BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pencemaran sampah plastik di ekosistem perairan menjadi salah satu isu lingkungan global yang paling mendesak. Menurut data dari United Nations Environment Programme (UNEP) pada tahun 2016, sekitar 9 hingga 14 juta ton sampah plastik diperkirakan memasuki ekosistem perairan global setiap tahunnya. Angka ini diprediksi akan meningkat secara signifikan menjadi 23 hingga 37 juta ton per tahun pada tahun 2040, jika tidak ada upaya pencegahan yang dilakukan. Laporan yang disusun oleh The World Economic Forum and Ellen MacArthur Foundation dalam *The New Plastics Economy: Rethinking the Future of Plastics* (2016) juga memperkitakan bahwa pada tahun 2050, jumlah sampah plastik di lautan akan melebihi jumlah ikan di lautan.

Di Indonesia, pencemaran sampah plastik di lingkungan perairan juga telah menjadi isu lingkungan yang serius. Berdasarkan data dari Tim Koordinasi Nasional Penanganan Sampah Laut (TKN PSL), pada tahun 2022 tercatat sekitar 398.000 ton sampah plastik yang mencemari perairan Indonesia. Kombinasi faktor seperti sistem pengelolaan sampah yang belum optimal, aliran sungai yang membawa sampah dari daratan ke laut, aktivitas pariwisata, serta limbah industri dan rumah tangga menjadi penyebab tingginya konsentrasi sampah plastik di lingkungan perairan.

Sampah plastik di laut dapat mengalami kerusakan mekanis dan fotodegradasi serta degradasi oksidatif, yang memecah plastik rapuh menjadi mikroplastik (Wagner et al., 2014). Mikroplastik merupakan partikel plastik yang berukuran kurang dari 5 mm (Galgani et al., 2013). Berdasarkan sumbernya, mikroplastik dibagi menjadi dua kategori, yaitu primer dan sekunder (Ayun, 2019). Mikroplastik primer merupakan mikroplastik yang sengaja dirancang dan diproduksi dengan ukuran sekitar 5 mm untuk ditambahkan ke produk komersial, seperti kosmetik, farmasi, deterjen, dan insektisida (Ariskha, 2019). Sedangkan, mikroplastik sekunder terbentuk secara tidak sengaja oleh penguraian partikel plastik yang berukuran lebih besar melaui proses mekanis, kimia, atau biologis, seperti jaring ikan, botol plastik, dan wadah makanan plastik (Eriksen et al., 2014).

Bentuk dan ukuran mikroplastik yang menyerupai plankton sebagai salah satu makanan alami organisme akuatik menyebabkan partikel tersebut dapat dengan mudah terkonsumsi oleh mereka (Wicaksono, 2022). Mikroplastik yang tertelan dapat terakumulasi dalam tubuh, membahayakan organisme melalui kerusakan fisik, vektor polutan (pelepasan *plasticizer* dan polutan lain), bioakumulasi, dan transmisi rantai makanan (Wang et al., 2022). Hal ini tidak hanya mengancam kelestarian ekosistem perairan dan biota laut, tetapi juga berpotensi mengganggu kesehatan manusia melalui kontaminasi dalam rantai makanan (Nurika et al., 2023). Dampak dari pencemaran mikroplastik ini memicu kekhawatiran publik mengenai potensi bahaya monomer penyusunnya (Cole et al., 2011).

Salah satu senyawa monomer plastik yang paling banyak ditemukan di perairan adalah stirena (Cassola et al., 2019). Stirena merupakan monomer hidrokarbon aromatik penyusun polimer polistirena (PS), yang berupa cairan kental transparan atau kekuningan beraroma bunga (Basha et al., 2023). Senyawa ini sering digunakan dalam pembuatan styrofoam, produk kemasan, CD, dan perlengkapan kantor (Namira, 2023). Ikan dapat menyerap partikel tersebut melalui mulut, kulit, dan insang (Bhagat et al., 2020). Setelah terpapar, stirena sebagian besar akan terakumulasi secara biologis di dalam usus dan insang, sebelum akhirnya menyebar dan terakumulasi secara biologis ke organ vital lainnya, termasuk otak melalui sirkulasi darah. Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa akumulasi stirena pada organ-organ vital tersebut dapat memicu terjadinya stres oksidatif, yang dapat bermanifestasi sebagai kerusakan jaringan insang, disbiosis mikrobiota usus, dan neurotoksisitas. Kondisi ini secara signifikan mengganggu fisiologi ikan, termasuk efisiensi respirasi, pencernaan, dan fungsi neurologis (Ghosh, 2024). Perubahan histopatologi pada organ-organ tersebut dapat dijadikan sebagai indikator awal keruskan jaringan akibat paparan toksik (Lukmini et al., 2024). Oleh karena itu, penelitian terkait perubahan histopatologi pada otak, insang, dan usus sangat penting dilakukan untuk memahami dampak senyawa stirena terhadap kesehatan ikan.

Penelitian terkait dampak senyawa stirena terhadap perubahan histopatologi otak, insang, dan usus sudah pernah dilakukan oleh Huang et al. (2024) pada ikan mas Crucian (*Carassius auratus*). Penelitian serupa juga sudah pernah dilakukan oleh Alvarez et al. (2024) yang mengkaji perubahan histopatologi insang dan hati pada ikan zebra (*Danio rerio*). Meskipun dampak mikroplastik polistirena pada berbagai organ ikan telah banyak dikaji, namun penelitian serupa pada spesies ikan endemik, misalnya ikan *Oryzias celebensis* yang merupakan ikan endemik Sulawesi masih sangat terbatas. Padahal, ikan ini memiliki potensi besar sebagai bioindikator pencemaran plastik di wilayah pesisir, mengingat kemampuannya yang sensitif terhadap perubahan lingkungan dan posisinya dalam rantai makanan ekosistem lokal (Kinoshita et al., 2009). Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengisi kekosongan pengetahuan terkait dampak stirena terhadap perubahan histopatologi otak, insang, dan usus pada ikan *Oryzias celebensis*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan, maka dapat diambil rumusan masalah sebagai berikut:

- 1. Bagaimana Pengaruh Paparan Stirena terhadap Perubahan Histopatologi Otak pada Ikan *Oryzias celebensis*?
- 2. Bagaimana Pengaruh Paparan Stirena terhadap Perubahan Histopatologi Insang pada Ikan *Oryzias celebensis*?
- 3. Bagaimana Pengaruh Paparan Stirena terhadap Perubahan Histopatologi Usus pada Ikan *Oryzias celebensis*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

- Mengetahui Pengaruh Paparan Stirena terhadap Perubahan Histopatologi Otak pada Ikan Oryzias celebensis.
- 2. Mengetahui Pengaruh Paparan Stirena terhadap Perubahan Histopatologi Insang pada Ikan *Oryzias celebensis*.
- 3. Mengetahui Pengaruh Paparan Stirena terhadap Perubahan Histopatologi Usus pada Ikan *Oryzias celebensis*.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam pengembangan ilmu pengetahuan dan menambah wawasan dalam bidang kedokteran hewan mengenai toksisitas dari mikroplastik, khususnya senyawa stirena terhadap ikan *Oryzias celebensis* ditinjau dari perubahan histopatologi otak, insang, dan usus. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi pertimbangan bagi masyarakat dan pengambil kebijakan mengenai upaya pencegahan dampak dari mikroplastik terhadap lingkungan yang dapat membahayakan kesehatan lingkungan, hewan, dan masyarakat.

1.5 Hipotesis

Berdasarkan uraian di atas, dapat ditarik hipotesis bahwa paparan stirena pada ikan *Oryzias celebensis* dapat berpengaruh terhadap perubahan histopatologi otak, insang, dan usus ikan *Oryzias celebensis*.

1.6 Keaslian Penelitian

Penelitian berjudul "Pengaruh Paparan Stirena terhadap Perubahan Histopatologi Otak, Insang, dan Usus Ikan *Oryzias celebensis*" merupakan penelitian yang mengkaji pengaruh paparan stirena terhadap perubahan histopatologi otak, insang, dan usus ikan *Oryzias celebensis*. Dari topik yang diangkat, sebelumnya sudah ada beberapa penelitian yang serupa dengan penelitian yang akan dilakukan.

Tabel 1. Keaslian penelitian

Penulis	Judul	
Alvarez et al., 2024	Effects of Polystyrene Nano- and Microplastics with Sorbed Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Adult Zebrafish	
Huang et al., 2024	Effect of Polystyrene Microplastic Exposure on Individual, Tissue, and Gene Expression in Juvenile Crucian Carp (<i>Carassius auratus</i>)	
Nurdin, 2022	Perubahan Histopatologi Sistem Respirasi Ikan Medaka Sulawesi (<i>Oryzias Celebensis</i>) Akibat Kontaminasi Amoxicillin	

1.7 Kajian Pustaka

1.7.1 Ikan Medaka Sulawesi (Oryzias celebensis)

1.7.1.1 Klasifikasi

Ikan Medaka (*Oryzias* sp.), termasuk dalam famili *Adrianichthyidae*. Famili ini merupakan kelompok endemik Asia dan terdiri dari empat genera: *Oryzias* sekitar 20 spesies, *Adrianichthys* 2 spesies, *Horaichthys* 1 spesies, dan *Xenopoecilus* 3 spesies (Sari et al., 2018a). Genus *Oryzias* mencakup 32 spesies, termasuk medaka Sulawesi (*Oryzias celebensis*), spesies endemik Sulawesi yang dikenal secara lokal sebagai ikan binisi (Sari et al., 2020).



Gambar 1. Ikan medaka Sulawesi (Oryzias celebensis) (Fachruddin et al., 2020)

Klasidfikasi ikan medaka Sulawesi (Oryzias celebensis), menurut Nelson (2006) dalam Sari et al. (2017) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Animalia
Phylum : Chordata
Class : Pisces

Subclass : Actinopterygii
Ordo : Beloniformes
Family : Adrianichtydae

Genus : Oryzias

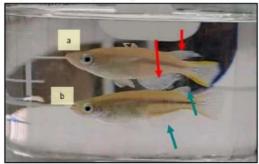
Spesies : Oryzias celebensis

1.7.1.2 Karakteristik Morfologis

Ikan medaka berasal dari kata *medaka*, yang dalam bahasa Jepang berarti "mata di atas" (*me* = mata; *daka* = tinggi, besar), merujuk pada karakteristik matanya yang relatif besar dan terletak di atas posisi hidung (Fahmi *et al.*, 2008). *Oryzias celebensis*, mirip dengan spesies *Oryzias* lainnya, memiliki siklus hidup yang singkat, embrio dan korion yang transparan, reproduksi yang cepat, periode inkubasi telur sekitar 7 hari, dan mencapai kematangan seksual dalam waktu kurang lebih 3 bulan setelah menetas (Zhu *et al.*, 2018). Panjang tubuh ikan Oryzias celebensis berkisar antara 2-4,5 cm (Risnawati et al., 2015). Tapi, menurut Zhu et al. (2018), ikan ini dapat tumbuh hingga 2 kali lipat panjang tubuh normalnya, atau sekitar 6 cm. *Oryzias celebensis* memiliki tubuh yang transparan yang memungkinkan observasi organ internal (Kinoshita *et al.*, 2009).

Secara spesifik, *Oryzias celebensis* memiliki tubuh berwarna kekuningan transparan dengan garis lateral yang samar di bagian posterior (Said & Hidayat,

2015). Ikan *Oryzias celebensis* memiliki kepala, punggung, dan sisi tubuh berwarna kuning pucat, sepasang sirip dada (*Pinnae pectoralis*), sepasang sirip perut (*Pinnae abdominalis*) yang pendek, dan sirip punggung (*Pinna dorsalis*) yang jauh lebih pendek dibanding sirip dubur (*Pinna analis*) yang terletak dekat dengan sirip ekor (*Pinna caudalis*). Membran sirip punggung transparan, sedangkan sirip dubur berwarna kuning pucat pada bagian dasarnya. Warna kuning sampai oranye tampak pada sirip ekor bagian dorsal dan ventral, dengan selaput sirip perut berwarna kuning pucat. Panjang kepala rata-rata 4,0 mm yang relatif kurang terkompresi dibandingkan tubuh. Panjang moncong berkisar antara 3,2 mm hingga 7,6 mm, dengan rata-rata 5,4 mm, dan lebih pendek daripada diameter mata. Diameter mata rata-rata 2,3 mm. Bentuk mulutnya hampir horizontal. Perut agak cembung dari kepala hingga sirip dubur. Tubuh ditutupi sisik sikloid dengan panjang tubuh longitudinal berkisar antara 29 mm hingga 33 mm (Nurdin et al., 2022).



Gambar 2. Perbedaan ikan medaka Sulawesi jantan (a) dan betina (b). Panah merah menunjukkan ciri ikan jantan dan panah hiaju menunjukkan ciri ikan betina (Yaqin, 2021)

Ikan medaka Sulawesi memiliki ciri morfologi yang khas untuk membedakan antara jantan dan betina. Jantan umumnya memiliki tubuh lebih ramping dengan warna yang lebih cerah, sirip punggung dan dubur yang lebih panjang serta memiliki lekukan dalam pada sirip punggungnya. Selain itu, sirip anal jantan lebih panjang, tebal, dan bergerigi, serta sirip ekornya berwarna kuning oranye dengan garis hitam. Betina, di sisi lain, cenderung memiliki tubuh yang lebih berisi dan sirip yang lebih pendek (gambar 2). Perbedaan mencolok lainnya adalah adanya papilla genital yang runcing pada jantan, sedangkan betina memiliki tonjolan yang lebih datar (Yaqin, 2021).

1.7.1.3 Daerah Sebaran dan Habitat

Daerah sebaran ikan medaka Sulawesi terpusat di wilayah Sulawesi Selatan. Kemampuannya yang mampu beradaptasi dengan berbagai tipe perairan, mulai dari sungai karst hingga perairan payau, memungkinkan ikan medaka untuk mendiami area yang luas di Sulawesi Selatan. Populasi terbesar ikan ini ditemukan di sekitar Danau Sindereng, Danau Tempe, dan wilayah Maros. Selain itu, ikan ini juga umum dijumpai di danau dan tambak kampung Mangabambang, Sinjai. (Said dan Hidayat, 2015).

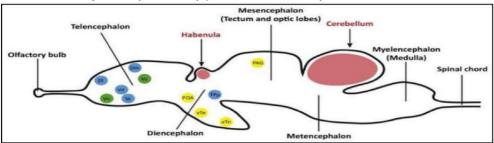
Habitat ikan medaka Sulawesi sangat beragam, mulai dari sungai, kolam, tambak, sawah, hingga muara sungai. Mereka lebih menyukai perairan dengan arus lambat dan perairan dangkal, seperti pinggiran sungai atau saluran irigasi, karena ukuran tubuhnya yang kecil. Substrat dasar yang berlumpur dan kaya akan serasah tumbuhan merupakan habitat yang ideal bagi ikan ini untuk berlindung dan melakukan pemijahan (Yusof et al., 2013).

1.7.1.4 Ikan Medaka sebagai Hewan Coba

Sejak dulu, ikan medaka telah digunakan sebagai hewan uji terbaik untuk berbagai jenis bidang, salah satunya ekotoksikologi (Setiamarga et al., 2014). Secara biologi, ikan medaka memiliki beberapa keuntungan sehingga ikan ini populer dijadikan sebagai ikan model, diantaranya adalah siklus hidupnya yang pendek, sekitar 2-3 bulan per generasi, memungkinkan penelitian jangka panjang dengan cepat, dimorfisme seksual yang jelas sehingga memudahkan identifikasi individu, dan memiliki ketangguhan yang luar biasa. Ketangguhannya ini dibuktikan oleh fakta bahwa ikan ini berhasil berkembangbiak di bawah kondisi gaya berat mikro di pesawat luar angkasa (Furukawa et al., 2021). Oleh karena itu, ikan *Oryzias* spp. dewasa telah lama digunakan sebagai ikan model dalam uji toksikologi dengan berbagai varian bahan pencemar, seperti logam (Mohamat-Yusuff et al., 2018; Chen et al., 2018), pestisida (Dong et al., 2018; Kang et al., 2017), limbah farmasi (Chiffre et al., 2016), dan mikroplastik (Wang et al., 2022).

1.7.1.5 Histologi Normal Otak Ikan

Secara umum, struktur otak ikan medaka Sulawesi mirip dengan struktur otak ikan lainnya (Mokhtar, 2022). Otak ikan terdiri dari 5 bagian, yaitu telencephalon, diencephalon, mesencephalon, metenchepalon, dan myelencephalon (Sari et al., 2017). Otak ikan medaka memiliki struktur dasar yang serupa dengan vertebrata lainnya, yang terdiri atas prosencephalon (forebrain), mesencephalon (midbrain), dan rhombencephalon (hindbrain) (Murata et al., 2020).

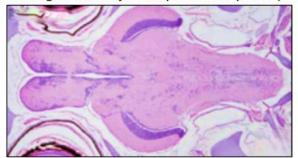


Gambar 3. Sketsa otak ikan (Fikri et al., 2023)

Prosencephalon terdiri dari telencephalon dan diencephalon. Telencephalon pada ikan teleostei, seperti medaka memiliki ventrikel lateral yang berkembang secara terbalik, sehingga lapisan ependimalnya berada di permukaan (Murata et al., 2020). Telencephalon adalah bagian depan otak dan mengandung komponen penciuman yang memproses aroma atau bau. Telencephalon dibentuk oleh cerebral hemisfer dan rhinecephalon sebagai pusat dari hal-hal yang berkaitan dengan

aroma. Saraf utama yang keluar dari area ini adalah saraf *olfactory* atau saraf penciuman (Fikri et al., 2023). Selain berperan dalam pemrosesan informasi penciuman, *telencephalon* juga memproses input visual dan berfungsi dalam berbagai perilaku kompleks, termasuk makan, respons terhadap ancaman, pembentukan kelompok, interaksi sosial, agresi, dan perilaku reproduksi. *Telencephalon* mengandung berbagai neurotransmiter penting seperti asetilkolin, GABA, *glutamat*, *neuropeptida*, katekolamin, dan *nitric oxide*, yang berperan dalam mengatur fungsi saraf dan perilaku hewan (Willet dan Aluru, 2024).

Diencephalon merupakan bagian otak yang terletak tepat di belakang telencephalon dan berisi beberapa struktur, seperti kelenjar pituitari, thalamus, hipothalamus, tubuh pineal, dan saccus vasculosus. Sebagian besar struktur dalam diencephalon mengeluarkan hormon atau bertindak sebagai pusat relay yang mengirimkan pesan ke berbagai bagian otak. Misalnya tubuh pineal yang memungkinkan ikan dapat merasakan terang dan gelap. Di bawah diencephalon terdapat bagian infundibulum, yaitu suatu tonjolan yang menonjol ke bawah dari dasar otak dan di sisi bagian dorsalnya terdapat struktur pineal (Fikri et al., 2023).



Gambar 4. Histologi otak ikan medaka (Murata et al., 2020)

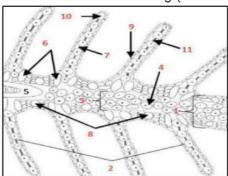
Mesencephalon atau disebut sebagai otak tengah, terletak di atas diencephalon dan memiliki peran utama sebagai pemecah kode sinyal visual. Mesencephalon terbagi menjadi tectum opticum dan tegmentum (Fikri et al., 2023). Tectum opticum pada ikan medaka memiliki 6 lapisan, yang merupakan ciri umum pada teleostei. Stratum periventriculare, lapisan terdalam, tersusun atas nukleus berwarna gelap yang saling terhubung dengan serabut dan sel glial. Lapisan kedua, startum album centrale, terdiri dari neuropil asidofilik dengan ruang tidak berwarna (spongiosis) dan sel glial. Lapisan ketiga, stratum griseum centrale, memiliki neuropil asidofilik yang disertai kapiler darah, sel glial mononuklear, dan beberapa neuron besar dengan nukleus vesikuler. Lapisan keempat, stratum fibrosum griseum superficial, kaya akan neuropil asidofilik, spongiosis yang tidak teratur, neuron besar dengan nukleus berwarna gelap, dan kapiler darah. Lapisan kelima, stratum opticum, tampak sebagai jaringan tidak berwarna yang terdiri dari banyak neuropil dan kapiler darah. Lapisan terluar, stratum marginale, terdiri dari neuropil asidofilik, area spongiosis yang luas, sel glial kecil, jaringan ikat, sel epitel, dan kapiler darah (Hamed et al., 2022). Tectum opticum merupakan organ koordinator yang bertanggung jawab

untuk menerima rangsangan penglihatan. Bayangan yang tampak pada retina mata akan dipetakan pada *tectum opticum* (Fikri et al., 2023).

Rhombencephalon terdiri dari metenchepalon dan myelencephalon. Metencephalon terdiri dari cerebellum dan pons. Cerebellum terbagi menjadi 3 bagian, yaitu valvula cerebelli, corpus cerebelli, dan vestibulolateral lobe (Willet dan Aluru, 2024). Cerebellum terdiri dari tiga lapisan, yaitu lapisan molekular, yang merupakan lapisan terluar yang tersusun atas dendrit dari sel purkinje dan sel glial, lapisan purkinje yang tersusun atas sel-sel purkinje, dan lapisan granular yang terdiri dari sel saraf kecil yang disebut sel granular dan juga mengandung akson dari sel purkinje (El-Bab, 2004). Cerebellum bertanggung jawab atas kontrol motorik, tonus otot, serta pembelajaran sensorimotor dan kognisi spasial, melalui neurotransmiter utama seperti glutamat, GABA, dan glisin. Myelencephalon didominasi oleh medulla oblongata, yang menerima informasi sensorik dari kolom saraf somatik dan visceral, serta mengontrol fungsi motorik visceral melalui saraf kranial seperti facial (VII), glossopharyngeal (IX), dan vagus (X). Medulla juga mengandung sel Mauthner, interneuron besar yang berperan dalam respons kejut (startle response) dan gerakan renang cepat. Neurotransmiter seperti serotonin, catecholamines, dan nitric oxide juga ditemukan dalam *medulla* (Willet dan Aluru, 2024).

1.7.1.6 Histologi Normal Insang Ikan

Insang ikan medaka tersusun atas beberapa *lamella* primer dan *lamella* sekunder yang membentuk struktur seperti lembaran tipis (Sari et al., 2017). Struktur ini ditopang oleh tulang lengkung insang (*arcus branchialis*) yang berfungsi sebagai kerangka. Pada bagian depan tulang lengkung insang terdapat tapis insang (*radii branchialis*), yang berupa deretan tulang rawan bergerigi untuk menyaring makanan dan benda asing agar tidak masuk ke dalam insang (Nurdin et al., 2022).



Gambar 5. Sketsa insang ikan. (1) lamella primer; (2) lamella sekunder; (3) venous sinus; (4) eritrosit yang terdapat di venous sinus; (5) kartilago penopang lamella primer; (6) sel klorida; (7) sel pilar; (8) sel mukus; (9) sel epitel; (10) eritrosit pada lumen kapiler; (11) lacuna (Pinontoan et al., 2018)

Tiap lengkungan insang terdapat filamen yang disebut *hemibranchialis*, bila sepasang disebut *holobranchialis*. *Hemibranchialis* mengandung pembuluh darah kapiler yang sangat banyak, sehingga berwarna merah, berbentuk seperti kipas bersisir dan terdiri dari jaringan yang lunak. Tiap pasang filamen yang terbentuk di

sepanjang *arcus branchialis* dipisahkan oleh septum. Perpanjangan dari septum ini membentuk lembaran katup pada celah posterior (Sari et al., 2017).



Gambar 6. Histologi insang ikan medaka Sulawesi (Sari et al., 2017)

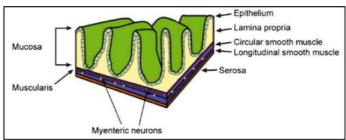
Filamen insang terdiri dari *lamella* primer dan *lamella* sekunder. *Lamella* primer tersusun atas jaringan kartilago, epitel, serta *arteriol aferen* dan *eferen* yang berfungsi untuk mengalirkan darah untuk pertukaran gas. Di sepanjang *lamella* primer terdapat *lamella* sekunder yang memiliki dua lapis sel epitel, lapisan terluar terdiri dari sel-sel epitel dengan mikrovili kecil dan tipis, sedangkan lapisan dalam terdiri dari sel-sel epitel yang terdapat di sepanjang permukaan membran. *Lamella* sekunder menjadi tempat utama pertukaran oksigen dari air ke darah, serta pembuangan karbon dioksida dan amonia, yang didukung oleh kapiler darah berdinding tipis yang disertai oleh sel-sel pilar yang mampu mengerut dan memisahkan saluran darah. Sel-sel pilar ini membentuk saluran darah melalui membran basal, yang bekerja sama dengan epitel untuk menjaga efisiensi pertukaran gas (Nurdin et al., 2022).

Selain itu, insang mengandung sel-sel lain seperti eritrosit, sel epitel, sel goblet, dan sel klorida. Sel klorida memiliki peran penting dalam osmoregulasi dengan mengeluarkan ion-ion seperti klorida, natrium, dan kalium, serta mendukung detoksifikasi zat berbahaya. Sel-sel ini banyak ditemukan di bagian basal *lamella* primer. *Lamella* primer memiliki lapisan epitel yang lebih tebal dibandingkan *lamella* sekunder dan mengandung banyak sel mukosa yang tersebar secara acak di seluruh epitel insang. Sel mukosa ini berfungsi melindungi insang dari partikel berbahaya dan menjaga kelembapan. Pada filamen, *lamella* sekunder lebih dominan dalam mendukung respirasi dibandingkan *lamella* primer, yang juga berperan dalam memberikan struktur pada filamen. Dengan permukaan yang luas dan kapiler darah yang melimpah, insang dirancang untuk mendukung kebutuhan respirasi yang tinggi pada ikan, terutama pada spesies yang aktif berenang (Nurdin, et al., 2022).

1.7.1.7 Histologi Normal Usus Ikan

Usus ikan teleostei terbagi menjadi 3 segmen, yaitu usus anterior, usus, tengah, dan usus posterior. Usus anterior dan tengah berfungsi dalam penyerapan lipid dan protein, sedangkan usus posterior berfungsi dalam penyerapan ion dan air.

Secara histologis, usus ikan tersusun atas 3 lapisan, yaitu lapisan serosa yang merupakan lapisan terluar, lapisan muskularis, dan lapisan mukosa (Flores et al., 2020).



Gambar 7. Sketsa usus ikan teleostei (Wallacea et al., 2005)

Lapisan mukosa memiliki bentuk menjulur ke arah lumen yang disebut dengan vili usus. Lapisan mukosa tersusun dari *lamina propria* yang dilapisi dengan sel epitel silindris selapis bersilia dan sel mukus yang berbentuk oval dan bulat. Di bawah *lamina propria* terdapat lapisan muskularis yang memiliki otot polos sirkular di dalam yang tampak lebih tebal. Lapisan mukosa pada usus anterior cenderung lebih tipis dengan vili yang lebih panjang. Jumlah sel goblet pada usus anterior juga relatif lebih sedikit dibandingkan dengan usus posterior (Rosadi, 2019).



Gambar 8. Histologi usus ikan medaka Sulawesi (Sari et al., 2017)

Perbedaan yang paling mencolok antara usus anterior, usus tengah, dan usus posterior terletak pada bentuk vili, mikrovili, dan sebaran sel goblet. Usus anterior memiliki vili lebih panjang dari usus tengah. Usus tengah cenderung memiliki karakteristik bentuk vili yang lebih pendek dengan lapisan submukosa yang lebih tebal. Sedangkan usus posterior memiliki ukuran vili usus yang lebih panjang dan rapat serta membentuk lipatan-lipatan (Rosadi, 2019). Ukuran vili mempengaruhi dalam proses penyerapan makanan. Vili yang panjang lebih cepat menyerap makanan dibandingkan vili yang pendek. Vili-vili usus berfungsi untuk meningkatkan luas permukaan usus untuk penyerapan nutrisi dan juga mengurangi kecepatan aliran makanan sehingga penyerapan makanan dapat terjadi secara ideal (Fizikri et al., 2018). Vili dan mikrovili pada usus posterior ditunjang dengan jumlah sebaran sel goblet yang lebih banyak (Rosadi, 2019).

1.7.2 Stirena

1.7.2.1 Pengertian

Stirena merupakan salah satu senyawa monomer plastik yang paling banyak ditemukan di perairan (Cassola et al., 2019). Polistirena merupakan salah satu plastik yang paling banyak digunakan di dunia, dengan angka produksi mencapai 7 juta ton pertahunnya. Polistirena merupakan sintetikaromatik hidrokarbon-polimer yang dibentuk dari monomer stirena. Polistirena tersedia baik dalam bentuk plastik solid pada umumnya dan juga plastik busa atau *foam* (Farid, 2022).

Gambar 9. Polimerasi stirena menjadi polistirena (Sarlinda et al., 2022)

Stirena adalah hidrokarbon aromatik berbentuk cairan kental transparan atau kekuningan dengan suhu autoignisi 490°C dan titik nyala 34°C. Zat ini mudah terbakar bila terkena panas, percikan api, atau nyala, dengan batas ledakan antara 0,9-1,1% (v/v) dan 6,1-6,8% (v/v). Polistirena hanya dapat didaur ulang dalam bentuk asli atau melalui pembakaran pada suhu hingga 1.000°C. Stirena dapat terpolimerisasi saat terkontaminasi bahan pengoksidasi atau halida, menghasilkan bau menyengat saat terdegradasi (Basha et al., 2023). Polistirena menjadi salah satu bahan baku plastik yang paling banyak digunakan karena memiliki sifat keras, rapuh dan memiliki fleksibilitas yang terbatas. Polimer ini adalah isolator listrik yang baik dan memiliki ketahanan kimia yang kuat terhadap asam dan basa encer. Polistirena banyak digunakan dalam pembuatan styrofoam. Styrofoam merupakan bahan dengan elastisitas terbatas, sehingga tahan terhadap pemuaian atau peleburan. Styrofoam memiliki sifat ringan, tahan terhadap kelembaban, mudah larut dalam pelarut hidrokarbon aromatik seperti benzena dan karbon tetraklorida, tahan terhadap asam, basa dan zat korosif lainnya, dan mampu menahan panas. Oleh karena itu, stryrofoam banyak digunakan untuk membuat wadah makanan seperti nampan, piring, cangkir, dan berbagai produk kemasan (Farid, 2022).

1.7.2.2 Efek Toksik pada Ikan

Polistirena (PS) adalah salah satu jenis plastik yang paling banyak digunakan karena ketahanannya terhadap korosi, kemudahan penanganan, dan biaya rendah, tetapi mengandung monomer stirena yang merupakan karsinogen alami. Penelitian terkini banyak menunjukkan bahwa polistirena memiliki dampak signifikan terhadap kesehatan ikan. Paparan polistirena dapat mengganggu berbagai fungsi biologis, mulai dari sistem imun hingga perilaku ikan. Limonta et al. (2019), menemukan bahwa PS dapat mengubah ekspresi gen yang terkait dengan sistem imun pada ikan zebra (*Danio rerio*), sehingga menyebabkan penurunan daya tahan

tubuh ikan terhadap infeksi. Selain itu, polistirena juga diketahui dapat merusak integritas epitel pada insang dan usus, yang merupakan garis pertahanan pertama tubuh melawan patogen. Kerusakan ini memungkinkan patogen lebih mudah masuk ke dalam tubuh ikan. Hal ini juga diperkuat oleh penelitian Liu et al. (2019), yang menunjukkan bahwa polistirena dapat mengubah komposisi mikrobiota usus ikan, sehingga meningkatkan risiko infeksi. Hal ini disebabkan oleh peningkatan sekresi mukosa dan adhesi patogen pada epitel usus. Hal serupa juga dikemukakan oleh Zwollo et al. (2021) yang menemukan bahwa paparan mikroplastik polistirena pada ikan trout pelangi dapat merusak sel B, yang merupakan komponen penting dari sistem imun adaptif. Hal ini menunjukkan bahwa paparan polistirena dapat mengganggu produksi antibodi dan melemahkan respons imun terhadap infeksi. Selain mengganggu sistem imun, polistirena juga dapat mempengaruhi perilaku ikan dan menyebabkan kerusakan organ. Melalui penelitian Chae et al. (2018), diketahui bahwa paparan nanoplastik polistirena dapat mengurangi aktivitas ikan dan menyebabkan kelainan histologis pada hati. Pada planaria, Gambino et al. (2020) menemukan bahwa paparan kronis terhadap mikroplastik polistirena mampu menyebabkan pengurangan ketebalan epitel usus dan kematian sel.

BAB II

METODOLOGI PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli hingga Desember 2024. Penelitian ini menggunakan hewan coba berupa ikan *Oryzias celebensis* dewasa dengan rata-rata panjang tubuh ± 4 cm.



Gambar 10. Lokasi pengambilan induk ikan *Oryzias celebensis*, Sungai Pita, kampung Ta'deang, desa Semangki, Kecamatan Bantimurung, Kabupaten Maros. Garis lintang: 5° 2'37.48"S, garis bujur: 119°42'10.22"T (Fachruddin et al., 2020)

Ikan *Oryzias celebensis* diambil dari sungai Pita di kampung Ta'deang, desa Semangki, Kecamatan Bantimurung, Kabupaten Maros. Sampel diaklimatisasi dan diberi perlakuan di Laboratorium Terintegrasi Kedokteran Hewan, Universitas Hasanuddin. Pengamatan histopatologi sampel dilakukan di Laboratorium Patologi, Rumah Sakit Hewan Pendidikan Universitas Hasanuddin. Penelitian ini telah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Universitas Hasanuddin, Rumah Sakit Perguruan Tinggi Negeri Universitas Hasanuddin untuk penggunaan hewan coba (*Oryzias celebensis*) dalam penelitian, dengan nomor surat No.674/UN4.6.4.5.31/PP36/2024.

2.2 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental untuk melihat pengaruh pemberian stirena terhadap gambaran histopatologi otak, insang, dan usus ikan *Oryzias celebensis*.

2.3 Materi Penelitian

2.3.1 Alat

Alat yang akan digunakan saat penelitian ini dilakukan yaitu: akuarium ukuran 50 x 20 x 30 cm, akuarium ukuran 15 x 10 x 10 cm, ATK (Alat Tulis Kantor)filter air, batang pengaduk, *blade*, botol plastik ukuran 2 liter, *cutter*, gelas ukur, kamera *opti lab*, kapas, konektor, gunting, gunting tajam-tajam, gunting tajam-tumpul, mikroskop *stereo* (*Olympus* BX41, Japan), nampan bedah, *micropipette*, pasir malang, pin, pipa, saringan ikan, *scalpel*, selang, sendok tanduk, *styrifoam*, tabung mikrosentrifus, toples, dan *water pump*.

2.3.2 Bahan

Bahan yang dibutuhkan dalam penelitian ini diantaranya: air, anastesi β-hidroxyethylphenyl, aquabidest, artemia, benang wol, ethanol, fengli, garam dapur, ikan Oryzias celebensis, kertas label, methylene blue, monomer stirena (Sigma-Aldrich, ≥98%, CAS No. 100-42-5), dan tisu.

2.4 Populasi dan Metode Sampling

Alokasi sampel penelitian menggunakan metode Simple Random Sampling, yaitu teknik pengambilan sampel anggota populasi yang dilakukan secara acak, tanpa memperhatikan strata yang terdapat dalam populasi tersebut (Fajar et al., 2021). Sampel diambil dari populasi ikan medaka dan besar sampel ditentukan berdasarkan rumus Federer, sebagai berikut:

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

Keterangan:

t = Jumlah kelompok

n = Jumlah subjek kelompok

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

 $(5-1) (n-1) \ge 15$
 $4 (n-1) \ge 15$
 $n-1 \ge 15/4$
 $n-1 \ge 3,75$
 $n \ge 3,75+1$
 $n \ge 4,75$

Dari rumus *Fereder* didapatkan nilai n= 4,75 yang dibulatkan menjadi 5. Untuk setiap kelompok dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali, sehingga jumlah sampel per kelompok adalah 15 ekor ikan dengan jumlah kelompok perlakuan 5 kelompok, sehingga jumlah sampel pada penelitian ini adalah 75 ekor ikan *Oryzias celebensis*. Kelompok perlakuan pada penelitian ini terdiri dari:

KLP A: Kelompok ikan yang diberikan paparan ethanol 0,5% selama 96 jam.

KLP B: Kelompok ikan yang diberikan paparan stirena 0,01 mg/L selama 96 jam.

KLP C: Kelompok ikan yang diberikan paparan ethanol 0.025 mg/L selama 96 jam.

KLP D: Kelompok ikan yang diberikan paparan ethanol 0,05 mg/L selama 96 jam.

KLP E: Kelompok ikan yang diberikan paparan ethanol 0,075 mg/L selama 96 jam.

2.5 Prosedur Penelitian

2.5.1 Pengambilan Ikan Oryzias celebensis

Ikan *Oryzias celebensis* dikumpulkan dari Sungai Pita di kampung Ta'deang, desa Semangki, Kecamatan Bantimurung, Kabupaten Maros. Ikan dikumpulkan sebanyak 75 ekor jantan dan betina. Ikan yang ditangkap dari perairan diseleksi yang panjangnya ± 4 cm. Ikan yang lulus seleksi dimasukkan ke dalam akuarium untuk diaklimatisasi di Laboratorium Terintegrasi Kedokteran Hewan UNHAS.

2.5.2 Aklimatisasi Ikan Oryzias celebensis

Ikan *Oryzias celebensis* diaklimatisasi selama 4 minggu. Ikan diaklimatisasi di laboratorium pada 28°C dengan siklus 14 jam terang dan 10 jam gelap dalam akuarium. Ikan diberi pakan komersial dengan merek dagang *Otohime* B1 dan

artemia. Pemberian pakan akan diberikan secukupnya, yaitu 5% dari bobot tubuhnya. Pakan *Otohime* B1 akan diberikan dengan frekuensi satu kali sehari pada pukul 12.00 WITA dan artemia akan diberikan dua kali sehari pada pukul 08.00 dan 18.00 WITA.

2.5.3 Pembuatan Larutan Uji

Larutan uji yang digunakan adalah stirena dengan konsentrasi yang berbeda-beda. Kelompok A (ethanol 0,5%), 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). Larutan ethanol 0,5% dibuat dengan mencampurkan 5 mL ethanol dengan 995 mL aquades. Kemudian, dibuat larutan stok (induk) dengan konsentrasi 1 mg/L stirena dengan mencampurkan 1 µL stirena dengan 5 mL ethanol dan 925 mL aquades. Penambahan ethanol 0,5% dalam larutan stok bertujuan untuk membantu melarutkan stirena ke air mengingat sifat stirena yang sedikit berminyak, sehingga sulit larut dalam air tanpa pelarut. Pembuatan larutan stirena 0,01 mg/L dilakukan dengan mencampurkan 10 mL larutan stok ke dalam 990 mL aquades. Begitu pun dengan konsentrasi lainnya.

2.5.4 Perlakuan

Ikan medaka yang sudah diaklimatisasi selama 4 minggu, dibagi ke dalam 5 kelompok akuarium yang berbeda. Setap akuarium berisi 5 ekor ikan medaka. Akuarium kelompok A diberi perlakuan *ethanol* 0,5%. Kelompok B diberi perlakuan larutan stirena 0,01 mg/L. Kelompok C diberi perlakuan larutan stirena 0,025 mg/L. Kelompok D diberi perlakuan larutan stirena 0,05 mg/L. Kelompok E diberi perlakuan larutan stirena 0,075 mg/L. Perlakuan dilakukan selama 96 jam (4 hari) dengan 3 kali pengulanagan dan air diganti setiap hari.

2.5.5 Pembuatan Preparat Histologi Otak, Insang, dan Usus Ikan *Oryzias* celebensis

Preparat histologi yang dibuat adalah otak, insang, dan usus ikan medaka Sulawesi. Ikan yang telah diberi perlakuan selama 4 hari dianastesi menggunakan β-hidroxyethylphenyl. Setelah teranastesi, ikan dinekropsi untuk mengangkat organ otak, insang, dan usus ikan. Pembuatan preparat histologi dilakukan dengan menggunakan metode parafin. Tahapannya meliputi fiksasi, dehidrasi, *clearing*, impregnasi dan *embedding*, *blocking* dan *trimming*, pemotongan, pewarnaan, dan perekatan jaringan. Fiksasi merupakan tahap awal yang krusial karena bertujuan untuk mencegah terjadinya autolisis dan dekomposisi *postmortem* suatu jaringan atau organ. Selain itu, fiksasi akan membuat jaringan lunak menjadi padat dikarenakan bahan fiksatif yang dapat mengkoagulasi protein dalam sel dan jaringan. Fiksasi juga bertujuan untuk mengawetkan morfologi dan komposisi jaringan sehingga jaringan tetap seperti keadaan semula sewaktu hidup, serta memudahkan pewarnaan jaringan yang akan dilakukan pada tahapan selanjutnya (Tahang, 2018).

Setelah fiksasi, dilakukan proses dehidrasi jaringan. Dehidrasi dilakukan untuk mengeluarkan seluruh cairan yang terdapat di dalam jaringan yang telah difiksasi sehingga nantinya dapat diisi dengan parafin atau zat lainnya yang dipakai untuk membuat blok preparat. Hal ini perlu dilakukan karena air tidak dapat

bercampur dengan cairan parafin atau zat lainnya yang dipakai untuk membuat blok preparat. Penarikan air keluar dari sel/jaringan dilakukan dengan cara merendam jaringan dalam alkohol yang berfungsi sebagai dehidrator (penarik air) yang secara progresif konsentrasinya meningkat. Setelah itu, jaringan dijernihkan dengan *xylol* (*clearing*), sebelum akhirnya ditanam dalam parafin (*embedding*) (Pratiwi dan Manan, 2015).

Pewarnaan jaringan dilakukan menggunakan Hematoksilin-Eosin (HE). Pada pulasan HE, hemaktosilin sebagai pewarna basa, akan memberikan warna ungu tua pada komponen sel yang bersifat basa, seperti nukleus. Sementara itu, eosin, sebagai pewarna asam, akan memberikan warna merah muda sampai merah pada komponen sel yang bersifat asam, seperti sitoplasma. Preparat yang telah diwarnai kemudian direkatkan pada *object glass (mounting)* menggunakan bahan perekat (*adhesive*). (Pratiwi dan Manan, 2015).

2.5.6 Pengamatan Mikroskopik dan Pembacaan Preparat 2.5.6.1 Otak

Pengamatan preparat histologi otak ikan medaka Sulawesi (*Oryzias celebensis*) dilakukan di bawah mikroskop dengan perbesaran 100x dan 400x. Berdasarkan penelitian Sari et al., 2018b yang telah dimodifikasi, penilaian terhadap gambaran histopatologi otak dilakukan dengan semikuantitatif skor berdasar pada kriteria sebagai berikut:

Tabel 2. Derajat kerusakan otak

Skor/ Kerusakan	Disjungsi Jaringan	Edema	Kongesti
0	Tidak ada kerusakan dalam satu lapang pandang	Tidak ada kerusakan pada satu lapang pandang	Tidak ada kerusakan pada satu lapang pandang
1	Disjungsi jaringan yang ringan, ≤25% dalam satu lapang pandang	Edema yang ringan, ≤25% dalam satu Iapang pandang	Kongesti yang ringan, ≤25% dalam satu lapang pandang
2	Disjungsi jaringan yang sedang, 26- 50% dalam satu lapang pandang	Edema yang sedang, 26-50% dalam satu lapang pandang	Kongesti yang sedang, 26-50% dalam satu lapang pandang
3	Disjungsi jaringan yang berat, 51-75% dalam satu lapang pandang	Edema yang berat, 51-75% dalam satu lapang pandang	Kongesti jaringan yang berat, 51-75% dalam satu lapang pandang
4	Disjungsi jaringan yang sangat berat, ≥76% dalam satu lapang pandang	Edema yang sangat berat, ≥76% dalam satu lapang pandang	Kongesti yang sangat berat, ≥76% dalam satu lapang pandang

2.5.6.2 Insang

Pengamatan preparat histologi insang ikan medaka Sulawesi (*Oryzias celebensis*) dilakukan di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 100x dan 400x. Pengambilan gambar menggunakan kamera *OptiLab* yang terpasang pada mikroskop untuk mendokumentasikan perubahan histopatologi pada jaringan insang. Tujuan utama dari pengamatan ini adalah untuk mengidentifikasi dan mengukur tingkat kerusakan jaringan insang ikan medaka Sulawesi (*Oryzias celebensis*) akibat paparan stirena pada berbagai konsentrasi. Penilaian histopatologi dilakukan secara semi-kuantitatif berdasarkan modifikasi dari metode Sari et al. (2018b), dengan memberikan skor pada berbagai parameter sebagai berikut:

Tabel 3. Derajat kerusakan insang

Skor/ Kerusakan	Aneurisma	Epithelia Lifting	Infiltrasi Sel Radang
0	Tidak ada kerusakan	Tidak ada kerusakan	Tidak ada kerusakan
	dalam satu lapang	pada satu lapang	pada satu lapang
	pandang	pandang	pandang
1	Aneurisma yang ringan, ≤25% dalam satu lapang pandang	Epithelia lifting yang ringan, ≤25% dalam satu lapang pandang	Infiltrasi sel radang yang ringan, ≤25% dalam satu lapang pandang
2	Aneurisma yang	Epithelia lifting yang	Infiltrasi sel radang
	sedang, 26-50%	sedang, 26-50%	yang sedang, 26-50%
	dalam satu lapang	dalam satu lapang	dalam satu lapang
	pandang	pandang	pandang
3	Aneurisma yang berat, 51-75% dalam satu lapang pandang	Epithelia lifting yang berat, 51-75% dalam satu lapang pandang	Infiltrasi sel radang jaringan yang berat, 51-75% dalam satu lapang pandang
4	Aneurisma yang	Epithelia lifting yang	Infiltrasi sel radang
	sangat berat, ≥76%	sangat berat, ≥76%	yang sangat berat,
	dalam satu lapang	dalam satu lapang	≥76% dalam satu
	pandang	pandang	lapang pandang

2.5.6.3 Usus

Pengamatan preparat histologi usus ikan medaka Sulawesi (*Oryzias celebensis*) dilakukan di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 100x dan 400x. Pengambilan gambar menggunakan kamera *OptiLab* yang terpasang pada mikroskop untuk mendokumentasikan perubahan histopatologi pada jaringan usus. Tujuan utama dari pengamatan ini adalah untuk mengidentifikasi dan mengukur tingkat kerusakan jaringan usus ikan medaka Sulawesi (*Oryzias celebensis*) akibat paparan stirena pada berbagai konsentrasi. Penilaian histopatologi dilakukan secara

semi-kuantitatif berdasarkan modifikasi dari metode Sari et al. (2018b), dengan memberikan skor pada berbagai parameter sebagai berikut:

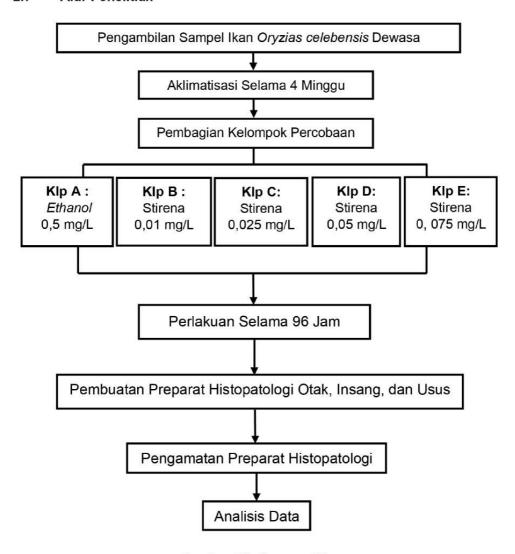
Tabel 4. Derajat kerusakan usus

Skor/	Akumulasi Sel	Destruksi Vili	Infiltrasi Sel
Kerusakan	Goblet	Usus	Radang
0	Tidak ada kerusakan	Tidak ada kerusakan	Tidak ada kerusakan
	dalam satu lapang	pada satu lapang	pada satu lapang
	pandang	pandang	pandang
1	Akumulasi sel goblet	Destruksi vili usus	Infiltrasi sel radang
	yang ringan, ≤25%	yang ringan, ≤25%	yang ringan, ≤25%
	dalam satu lapang	dalam satu lapang	dalam satu lapang
	pandang	pandang	pandang
2	Akumulasi sel goblet	Destruksi vili usus	Infiltrasi sel radang
	yang sedang, 26-	yang sedang, 26-	yang sedang, 26-50%
	50% dalam satu	50% dalam satu	dalam satu lapang
	lapang pandang	lapang pandang	pandang
3	Akumulasi sel goblet	Destruksi vili usus	Infiltrasi sel radang
	yang berat, 51-75%	yang berat, 51-75%	jaringan yang berat,
	dalam satu lapang	dalam satu lapang	51-75% dalam satu
	pandang	pandang	lapang pandang
4	Akumulasi sel goblet	Destruksi vili usus	Infiltrasi sel radang
	yang sangat berat,	yang sangat berat,	yang sangat berat,
	≥76% dalam satu	≥76% dalam satu	≥76% dalam satu
	lapang pandang	lapang pandang	lapang pandang

2.6 Analisis Data

Analisis data yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan metode deskriptif kualitatif. Metode ini merupakan suatu metode yang melukiskan, mendeskripsikan, serta memaparkan apa adanya kejadian objek yang diteliti berdasarkan situasi dan kondisi ketika penelitian itu dilakukan (Septiani et al., 2022). Skor yang diperoleh berdasarkan derajat kerusakan histopatologi organ untuk setiap parameternya akan disajikan dalam bentuk deskripsi secara rinci mengenai temuantemuan yang diperoleh.

2.7 Alur Penelitian



Gambar 11. Alur penelitian