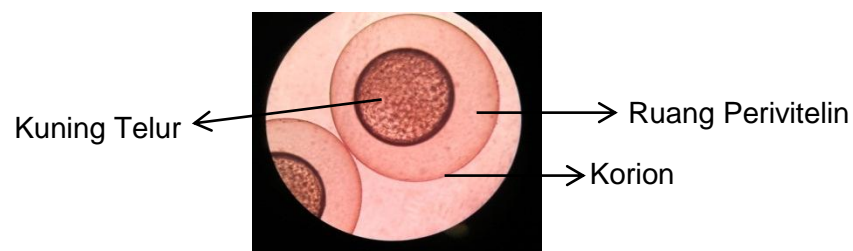


4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Perkembangan Embrio

Perkembangan embrio dimulai setelah terjadi fertilisasi, setelah terjadi fertilisasi dilanjutkan dengan fase pembelahan sel (cleavage), morula, blastula, gastrula, neurula, organogenesis hingga embrio menetas menjadi larva. Pengamatan perkembangan embrio ikan zebra dilakukan setiap 15 menit hingga 2 jam pertama pengamatan. Kemudian dilakukan pengamatan setiap 2 jam sekali hingga 18 jam. Setelah memasuki fase organogenesis dilakukan pengamatan 4 jam sekali hingga larva menetas. Saat larva menetas pertama kali dilanjutkan pengamatan setiap 15 menit sekali.

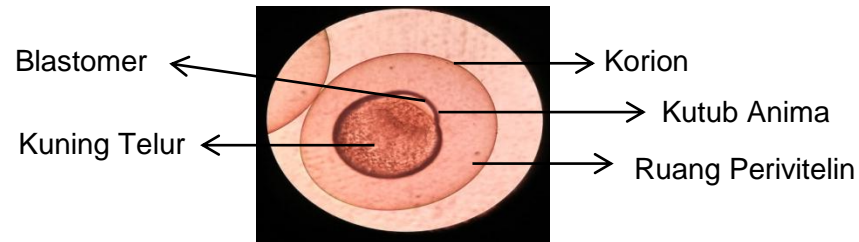
Pembuahan adalah bergabungnya sel telur dan sel sperma sehingga terbentuk zigot (Setyono, 2009). Pada proses pembuahan, spermatozoa masuk ke dalam telur melalui lubang micropyle yang terdapat pada chorion. Menurut Blaxter (1969), tanda-tanda telah terjadinya pembuahan yaitu terbentuknya ruang perivitelin, karena terjadinya penyerapan air setelah telur dikeluarkan dan berhubungan langsung dengan air yang mengakibatkan telur membengkak (Gambar 4).



Gambar 4. Telur Ikan Zebra yang Terbuahi (Dokumentasi Pribadi, 2018)

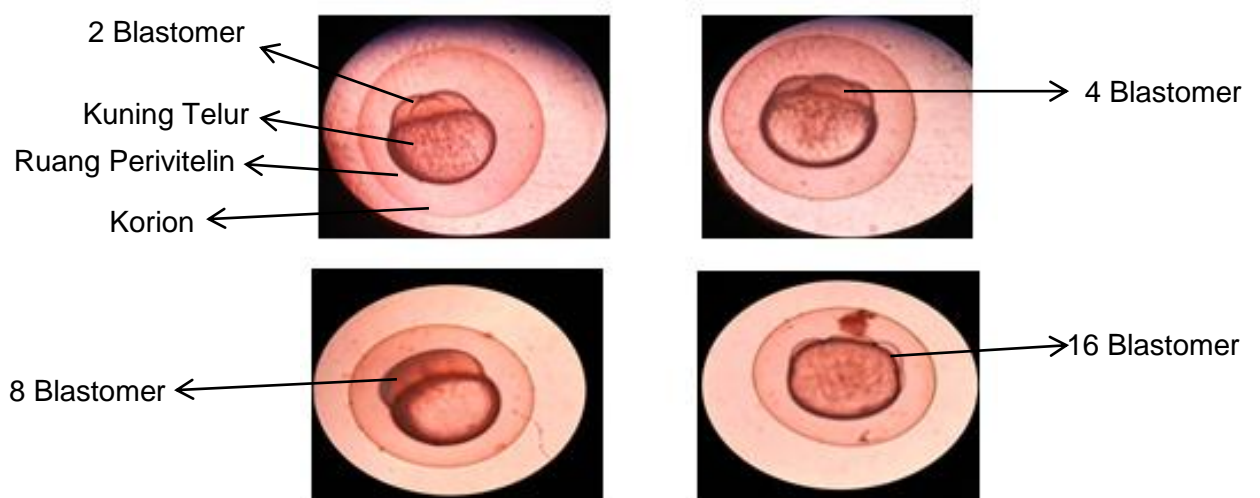
Setelah pembuahan akan terjadi proses embriogenesis yang diawali dengan fase pembelahan sel (cleavage). Tipe pembelahan sel pada telur ikan zebra merupakan pembelahan meroblastik (Gambar 5). Menurut Effendie (2002),

pembelahan meroblastik terdapat pada telur ikan telelechital dimana kuning telurnya tidak ikut membelah, namun hanya keping protoplasma yang terdapat pada kutub anima yang membelah. Berbeda dengan pembelahan holoblastik yang terdapat pada telur ikan homolechital dimana kuning telurnya ikut membelah.



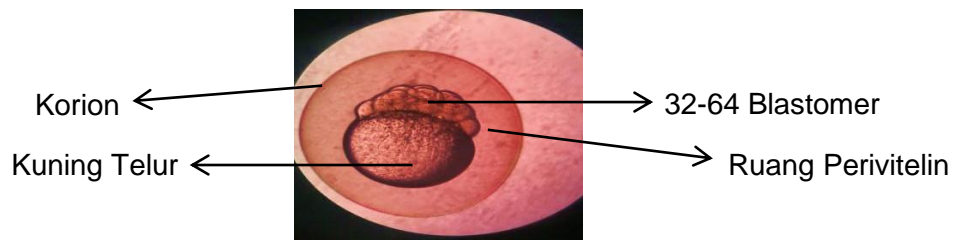
Gambar 5. Zigot Telur Ikan Zebra (Dokumentasi Pribadi, 2018)

Menurut Sukra *et al.* (1989), mula-mula zigot membelah menjadi dua buah sel yang disebut blastomer turunan pertama. Kemudian masing-masing blastomer tersebut membelah lagi menjadi empat blastomer turunan kedua, dan seterusnya hingga terbentuk 8 dan 16 turunan ketiga dan keempat (Gambar 6). Ukuran dari blastomer turunan pertama, kedua dan berikutnya semakin mengecil yang dikarenakan blastomer yang baru terbentuk tersebut segera membelah lagi, sehingga tidak ada waktu untuk tumbuh.



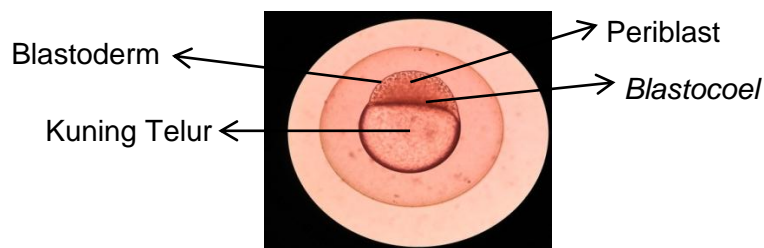
Gambar 6. Pembelahan Sel (2-16) Telur Ikan Zebra (Dokumentasi Pribadi, 2018)

Pembelahan selanjutnya yaitu fase morula menurut Hendriana (2006), pada fase morula ukuran sel mulai beragam. Ciri-ciri awal morula yaitu terbentuknya 32-128 sel (Gambar 7). Fase morula pada perlakuan A (waktu paparan 36 jam) menit ke-94, perlakuan B (waktu paparan 72 jam) menit ke-88, perlakuan C (waktu paparan 108 jam) menit ke-94 dan perlakuan D (waktu paparan 140 jam) menit ke-100.



Gambar 7. Fase Morula Telur Ikan Zebra (Dokumentasi Pribadi, 2018)

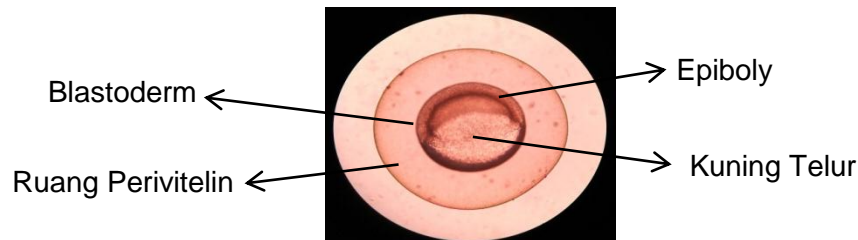
Setelah fase morula, terjadi fase blastula yaitu proses perkembangan morula menjadi blastula dimana sel membelah lebih dari 128 sel (Gambar 8). Menurut Sukra *et al.* (1989), fase blastula ditandai dengan terdapatnya dua sel yaitu sel formatif dan sel nonformatif. Pada fase ini blastomer membelah beberapa kali sehingga blastomer makin mengecil.



Gambar 8. Fase Blastula Telur Ikan Zebra (Dokumentasi Pribadi, 2018)

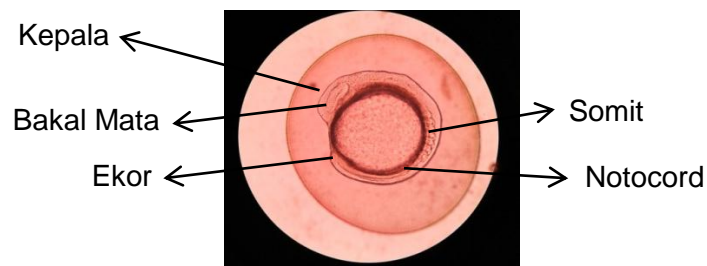
Kemudian terjadi fase gastrula yaitu pada fase ini bagian-bagian yang terbentuk pada fase blastula nantinya akan menjadi organ atau suatu bagian dari organ (Gambar 9). Menurut Nelsen (1953), gastrulasi adalah proses pembelahan bakal organ yang terbentuk pada stadium blastula. Pada fase ini terbentuk tiga daun kecambah, yaitu ektoderm, mesoderm dan endoderm. Pada pengamatan yang dilakukan, fase gastrula perlakuan A (waktu paparan 36 jam) terdapat pada

menit ke-425, perlakuan B (waktu paparan 72 jam) menit ke-407, perlakuan C (waktu paparan 108 jam) menit ke-429 dan perlakuan D (waktu paparan 144 jam) pada menit ke-434.



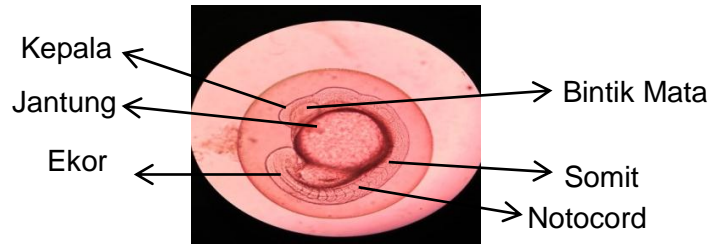
Gambar 9. Fase Gastrula Telur Ikan Zebra (Dokumentasi Pribadi, 2018)

Selanjutnya terjadi fase neurula dimana fase terbentuknya susunan syaraf pusat dari ektoderm. Pada fase ini, embrio berbentuk memanjang sehingga mengelilingi kuning telur dan terbentuknya bagian kepala dan ekor (Gambar 10). Menurut Purnamasari (2017), mulai terbentuknya ruas-ruas pada telur seperti notochord, somit dan bintik mata pada fase neurula.



Gambar 10. Fase Neurula Telur Ikan Zebra (Dokumentasi Pribadi, 2018)

Fase neurula kemudian berkembang menjadi fase organogenesis yaitu proses pembentukan alat tubuh embrio (Gambar 11). Menurut Effendie (2002), organ yang dibentuk dari jaringan neural antara lain mata, otak, bagian dalam alat pencernaan makanan dengan kelenjarnya dan juga sebagian dari kelenjar endokrin. Pada pengamatan didapatkan hasil perlakuan A (waktu paparan 36 jam) menit ke-1408, perlakuan B (waktu paparan 72 jam) menit ke-1420, perlakuan C (waktu paparan 108 jam) menit ke-1481 dan perlakuan D (waktu paparan 144 jam) menit ke-1415.



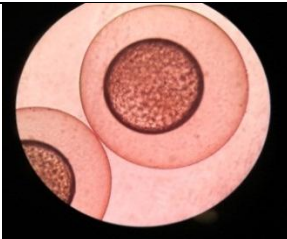
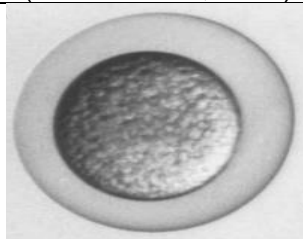
Gambar 11. Fase Organogenesis Telur Ikan Zebra (Dokumentasi Pribadi, 2018)

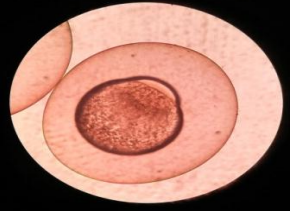
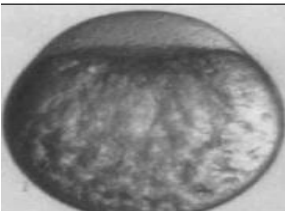






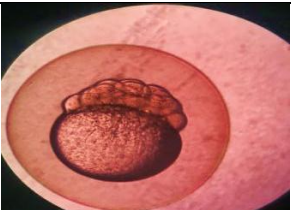


Fase terakhir adalah fase penetasan yang terjadi apabila embrio telah lebih panjang dari diameter cangkangnya (Gambar 12). Pada proses penetasan, embrio akan melakukan pergerakan menjauhi kuning telur yang dapat mengakibatkan menipisnya lapisan korion menjadi lembek. Menurut Blaxter (1969), terjadinya proses penetasan embrio adalah ketika lapisan khorion menjadi lunak yang disebabkan oleh enzim yang dikeluarkan oleh larva. Enzim ini dinamakan chorionase yang terdiri dari Pada pengamatan didapatkan hasil perlakuan A (waktu paparan 36 jam) menetas pada menit ke-3643, perlakuan B (waktu paparan 72 jam) menit ke-3824, perlakuan C (waktu paparan 108 jam) menit ke-3851 dan perlakuan D (waktu paparan 144 jam) menit ke-3855.

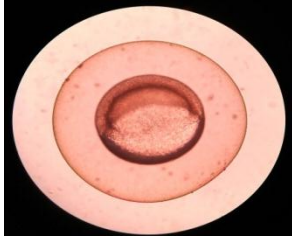
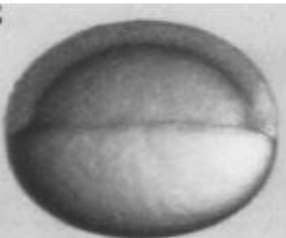


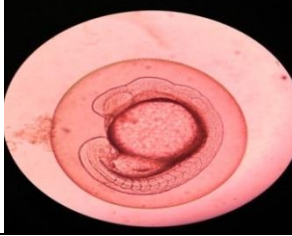
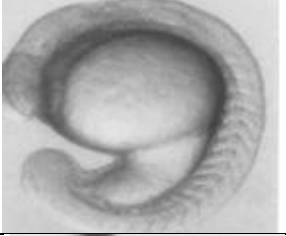

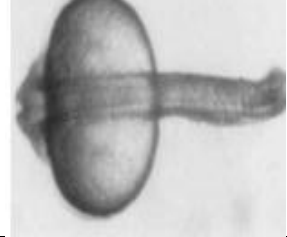


Gambar 12. Larva Ikan Zebra (Dokumentasi Pribadi, 2018)

Gambar 13. Hasil Pengamatan Embrio Ikan Zebra (*D. rerio*)

No	Fase	Gambar Pengamatan	Gambar Literatur (Kimmel <i>et al.</i> , 1995)
1	Telur yang terbuahi		

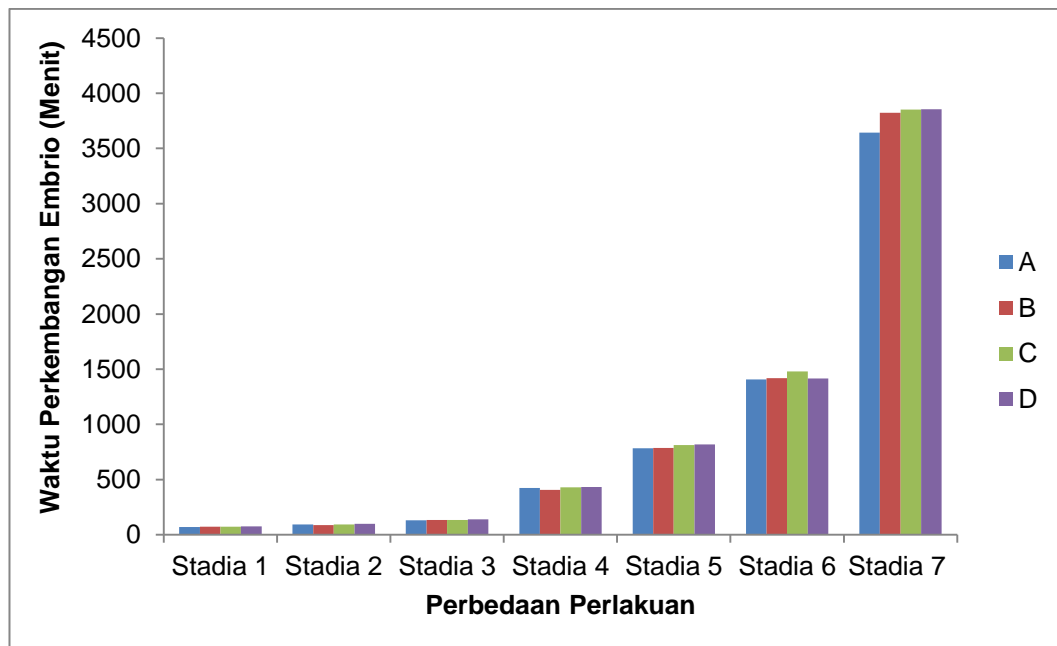
No	Fase	Gambar Pengamatan	Gambar Literatur (Kimmel <i>et al.</i> , 1995)
2	Zygot		
3	Pembelahan 1 (2 sel)		
4	Pembelahan 2 (4sel)		
5	Pembelahan 3 (8 sel)		
6	Pembelahan 4 (16 sel)		
7	Morula		
8	Blastula		

No	Fase	Gambar Pengamatan	Gambar Literatur (Kimmel <i>et al.</i> , 1995)
9	Gastrula		
10	Neurula		
11	Organogenesis		
12	Menetas		

4.2 Hubungan Perbedaan Lama Waktu Paparan Limbah Tembakau Puntung Rokok dengan Perkembangan Embrio

Perkembangan embrio dimulai dari fase pembelahan (*cleavage*), fase blastula, fase gastrula, fase neurula, fase organogenesis dan penetasan. Menurut Basahudin (2009), perkembangan embrio diawali dengan masuknya spermatozoa ke dalam sel telur melalui lubang *micropyle*, selanjutnya diikuti oleh proses pembelahan sampai proses penetasan. Setelah menetas, embrio memasuki fase larva yang masih berbentuk belum sempurna (*primitif*). Pada fase ini larva masih dibekali cadangan makanan berupa kuning telur. Waktu akumulasi perkembangan embrio ikan zebra pada masing-masing perlakuan secara terperinci disajikan pada Lampiran 2. Hubungan perbedaan lama waktu

paparan limbah tembakau puntung rokok dengan perkembangan embrio dapat dilihat pada Gambar 14.



Gambar 14. Hubungan perbedaan lama waktu paparan limbah tembakau puntung rokok dengan perkembangan embrio ikan zebra mulai dari fertilisasi hingga menetas dimana stadia 1: Zigot-Pembelahan 16 sel; stadia 2: Morula (32 sel); stadia 3: Blastula; stadia 4: Gastrula; stadia 5; Neurula; stadia 6: Organogenesis; stadia 7: Menetas

Berdasarkan Gambar 14 dapat diketahui bahwa perlakuan lama waktu paparan limbah tembakau puntung rokok yang berbeda pada media inkubasi memberikan pengaruh kecepatan perkembangan embrio, yaitu semakin lama waktu paparan maka lama pula perkembangan embrio ikan zebra (*D. rerio*). Pada gambar diatas memperlihatkan bahwa pada stadia 1 hingga stadia 6 waktu perkembangan embrio pada masing-masing perlakuan tidak terlalu berbeda, namun pada stadia 7 terlihat jelas perbedaannya. Hal tersebut dikarenakan pada stadia 1 sampai stadia 6 belum dilakukan perbedaan perlakuan. Pada stadia 1 sampai stadia 6 memerlukan waktu selama 25 jam, sedangkan perlakuan A dilakukan pada jam ke-36, sehingga pada stadia 1-6 belum terjadi perbedaan hasil. Pada stadia 7 didapatkan perbedaan hasil antara perlakuan A dengan

perlakuan B, C dan D, namun didapatkan hasil yang sama pada perlakuan B, C dan D. Hal tersebut dikarenakan embrio telah menetas sebelum dilakukan perlakuan B, C dan D. Menurut Said *et al.* (2017), pemberian nikotin baik secara langsung maupun tidak langsung dapat menghambat proses pembelahan sel, menghambat terjadinya implantasi bahkan mengganggu perkembangan embrio.

Adanya perbedaan lama waktu paparan limbah puntung rokok pada media inkubasi tersebut berpengaruh terhadap perkembangan embrio dan kecepatan menetas. Dari hasil pengamatan yang dilakukan, perlakuan A (waktu paparan 32 Jam) memiliki kecepatan menetas yang lebih cepat di bandingkan dengan perlakuan B (waktu paparan 72 jam), C (waktu paparan 108 Jam) dan D (waktu paparan 144 Jam). Dari hasil pengamatan dapat diketahui bahwa larutan limbah tembakau puntung rokok dapat merusak lapisan korion embrio (Gambar 15). Menurut Kasmeri *et al.* (2013), embrio rentan terhadap zat toksik yang terdapat pada air, serta akan mengalami keadaan hipertonik yaitu kepekatan konsentrasi di luar telur lebih tinggi dari pada di dalam telur sehingga cairan di dalam telur akan keluar dan mengakibatkan krenasi (pengerutan) pada telur sehingga proses embriogenesis telur terganggu.



Gambar 15. Embrio Ikan Zebra yang Rusak (Dokumentasi Pribadi, 2018)

4.3 Hubungan Perbedaan Lama Waktu Paparan Limbah Tembakau Puntung Rokok dengan Kecepatan Menetas

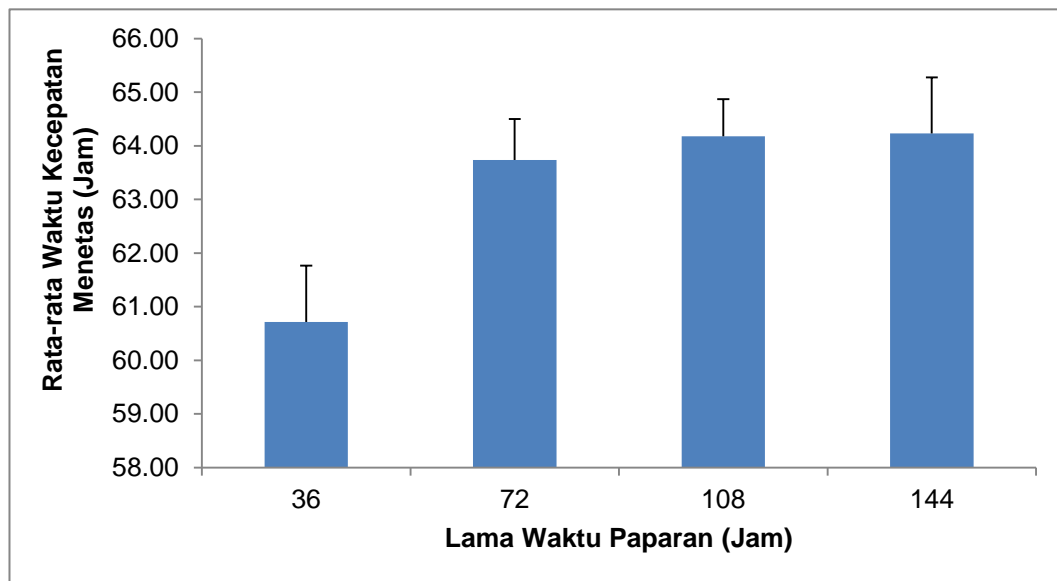
Perbedaan lama waktu paparan limbah tembakau puntung rokok menunjukkan hasil bahwa semakin lama waktu paparan, maka semakin lama

pula waktu kecepatan menetas dan sebaliknya jika semakin cepat waktu yang digunakan maka semakin cepat pula waktu kecepatan menetas. Data mengenai kecepatan menetas embrio ikan zebra (*D. rerio*) dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Kecepatan Menetas Embrio Ikan Zebra (*D. rerio*)

Perlakuan	Ulangan (Jam)			Total (Jam)	Rerata \pm SD
	1	2	3		
A	61,90	60,35	59,90	182,15	60,72 \pm 1,05
B	64,40	63,90	62,90	191,20	63,73 \pm 0,76
C	64,40	64,73	63,40	192,53	64,18 \pm 0,69
D	63,40	65,40	63,90	192,70	64,23 \pm 1,04
Total				758,58	

Berdasarkan Tabel 4, maka dapat dibuat grafik untuk mengetahui hasil rata-rata kecepatan menetas yang dapat dilihat pada Gambar 16.



Gambar 16. Rata-rata Kecepatan Menetas Embrio Ikan Zebra (*D. rerio*)

Dari gambar diatas menunjukkan bahwa waktu rata-rata yang diperlukan embrio untuk menetas pada perlakuan A (waktu paparan 36 jam) selama 60,72 jam, pada perlakuan B (waktu paparan 72 jam) selama 63,73 Jam, pada perlakuan C (waktu paparan 108 jam) selama 64,18 jam dan pada perlakuan D (waktu paparan 144 jam) selama 64,23 jam. Berdasarkan hasil data tersebut dapat diketahui bahwa rata-rata waktu penetasan terlama terdapat pada

perlakuan D (waktu paparan 144 jam) dengan hasil yang tidak terlalu berbeda dengan perlakuan B (waktu paparan 72 jam) dan C (waktu paparan 108 jam). Disisi lain rata-rata waktu penetasan tercepat terdapat pada perlakuan A (waktu paparan 36 jam) selama 60,72 jam. Sehingga dari hasil tersebut dapat dikatakan bahwa semakin lama waktu paparan yang diberikan maka semakin lama pula kecepatan menetas embrio ikan zebra. Hal tersebut dikarenakan kandungan nikotin yang digunakan sebagai media inkubasi.

Nikotin termasuk golongan toksik sedang sehingga dapat mengakibatkan stress terhadap embrio ikan zebra. Menurut Yahya *et al.* (2015), fisiologi embrio ikan zebra peka terhadap kondisi awal pemberian larutan. Pemberian larutan ke dalam media hidup embrio ikan yang menyebabkan stress yang sangat tinggi selanjutnya embrio ikan mengalami kematian. Menurut Yusrina (2001), perbedaan waktu pada tahap penetasan disebabkan kemampuan embrio yang rendah sehingga tidak mampu melepaskan diri dari cangkang telur dan meningkatnya adrenalin selama penetasan sehingga menyebabkan stress fisik pada embrio saat akan meninggalkan telur. Sehingga dapat diketahui bahwa semakin lama waktu paparan limbah tembakau puntung rokok akan mengakibatkan embrio ikan zebra menjadi stress dan dapat mengganggu perkembangan embrio ikan zebra. Hasil sidik ragam kecepatan menetas embrio ikan zebra dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Sidik Ragam Kecepatan Menetas Embrio Ikan Zebra (*D. rerio*)

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3,00	25,42	8,47	10,44**	4,07	7,59
Acak	8,00	6,49	0,81			
Total	11,00	31,91				

Keterangan: ** Berbeda sangat nyata.

Hasil perhitungan dari sidik ragam pada Tabel 5 menunjukkan bahwa F hitung lebih besar dari F tabel 5% dan F tabel 1%, artinya lama waktu paparan

sangat berpengaruh terhadap waktu kecepatan menetas embrio ikan zebra sehingga dapat dikatakan H_0 ditolak dan H_1 diterima. Selanjutnya untuk mengetahui perbedaan nyata antar perlakuan dilakukan Uji Beda Nyata Terkecil yang dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil Uji BNT Kecepatan Menetas Embrio Ikan Zebra (*D. rerio*)

Rata-Rata Perlakuan	A	B	C	D	Notasi	
	60,72	63,73	64,18	64,23		
A	60,72	-			a	
B	63,73	3,02**	-		b	
C	64,18	3,46**	0,44 ^{ns}	-	b	
D	64,23	3,52**	0,50 ^{ns}	0,06 ^{ns}	-	b

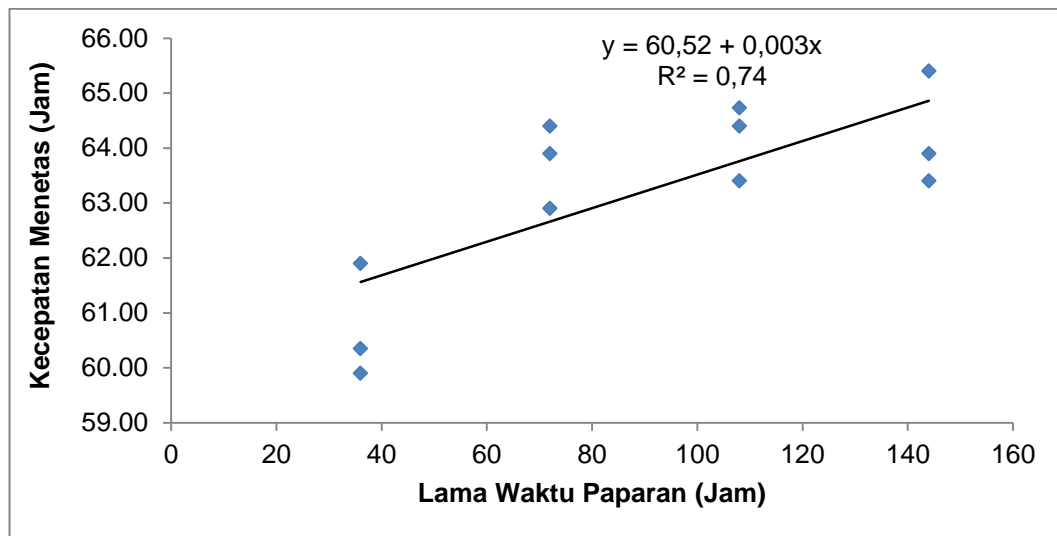
Keterangan: (^{ns}) *non significant* = tidak berbeda nyata (*) = berbeda nyata; (**) = berbeda sangat nyata.

Berdasarkan hasil uji BNT pada Tabel 6 diketahui bahwa terdapat pengaruh yang sangat nyata antara perlakuan B, C dan D terhadap perlakuan A. Disisi lain perlakuan yang tidak berpengaruh nyata terdapat pada perlakuan C dan D terhadap perlakuan B dan perlakuan D terhadap perlakuan C. Sehingga dapat dikatakan bahwa perlakuan A merupakan perlakuan dengan kecepatan penetasan tercepat.

Penetasan terjadi karena kerja mekanik dan kerja enzimatik. Kerja mekanik disebabkan embrio sering mengubah posisinya karena kekurangan ruang dalam cangkangnya atau karena embrio lebih panjang dari lingkungannya dalam cangkang. Kerja enzimatik yaitu enzim atau zat kimia lainnya yang dikeluarkan oleh kelenjar endodermal di daerah pharink embrio (Larger *et al.*, 1962). Nikotin yang terkandung dalam media inkubasi dapat mengganggu kerja enzim *chorionase* dalam mereduksi chorion. Menurut Kasmeri *et al.* (2013), semakin banyak zat toksik yang digunakan akan mengganggu kerja enzim *chorionase* dalam mereduksi chorion sehingga menjadi lunak. Menurut Bahri (2012), racun merupakan inhibitor *irreversible* (hambatan tidak dapat balik).

Hambatan tidak dapat balik pada umumnya disebabkan oleh terjadinya proses modifikasi sebuah gugus atau lebih yang terdapat pada molekul enzim inhibitor.

Setelah dilakukan uji Beda Nilai Terkecil, selanjutnya dilakukan perhitungan polynomial orthogonal untuk mendapatkan kurva regresi dan mengetahui hubungan antara lama paparan limbah puntung rokok terhadap perkembangan embrio ikan zebra yang disajikan pada Gambar 17.



Gambar 17. Hubungan Perbedaan Lama Waktu Paparan Limbah Tembakau Puntung Rokok Terhadap Kecepatan Menetas (Jam)

Berdasarkan hubungan antara perbedaan lama waktu paparan limbah tembakau puntung rokok terhadap kecepatan menetas pada gambar di atas dapat diketahui bahwa pola kurva membentuk linier dengan persamaan $y = 60,52 + 0,003x$ dengan nilai $R^2 = 0,74$. Perlakuan A dengan lama paparan waktu 36 jam memiliki kecepatan penetasan embrio yang paling cepat. Hal tersebut dikarenakan pada perlakuan A dengan waktu paparan 36 jam media inkubasi yang semula menggunakan larutan limbah puntung rokok diganti menggunakan air, sehingga daya racun yang terdapat pada media inkubasi dapat di netralkan oleh air yang baru. Berbeda dengan perlakuan B, C dan D karena pada fase penetasan masih menggunakan media inkubasi larutan limbah puntung rokok sehingga fase penetasan relatif lebih lambat. Perlakuan B, C dan D belum

dilakukan karena embrio telah menetas sebelum di lakukannya perlakuan. Menurut Nurfadilawati (2015), daya toksisitas racun mengakibatkan embrio tidak menetas menjadi larva, namun telah terjadi perkembangan embrio di dalam telur.

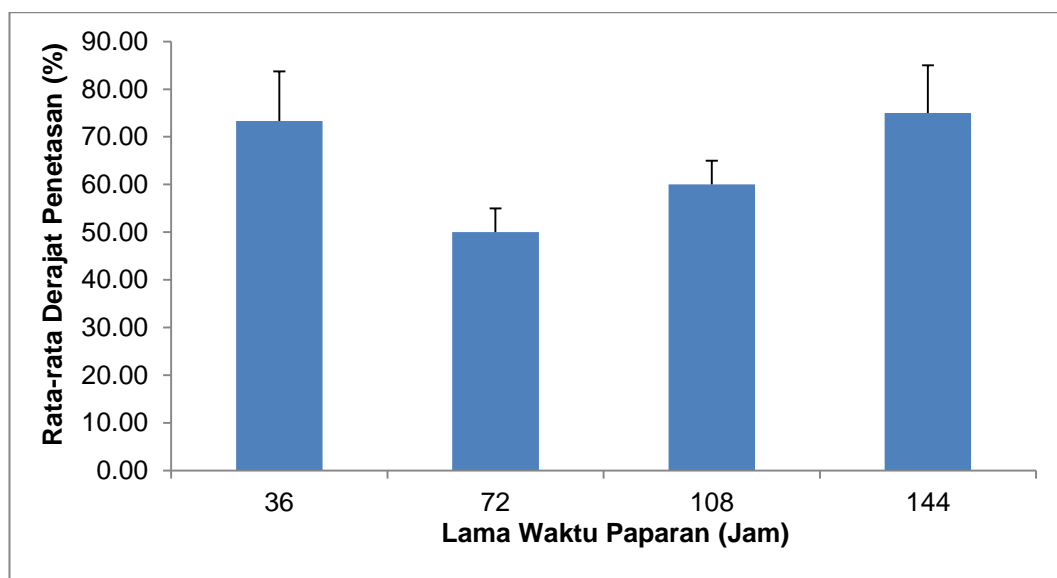
4.4 Hubungan Lama Waktu Paparan Limbah Tembakau Puntung Rokok dengan Derajat Penetasan

Perlakuan yang diberikan selama penelitian menggunakan larutan limbah tembakau puntung rokok terhadap embrio ikan zebra (*D. rerio*) menghasilkan nilai rata-rata yang berbeda terhadap keberhasilan penetasan. Hasil perhitungan derajat penetasan disajikan pada Tabel 7.

Tabel 7. Derajat Penetasan Embrio Ikan Zebra (*D. rerio*)

Perlakuan	Ulangan (%)			Total (%)	Rerata \pm SD
	1	2	3		
A	85,00	65,00	70,00	220,00	73,33 \pm 10,41
B	45,00	50,00	55,00	150,00	50,00 \pm 5,00
C	65,00	55,00	60,00	180,00	60,00 \pm 5,00
D	85,00	75,00	65,00	225,00	75,00 \pm 10,00
	Total			775,00	

Berdasarkan Tabel 7, maka dapat dibuat grafik untuk mengetahui hasil rata-rata derajat penetasan yang dapat dilihat pada Gambar 18.



Gambar 18. Rata-rata Derajat Penetasan Embrio Ikan Zebra (*D. rerio*)

Berdasarkan Gambar 18, pada perlakuan B dengan lama waktu paparan 72 jam memberikan hasil terendah yaitu 50%. Hal ini menunjukkan bahwa nilai LC_{50} pada ikan zebra yaitu menggunakan dosis 350 ppm dengan waktu paparan 72 jam (Perlakuan B). Hal tersebut dikarenakan pada perlakuan B dilakukan pergantian media inkubasi ketika fase penetasan embrio (sebagian embrio telah menetas). Pada fase penetasan lapisan *chorion* telah menipis sehingga mengakibatkan embrio stress terhadap perubahan media inkubasi secara tiba-tiba yang selanjutnya mengakibatkan kematian. Menurut Effendie (1978), pada waktu akan menetas kekerasan lapisan korion telur ikan akan menurun. Hal ini memungkinkan mudahnya nikotin masuk ke dalam telur yang berkembang. Nikotin masuk ke dalam telur bersamaan dengan masuknya air pada permukaan kuning telur.

Didapatkan hasil dari perlakuan C dengan lama waktu paparan 108 jam sebesar 60%. Hasil dari perlakuan C lebih tinggi dibanding perlakuan B dikarenakan ketika pergantian media inkubasi semua embrio telah menetas dan embrio telah berhasil beradaptasi dengan media inkubasi larutan limbah puntung rokok. Berbeda dengan perbandingan antara hasil perlakuan C dengan perlakuan A. Hasil dari perlakuan C lebih kecil dibanding perlakuan A, dikarenakan ketika dilakukan perlakuan A dengan lama waktu perendaman 36 jam embrio masih terlindungi oleh lapisan *chorion* yang semakin mengeras dan ketika dilakukan pergantian media inkubasi embrio telah mencapai fase organogenesis yang masih terlindungi oleh lapisan *chorion* dan memiliki ketahanan tubuh yang lebih kuat. Perlakuan D dengan lama waktu perendaman 144 jam memiliki hasil yang paling tinggi yaitu 75%. Hal tersebut dikarenakan semakin lama embrio diberikan paparan limbah tembakau puntung rokok, maka embrio akan beradaptasi dan mentolerir penyerapan zat aktif yang terkandung di

dalam media inkubasi atau konsentrasi tidak cukup tinggi untuk memberi pengaruh.

Menurut Yahya *et al.* (2015), aplikasi dekokta daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*) yang termasuk kategori toksik ringan secara tiba-tiba ke dalam media hidup embrio ikan menyebabkan stress yang sangat tinggi selanjutnya embrio ikan mengalami kematian. Pada waktu yang lebih lama embrio ikan zebra berhasil beradaptasi dan mentoleransi penyerapan zat aktif sehingga semakin *survive* dan reson mortalitas semakin berkurang. Hasil sidik ragam kecepatan menetas embrio ikan zebra dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Sidik Ragam Derajat Penetasan Embrio Ikan Zebra (*D. rerio*)

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3,00	1256,25	418,75	6,48*	4,07	7,59
Acak	8,00	516,67	64,58			
Total	11,0	1772,92				

Keterangan: (^{ns}) *non significant* = tidak berbeda nyata (*) = berbeda nyata; (**) = berbeda sangat nyata.

Hasil perhitungan dari sidik ragam pada Tabel 8 menunjukkan bahwa F hitung lebih besar dari F tabel 5% dan lebih kecil dari F tabel 1%, artinya perbedaan lama waktu paparan limbah tembakau puntung rokok berpengaruh nyata terhadap derajat penetasan embrio ikan zebra sehingga dapat dikatakan H_0 ditolak dan H_1 diterima. Selanjutnya untuk mengetahui perbedaan nyata antar perlakuan dilakukan Uji Beda Nyata Terkecil yang dapat dilihat pada Tabel 9.

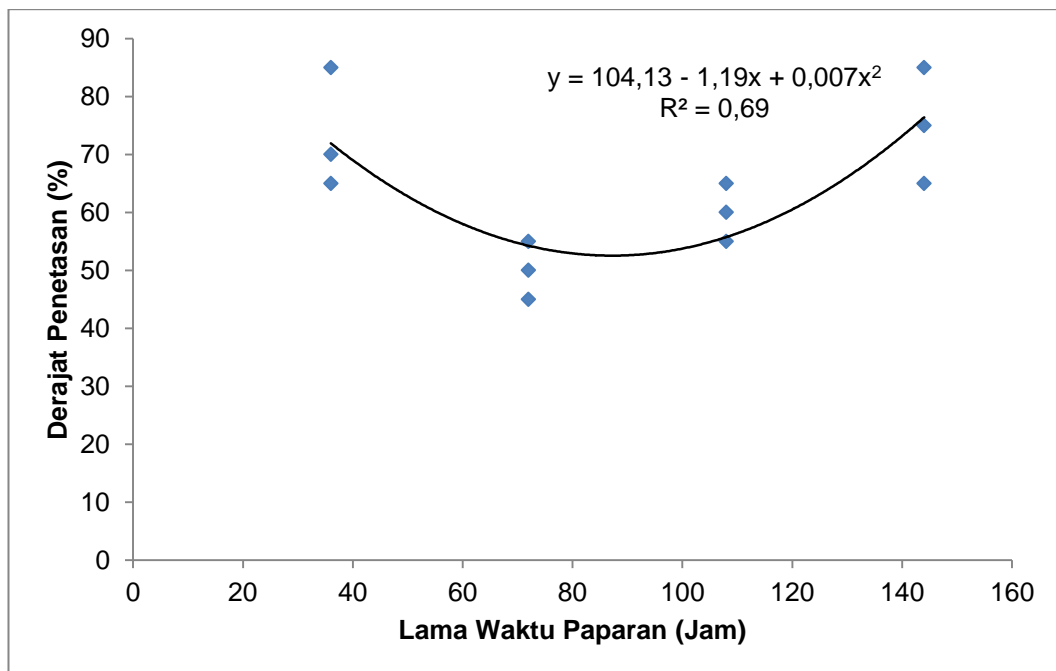
Tabel 9. Hasil Uji BNT Derajat Penetasan Embrio Ikan Zebra (*D. rerio*)

Rata-rata Perlakuan	B	C	A	D	Notasi	
	50,00	60,00	73.33	75,00		
B	50,00	-			a	
C	60,00	10,00 ^{ns}	-		ab	
A	73.33	23,33**	13,33 ^{ns}	-	b	
D	75,00	25,00**	15,00 ^{ns}	1,67 ^{ns}	-	b

Keterangan: (^{ns}) *non significant* = tidak berbeda nyata (*) = berbeda nyata; (**) = berbeda sangat nyata.

Berdasarkan hasil uji BNT pada Tabel 9 dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan yang sangat nyata pada perlakuan A dengan B dan perlakuan D dengan B. Sedangkan hasil yang tidak berpengaruh nyata terdapat pada perlakuan C dengan B, perlakuan A dengan C serta perlakuan C dan A terhadap perlakuan D. Sehingga dapat dikatakan bahwa perlakuan B dengan lama waktu paparan 72 jam merupakan perlakuan yang paling toksik dalam derajat penetasan embrio ikan zebra. Hal ini menunjukkan bahwa larutan limbah puntung rokok dapat digolongkan berdaya racun sedang terhadap embrio ikan zebra. Pernyataan tersebut sesuai dengan pendapat USEPA (2002), dalam pengujian toksisitas akut suatu bahan yang menghasilkan nilai LC_{50} antara 100-1000 ppm menunjukkan bahan tersebut tergolong berdaya racun sedang.

Setelah dilakukan uji BNT, selanjutnya dilakukan perhitungan polynomial orthogonal untuk mendapatkan kurva regresi dan mengetahui hubungan antara lama paparan limbah tembakau puntung rokok terhadap derajat penetasan embrio ikan zebra yang disajikan pada Gambar 19.



Gambar 19. Hubungan Perbedaan Lama Waktu Paparan Limbah Tembakau Puntung Rokok Terhadap derajat penetasan (%)

Berdasarkan hubungan antara perbedaan lama waktu paparan limbah tembakau puntung rokok terhadap derajat penetasan dapat diketahui bahwa pola kurva membentuk kuadratik dengan persamaan $y = 104,13 - 1,19x + 0,007x^2$ dengan nilai $R^2 = 0,69$. Menurut Suprihadi (2008), gagalnya penetasan karena telur bersifat hiperosmotik, sehingga pada awal pematangan membran telur mengadsorpsi air dan telur mengembang dengan cepat. Jika media inkubasi lebih tinggi konsentrasi ionnya dari telur, maka telur akan rusak karena cairan dalam telur akan diabsorpsi oleh media yang lebih pekat. Berdasarkan kriteria daya racun letal pestisida dari Komisi Pestisida Departemen Pertanian (1983), kematian pada ikan diduga adanya pengaruh dari pemberian ekstrak tembakau dengan konsentrasi yang melebihi dari kemampuan ikan untuk mentolerir zat asing yang masuk ke dalam tubuhnya. Menurut Gaffar (2010), air tembakau dapat membunuh ikan uji dalam waktu yang relatif singkat (24 jam) dan kemudian mengalami masa penyesuaian bagi ikan uji sehingga penambahan waktu pendedahan tidak secara nyata meningkatkan kematian ikan uji.

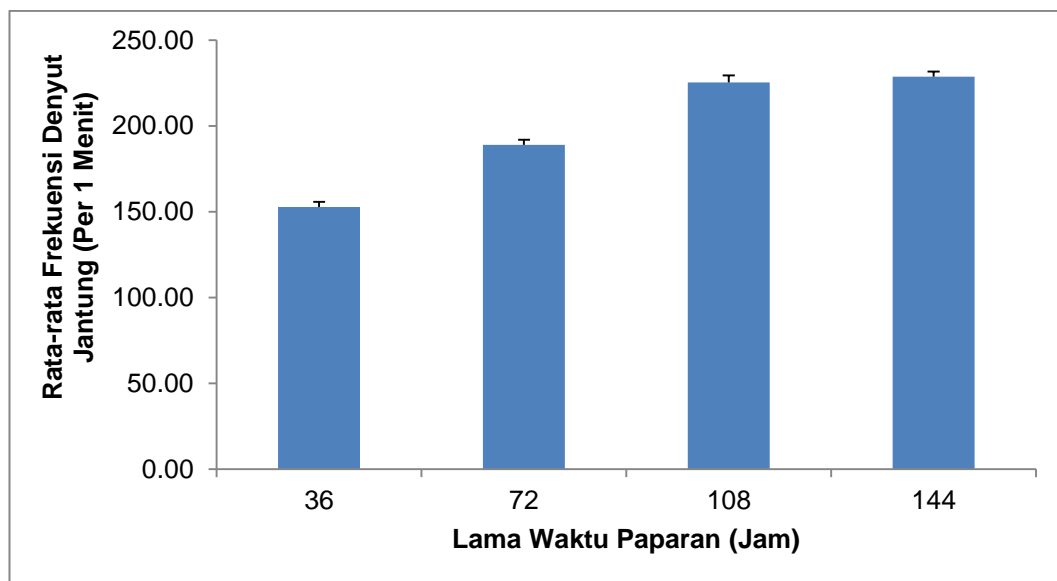
4.5 Hubungan Perbedaan Lama Waktu Paparan Limbah Tembakau Puntung Rokok dengan Frekuensi Denyut Jantung

Perbedaan lama waktu paparan limbah tembakau puntung rokok menunjukkan hasil bahwa semakin lama waktu paparan maka semakin tinggi frekuensi denyut jantung ikan zebra (*D. rerio*). Hasil perhitungan frekuensi denyut jantung disajikan pada Tabel 10.

Tabel 10. Frekuensi Denyut Jantung Ikan Zebra (*D. rerio*)

Perlakuan	Ulangan (Per 1 Menit)			Total (Per 1 Menit)	Rerata \pm SD
	1	2	3		
A	150,00	156,00	152,00	458,00	152,67 \pm 3,06
B	186,00	189,00	192,00	567,00	189,00 \pm 3,00
C	223,00	223,00	230,00	676,00	225,33 \pm 4,04
D	228,00	226,00	232,00	686,00	228,67 \pm 3,06
	Total			2387,00	

Berdasarkan Tabel 10, maka dapat dibuat grafik untuk mengetahui hasil rata-rata derajat penetasan yang dapat dilihat pada Gambar 20.



Gambar 20. Rata-rata Frekuensi Denyut Jantung Ikan Zebra (*D. rerio*)

Berdasarkan Gambar 20 dapat diketahui bahwa rata-rata frekuensi denyut jantung tertinggi diperoleh pada perlakuan D dengan lama waktu paparan 144 jam sebesar 228,67 per 1 menit dan rata-rata frekuensi denyut jantung terendah sebesar 152,67 pada perlakuan A dengan lama waktu paparan 36 jam. Hal ini menunjukkan bahwa semakin lama waktu paparan maka semakin tinggi pula frekuensi denyut jantung ikan zebra. Faktor yang mempengaruhi hal tersebut adalah kandungan nikotin yang terdapat pada limbah puntung rokok.

Menurut Aula (2010), efek nikotin menyebabkan perangsangan terhadap hormon epinefrin (adrenalin) yang bersifat memacu peningkatan frekuensi denyut jantung, tekanan darah, keutuhan oksigen jantung, serta menyebabkan gangguan irama jantung. Jantung tidak diberikan kesempatan istirahat dan tekanan darah akan semakin meninggi, berakibat timbulnya hipertensi. Menurut Nururrahmah (2014), nikotin yang terbawa dalam aliran darah dapat mempengaruhi berbagai bagian tubuh. Nikotin dapat mempercepat denyut

jantung (dapat mencapai 20 kali lebih cepat dalam satu menit dari keadaan normal). Hasil sidik ragam frekuensi denyut jantung ikan zebra dapat dilihat pada Tabel 11.

Tabel 11. Sidik Ragam Frekuensi Denyut Jantung Ikan Zebra (*D. rerio*)

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3,00	11460,92	3820,31	347,30**	4,07	7,59
Acak	8,00	88,00	11,00			
Total	11,00	11548,92				

Keterangan: (^{ns}) *non significant* = tidak berbeda nyata (*) = berbeda nyata; (**) = berbeda sangat nyata.

Hasil perhitungan dari sidik ragam pada Tabel 14 menunjukkan bahwa F hitung lebih besar dari F tabel 5% dan F tabel 1%, artinya perbedaan lama waktu paparan limbah tembakau rokok berpengaruh sangat nyata terhadap frekuensi denyut jantung ikan zebra sehingga dapat dikatakan H_0 ditolak dan H_1 diterima. Selanjutnya untuk mengetahui perbedaan nyata antar perlakuan dilakukan Uji Beda Nyata Terkecil yang dapat dilihat pada Tabel 12.

Tabel 12. Hasil Uji BNT Frekuensi Denyut Jantung Ikan Zebra (*D. rerio*)

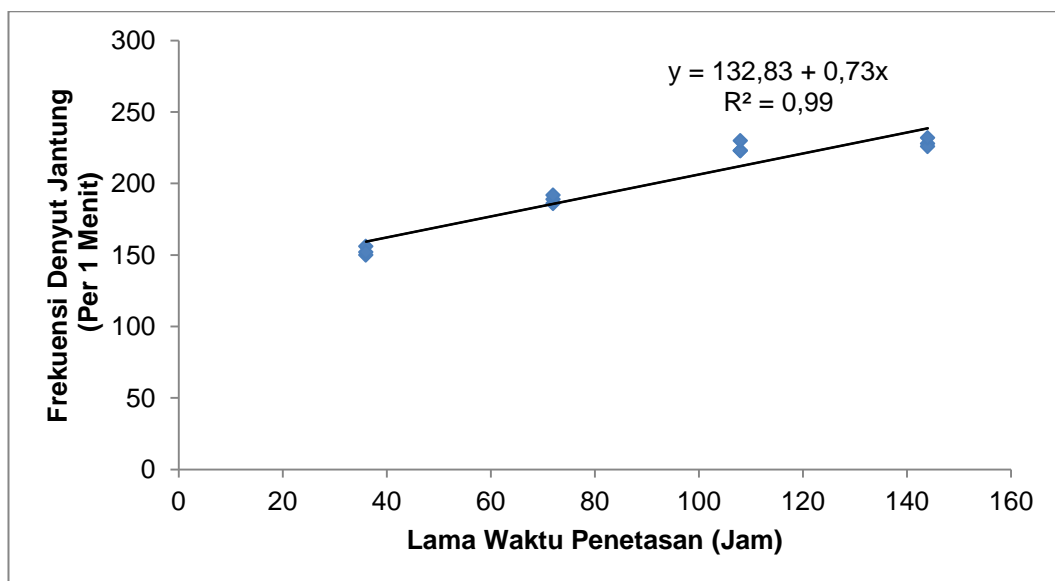
Rata-Rata Perlakuan	A	B	C	D	Notasi	
	152,67	189,00	225,33	228,67		
A	152,67	-			a	
B	189,00	36,33**	-		b	
C	225,33	72,67**	36,33**	-	c	
D	228,67	76,00**	39,67**	3,33 ^{ns}	-	c

Keterangan: (^{ns}) *non significant* = tidak berbeda nyata (*) = berbeda nyata; (**) = berbeda sangat nyata.

Berdasarkan hasil uji BNT pada Tabel 12 dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan yang sangat nyata pada perlakuan B dengan A, perlakuan A dan B terhadap perlakuan C dan D. Sedangkan hasil yang tidak berpengaruh nyata terdapat pada perlakuan D dengan C. Sehingga dapat dikatakan bahwa perlakuan C dengan lama waktu paparan 108 jam merupakan perlakuan yang memiliki nilai tertinggi. Menurut Aini *et al.* (2015), denyut jantung ikan zebra

dewasa normalnya mencapai 120-170 kali per menit hampir mendekati denyut jantung manusia. Hal ini menunjukkan bahwa perbedaan lama waktu paparan meningkatkan frekuensi denyut jantung larva ikan zebra.

Setelah dilakukan uji BNT, selanjutnya dilakukan perhitungan polynomial orthogonal untuk mendapatkan kurva regresi dan mengetahui hubungan antara lama waktu paparan limbah tembakau puntung rokok terhadap frekuensi denyut jantung ikan zebra yang disajikan pada Gambar 21.



Gambar 21. Hubungan Perbedaan Lama Waktu Paparan Limbah Tembakau Puntung Rokok Terhadap Frekuensi Denyut Jantung (Per 1 Menit)

Berdasarkan hubungan perbedaan lama waktu paparan limbah tembakau puntung rokok terhadap frekuensi denyut jantung pada gambar di atas dapat diketahui bahwa pola kurva membentuk linier dengan persamaan $y = 132,83 + 0,73x$ dengan nilai $R^2 = 0,99$.

4.6 Hubungan Paparan Limbah Tembakau Puntung Rokok dengan Fluktuasi Konsumsi DO

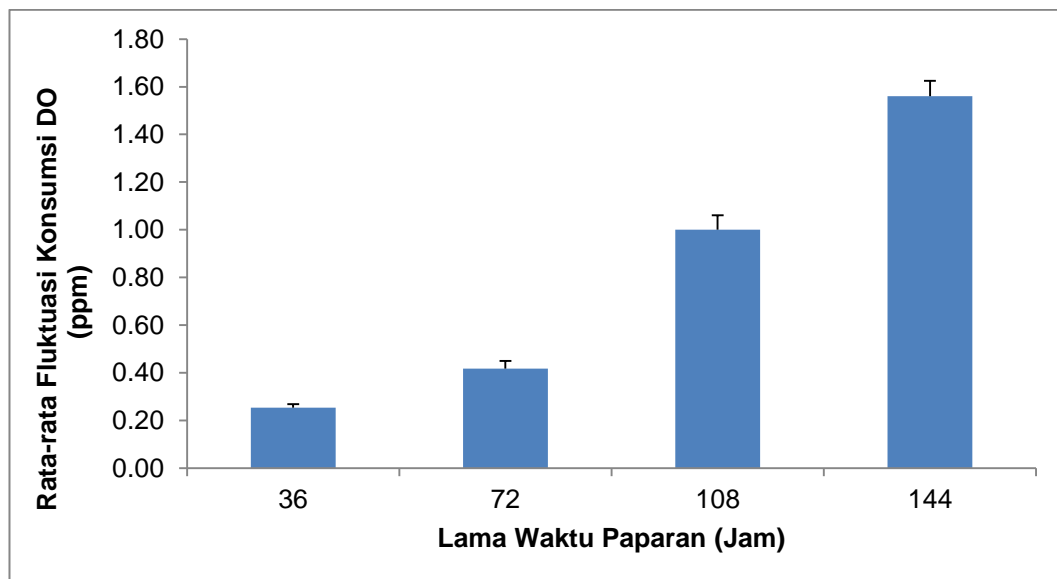
Selama proses perkembangan, telur ikan mengkonsumsi oksigen dalam jumlah relatif banyak. Konsumsi oksigen setiap fase perkembangan telur sulit di deteksi, namun jumlahnya bertambah sesuai dengan waktu perkembangannya

(Djarajah, 2001). Perbedaan lama waktu paparan limbah puntung rokok menunjukkan hasil bahwa semakin lama waktu paparan, maka semakin banyak oksigen terlarut yang dibutuhkan. Data mengenai fluktuasi konsumsi DO embrio ikan zebra (*D. rerio*) dapat dilihat pada Tabel 13.

Tabel 13. Fluktuasi Konsumsi DO Embrio Ikan Zebra (*D. rerio*)

Perlakuan	Ulangan (ppm)			Total (ppm)	Rerata ± SD
	1	2	3		
A	0,25	0,27	0,24	0,76	0,25±0,02
B	0,43	0,38	0,44	1,25	0,42±0,03
C	0,96	0,97	1,07	3,00	1,00±0,06
D	1,49	1,57	1,62	4,68	1,56±0,07
Total				10,00	

Berdasarkan Tabel 13, maka dapat dibuat grafik untuk mengetahui hasil rata-rata fluktuasi Konsumsi DO yang dapat dilihat pada Gambar 22.



Gambar 22. Rata-rata Fluktuasi Konsumsi DO Embrio Ikan Zebra (*D. rerio*)

Dari gambar di atas menunjukkan bahwa rata-rata fluktuasi Konsumsi DO tertinggi terdapat pada perlakuan D dengan waktu paparan 144 jam dan rata-rata fluktuasi terendah terdapat pada perlakuan A dengan lama paparan 36 jam. Sehingga dari hasil tersebut dapat dikatakan bahwa semakin lama waktu paparan limbah tembakau puntung rokok yang diberikan maka semakin banyak

kebutuhan oksigen terlarut yang dibutuhkan embrio ikan zebra. Menurut Alabaster dan Lloyd (1980), ikan yang terkontaminasi racun akan meningkatkan energi untuk mengeluarkan racun dalam tubuh dan beradaptasi terhadap air media yang terkontaminasi. Pada proses peningkatan energi, ikan akan membutuhkan oksigen terlarut yang lebih banyak. Hasil sidik ragam fluktuasi konsumsi DO embrio ikan zebra dapat dilihat pada Tabel 14.

Tabel 14. Sidik Ragam Fluktuasi Konsumsi DO Embrio Ikan Zebra

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3,00	3,19	1,06	458,92**	4,07	7,59
Acak	8,00	0,002	0,00			
Total	11,00	3,21				

Keterangan: ** Berbeda sangat nyata.

Hasil perhitungan dari sidik ragam pada Tabel 14 menunjukkan bahwa F hitung lebih besar dari F tabel 5% dan F tabel 1%, artinya perbedaan lama waktu paparan limbah tembakau puntung rokok sangat berpengaruh terhadap fluktuasi konsumsi DO embrio ikan zebra sehingga dapat dikatakan H_0 ditolak dan H_1 diterima. Selanjutnya untuk mengetahui perbedaan nyata antar perlakuan dilakukan Uji Beda Nyata Terkecil yang dapat dilihat pada Tabel 15.

Tabel 15. Hasil Uji BNT Fluktuasi Konsumsi DO Embrio Ikan Zebra

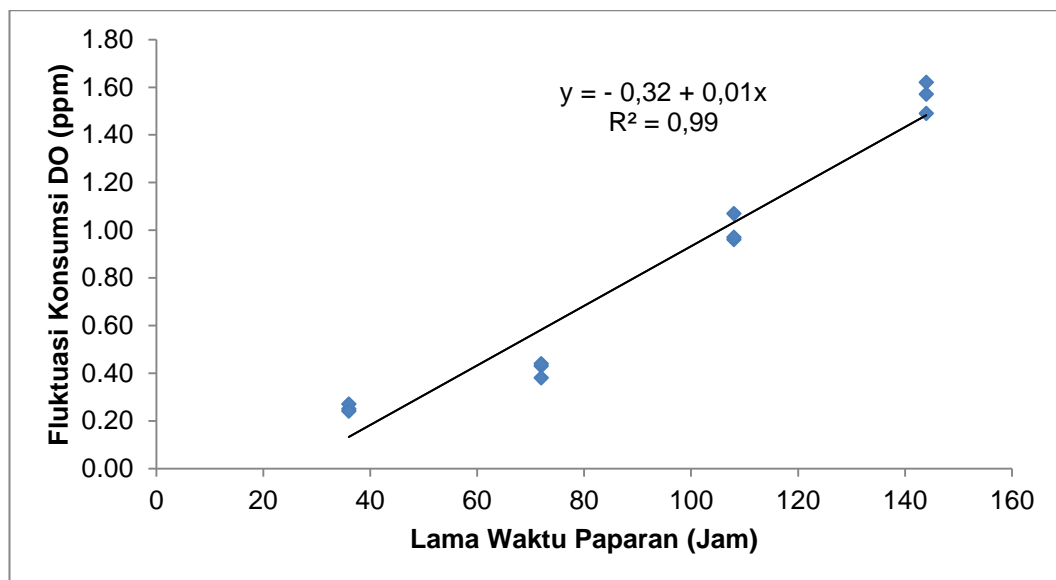
Rata-Rata Perlakuan	A	B	C	D	Notasi
	0,25	0,42	1,00	1,56	
A	0,25	-			a
B	0,42	0,16**	-		b
C	1,00	0,75**	0,58**	-	c
D	1,56	1,31**	1,14**	0,56**	d

Keterangan: (^{ns}) *non significant* = tidak berbeda nyata (*) = berbeda nyata; (**) = berbeda sangat nyata.

Berdasarkan hasil uji BNT pada Tabel 15 diketahui bahwa terdapat pengaruh yang sangat nyata pada semua perlakuan. Hal ini menunjukkan semakin lama waktu paparan limbah tembakau puntung rokok maka semakin

banyak oksigen terlarut yang dibutuhkan. Hal tersebut dikarenakan kandungan nikotin yang terdapat pada limbah puntung rokok dapat meningkatkan frekuensi denyut jantung. Menurut Sitepoe (2000), dampak negatif nikotin adalah meningkatnya pemakaian oksigen, meningkatkan denyut jantung, meningkatnya kadar gula darah dan lain sebagainya.

Setelah dilakukan uji BNT, selanjutnya dilakukan perhitungan polynomial orthogonal untuk mendapatkan kurva regresi dan mengetahui hubungan antara lama paparan limbah tembakau puntung rokok terhadap fluktuasi konsumsi DO ikan zebra yang disajikan pada Gambar 23.



Gambar 23. Hubungan Perbedaan Lama Waktu Paparan Limbah Tembakau Puntung Rokok terhadap Fluktuasi Konsumsi DO (ppm)

Berdasarkan hubungan perbedaan lama waktu paparan limbah tembakau puntung rokok terhadap fluktuasi konsumsi DO pada gambar di atas dapat diketahui bahwa pola kurva membentuk linier dengan persamaan $y = -0,32 + 0,01x$ dan nilai $R^2 = 0,99$. Nilai R^2 tersebut dapat dikatakan bahwa semakin lama paparan limbah tembakau puntung rokok akan meningkatkan fluktuasi konsumsi DO. Peningkatan konsumsi oksigen dikarenakan oleh beberapa faktor, salah satunya tingkat stress yang meningkat.

1.7 Kualitas Air

Kualitas telur ditentukan oleh keadaan intrinsik telur itu sendiri yang berasal dari induk betina. Berbeda dengan penetasan telur selain faktor internal, faktor lain yang dapat mempengaruhi penetasan adalah faktor lingkungan. Menurut Marbun (2015), faktor lingkungan yang dapat mempengaruhi daya tetas berupa suhu, oksigen terlarut dan intensitas cahaya. Kisaran kualitas air media inkubasi selama penelitian disajikan pada Tabel 16.

Tabel 16. Kisaran Nilai Kualitas Air

Parameter	Kisaran	Literatur
Suhu (°C)	24,9 - 26,7	24 – 28 (Alrifly, 2016)
Oksigen Terlarut (ppm)	2,77 - 4,45	>4 (Alrifly, 2016)
pH	6,22 -6,88	6,5 – 7 (Alrifly, 2016)

Berdasarkan Tabel 16 dapat diketahui bahwa kisaran suhu berkisar antara 24,9 - 26,7 °C, DO berkisar antara 2,77 – 4,45 dan pH berkisar antara 6,22-6,88. Data kualitas air secara terperinci dapat dilihat pada Lampiran 7. Kisaran kualitas air selama penelitian dapat dikatakan sesuai dengan kriteria media inkubasi telur ikan zebra (*D. rerio*) yang sesuai dengan pendapat Alrifly (2016).

