

**STUDI AWAL PERKEMBANGAN LARVA *Oryzias javanicus*
DI INDONESIA**

***PRELIMINARY STUDY OF LARVAL DEVELOPMENT Oryzias javanicus
IN INDONESIA***

Rachma Puspitasari* dan Suratno

Pusat Penelitian Oseanografi – LIPI

*E-mail: poespitsari@gmail.com

ABSTRACT

Java medaka Oryzias javanicus potentially developed as test organism, represents the coastal region because it has a high adaptability in freshwater, brackishwater and marine environments. Utilization of it as a test organism has some obstacles such as lack of number of test organisms with same size or age. The fulfillment of number can be solved if the test organism is cultivated exclusively in the laboratory. This study was a preliminary study to get information about suitable salinity for spawning and hatching. Parameter observed were spawning ability in 0 and 20 ppt and hatching rate of egg among 0, 15, and 30 ppt and development of larval fish in 0 ppt. Result indicated that the fish was be able to spawn in 0 and 20 ppt. Eggs were hatched within 9 days in 30 ppt, faster than in freshwater and 15 ppt. In general, O. javanicus was be able to spawn either in freshwater or seawater, but there are differences in the behavior of fish in the laying of egg. Fish will carried their eggs in the abdomen in freshwater, while 20 ppt salinity fish tends to release the eggs. O. javanicus be able to live and lay eggs on freshwater and seawater. Selection of salinity is adjusted to test requirement in egg phase, pascalarva or adult. In general, breeding of fish easier and faster done in fresh water while hatching eggs take place more quickly in high salinity.

Keywords: Indonesia, Java Medaka, Oryzias javanicus, test organism

ABSTRAK

Java medaka *Oryzias javanicus* berpotensi dikembangkan sebagai biota uji yang mewakili wilayah pesisir karena memiliki kemampuan adaptasi yang tinggi di lingkungan tawar, payau dan laut. Pemanfaatan ikan ini sebagai biota uji menghadapi beberapa kendala seperti kurangnya jumlah biota uji dengan ukuran atau umur yang seragam. Pemenuhan jumlah biota ini hanya dapat dicapai apabila biota uji tersebut sudah dibudidayakan secara khusus di laboratorium. Penelitian ini merupakan tahap awal yang bertujuan mencari informasi mengenai salinitas yang cocok untuk pemijahan dan penetasan telur *O. javanicus*. Parameter yang diamati adalah salinitas yang cocok untuk bertelur di 0 dan 20 ppt, lamanya perkembangan larva pada salinitas 0, 15, dan 30 ppt dan fase perkembangan larva ikan pada salinitas 0 ppt. Hasil menunjukkan bahwa ikan mampu bertelur di 0 dan 20 ppt. Lama penetasan telur terjadi dalam 9 hari pada salinitas 30 ppt, lebih cepat daripada di air tawar dan 15 ppt Secara umum, *O. javanicus* bertelur baik di air tawar atau air laut, tetapi ada perbedaan dalam perilaku ikan dalam peletakan telur. Induk ikan akan tetap membawa telurnya di bagian abdomen pada habitat air tawar, sedangkan induk yang menetas di salinitas 20 ppt cenderung melepaskan telurnya. *O. javanicus* terbukti mampu hidup dan bertelur pada air tawar dan air laut. Pemilihan salinitas pemeliharaan ikan disesuaikan dengan kebutuhan pengujian pada fase telur, pascalarva atau dewasa. Secara umum, pemijahan induk lebih mudah dan lebih cepat dilakukan di air tawar sedangkan penetasan telur berlangsung lebih cepat di lingkungan bersalinitas tinggi.

Kata kunci: Indonesia, Java Medaka, *Oryzias javanicus*, organisme uji

I. PENDAHULUAN

Beberapa hewan akuatik di Indonesia telah dikenal penggunaannya sebagai biota uji dalam penelitian ekotoksikologi akuatik diantaranya larva kerang hijau, *Perna viridis* (Puspitasari, 2011); fitoplankton akuatik seperti *Chaetoceros gracilis* (Puspitasari and Hindarti, 2009; Puspitasari, 2011; Puspitasari and Lestari, 2014, Suratno *et al.*, 2015), *Tetraselmis* sp, *Isochrysis* sp (Puspitasari and Purbonegoro, 2011, Suratno *et al.*, 2015), ikan seperti *Chromis viridis* (Arifin and Hindarti, 2006) serta amphipod (Hindarti *et al.*, 2010). Sejak tahun 2000an, pemanfaatan ikan dari genus *Oryzias* mulai banyak dikenal. *Oryzias javanicus* atau populer dengan Java Medaka, merupakan spesies bioindikator dari ikan bertulang sejati. Ikan ini tersebar di sebagian besar wilayah Asia. Ikan ini dapat hidup di air tawar, payau maupun air laut (Ismail and Yusof, 2011). Genus *Oryzias* terdiri lebih dari 14 spesies, diantaranya adalah *O. latipes*, salah satu spesies yang telah dikenal sebagai biota uji (Khodadoust *et al.*, 2013). Spesies yang lainnya yaitu Java medaka (*O. javanicus*) tersebar di Malaysia, Singapore, Indonesia, Thailand dan Bagian Barat Kalimantan (Ismail and Yusof, 2011). *Oryzias dancena* (atau dikenal *O. melastigma*) terdistribusi di Pakistan, India, Burma dan Thailand. *Oryzias latipes* terdistribusi di Japan, Korea dan China. *O. marmoratus* ditemukan endemik di danau air tawar di dataran tinggi Pulau Sulawesi, Indonesia (Inoue and Takei, 2002).

Spesies ini memiliki kemampuan adaptasi yang tinggi di lingkungan tawar dan laut (Inoue and Takei, 2002) sehingga pemanfaatan sebagai biota uji dapat mewakili wilayah pesisir. Java medaka berpotensi dikembangkan sebagai biota uji (Imai *et al.*, 2005) karena memiliki sebaran geografi dan ketersediaan yang luas, umur dan siklus hidup yang pendek, laju pertumbuhan yang cepat, mudah diidentifikasi dan mudah dikultur. Telurnya besar, transparan sehingga memudahkan pengamatan dalam penelitian

fase-fase perkembangan. Fertilisasi berlangsung eksternal, segera setelah memijah. Pemijahan berlangsung cepat, kurang dari 1 menit (Ismail and Yusof, 2011). Waktu yang dibutuhkan untuk matang sejak memijah kira-kira mencapai 100 hari (Imai *et al.*, 2005). Java medaka memiliki toleransi yang tinggi terhadap perubahan salinitas (Inoue and Takei, 2002), memiliki oosit dan spermatosit yang siap diobservasi 2-3 minggu setelah memijah serta memiliki karakteristik seksual sekunder yang siap diobservasi 60 hari setelah memijah (Imai *et al.*, 2005). Khodadoust *et al.* (2013) meneliti tentang sensitivitas antara juvenil dan Java Medaka dewasa terhadap kadmium adalah sebesar 6,02 mg/l and 6,63 mg/l. Khodadoust and Ismail (2014) menemukan bahwa ada korelasi positif antara kadar metalotionin terhadap akumulasi kadmium pada organ ikan. Akumulasi logam tembaga tertinggi ditemukan di insang, sedangkan akumulasi kadmium tertinggi ditemukan di organ pencernaan (Khodadoust *et al.*, 2012).

Pengembangan *O. javanicus* sebagai biota uji di Indonesia masih membutuhkan penelitian lapangan maupun skala laboratorium. Penelitian lapangan diperlukan untuk memperoleh informasi mengenai distribusi, kelimpahan dan habitat, sedangkan penelitian laboratorium diperlukan untuk informasi sensitivitas terhadap kontaminan, reproduksi mulai dari pemijahan sampai fase-fase perkembangan. Berdasarkan *American Standard Testing Material* (1994), ada beberapa persyaratan sebagai biota uji yang harus dipenuhi, antara lain 1) Memiliki database toksikologi yang dapat menunjukkan sensitivitas relatifnya terhadap berbagai kontaminan penting dalam sedimen; 2) Memiliki database untuk prosedur uji interlaboratorium; 3) Memiliki kontak langsung dengan sedimen; 4) Mudah diperoleh, baik dari budidaya maupun dari alam; 5) Mudah dipelihara di laboratorium; 6) Mudah diidentifikasi; 7) Memiliki nilai ekonomi atau ekologi yang penting; 8) Memiliki kisaran distribusi geografi yang luas, diutamakan merupakan spesies asli dari

habitat tersebut atau memiliki kesamaan *niche* dengan habitat yang diteliti; 9) Memiliki kisaran toleransi yang luas terhadap sifat fisika-kimiawi sedimen misalnya terhadap ukuran partikel sedimen (*grain size*); 10) Kompatibel dengan metode uji dan titik akhir pengamatan (*endpoint*) yang sudah ada; 11) Sudah pernah digunakan pada artikel jurnal; 12) Responsnya telah teruji pada populasi alami. Beberapa kendala yang dapat dihadapi dalam penyediaan biota uji di laboratorium adalah kurangnya jumlah biota uji dalam jumlah yang dibutuhkan dengan ukuran atau umur yang seragam. Pemenuhan jumlah biota ini hanya dapat dipenuhi apabila biota uji tersebut sudah dibudidayakan secara khusus di laboratorium. Oleh karena itu, informasi biologi seperti salinitas yang cocok untuk pemijahan ikan *O. javanicus* sangat diperlukan.

Penelitian mengenai perkembangan larva ikan *Oryzias latipes* pernah dilakukan oleh Iwamatsu pada tahun 2004 dan 2011, sedangkan pada ikan *O. javanicus* terakhir pernah dilakukan pada tahun 1984 oleh Iwamatsu dan Hirata. Di Indonesia, penelitian mengenai *O. javanicus* masih sangat terbatas dan baru berfokus pada distribusinya saja. Menurut Suratno *et al.* (2014), melaporkan bahwa spesies ini ditemukan di wilayah Gending dan Bayeman (Probolinggo, Jawa Timur) dan S. Gosong, (Tangerang, Banten). Puspitasari *et al.* (2016) menambahkan distribusi ikan ini di daerah muara Banjir Kanal

Barat (Semarang, Jawa Tengah) dan Sungai Kaligangsa (Tegal, Jawa Tengah). Ikan ini ditemukan pada lingkungan air yang aman yaitu berada dibawah baku mutu yang ditetapkan oleh Kementrian Negara Lingkungan Hidup. Namun ada kecenderungan ditemui pada lokasi yang sedimennya berpotensi tingkat sedang untuk dapat menimbulkan efek biologis yang merugikan jika dilihat berdasarkan indeks *Sediment Quality Guidelines* nya berkisar antara 0,1 sampai 1 (Puspitasari *et al.*, 2016).

Penelitian ini merupakan penelitian awal yang bertujuan mencari informasi mengenai salinitas yang cocok untuk pemijahan induk dan penetasan telur *O. javanicus*, serta lama waktu menetas dari telur menjadi larva ikan. Keberhasilan pemeliharaan ikan ini di laboratorium akan mengkonfirmasi salah satu persyaratan biota uji yaitu mudah dipelihara di laboratorium.

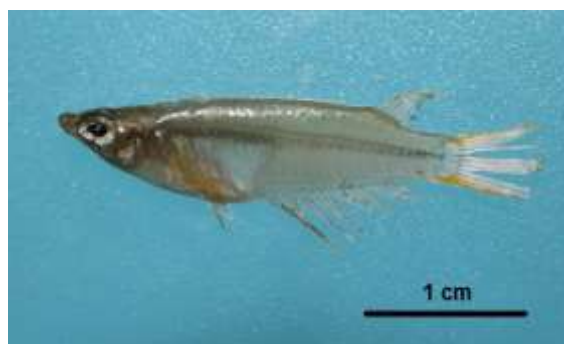
II. BAHAN DAN METODE

2.1. Koleksi dan Pemeliharaan Ikan

Ikan dewasa ditangkap dari daerah Tangerang pada kisaran salinitas 20-22 ppt. Ikan dipelihara dalam akuarium kaca dengan sistem resirkulasi dalam salinitas 0 (tawar) dan 20 ppt (salinitas di habitat asli) dan suhu 25-26°C. Pakan diberikan dua kali sehari, berupa pelet TetraBits untuk ikan dewasa berukuran 3-4 cm (Gambar 1), dan naupli artemia untuk benih ikan.



(a)



(b)

Gambar 1. *Oryzias javanicus* dewasa dewasa (a) betina (b) jantan.

2.2. Pengamatan Telur dan Perkembangan Larva

Ikan dewasa dipelihara di akuarium bersuhu 25-26°C dan diamati setiap hari untuk mengamati saat bertelur. Pengamatan kemampuan bertelur ikan dilakukan pada dua perlakuan salinitas, yaitu salinitas 0 ppt dan salinitas 20 ppt (ikan paling banyak ditemukan). Induk betina yang membawa telur hasil pemeliharaan di laboratorium, diambil dengan jaring (Gambar 2a), ditempatkan dalam Beaker dan diaerasi. Telur dipisahkan dari induk dengan menggunakan pinset dengan hati-hati dan diletakkan di petri disk bersih (Gambar 2b).



(a)



(b)



(c)

Gambar 2. (A) Induk ikan *O. javanicus* betina yang membawa telur, (B) Telur yang sudah dipisahkan, (C) Telur yang diamati dengan mikroskop dengan perbesaran 400x.

Pemisahan telur dari induk dan diletakkan pada petrisik dimaksudkan untuk mempermudah pengamatan di mikroskop.

Satu induk ikan bisa menghasilkan 13-20 telur yang saling melekat.

Telur yang dihasilkan kemudian di-transfer ke dalam Beaker Glass. Perlakuan yang dilakukan untuk penetasan telur ada tiga salinitas yaitu salinitas 0, air laut steril bersalinitas 15 dan 30 ppt dan masing-masing diaerasi. Tujuan perlakuan adalah melihat pada salinitas mana telur akan menetas lebih cepat. Sekitar sepuluh sampai lima belas telur dipindahkan dengan hati-hati ke dalam petri disk berisi akuades dan diamati setiap hari dengan bantuan mikroskop cahaya (Gambar 2c). Analisis perkembangan telur dilakukan secara deskriptif dan literatur dari Iwamatsu (2004; 2011).

III. HASIL DAN BAHASAN

3.1. Kemampuan Bertelur Ikan

O. javanicus yang dipelihara di 0 dan 20 ppt sama-sama dapat menghasilkan telur. Sekitar >50% dari jumlah ikan yang dipelihara di tiap akuarium mampu bertelur. Namun, ada perbedaan perilaku ikan dalam meletakkan telur yaitu di kondisi air tawar, ikan betina akan membawa telur menempel di bagian abdomennya, sedangkan di kondisi air laut, ikan cenderung melepas telur-telurnya sehingga tidak menempel di abdomen. Oleh karena itu, pada akuarium air laut ditambahkan jaring ikan berwarna kuning (Gambar 3) sebagai tempat peletakan telur.



Gambar 3. Penggunaan jaring berwarna kuning dalam akuarium air laut untuk tempat meletakkan telur.

Ada kesulitan dalam memisahkan telur pada kondisi air laut karena telur tersebut cenderung melekat pada jaring-jaring tersebut dan menyebabkan sebagian telur menjadi rusak sehingga telur yang digunakan untuk pengamatan penetasan selanjutnya adalah telur yang berasal dari perlakuan air tawar. Namun, secara umum dari hasil pengamatan dapat dikatakan bahwa pada salinitas 0 dan 20 ppt ikan *O. javanicus* dapat bertelur. Hal ini selaras dengan hasil dari Inoue and Takei (2002) yang menyatakan bahwa *O. javanicus* dapat bertelur di air tawar, campuran 50% air laut, dan air laut (35 ppt). Adanya hasil penelitian ini maka budidaya di laboratorium menjadi mudah dan cepat karena sudah diperoleh informasi bahwa dalam salinitas tawar maupun laut ternyata induk *O. javanicus* dapat memijah.

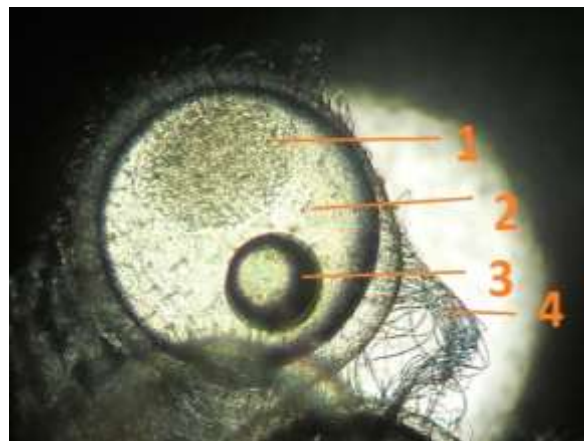
3.2. Perkembangan Larva Ikan

Telur yang diamati perkembangannya secara mikroskopik bersumber dari peminjaman di air tawar karena relatif lebih mudah dalam penanganan dan pemindahan ke petri disk untuk pengamatan detil. Telur terfertilisasi berbentuk bulat, transparan, berukuran sekitar 1,1 mm (Gambar 2c). Telur menempel erat pada tubuh induk dan perlu dipisahkan dengan hati-hati dengan pinset. Telur bergerombol satu sama lain (13-20 telur), membentuk kumpulan seperti anggur yang dihubungkan *attaching filament* satu sama lain (Gambar 2c). Permukaan telur, dijumpai vili-vili halus (*nonattaching filament*).

Telur normal dijumpai *yolk* berukuran besar serta *oil droplet* yang tersebar tidak merata di sitoplasma sel (Gambar 4). *Oil droplet* ini berisi substansi koloidal (Iwamatsu, 2004). Pada akhir stage 2 (*blastodisc stage*), *oil droplet* akan terkumpul pada salah satu kutub telur (*vegetal pole*) dan blastomer berpindah ke sisi yang berlawanan yaitu *animal pole*.

Gerakan ini disebut dengan *Oscillatory contraction* (Iwamatsu, 2004). Fase satu sel, dua sel, empat sel rata-rata

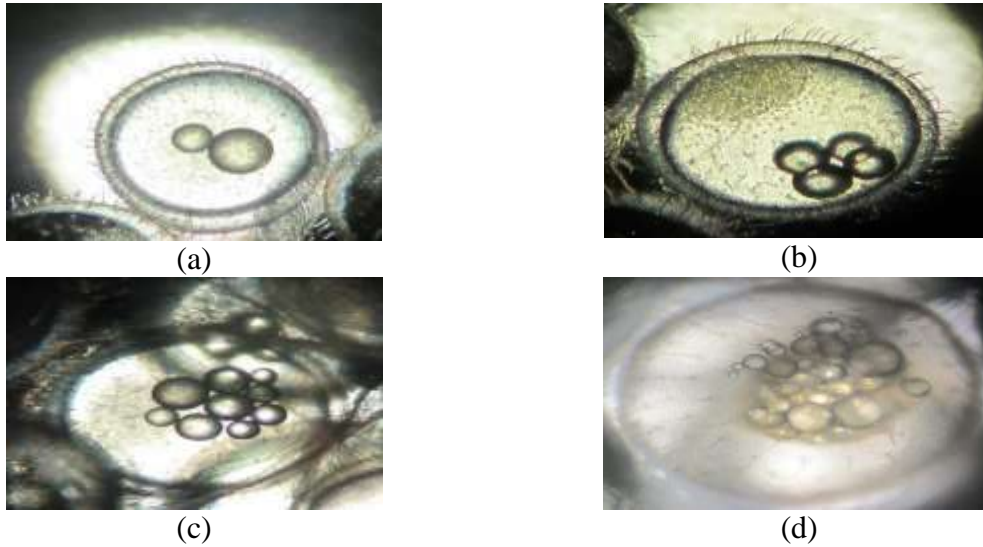
berkisar antara 15-20 menit pada tiap fasenya. Pengamatan perkembangan telur terfertilisasi mulai dari pembelahan sel sampai fase anggur (morula) berlangsung antara 2-3 jam (Gambar 5).



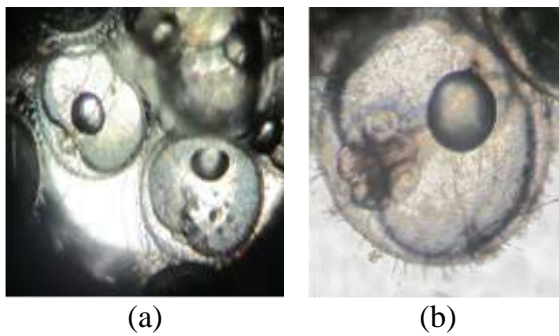
Gambar 4. Telur ikan *O. javanicus* yang sudah terfertilisasi. 1. *Vegetal pole*; 2. Sitoplasma berisi *oil droplet* yang tersebar secara acak; 3. Blastomer; 4. *Attaching filament*.

Blastomer kemudian mengalami pembelahan menjadi 2, 4, 8 dan 32 sel sekitar 15-20 menit pada tiap fasenya, kemudian memasuki fase morula (mencapai 64-128 blastomer). Di akhir pengamatan sekitar 24 jam, telur memasuki fase gastrula akhir ditandai dengan terbentuknya *embryonic body* yang jelas teramati (Gambar 6a). Pada hari ketiga, lensa mata sudah terbentuk walaupun bintik mata belum terlihat jelas (Gambar 6b).

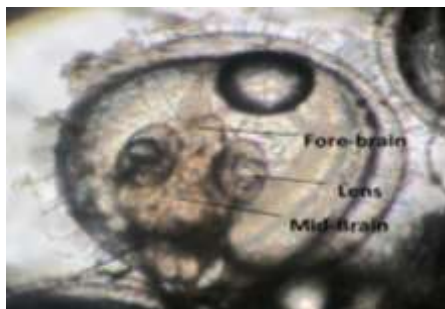
Lensa mata dapat diamati dengan jelas. Secara teori, pada fase ini terbentuk *fore brain* dan *mid brain* pada larva (Iwamatsu, 2004). Aliran sirkulasi darah mulai terlihat di bawah mikroskop berupa aliran tak terputus yang dapat diamati (Gambar 7 dan 8). Tahap organogenesis seperti pembentukan jantung, *air bladder* tidak dapat diamati secara jelas, namun secara teori proses ini terus berlanjut sampai penetasan (Gambar 7 dan 8).



Gambar 5. Perkembangan telur ikan mulai dari pembelahan 2 sel (a), fase 4 sel (b), fase 8 sel (c) dan fase morula (d).



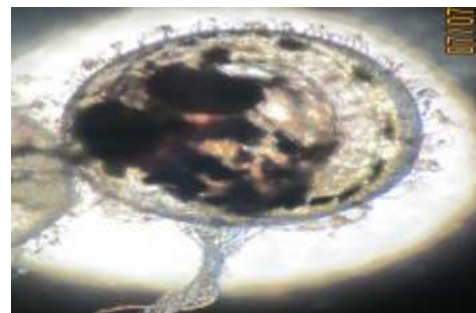
Gambar 6. Perkembangan *embryonic body* pada fase gastrula akhir (a) dan lensa mata (b).



Gambar 7. Organogenesis pada larva ikan.

Fase ke 40 (Iwamatsu, 2004), seluruh organ sudah terbentuk sempurna, bintik hitam dijumpai secara merata di tubuh larva. Telur sudah menetas menjadi larva ikan dan

larva sudah bergerak aktif (Gambar 10). Secara umum, organogenesis yang terjadi dalam 11 hari dapat menggambarkan perkembangan larva *O. javanicus* secara sederhana.



Gambar 8. Telur ikan yang siap menetas.



Gambar 10. Larva ikan yang telah menetas setelah 11 hari pada kondisi air tawar.

Waktu yang dibutuhkan telur sampai penetasan adalah sekitar 11 hari pada kondisi air tawar 0 ppt dan salinitas 15 ppt, sedangkan pada salinitas 30 ppt membutuhkan waktu sekitar 9 hari. Laju penetasan telur *O. javanicus* berlangsung lebih cepat pada salinitas tinggi. Hal ini selaras dengan penelitian Inoue and Takei (2002). Inoue and Takei (2002) telah membandingkan kemampuan bertelur dan menetas dari 4 genus *Oryzias* yaitu *O. javanicus*, *O. dancena*, *O. latipes* dan *O. marmoratus* pada air tawar (FW), 50% air laut (50% SW) dan air laut (SW). Laju penetasan telur tertinggi dalam air tawar, yang berasal dari pemijahan induk di salinitas laut, dimiliki oleh *O. javanicus* diikuti *O. latipes*, *O. dancena* dan *O. marmoratus*. Laju penetasan telur tertinggi dalam air laut, yang berasal dari pemijahan induk di air tawar, berturut-turut dimiliki oleh *O. javanicus*, diikuti *O. latipes* kemudian *O. dancena*. Inoue and Takei (2002) melaporkan bahwa telur ikan *O. javanicus* yang dipijahkan pada air tawar kemudian menetas di air tawar mencapai 70-75% sedangkan yang menetas di air laut mencapai 80-90%. Adapun telur ikan yang dipijahkan di air laut kemudian menetas di air laut mencapai 80-90% sedangkan yang menetas di air tawar mencapai 100%. Dengan demikian, hasil paling optimal yang diperoleh adalah kondisi pemijahan induk di air laut dan penetasan telur di air tawar. Namun demikian, telur dari induk yang memijah pada kondisi air tawar (<20 hari) lebih cepat menetas daripada ikan yang memijah pada kondisi laut (20-25 hari), mengacu pada hasil tersebut, kondisi yang dianjurkan untuk pemijahan adalah kondisi air tawar, kemudian ditetaskan di salinitas laut agar waktu menetas lebih singkat.

Walaupun data penelitian awal belumlah selengkap penelitian Inoue and Takei (2002) tersebut, namun diperoleh suatu kemiripan pola pada penelitian ini bahwasanya pemijahan induk lebih mudah dan lebih cepat dilakukan di air tawar sedangkan penetasan telur berlangsung lebih cepat di

lingkungan bersalinitas tinggi. Namun demikian, informasi mengenai persentase penetasan telur belum dapat ditampilkan karena merupakan faktor yang belum teramati.

Hasil penelitian ini sangat berguna bagi budidaya ikan medaka dalam kaitannya sebagai penyiapan biota uji. Jika yang ingin digunakan sebagai biota uji adalah juvenil atau bentuk dewasanya maka ikan medaka hasil tangkapan di alam, yang diperoleh dari tempat yang bervariasi salinitasnya, dapat dipelihara di air tawar maupun laut karena ikan ini mampu beradaptasi dalam rentang salinitas yang luas.

IV. KESIMPULAN

O. javanicus terbukti mampu hidup dan bertelur pada air tawar dan air laut. Pemilihan salinitas pemeliharaan ikan disesuaikan dengan kebutuhan pengujian pada fase telur, pascalarva atau dewasa. Secara umum pemijahan induk lebih mudah dan lebih cepat dilakukan di air tawar sedangkan penetasan telur berlangsung lebih cepat di lingkungan bersalinitas tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Arifin, Z. and D. Hindarti. 2006. Effects of cyanide on ornamental coral reef fish, *Chromis viridis*. *Marine Research in Indonesia*, 30:15-20
- American Standard Testing Material. 1994. Standard guide for designing biological tests with sediments. ASTM E 1525-94. American society for testing and materials. West Conshohocken, PA, USA. 942-959pp.
- Khodadoust, D., A. Ismail, S. Zahmir, and Zulkifli. 2012. Application of Java Medaka (*Oryzias javanicus*) fish and surface sediments to assess Cd and Cu contamination in Linggi Estuary, Malaysia. *Acta Biologica Malaysiana*, 1(2):46-54.

- Khodadoust, D., A. Ismail, S. Z. Zulkifli, and F. H Tafeyeh. 2013. Short time effect of cadmium on juveniles and adults of Java Medaka (*Oryzias javanicus*) fish as a bioindicator Ecotoxicological Studies. *Life Sci. J.*, 10(1):1857-1861.
- Khodadoust, D. and A. Ismail. 2014. Metallothionein-like protein levels in Java Medaka fish (*Oryzias javanicus*) exposed to different concentrations of cadmium. *Walailak J. Sci. and Tech.*, 11(10):883-893.
- Hindarti, D., R. Puspitasari, and Z. Arifin. 2010. Preliminary study the response of amphipod, *Grandidierella* sp. to contaminated sediment of Jakarta Bay. *Marine Research in Indonesia*, 35(2):33-40.
- Imai, S., J. Koyama, and K. Fujii. 2005. Effects of 17 β -estradiol on the reproduction of Java Medaka (*Oryzias javanicus*), a new test species. *Marine Pollution Bulletin*, 51:708-714.
- Inoue, K. and Y. Takei. 2002. Diverse adaptability in *Oryzias* species to high environmental salinity. *Zoological Science*, 19:727-734.
- Ismail, A. and S. Yusof. 2011. Effect of mercury and cadmium on early life stages of Java Medaka (*Oryzias javanicus*): a potential tropical test fish. *Marine Pollution Bulletin*, 63: 347-349.
- Iwamatsu, T. and K. Hirata. 1984. Normal course of development of the Java medaka, *Oryzias javanicus*. *Bull. Aichi Univ. Edu. Nat. Sci.*, 33:87-109.
- Iwamatsu, T. 2004. Stages of normal development in the Medaka, *Oryzias latipes*. *Mechanism of development*, 121:605-618.
- Iwamatsu, T. 2011. Developmental stages in the wild medaka, *Oryzias latipes*. *Bulletin of Aichi Univ. of Education*. 60:71-81.
- Puspitasari, R. dan D. Hindarti. 2009. Korelasi antara logam berat dalam sedimen dan toksisitasnya terhadap diatom, *Chaetoceros gracilis*. *Oseanologi dan Limnologi di Indonesia*, 35(2):131-149.
- Puspitasari, R. 2011. Aspek toksisitas sedimen pesisir Cirebon terhadap abnormalitas larva Kerang hijau. *Perna viridis*. *Oseanologi dan Limnologi di Indonesia*, 37(2):235-245.
- Puspitasari, R. dan T. Purbonegoro. 2011. Efek tembaga terhadap pertumbuhan mikroalga laut, *Isochrysis* sp. *Majalah Ilmiah Lingkungan Tropis*, 5(2):121-129
- Puspitasari, R. and Lestari. 2014. *Chaetoceros gracilis* sebagai bioindikator kualitas sedimen. *J. Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*, 6(1):187-196.
- Puspitasari, R., Suratno, Lestari, T. Purbonegoro, dan R. Rositasari. 2016. Pengembangan Bioindikator untuk mendeteksi pencemaran di ekosistem pesisir. Laporan. Pusat Penelitian Oseanografi-LIPI. 38hlm.
- Suratno, R. Puspitasari, T. Purbonegoro, dan Lestari. 2014. Pengembangan Bioindikator untuk mendeteksi pencemaran di ekosistem pesisir. Pusat Penelitian Oseanografi-LIPI. 68hlm.
- Suratno, R. Puspitasari, T. Purbonegoro, and D. Mansur. 2015. Copper and cadmium toxicity to marine phytoplankton, *Chaetoceros gracilis* and *Isochrysis* sp. *Indonesian J. of Chemistry*, 15(2):172-178.

Diterima : 5 September 2016

Direview : 3 November 2016

Disetujui : 20 Mei 2017