandungan oksigen terlarut lebih dari 3 ppm (Cholik, 2005). Kadar oksigen terlarut rendah

menyebabkan metabolisme, pertumbuhan, dan resistensi terhadap penyakit menjadi terganggu (Popma dan Masser, 1999). Fluktuasi kadar oksigen yang tinggi di perairan hingga mencapai kadar yang sangat rendah berbahaya bagi organisme akuatik. Semakin rendah kadar oksigen terlarut maka semakin tinggi toksisitas zinc, tembaga, timbal, sianida, hidrogen sulfida, dan amoniak (Effendi, 2000). Wiryanta *et al* (2010) menjelaskan bahwa kadar oksigen terlarut untuk pertumbuhan benih ikan nila minimum 5 mg/l.

Tabel 1. Kualitas air untuk ikan nila

Parameter	Kandungan air yang di anjurkan
Suhu	25-30 ⁰ C
Ph	6,5-8,5
Oksigen terlarut (DO)	> 3 mg/l
Amonia total maksimum	1 (mg/l total amonia)
Kekeruhan maksimum	50 NTU
Karbon dioksida (CO ₂) maksimum	11 (mg/l)
Nitrit minimum	0,1 (mg/l)
Alkalinitas minimum	20 (mg/l CaCO ₃)
Kesadahan total minimum	20 (mg/l CaCO ₃)

Sumber: Sunarso (2008)