BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pencemaran lingkungan menjadi masalah serius di era modern yang memerlukan upaya untuk menjaga keseimbangan ekosistem di tengah perkembangan teknologi, industri, dan aktivitas manusia. Hal ini memberikan dampak negatif terhadap tanah dan air sehingga memerlukan tindakan pencegahan dan perbaikan untuk melindungi lingkungan dari pencemaran (Tosepu, 2024). Ekosistem laut berperan penting bagi kesejahteraan manusia, jenis vertebrata dan organisme invertebrata lainnya. Ekosistem perairan saling berhubungan dengan lingkungan darat sehingga akan berdampak pada ekosistem yang lain. Sampah menjadi salah satu ancaman serius yang disebabkan oleh manusia terhadap ekosistem perairan akibat kegiatan pembangunan dan konstruksi yang tidak berkelanjutan (Thushari dan Senevirathna, 2020).

Dibandingkan dengan kategori sampah lainnya seperti kaca, kain, kertas, sisa makanan, logam, karet, kayu, dan barang-barang yang berhubungan dengan kesehatan/kebersihan pribadi, sampah plastik termasuk jenis sampah yang memiliki karakteristik unik karena mudah diangkut melalui arus air dan angin juga memiliki masa penyimpanan yang lama. Sampah plastik berjumlah lima triliun, dengan berat lebih dari 260.000 ton mengambang di permukaan laut akibat pembuangan sampah yang tidak tepat (Eriksen et al., 2014). Sampah plastik ketika dilepaskan atau dibuang ke air sebagai sedimen dengan konsentrasi yang lebih berbahaya secara otomatis akan terbentuk di laut. Beberapa logam yang mencemari air akibat kontaminasi sampah plastik, seperti logam berat dan bahan kimia organik juga dapat meracuni manusia yang mengkonsumsi biota laut yang terkontaminasi (Aulia et al., 2023).

Plastik dapat dikategorikan menjadi megaplastik (>1 m), makroplastik (<1 m), mesoplastik ($<2,5$ cm), dan mikroplastik (<5 mm) (Wang et al., 2018). Mikroplastik dapat dibagi menjadi dua jenis, yaitu mikroplastik primer dan mikroplastik sekunder. Mikroplastik primer adalah jenis plastik dengan kisaran ukuran mikro dan digunakan untuk tujuan atau produk tertentu. Mikroplastik primer terutama digunakan dalam pembuatan kosmetik (pembersih, *shower gel*), obat-obatan, dan media peledakan udara. Partikel Polietilen dan Polistirena berukuran mikroskopis diamati pada produk kosmetik. Mikroplastik sekunder didefinisikan sebagai sampah plastik yang

penguraian makroplastik di lingkungan darat dan laut. an pada produk komersial yang umum diproduksi seperti ibadi dan kosmetik atau produk dari partikel mikroplastik di jkungan dan selanjutnya fragmentasi plastik berukuran lebih ka, kimia, dan biologi (Thushari dan Senevirathna, 2020).

yang tinggi di berbagai negara juga dapat menyebabkan stik pada manusia. Hasil penelitian memperkirakan asupan

mikroplastik berkisar antara 112-842 mikroplastik/g/tahun (Aulia et al., 2023). Tingkat mikroplastik di berbagai ekosistem pesisir dan laut hampir berkisar antara 0,001-140 partikel/m³ di air dan 0,2-8766 partikel/m³ dalam sedimen di lingkungan perairan yang berbeda di seluruh dunia. Laju akumulasi mikroplastik organisme pesisir dan laut bervariasi antara 0,01-15.033 hitungan (Thushari dan Senevirathna, 2020). Mikroplastik berpotensi memiliki dampak kesehatan pada manusia karena bahan kimia beracun yang relevan dan vektor kontaminan lainnya yang dapat menyebabkan kerusakan kimia, fisik dan biologis. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa mikroplastik berpotensi menyebabkan gangguan metabolisme, neurotoksisitas dan peningkatan risiko kanker pada manusia. Selain itu, mikroplastik dapat menimbulkan potensi risiko kesehatan seperti: gangguan kekebalan, gangguan reproduksi serta karsinogenik (Aulia et al., 2023).

Stirena monomer adalah bahan penyusun untuk memproduksi polimer polistirena. Selama pembuatan, sejumlah kecil monomer stirena tetap tidak bereaksi dalam polimer dan hasilnya tersedia dalam bahan kontak makanan akhir untuk bermigrasi ke dalam bahan makanan (Guazzoti et al., 2023). Mereka diangkut melalui beberapa jalur fisiologis dan bertranslokasi terutama ke lambung, usus, insang, saluran pencernaan, dan terkadang ke hati (Allen et al., 2020). Penelanan mikroplastik menyebabkan efek buruk pada laut, terutama kerusakan, berkurangnya perilaku makan, terhambatnya pertumbuhan, penyerapan nutrisi, penurunan respon imun, stres oksidatif, toksisitas seluler, sensasi kenyang semu, penurunan kesuburan, malnutrisi, dan yang terakhir, kematian (Kiran et al., 2022).

Penelitian mengenai penggunaan paparan mikroplastik terhadap ikan sudah banyak dilakukan. Penelitian serupa sudah pernah dilakukan oleh Narwaria dan Saksena (2012) dengan judul "*Acute Toxicity Bioassay And Behavioural Responses Induced By Sodium Fluoride In Freshwater Fish Puntius Sopheore (Bloch)*". Selain itu, penelitian serupa juga pernah dilakukan oleh Mohamat-Yusuf et al. (2018) dengan judul "*Acute toxicity test of copper pyrithione on Javanese medaka and the behavioural stress symptoms*". Meski demikian, sedikit penelitian yang membahas pengaruh paparan stirena terhadap ikan *Oryzias celebensis* terutama pada fase dewasa. Sehingga, peneliti tertarik untuk meneliti lebih jauh terkait pengaruh paparan stirena terhadap toksisitas perilaku ikan *Oryzias celebensis*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan maka dapat diambil gaimanakah pengaruh paparan polimer mikroplastik stirena perilaku ikan *oryzias celebensis*.

tian

an penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh paparan stirena terhadap toksisitas perilaku ikan *Oryzias celebensis*.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam pengembangan ilmu pengetahuan dan menambah wawasan dalam bidang kedokteran terkait pengaruh paparan polimer mikroplastik stirena terhadap toksisitas perilaku ikan *Oryzias celebensis* serta diharapkan dapat menjadi pertimbangan bagi masyarakat dan pengambil kebijakan mengenai upaya pencegahan dampak dari mikroplastik terhadap lingkungan.

1.5 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan uraian di atas dapat diambil hipotesis, yaitu adanya pengaruh paparan polimer mikroplastik stirena terhadap toksisitas perilaku ikan *Oryzias celebensis*.

1.6 Keaslian Penelitian

Penelitian mengenai “pengaruh paparan polimer mikroplastik stirena terhadap toksisitas perilaku ikan *Oryzias celebensis*.” belum pernah dilakukan sebelumnya tetapi penelitian serupa pernah dilakukan.

Tabel 1. Keaslian penelitian

Penulis	Judul
Narwaria dan Saksena, 2012	<i>Acute Toxicity Bioassay And Behavioural Responses Induced By Sodium Fluoride In Freshwater Fish Puntius Sophe (Bloch)</i>
Mohamad-yusuf et al., 2014	<i>Acute toxicity test of copper pyrithione on Javanese medaka and the behavioural stress symptoms</i>

1.7 Teori

1.7.1 Klasifikasi Ikan Medaka

Klasifikasi Ikan medaka, *Oryzias celebensis* menurut Weber (1894) dalam (Risnawati et al., 2015)

Kingdom : *Animalia*

Filum : *Chordata*

Subfilum : *Pisces*

Kelas : *Actinopterygii*

oniformes

ianichthyidae

zias

zias celebensis (Weber, 1894)

Gambar 1. *Oryzias celebensis* (Risnawati et al., 2015)

1.7.2 Karakteristik Ikan Medaka

Oryzias celebensis (Teleostei: Beloniformes) adalah ikan kecil yang dapat tumbuh hingga 4,5 cm dan tersebar di sungai maupun danau di pulau Sulawesi, Indonesia. Kekayaan spesies dan endemisitas menjadi dua komponen yang tidak bisa dipisahkan di alam umumnya pada perairan sungai (Damayani et al., 2022). Ikan *Oryzias* memiliki karakteristik yang sama dengan ikan zebra, seperti siklus pertumbuhan pendek, embrio transparan, dan perkembangan cepat (Zhu et al., 2018). Ikan jenis *Oryzias celebensis* memiliki ukuran tubuh yang relatif kecil, waktu regenerasi pendek, embrionya transparan, dan informasi genomiknya cukup lengkap sehingga memungkinkan untuk digunakan sebagai ikan model uji ekotoksikologi. Ikan genus *Oryzias* saat ini menjadi ekonomis karena ikan ini banyak digunakan untuk mempelajari berbagai macam penyakit manusia (Damayani et al., 2022).

1.7.3 Habitat dan Distribusi Ikan Medaka

Ikan medaka (*Oryzias celebensis*) adalah salah satu jenis ikan endemik provinsi Sulawesi Selatan (Sulfitratullah et al., 2022). Ikan medaka (famili *Adrianichthyidae*) tersebar luas di Asia Timur dan Tenggara, dan 20 dari 39 spesiesnya endemik di Sulawesi, Indonesia (Ueda et al., 2024). Ikan ini tergolong vertebrata yang hidup di air tawar, payau dan asin, yang memiliki jumlah serta variasi spesies yang relatif banyak (Sulfitratullah et al., 2022). Ikan Medaka yang habitatnya bervariasi mulai dari sungai kecil, sungai besar, kolam, air terjun, tambak, danau, sawah hingga muara sungai. Ikan medaka banyak biasanya ditemukan di sungai kecil yang mengalir deras dengan substrat berupa batu. Ikan Medaka paling banyak dijumpai di sungai yang tenang dengan substrat berlumpur dan mengandung banyak serasah tumbuhan yang tenggelam di dasar perairan. Medaka juga hidup di saluran air atau kolam yang banyak ditumbuhi rumput dan tumbuhan air lainnya (Sari et al., 2018). Spesies ini telah banyak digunakan dalam penelitian bidang biologi dan perilaku ikan, serta penelitian toksikologi, dan spesies tersebut telah diusulkan oleh ICS sebagai ikan standar untuk uji toksikologi (Sulfitratullah et al., 2022).

sebagai Hewan Uji

(*Oryzias celebensis*) merupakan salah satu ikan endemik provinsi Sulawesi Selatan dan dapat dikembangkan menjadi hewan model seperti ikan zebra (Zhu et al., 2018). Ikan Medaka dikenal luas sebagai indikator biologis

karena mereka memiliki kemampuan beradaptasi yang beragam terhadap salinitas air yang berbeda seperti air tawar, air payau dan air laut (Mohamad-Yusuff et al., 2018). Ikan medaka dijadikan sebagai jenis ikan biomonitoring karena ikan ini mudah dijadikan untuk pemantauan limbah, memiliki karakter biologis khusus seperti ukuran tubuh relatif kecil, siklus hidup panjang, dan mudah untuk diperoleh di perairan. *Oryzias celebensis* adalah salah satu jenis organisme yang memenuhi kriteria tersebut karena merupakan ikan endemik yang banyak ditemukan di Sulawesi Selatan serta teknik budidayanya telah diketahui. Selain itu, ikan jenis *Oryzias celebensis* tersebut memiliki ukuran tubuh yang relatif kecil, waktu regenerasi yang pendek, embrionya transparan, dan informasi genomiknya telah tersedia cukup lengkap sehingga memungkinkan untuk digunakan sebagai ikan model uji ekotoksikologi. Ikan genus *Oryzias* saat ini menjadi ekonomis karena ikan ini banyak digunakan untuk mempelajari berbagai macam penyakit manusia dan memiliki ukuran genom yang telah terpetakan. Ada beberapa spesies yang memiliki sistem genom sempurna, diantaranya *Oryzias latipes*, *Poecilia reticulata*, *Poecilia nigrofasciata*, *Xiphoporus variatus*, *Xiphoporus xiphidium*, *Xiphoporus marculatus*, *Xiphoporus milleri*, *Xiphoporus montezumae cortezi*, *Betta splendens*, *Mogruna obscura*, *Cottus pollux*, dan *Carrasius auratus* (Damayani et al., 2022).

1.7.5 Stirena

Gambar 2. Stirena (Generalic, 2022).

Stirena merupakan salah satu monomer yang paling banyak digunakan dan memiliki berbagai aplikasi dalam industri kimia untuk memproduksi polistirena, karet *akrilonitril-butadiena*-stirena dan banyak polimer lainnya (Zhao et al., 2019). Stirena memiliki keunggulan seperti biaya rendah, berat molekul rendah, reaktivitas tinggi, dan kemampuan polimerisasi yang sangat baik. Dengan bantuan stirena, perbaikan terjadi pada kemampuan proses resin termasuk penurunan viskositas dan suhu pengawetan serta peningkatan laju dan derajat pengawetan sehingga menghasilkan sifat mekanik dan daya tahan yang lebih baik. Nama stirena tergolong senyawa menguap karena titik didihnya yang rendah dan tekanan uap . Stirena tidak ramah lingkungan karena merupakan polutan /a dan berbahaya bagi kesehatan manusia (Wu et al., 2019). alam polistirena, poliamida, dan akrilonitril-butadiena-stirena. ran stirena terjadi melalui makanan dan pernapasan. Stirena

dalam polistirena memiliki kemampuan untuk bermigrasi ke makanan. Polistirena digunakan dalam wadah minuman, wadah daging, telur, yogurt dan keju serta makanan siap saji. Metabolit yang dihasilkan dari stirena bersifat mutagenik dan karsinogenik. Menurut *Food and Drug Administration* (FDA), maksimum stirena yang diperbolehkan dalam air kemasan adalah 0,01 mg/L. Otoritas keamanan pangan Eropa, telah mengumumkan batas maksimum stirena dalam makanan adalah 0,6 mg/kg (Sadighara et al., 2022).

1.7.6 Efek Mikroplastik terhadap Ikan Medaka

Akumulasi plastik dan sampah di laut serta pesisir merupakan hasil dari pelepasan polutan yang intens dan berkelanjutan ke lingkungan. Pembuangan limbah yang tidak tepat, ditambah dengan peningkatan produksi dan manajemen yang tidak efisien berpotensi menimbulkan dampak dan ancaman serius terhadap ekosistem (Barboza dan Gimenez, 2015). Mikroplastik memiliki dampak yang berbahaya terhadap biota laut, baik secara langsung maupun tidak langsung. Hal ini disebabkan oleh efek mekanis atau kimia yang terjadi setelah organisme menelan partikel mikroplastik. Ukuran partikel yang ditelan berhubungan dengan ukuran tubuh dan fase ontogenetik organisme tersebut. Tingkat dampak yang dialami organisme dipengaruhi oleh ukuran, bentuk, dan jumlah mikroplastik yang tertelan, serta faktor lain yang bersifat perilaku, fisiologis, dan geografis, termasuk strategi mencari makan dan pola diet. Mikroplastik mengandung sejumlah plastik berbahaya yang dikenal sebagai aditif, seperti *Bisphenol A* (BPA) dan *dibuthyl phthalates*, yang ditambahkan ke plastik selama proses produksi untuk meningkatkan kekuatan tarik atau fleksibilitasnya. Partikel plastik ini juga memiliki kecenderungan untuk menyerap dan mengakumulasi bahan beracun dari lingkungan sekitarnya di perairan laut, seperti bifenil poliklorinasi (PCB), hidrokarbon aromatik polisiklik (PAH), polutan organik persisten seperti DDT, serta logam berat. Bahan kimia ini tidak terikat secara kimia pada permukaan mikroplastik dan berpotensi larut ke dalam lingkungan atau jaringan hewan ketika terakumulasi dalam sistem pencernaan (Solomon dan Palanisami, 2016). Mikro dan nanopartikel (NP) dari berbagai ukuran telah ditemukan terutama di lingkungan perairan, sering kali terbawa dari serat sintetis yang terdapat dalam sedimen. Dampak negatif dari nanopartikel plastik terhadap mikroorganisme, tumbuhan, dan hewan lebih signifikan dibandingkan dengan mikroplastik, karena ukuran yang lebih kecil memungkinkan mereka untuk menembus dan terakumulasi di berbagai jaringan dan organ (Kik dan Sicińska, 2020).

ng Ikan Medaka

ang dianggap sebagai indikator untuk menilai status fisiologis ang telah terkontaminasi. Aktivitas berenang merupakan salah u yang paling umum dan mudah diukur dalam penelitian) merupakan bagian penting dari berbagai aspek biologi ikan.

Penurunan kinerja berenang dapat berdampak signifikan pada interaksi antar spesies dan antar individu yang pada akhirnya dapat menurunkan kesehatan individu yang terpapar. Perubahan perilaku organisme sebagai respons terhadap bahan kimia tertentu bergantung pada mekanisme aksi zat tersebut. Beberapa bahan kimia, seperti *chlorpyrifos*, kromium, poliklorinasi *biphenyl*, dan *tributyltin* telah diteliti terkait dampaknya terhadap perubahan perilaku. Aktivitas berenang juga telah digunakan dalam berbagai penelitian untuk mengevaluasi toksisitas senyawa. Perubahan perilaku berenang yang dipengaruhi oleh logam, seperti peningkatan konsentrasi amonia plasma, dapat menyebabkan penurunan kadar Na^+ dan K^+ (Sharma, 2019).

Setiap perubahan perilaku pada ikan memberikan wawasan dan pemahaman terkait perubahan perilaku yang dapat dihubungkan dengan biomarker fisiologis pada spesies air. Keterkaitan antara perilaku dan fungsi fisiologis dengan proses ekologis dapat sangat dipengaruhi oleh rangsangan lingkungan dan paparan bahan kimia. Perubahan perilaku sebagai respons organisme terhadap polutan semakin banyak diteliti dalam bidang ekotoksikologi untuk memperbaiki penentuan titik akhir risiko yang relevan secara ekologis. Perubahan perilaku yang berkaitan dengan aktivitas makan sangat dipengaruhi oleh faktor ekologis karena dapat memengaruhi kemampuan organisme untuk menemukan dan mengakses makanan. Perilaku berenang dan menghindar terhadap pakan memiliki dampak langsung pada nafsu makan ikan, karena kedua aktivitas ini berperan penting dalam menentukan kelangsungan hidup ikan, seperti mencari makanan dan menghindari kondisi yang merugikan. Penurunan perilaku makan dapat mengurangi asupan energi bagi organisme yang pada dasarnya sangat mempengaruhi pertumbuhan dan reproduksinya (Sharma, 2019).

BAB II METODOLOGI PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Juli-Desember 2024 di Laboratorium Terintegrasi, Program Studi Kedokteran Hewan, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin. Penelitian ini menggunakan hewan model berupa ikan *Oryzias celebensis* jenis kelamin jantan dan betina. Hewan model ini diambil dari sungai Pita di kampung Ta'deang, Desa Samangki, Kecamatan Bantimurung, Kabupaten Maros. Penelitian ini telah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Universitas Hasanuddin, Rumah Sakit Perguruan Tinggi Negeri Universitas Hasanuddin untuk penggunaan hewan model (*Oryzias celebensis*) dalam penelitian, dengan nomor surat No.674/UN4.6.4.5.31/PP36/2024.

2.2 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian deskriptif, yaitu jenis penelitian yang memberikan gambaran mengenai pengaruh paparan polimer mikroplastik polimer stirena terhadap toksisitas perilaku ikan *Oryzias celebensis* yang diobservasi secara langsung di Laboratorium Terintegrasi, Program Studi Kedokteran Hewan, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin.

2.3 Sampel dan Metode Sampling

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen, metode eksperimen adalah suatu percobaan untuk menentukan hasil. Sampel diambil dari populasi ikan medaka dan besar sampel ditentukan berdasarkan rumus Federer:

$$(t - 1) (n - 1) > 15$$

Keterangan:

t = Jumlah kelompok

n = Jumlah subjek kelompok

$$(t - 1) (n - 1) \geq 15$$

$$(5 - 1) (n - 1) \geq 15$$

$$4 (n - 1) \geq 15$$

$$n - 1 \geq 15/4$$

$$n - 1 \geq 3,75$$

$$n \geq 3,75 + 1$$

$$n \geq 4,75$$

Sampel pada penelitian ini adalah 75 ekor ikan *Oryzias celebensis* yang dikelompokkan perlakuan, untuk setiap kelompok perlakuan ada 5 ekor, kelompok terdiri atas 3 kali ulangan (n= 5 ekor per pengulangan).

Berikut adalah rancangan percobaan yang akan dilakukan:

KLP A: (Kelompok kontrol): Kelompok ikan yang termasuk dalam kontrol negatif.

KLP B: (Kelompok perlakuan): Kelompok ikan yang diberikan paparan stirena dengan konsentrasi 0,01 mg/ L selama 96 jam.

KLP C: (Kelompok perlakuan): Kelompok ikan yang diberikan paparan stirena dengan konsentrasi 0,025 mg/L selama 96 jam.

KLP D: (Kelompok perlakuan): Kelompok ikan yang diberikan paparan stirena dengan konsentrasi 0,05 mg/L selama 96 jam.

KLP E: (Kelompok perlakuan): Kelompok ikan yang diberikan paparan stirena dengan konsentrasi 0,075 mg/L selama 96 jam.

2.4 Materi Penelitian

2.4.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu: kamera, gelas kimia, akuarium pemeliharaan ukuran 50 x 20 x 30 cm, akuarium ukuran 15 x 15 x 20 cm, benang wol, filter air, *water pump*, *power heads*, pasir malang, sendok tanduk, saringan ikan, selang, konektor, gunting, *styrofoam*, *cutter*, ATK (Alat Tulis Kantor), pipa, spuit 1 cc, mikropipet, wadah kultur nauplius *artemia sp.*, dan pipet tetes.

2.4.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya: air, nauplius *artemia sp.*, ikan *Oryzias celebensis*, fengli (*Otohime B1*), stirena, etanol, *aquabidest*, garam dapur, tisu, dan kertas label.

2.5 Prosedur Penelitian

2.5.1 Pengambilan Sampel

Sampel berupa ikan *Oryzias celebensis* yang ditangkap menggunakan alat perangkap ikan (*trap*) di sungai Pita, di kampung Ta'deang, Desa Samangki, Kecamatan Bantimurung, Kabupaten Maros. Ikan yang ditangkap berukuran >4 cm sebanyak 75 ekor. Ikan yang telah ditangkap disimpan dalam wadah plastik dan selanjutnya dibawa ke laboratorium untuk dilakukan proses aklimatisasi.

2.5.2 Aklimatisasi Ikan *Oryzias celebensis*

Ikan *Oryzias celebensis* yang telah sampai di laboratorium akan dilakukan aklimatisasi selama 4 minggu. Ikan indukan akan dipelihara di ruang yang dikontrol suhu pada 28°C dengan siklus 14 jam terang dan 10 jam gelap dalam akuarium. Ikan diberi pakan komersial merek dagang fengli (*Otohime B1*) dan nauplius *artemia sp.* (Sayed et al., 2017). Pemberian pakan akan diberikan secukupnya, yaitu 5% dari

1. Pakan fengli (*Otohime B1*) akan diberikan dengan frekuensi satu kali pukul 12.00 WITA dan nauplius *artemia sp.* akan diberikan dua kali pukul 08.00 dan 18.00 WITA.

2.5.3 Pembuatan Larutan Uji

Larutan uji yang digunakan adalah stirena dengan konsentrasi yang berbeda. Kelompok kontrol, Kelompok A (kontrol negatif), kelompok B (stirena 0,01 mg/L), kelompok C (stirena 0,025 mg/L), kelompok D (stirena 0,05 mg/L), dan kelompok E (stirena 0,075 mg/L) dengan lama paparan selama 96 jam perlakuan. Larutan etanol 0,05% dibuat dengan mencampurkan 5 mL etanol dan 995 mL aquabides. Pengenceran 1 mg/L stirena dilakukan dengan mencampurkan stirena 1 mikro liter dengan 5 mL etanol dan ditambahkan aquabides 995 mL. Larutan stirena 1 mg/L ini digunakan untuk membuat larutan stirena 0,01 mg/L, 0,025 mg/L, 0,05 mg/L dan 0,075 mg/L. Larutan stirena 0,01 mg/L dibuat dengan mencampurkan 10 mL larutan stirena yang telah diencerkan dan ditambahkan 990 mL aquabides. Larutan stirena 0,025 mg/L dibuat dengan mencampurkan 25 mL larutan stirena yang telah diencerkan dan ditambahkan 975 mL aquabides. Larutan stirena 0,05 mg/L dibuat dengan mencampurkan 50 mL larutan stirena yang telah diencerkan dan ditambahkan 950 mL aquabides. Larutan stirena 0,075 mg/L dibuat dengan mencampurkan 75 mL larutan stirena yang telah diencerkan dan ditambahkan 925 mL aquabides.

2.5.4 Perlakuan

Ikan medaka dewasa yang sudah diaklimatisasi dibagi ke dalam lima kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri atas tiga ulangan (lima ekor ikan per kelompok dalam satu ulangan) selanjutnya masing-masing diletakkan pada akuarium pengamatan (ukuran 15 x 15 x 20 cm). Uji paparan stirena dibuat dengan konsentrasi yang berbeda pada setiap kelompok, yaitu pada kelompok A (kontrol negatif), kelompok B (stirena 0,01 mg/L), kelompok C (stirena 0,025 mg/L), kelompok D (stirena 0,05 mg/L), dan kelompok E (stirena 0,075 mg/L) dengan lama paparan selama 96 jam perlakuan (Sayed et al., 2017). Air diganti setiap hari selama perlakuan. Pengamatan tingkah laku pada fase dewasa dilakukan setiap hari selama dua kali sehari, yakni pagi dan sore dengan bantuan kamera *recording*.

2.5.5 Pengamatan Tingkah Laku

Pengamatan tingkah laku pada fase dewasa dilakukan setiap hari dengan bantuan kamera *recording*. Ikan yang mati ditandai dengan tidak adanya respons ketika disentuh sirip ekornya dan tidak terlihat adanya pergerakan di dalam akuarium. Setiap periode pemberian pakan, ikan akan diamati respons sensitivitas terhadap pakan. Efek toksisitas perilaku dicatat ketika terlihat tanda-tanda variabilitas abnormal (Narwaria dan Saksena 2012). Pengamatan toksisitas perilaku mengacu

Narwaria dan Saksena (2012) yang meliputi parameter pengamatan kebiasaan/perilaku selama di dalam akuarium, sensitivitas terhadap gerakan renang).

2.6 Analisis Sampel Data

Pada metode ini akan dijelaskan mengenai perubahan perilaku ikan Medaka Sulawesi pasca terpapar stirena. Untuk menganalisis perubahan, analisa data yang digunakan adalah analisis data deskriptif kualitatif. Analisis data dilakukan secara deskriptif kualitatif, yaitu dengan menerangkan apa yang terjadi dengan memberikan penjelasan secukupnya berdasarkan fakta-fakta yang diperoleh di lapangan dan hasil analisis laboratorium, sehingga diperoleh gambaran yang nyata atas obyek yang diteliti, dan dapat dipergunakan untuk menjawab pertanyaan dan pemmasalahan yang ada (Indarsih et al., 2011). Abnormalitas perilaku ikan *Oryzias celebensis* pasca pemberian paparan menjadi parameter yang dapat digunakan sebagai penanda adanya perubahan tingkah laku ikan *Oryzias celebensis*.

2.7 Alur Penelitian

Gambar 3. Alur Penelitian.