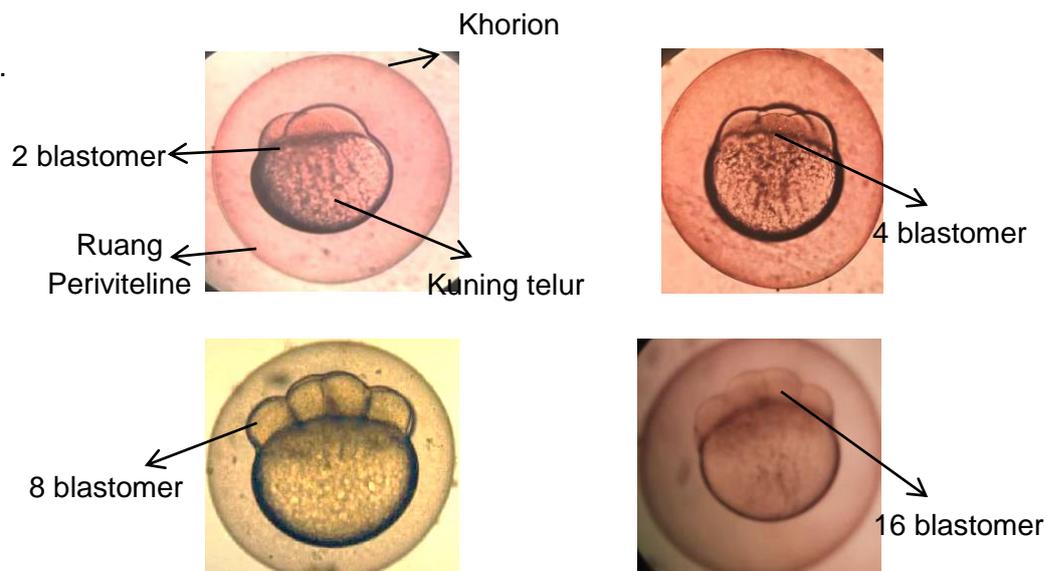


## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Perkembangan Embrio

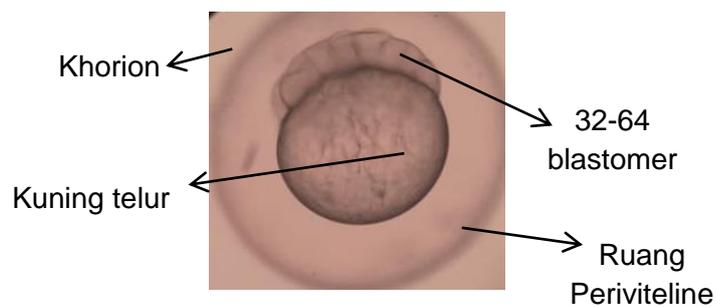
Pengamatan perkembangan embrio dilakukan setelah fertilisasi. Pembuahan terjadi ketika spermatozoa masuk ke dalam sel telur melewati lubang mikروفil kemudian berkembang menjadi zigot untuk berkembang lebih lanjut yang disebut embriogenesis. Menurut Haviz (2014), embriogenesis merupakan proses pembentukan dan pertumbuhan secara progresif dari sebuah sel menuju pridi organ yang sering disebut dengan organogenesis.

Pembelahan awal (zigot) ditandai dengan adanya pembelahan 1 sel yang disebut blastomer. Selanjutnya telur akan membelah secara bertahap yang disebut fase pembelahan (*cleavage*), dari 2 sel, 4 sel, 8 sel hingga 16 sel (Gambar 9). Menurut Ardhardiansyah *et al.* (2017), menyatakan bahwa selama fase pembelahan akan terjadi pembelahan sel tahap 1 (dua blastomer), pembelahan 2 (empat blastomer), membelah lagi menjadi delapan blastomer, 16 blastomer dan 32 blastomer



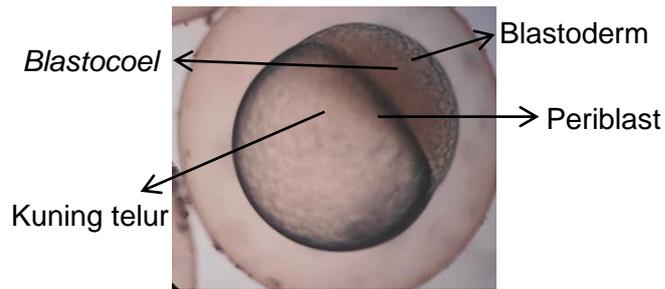
**Gambar 9.** Pembelahan Sel (2-16 blastomer) embrio ikan zebra (Dokumentasi Pribadi, 2018)

Fase pembelahan selanjutnya yakni fase morula dimana jumlah blastomer mencapai 32 buah hingga 64 blastomer (Gambar 10). Pada perlakuan K (0 ppm) fase morula terjadi di menit ke-125.67, perlakuan A (250 ppm) fase morula terjadi menit ke-112.67, perlakuan B (500 ppm) fase morula terjadi menit ke-102.33, perlakuan C (750 ppm) fase morula terjadi menit ke-116 dan perlakuan D (1.000 ppm) fase morula terjadi menit ke-122.33. Menurut Buzollo *et al* (2011), fase morula sering dicirikan dengan jumlah blastomer lebih dari 64 sel yang akan membentuk seperti kumpulan sel. Dari tahapan ini juga memungkinkan untuk pembentukan awal dari lapisan kuning telur yang disebut *periblast*.



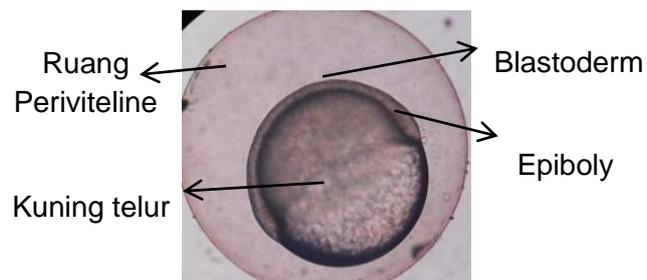
**Gambar 10.** Stadia Morula Embrio Ikan Zebra (Dokumentasi Pribadi, 2018)

Stadia blastula merupakan tahapan setelah tahap morula berakhir. Pada perlakuan K (0 ppm) fase blastula terjadi di menit ke-196, perlakuan A (250 ppm) fase blastula terjadi di menit ke-192.33, perlakuan B (500 ppm) fase blastula terjadi di menit ke-191, perlakuan C (750 ppm) fase blastula terjadi di menit ke-198.67 dan perlakuan D (1.000 ppm) fase blastula terjadi di menit ke-195. Fase blastula (Gambar 11) dimulai dengan banyaknya blastomer serta terbentuknya dengan jelas lapisan yang membentuk sebuah rongga berisi cairan. Menurut Buzollo *et al* (2011), pada fase blastula, blastoderm akan membentuk seperti mangkok. Sel-sel akan tetap membelah, hal utama dari fase ini yakni muncul rongga diantara blastomer yang berisi cairan. Pada tahap ini merupakan tahap pertama terjadinya gerakan *epiboly*.



**Gambar 11.** Stadia Blastula Embrio Ikan Zebra (Dokumentasi Pribadi, 2018)

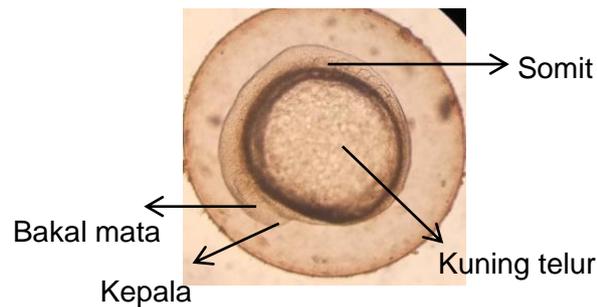
Fase gastrula dicirikan dengan lapisan blastomer bergerak melapisi kuning telur hingga menuju kutub vegetatif sehingga terbentuk dua lapisan yang menutupi permukaan kuning telur (Gambar 12). Pada pengamatan didapatkan hasil perlakuan K (0 ppm) memasuki fase gastrula di menit ke-400.67, perlakuan A (250 ppm) menit ke-404, perlakuan B (500 ppm) menit ke-401, perlakuan C (750 ppm) menit ke-426 dan perlakuan D (1.000 ppm) menit ke-429. Menurut Zaucker *et al* (2014), pada saat tahapan gastrula, blastomer akan bergerak di atas kuning telur. Pada fase ini terjadi konvergensi sel pada satu sisi embrio yang menghasilkan penebalan berbentuk perisai, hal inilah yang menjadi cikal bakal dari sumbu embrio. Sumbu embrio ini akan meluas dari anterior sampai posterior menghasilkan batang saraf.



**Gambar 12.** Stadia Gastrula Embrio Ikan Zebra (Dokumentasi Pribadi, 2018)

Stadia neurula adalah fase dimana terbentuknya susunan saraf pusat dimana mulai terdapat ruas-ruas pada embrio seperti notokhord, somit dan titik mata (Gambar 13). Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Zalina *et al.* (2012), bahwa somit merupakan ruas atau segmen yang mulai muncul disepanjang

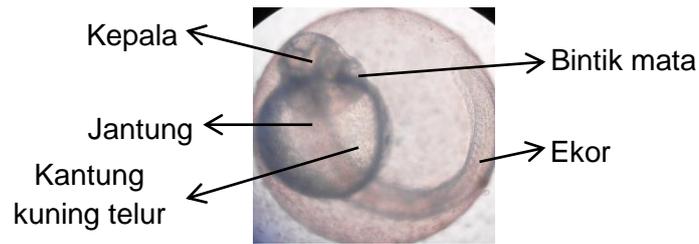
tubuh embrio dengan warna yang tidak begitu jelas, somit mulanya berjumlah 4, 6, 9, 12 hingga 19 buah dan akan semakin bertambah jumlahnya hingga telur menetas. Pada pengamatan didapatkan hasil perlakuan K (0 ppm) menit ke-400.67, perlakuan A (250 ppm) menit ke-756.33, perlakuan B (500 ppm) menit ke-802.33, perlakuan C (750 ppm) menit ke-892.33 dan perlakuan D (1.000 ppm) menit ke-876.33.



**Gambar 13.** Stadia Neurula Embrio Ikan Zebra (Dokumentasi Pribadi, 2018)

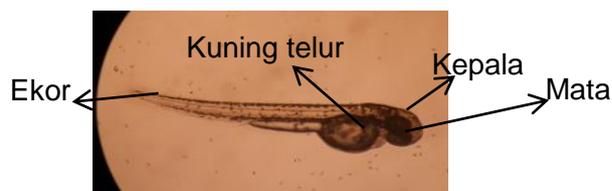
Proses organogenesis merupakan proses dimana munculnya segmen-segmen pada bagian tubuh embrio. Terlihat bentukan tulang belakang yang menjadi cikal bakal ekor. Tubuh embrio juga akan mengalami pemanjangan serta bisa bergerak di dalam cangkang telur (Gambar 14). Pada pengamatan didapatkan hasil perlakuan K (0 ppm) menit ke-1227 menit, perlakuan A (250 ppm) menit ke-1269.67, perlakuan B (500 ppm) menit ke-1283.67, perlakuan C (750 ppm) menit ke-1402.67 dan perlakuan D (1.000 ppm) menit ke-1530.

Organogenesis terjadi dengan terbentuknya organ-organ penting. Menurut Buzollo *et al.* (2011), setelah melewati neurula kemudian perkembangan embrio dicirikan dengan munculnya bentuk ekor yang lebih jelas dan jumlah somit lebih dari 30 somit. Pada fase ini, terlihat notokhord memanjang dari kepala hingga daerah kaudal, usus berkembang dari lapisan endoderm dan lumen usus dapat diamati. Somit akan mengalami miogenesis yang akhirnya membentuk otot. Kromatofora yang terletak di tepi kantung kuning telur mulai bermigrasi sehingga dapat diamati di beberapa bagian tubuh embrio.



**Gambar 14.** Stadia Organogenesis (Dokumentasi Pribadi, 2018)

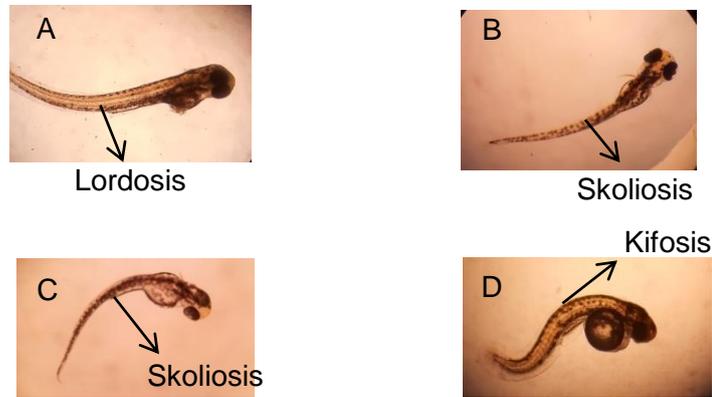
Proses akhir dari embriogenesis yakni ekor embrio keluar dari lapisan chorion (Gambar 15). Organ-organ yang telah nampak sempurna mulai mudah untuk diamati. Pada pengamatan didapatkan hasil perlakuan K (0 ppm) menetas menit ke-3034 menit, perlakuan A (250 ppm) menit ke-3209, perlakuan B (500 ppm) menit ke-3286.33, perlakuan C (750 ppm) menit ke-3395 dan perlakuan D (1.000 ppm) menit ke-3471.67. Menurut Kimmel *et al.* (1995), embrio ikan zebra yang menetas mulai menampilkan morfogenesis atau perubahan dari banyak organ sehingga lebih jelas terlihat, seperti organ usus. Sirip pektoral juga berkembang selama awal masa penetasan. Pada tahap ini mulai nampak warna melanophore dan juga xantrophore di bagian lateral.



**Gambar 15.** Embrio Menetas (Dokumentasi Pribadi, 2018)

Pada perlakuan A (250 pm), B (500 ppm), C (750 ppm) dan D (1.000 ppm) embrio yang baru menetas diketahui mengalami pembengkokan tulang (Gambar 16) serta ukurannya lebih kecil dibandingkan larva awal menetas normal yang memiliki tubuh lurus. Semakin tinggi dosis MSG maka pembengkokan tulang semakin nampak jelas. Menurut penelitian Elefteriou *et al.* (2003), MSG dapat menyebabkan gangguan fungsi endokrin yang bertanggung jawab untuk pemeliharaan dari banyak sistem di dalam tubuh. Gangguan ini

dapat memainkan peran dalam menyebabkan berbagai malformasi pada hewan yang uji menggunakan MSG berdampak pada perkembangan tulang yang kerdil dan perkembangan malformasi lainnya.

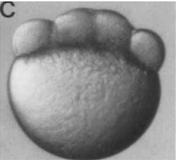
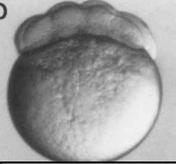
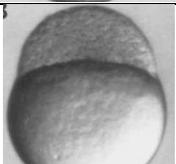
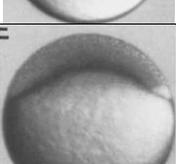
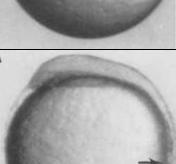
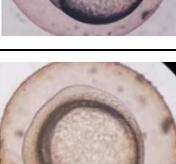
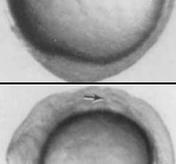
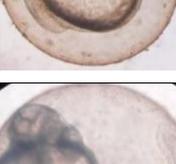
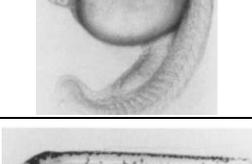


**Gambar 16.** Embrio Menetas Sesuai Perlakuan; (A) perlakuan 250 ppm; (B) perlakuan 500 ppm; (C) perlakuan 750 ppm; (D) perlakuan 1.000 ppm (Dokumentasi Pribadi, 2018)

Dari keseluruhan fase embrio dapat diketahui perkembangan masing-masing perkembangan embrio seperti yang dilihat pada Gambar 17.

**Gambar 17.** Hasil Pengamatan Terhadap Embrio Ikan Zebra Danio (Kimmel *et al.*, 1995).

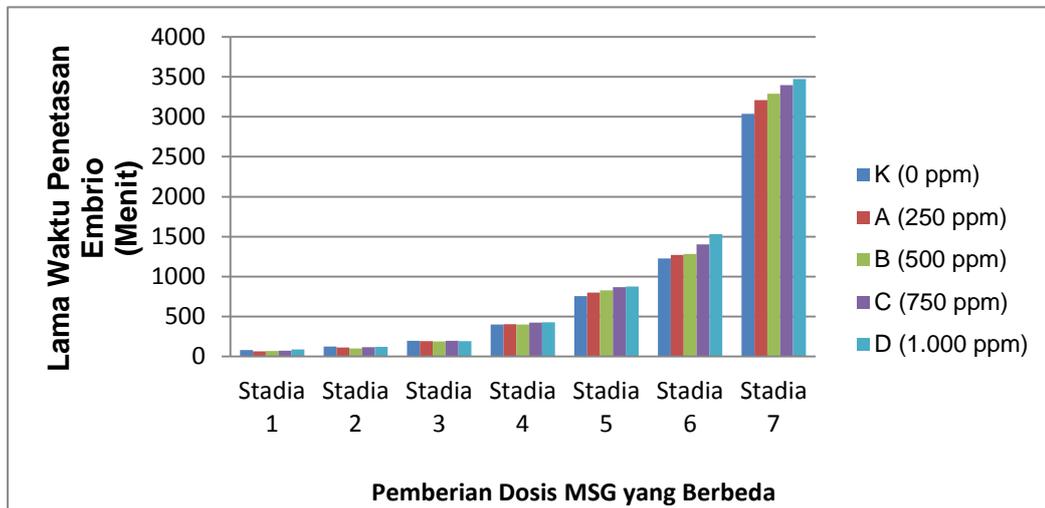
No	Fase	Literatur	Gambar Pengamatan
1	Zygot (1 sel)		
2	2 sel		
3	4 sel		

4	8 sel		
5	16 sel		
6	Morula		
7	Blastula		
8	Gastrula		
9	Neurula		
10	Organogenesis		
11	Menetas		

#### 4.2 Pengaruh MSG Terhadap Lama Penetasan Embrio

Untuk mengetahui dampak pemberian MSG terhadap keseluruhan fase embrio dapat diketahui dengan membandingkan lama masing-masing perkembangan embrio seperti yang dilihat pada Gambar 18. Lama masing-

masing perkembangan sampai dengan penetasan dibuat grafik untuk membandingkan antara lima perlakuan (K, A, B, C dan D). Dari grafik tersebut akan bisa dilihat perbedaan pada setiap perlakuan.



**Gambar 18.** Grafik hubungan antara perendaman MSG dosis yang berbeda dengan lama penetasan embrio ikan zebra mulai dari fertilisasi hingga menetas dimana stadia 1: zigot-pembelahan 16 sel (*cleavage*); stadia 2: Morula (32 sel); stadia 3: Blastula; stadia 4: Gastrula; stadia 5: Neurula; stadia 6: Organogenesis; stadia 7: menetas.

Hasil dari grafik memperlihatkan bahwa perendaman embrio dengan dosis MSG yang berbeda memberikan pengaruh terhadap lama penetasan embrio, yaitu semakin tinggi dosis MSG maka semakin lama pula perkembangan embrio. Pada grafik di atas memperlihatkan bahwa pada stadia 1 hingga stadia 4 waktu perkembangan embrio pada masing-masing perlakuan tidak terlalu berbeda, namun pada stadia 5 (Neurula) hingga stadia 7 (Menetas) terlihat adanya perbedaan dimana semakin tinggi dosis MSG maka menjadi lebih lama embrio menetas. Terganggunya perkembangan serta penetasan merupakan indikasi bahwa MSG mempengaruhi embrio. Menurut Mindiya *et al* (2017), MSG yang menembus otak janin dapat menyebabkan destruksi nukleus arkuata hipotalamus yang kemudian dapat memicu gangguan endokrin dan penurunan sekresi *growth hormone releasing Hormone* (GHRH) dan *growth hormone*.

Monosodium glutamat bersifat eksitotoksik pada otak yang masih dalam tahap pembentukan dan perkembangan seperti pada fetus dan fase neonatal.

Waktu akumulasi perkembangan embrio ikan zebra pada masing-masing perlakuan disajikan pada Lampiran 2. Adanya hubungan paparan MSG dengan lama penetasan embrio dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Rerata Lama Penetasan Embrio

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
K (0 ppm)	51.13	50.38	50.18	151.69	51.13
A (250 ppm)	51.82	52.97	54.67	159.46	51.82
B (500 ppm)	56.32	54.25	59.75	170.32	56.32
C (750 ppm)	56.75	57.58	58.42	172.75	56.75
D (1.000 ppm)	61.8	60.95	60.83	183.58	61.8
Total				837.8	

Selanjutnya dilakukan perhitungan analisis sidik ragam, terlebih dahulu data tersebut dilakukan uji kenormalan data. Hasil uji kenormalitasan lama penetasan menyatakan data normal dan dapat dilihat pada lampiran 3. Berdasarkan analisa sidik ragam lama penetasan embrio Ikan Zebra dapat diperoleh hasil pada Tabel 4 berikut.

**Tabel 4.** Sidik Ragam Lama Penetasan Embrio Ikan Zebra

Sumber Keragaman	DB	JK	KT	Fhitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	202.89	50.722	23.05**	3.48	5.99
Acak	10	22	2.2			
Total	14	224.89				

Keterangan: \*\* (Berbeda sangat nyata)

Dari hasil perhitungan analisa sidik ragam pada Tabel 4 menunjukkan bahwa F hitung lebih besar daripada F tabel 5% dan F tabel 1%. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan MSG dengan dosis yang berbeda memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap lama penetasan embrio Ikan Zebra. Dengan demikian menunjukkan bahwa hipotesis yang diterima pada penelitian ini adalah H1. Bahwa MSG memberikan pengaruh pada perkembangan dan lama

penetasan embrio ikan zebra. MSG yang terlalu tinggi menyebabkan kerusakan pada hypothalamus sehingga mengganggu metabolisme, oleh hal ini MSG dikategorikan sebagai zat toksik bagi sistem saraf. Menurut Anurogo dan Ikrar (2014), *Excitotoxicity* dipicu oleh pelepasan glutamat yang berlebihan dari ruang ekstraseluler. Akibatnya, terjadi overstimulan reseptor-reseptor glutamat, terutama reseptor-reseptor NMDA. Overstimulasi reseptor memicu *influx*  $Ca_2^+$  (dan  $Na^+$ ) yang berlebihan melalui “*glutamate receptor-gated ion channels*”. Hasil kombinasi dari peningkatan volume intraseluler dan kelebihan ion  $Ca_2^+$  menginduksi berbagai kekacauan metabolik letal (*lethal metabolic derangements*), pembengkakan organel internal, dan kegagalan membran plasma yang memicu terjadinya nekrosis.

Selanjutnya dilakukan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui berapa dosis MSG yang sangat berpengaruh terhadap lama penetasan seperti pada Tabel 5 berikut.

**Tabel 5.** Tabel BNT Lama Penetasan Embrio Ikan Zebra

Rerata Perlakuan		K	A	B	C	D	Notasi
		50.56	53.15	56.77	57.58	61.19	
<b>K</b>	50.56	-	-	-	-	-	a
<b>A</b>	53.15	2.59 <sup>ns</sup>	-	-	-	-	a
<b>B</b>	56.77	6.21 <sup>**</sup>	3.62 <sup>**</sup>	-	-	-	b
<b>C</b>	57.58	7.02 <sup>**</sup>	4.43 <sup>**</sup>	0.81 <sup>ns</sup>	-	-	b
<b>D</b>	61.19	10.63 <sup>**</sup>	8.04 <sup>**</sup>	4.42 <sup>**</sup>	3.61 <sup>**</sup>	-	c

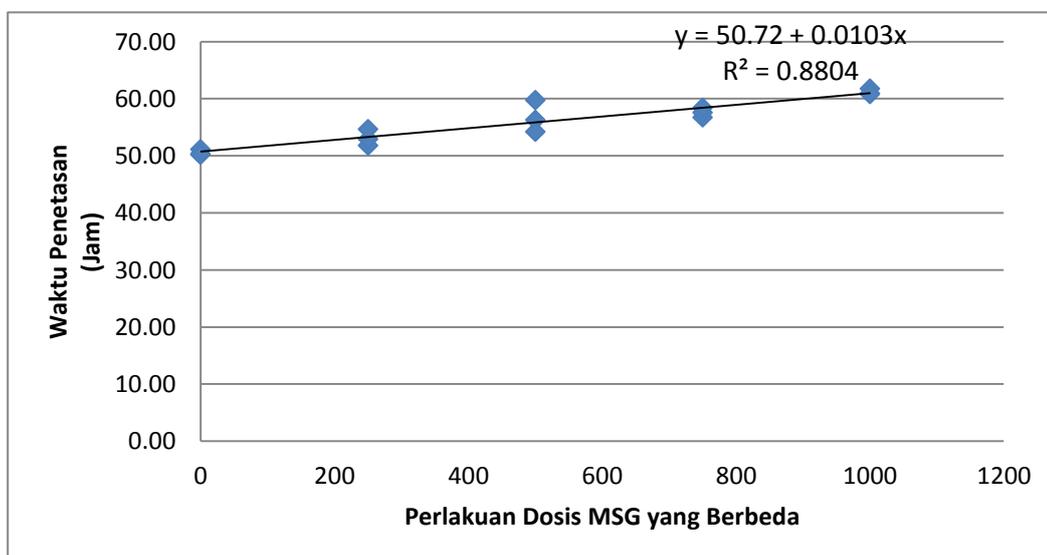
Keterangan : ns (Tidak berbeda nyata)

\*\* (Berbeda sangat nyata)

Dari Tabel uji BNT diatas diketahui bahwa perlakuan K (0 ppm) memberikan hasil tidak berpengaruh sangat nyata terhadap perlakuan A (250 ppm). Perlakuan A (250 ppm) berbeda sangat nyata dengan perlakuan B (500 ppm). Perlakuan B (500 ppm) tidak berbeda nyata dengan perlakuan C (750 ppm). Sedangkan perlakuan C (750 ppm) berbeda sangat nyata dengan

perlakuan D (1.000 ppm). Dari data di atas dapat diketahui bahwa semakin tinggi MSG maka semakin besar pula akumulasi Glutamat dalam neuron yang berakibat berbahaya. Hal ini sesuai dengan pendapat Erward (2010), Glutamat adalah suatu transmiter eksitatori asam amino susunan saraf pusat utama pada mamalia dan berfungsi menghubungkan sebagian besar transmisi sinaptik eksitator di otak, oleh karena itu glutamat disebut juga sebagai neurotransmitter. Glutamat disimpan dalam vesikel sinaptik pada neuron. Apabila terjadi kelebihan glutamat dapat menimbulkan kerusakan neuron (neurotoksin).

Setelah dilakukan uji BNT kemudian dilakukan analisa *polinomial ortogonal* untuk mengetahui bentuk kurva regresi dan hubungan antara dosis MSG berbeda terhadap lama penetasan telur Ikan Zebra. Untuk lebih jelasnya mengenai hasil analisa *polinomial ortogonal* dapat dilihat pada Lampiran 3. Kurva regresi daya tetas telur Ikan Zebra disajikan pada Gambar 19.



**Gambar 19.** Kurva Regresi Lama Penetasan Embrio Ikan Zebra

Berdasarkan hubungan antara perbedaan dosis MSG terhadap lama penetasan pada gambar diatas dapat diketahui bahwa pola kurva membentuk linier dengan persamaan  $y = 50.72 + 0.0103x$  dengan nilai  $R^2$  (koefisien determinasi) = 0.8804. Nilai korelasi positif positif dapat dikatakan bahwa

pemberian MSG yang semakin tinggi akan semakin memperlambat penetasan embrio bahkan sampai berpengaruh pada kelangsungan hidup embrio. Menurut Abdulgani (2001), fase embrio merupakan fase rawan. Bahan toksik dapat mempengaruhi fase perkembangan embrio hewan perairan pada saat gastrula, awal neurula dan fase organogenesis.

#### 4.3 Hatching Rate (HR)

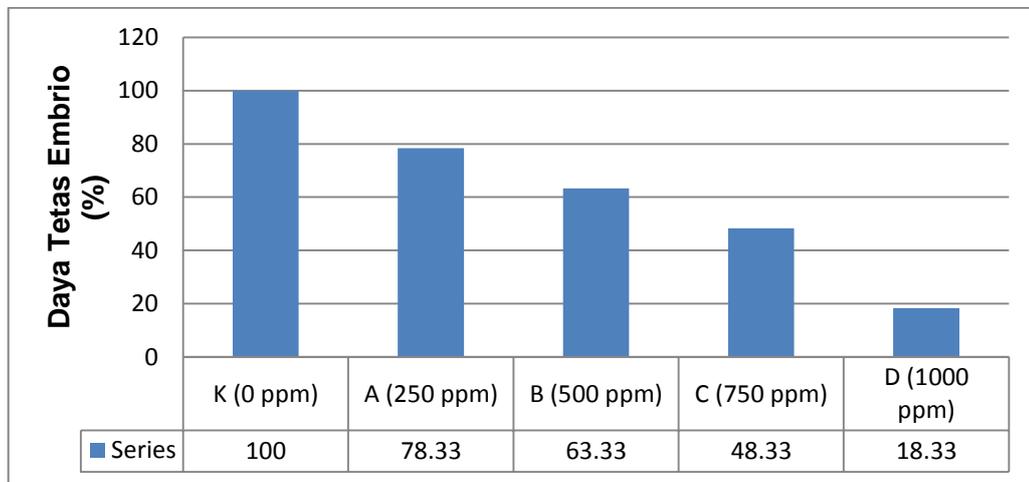
Hasil pengamatan yang telah dilakukan kemudian diakumulasi dan didapatkan nilai *Hatching Rate* (HR) pada masing-masing perlakuan seperti yang disajikan pada Tabel 6.

**Tabel 6.** Akumulasi Data Derajat Penetasan (*Hatching Rate*)

Perlakuan	Ulangan (%)			Total	Rerata (%)
	1	2	3		
K (0 ppm)	100	100	100	300	100
A (250 ppm)	85	75	75	235	78.33
B (500 ppm)	65	65	60	190	63.33
C (750 ppm)	40	55	50	145	48.33
D (1.000 ppm)	20	15	20	55	18.33
Total				925	

Berdasarkan hasil pengamatan persentase penetasan embrio ikan zebra setelah 72 jam pembuahan didapatkan hasil rata-rata persentase pada masing-masing perlakuan diantaranya pada perlakuan K (0ppm) 100%, perlakuan A (250 ppm) 78.33 %, perlakuan B (500 ppm) 63.33 %, perlakuan C (750 ppm) 48.33% dan perlakuan D (1.000 ppm) 18.33%. Dari data Tabel 3 maka dapat dilihat bahwa perlakuan D (1.000 ppm) menghasilkan nilai HR terendah. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Begum *et al.* (2012), MSG memiliki dampak terhadap kerja fisiologi *vertebrate* maupun *invertebrate*. Tingkat kematian meningkat dengan meningkatnya dosis MSG sampai 10 gr karena MSG yang berlebihan merupakan bahan beracun yang dapat mematikan otak atau dengan mengganggu keseimbangan ion  $Na^+/K^+$  dari sistem ekskretoris.

Dari keseluruhan data *Hatching Rate* pada masing-masing perlakuan, mulai daridapat dibuat grafik seperti yang dilihat pada Gambar 20.



**Gambar 20.** Grafik Persentase Penetasan Embrio Ikan Zebra

Dari grafik di atas memperlihatkan bahwa semakin tinggi pemberian dosis MSG maka semakin rendah nilai daya tetas embrio. Perlakuan D (1.000 ppm) menunjukkan hasil HR paling rendah sedangkan perlakuan K (0 ppm) menunjukkan hasil HR paling tinggi. Tingginya persentase penetasan embrio pada perlakuan K (0 ppm) dikarenakan media inkubasi tidak mengandung bahan yang dapat mengganggu penetasan embrio. Menurut data yang diperoleh dari Walker dan Lupien (2000), pada percobaan menggunakan tikus dan mencit diketahui dosis *lethal* yakni 15.000-18.000 mg/kg berat tubuh. Glutamat dalam dosis tinggi menyebabkan eksitasi terus menerus pada neuron dan menyebabkan kerusakan pada hipotalamus. Dimana menurut Gusrina (2014), hipotalamus berhubungan dengan hipofisa yang mampu merangsang keluarnya enzim *chorionase* untuk membantu dalam penetasan.

Data hasil penelitian dilakukan uji kenormalitasan data dengan SPSS. Hasil uji kenormalitasan data daya tetas telur menyatakan data normal dan dapat dilihat pada lampiran 4. Berdasarkan analisa sidik ragam lama penetasan embrio Ikan Zebra dapat diperoleh hasil pada Tabel 7 berikut.

**Tabel 7.** Sidik Ragam *Hatching Rate*

Sumber Keragaman	DB	JK	KT	Fhitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	11416.67	2854.17	131.73**	3.48	5.99
Acak	10	216.67	21.667			
Total	14	11633.33				

Keterangan: \*\* (Berbeda sangat nyata)

Dari hasil perhitungan analisa sidik ragam pada Tabel 4 menunjukkan bahwa F hitung lebih besar daripada F tabel 5% dan F tabel 1%. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan MSG dengan dosis yang berbeda memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap daya tetas telur Ikan Zebra. Embrio merupakan fase awal dari kehidupan dimana sangat dipengaruhi oleh lingkungan. Bila lingkungan buruk atau terdapat zat toksik maka bisa berpengaruh kepada penetasannya seperti pendapat Anderon dan D'Appolonia (1978), yang menyatakan bahwa saat tahap perkembangan embrio yang sedang berdeferensiasi merupakan masa sensitif terhadap bahan cemaran atau toksik.

Selanjutnya dilakukan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui notasi. Hasil uji BNT dapat dilihat pada Tabel 8 berikut ini.

**Tabel 8.** Tabel BNT *Hatching Rate*

Rerata Perlakuan		D	C	B	A	K	Notasi
		18.33	48.33	63.33	78.33	100	
<b>D</b>	18.33	-	-	-	-	-	a
<b>C</b>	48.33	30**	-	-	-	-	b
<b>B</b>	63.33	45**	15**	-	-	-	c
<b>A</b>	78.33	60**	30**	15**	-	-	d
<b>K</b>	100	81.67**	51.67**	36.67**	21.67**	-	e

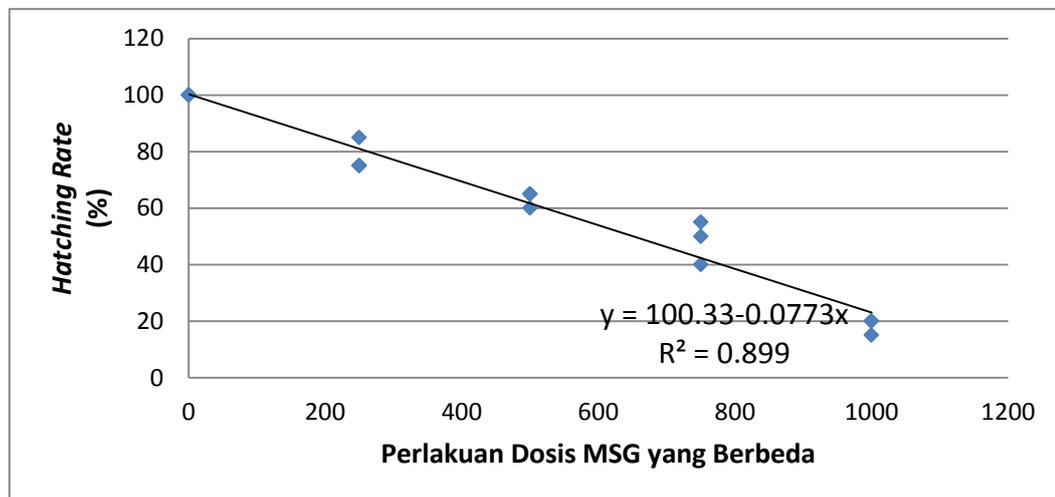
Keterangan : ns (Tidak berbeda nyata)

\*\* (Berbeda sangat nyata)

Dari Tabel uji BNT diatas diketahui bahwa HR terendah pada perlakuan D (1.000 ppm) menunjukkan hasil tidak berbeda nyata dengan perlakuan C (750 ppm). Perlakuan C (750 ppm) berbeda sangat nyata dengan perlakuan B (500 ppm).

ppm). Perlakuan B (500 ppm) berbeda sangat nyata dengan perlakuan A (250 ppm). Perlakuan A (250 ppm) berbeda sangat nyata terhadap perlakuan K (0 ppm). Pada perlakuan K (0 ppm) memperlihatkan bahwa tingkat HR tanpa paparan MSG menunjukkan persentase menetas mencapai 100%. Menurut Ochiogu *et al.* (2016), MSG termasuk *excitotoxicity*. Perkembangan vertebrata berlangsung dalam urutan dari tingkat sel ke pembentukan jaringan, sistem organ, dan struktur morfologi. Gangguan dalam salah satu proses perkembangan normal berpotensi mengubah pertumbuhan dan morfogenesis tahap selanjutnya dan menghasilkan malformasi. Hasil merugikan dari paparan toksisitas perkembangan tidak terbatas pada malformasi, tetapi juga mengurangi fungsi normal organ, pertumbuhan, dan menyebabkan kematian

Setelah dilakukan uji BNT kemudian dilakukan analisa *polinomial ortogonal* untuk mengetahui bentuk kurva regresi (Gambar 21). Untuk lebih jelasnya mengenai hasil analisa *olinomial ortogonal* disajikan pada Lampiran 4.



**Gambar 21.** Kurva Regresi HR (*Hatching Rate*)

Berdasarkan hubungan antara perbedaan dosis MSG terhadap lama penetasan pada gambar diatas dapat diketahui bahwa pola kurva membentuk linier dengan persamaan  $y = 100.33 - 0.0773x$  dengan nilai korelasi negatif yang artinya semakin tinggi dosis MSG menurunkan HR. Nilai  $R^2$  (koefisien

determinasi) = 0.899. Nilai  $R^2$  tersebut dapat dikatakan bahwa pemberian dosis MSG yang semakin banyak akan menurunkan tingkat penetasan embrio pada ikan zebra.

#### 4.4 Denyut Jantung

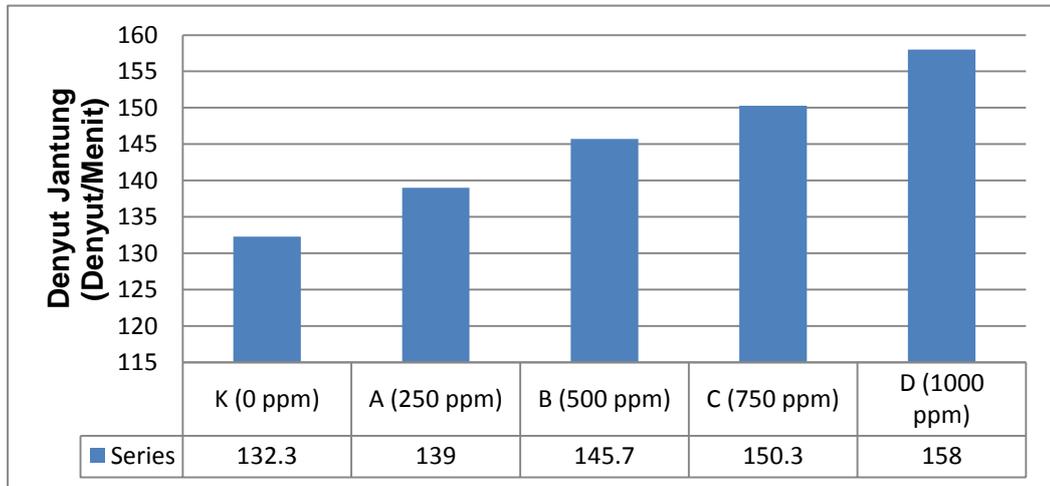
Parameter selanjutnya yang diamati yakni denyut jantung. Hasil pengamatan yang telah dilakukan, didapatkan nilai akumulasi denyut jantung pada masing-masing perlakuan di setiap ulangan disajikan pada Tabel 9.

**Tabel 9.** Akumulasi Data Denyut Jantung

Perlakuan	Ulangan (denyut/menit)			Total	Rerata (denyut/menit)
	1	2	3		
K (0 ppm)	132	133	132	397	132.3
A (250 ppm)	137	140	139	416	139
B (500 ppm)	145	144	148	437	145.7
C (750 ppm)	150	148	153	451	150.3
D (1.000 ppm)	159	156	150	465	155
Total				2166	

Berdasarkan hasil pengamatan denyut jantung embrio ikan zebra sampai menetas didapatkan hasil rata-rata pada masing-masing perlakuan diantaranya pada perlakuan K (0 ppm) sebanyak 132.3 denyut/menit, perlakuan A (250 ppm) 139 denyut/menit, perlakuan B (500 ppm) 145.7 denyut/menit, perlakuan C (750 ppm) 150.3 denyut/menit dan perlakuan D (1.000 ppm) 155 denyut/menit. Banyak denyut jantung terendah terdapat pada perlakuan K (0 ppm) sedangkan yang tertinggi pada perlakuan D (1.000 ppm). Peningkatan frekuensi denyut jantung menunjukkan adanya respon fisiologi terhadap lingkungan. Menurut Afandi *et al.* (2014), organ vital yang peka terhadap suatu kondisi terhadap lingkungannya yakni jantung. Kinerja jantung merupakan salah satu tanda vital dari tubuh. Denyut jantung merupakan gambaran reaksi psikologis tubuh terhadap lingkungan sekitarnya. Denyut jantung dapat naik atau turun karena terpengaruh stress ataupun pada saat fase istirahat.

Hasil pengamatan yang telah dilakukan, didapatkan rerata denyut jantung pada masing-masing perlakuan disajikan pada Gambar 22.



**Gambar 22.** Grafik Denyut Jantung

Berdasarkan hasil pengamatan denyut jantung embrio ikan zebra setelah 72 jam paska pembuahan didapatkan hasil rata-rata pada masing-masing perlakuan diantaranya pada perlakuan K (0ppm) sebanyak 132/menit, perlakuan A (250 ppm) 139/menit, perlakuan B (500 ppm) 145.7/menit, perlakuan C (750 ppm) 150.3/menit dan perlakuan D (1.000 ppm) 158/menit. Nilai denyut jantung terendah pada perlakuan K (0 ppm) sedangkan yang tertinggi terdapat pada perlakuan D (1.000 ppm). Menurut Prihatno dan Sudadi (2013), perubahan biokimia yang terkait dengan pelepasan berlebihan glutamat dan aktivasi reseptor glutamate, berhubungan erat dengan peningkatan ion kalsium intraseluler, yang memicu sejumlah peristiwa yang menyebabkan berbagai kerusakan dalam tubuh.

Dijelaskan lebih lanjut oleh Kurniawan (2015), sinyal  $Ca_2^+$  adalah salah satu sistem sinyal utama di dalam sel. Sinyal  $Ca_2^+$  ini berfungsi untuk mengatur banyak proses seluler. Sebagai salah satu *second messenger*,  $Ca_2^+$  intrasel berperan penting dalam regulasi fungsi sel, dimana regulasi ini diatur oleh keseimbangan  $Ca_2^+$  intrasel. Perubahan  $Ca_2^+$  secara mendadak mengganggu

homestatisnya sehingga dapat menyebabkan kelainan dalam berbagai jaringan, termasuk tulang, jantung dan otot polos.

Data hasil akumulasi denyut jantung terlebih dahulu data tersebut dilakukan uji kenormalitasan data dengan SPSS. Hasil uji kenormalitasan data denyut jantung menyatakan data normal dan dapat dilihat pada lampiran 6. Berdasarkan analisa sidik ragam denyut jantung dapat diperoleh hasil pada Tabel 10 berikut.

**Tabel 10.** Sidik Ragam Denyut Jantung

Sumber Keragaman	DB	JK	KT	Fhitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	1195.33	298.83	91.48**	3.48	5.99
Acak	10	32.67	3.267			
Total	14	1228				

Keterangan: \*\* (Berbeda sangat nyata)

Dari hasil perhitungan analisa sidik ragam pada Tabel 10 menunjukkan bahwa F hitung lebih besar daripada F tabel 5% dan F tabel 1%. Hal ini menunjukkan bahwa terjadi peningkatan denyut jantung pada setiap penambahan dosis MSG. Menurut Kazmi *et al.* (2017), dari laporan yang diperoleh bahwa efek dari MSG salah satunya yakni mengalami *Chinese restaurant syndrome* yang ditandai dengan peningkatan detak jantung serta denyut jantung yang tidak beraturan.

Selanjutnya dilakukan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui notasi serta perlakuan apa yang memberikan pengaruh nyata terhadap denyut jantung. Hasil uji BNT dapat dilihat pada Tabel 14 berikut ini.

**Tabel 11.** Tabel BNT Denyut Jantung

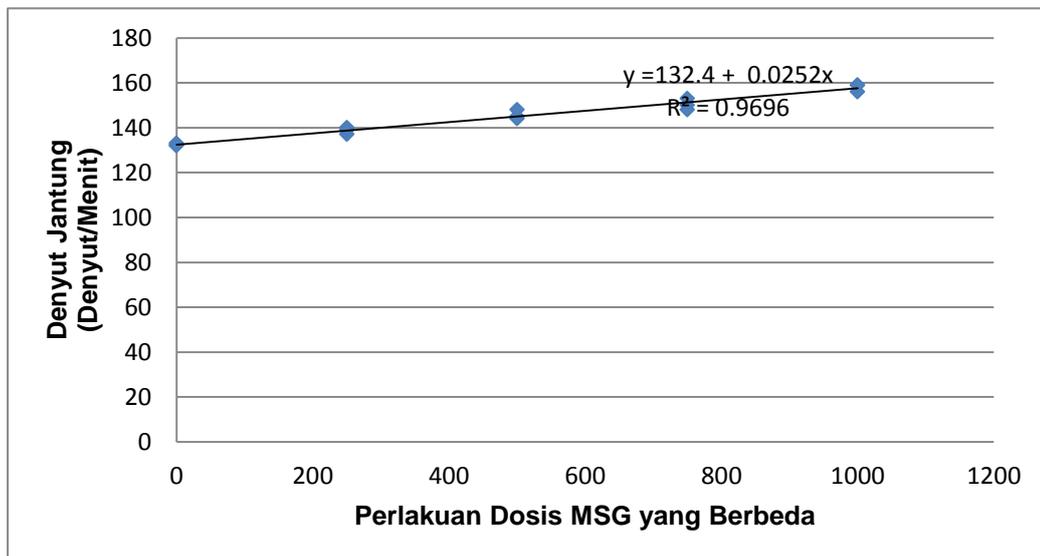
Rerata Perlakuan		K	A	B	C	D	Notasi
		132.33	138.67	145.67	150.33	158	
<b>K</b>	132.33	-	-	-	-	-	a
<b>A</b>	138.67	6.33**	-	-	-	-	b
<b>B</b>	145.67	13.33**	7**	-	-	-	c
<b>C</b>	150.33	18**	11.67**	4.67**	-	-	d
<b>D</b>	158	25.67**	19.33**	12.33**	7.67**	-	e

Keterangan : ns (Tidak berbeda nyata)

\*\* (Berbeda sangat nyata)

Dari Tabel uji BNT diatas diketahui bahwa perlakuan K (0 ppm) berbeda sangat nyata dengan perlakuan A (250 ppm). Perlakuan A (250 ppm) berbeda sangat nyata dengan perlakuan B (500 ppm). Perlakuan B (500 ppm) berbeda sangat nyata dengan perlakuan C (750 ppm) dan perlakuan C (750 ppm) berbeda sangat nyata dengan perlakuan D (1.000 ppm). Jantung merupakan organ penting dalam tubuh. Adanya gangguan akan berdampak terhadap kerja jantung. Menurut Mei (2010), kelebihan ion kalsium menyebabkan efek yang hampir berlawanan dengan efek ion kalium, menyebabkan jantung berkontraksi spastik. Sebaliknya defisiensi ion kalsium menyebabkan jantung lemas.

Setelah uji BNT kemudian dilakukan analisa *polinomial ortogonal* untuk mengetahui bentuk kurva regresi . Untuk lebih jelasnya mengenai hasil analisa *polinomial ortogonal* dapat dilihat pada Lampiran 6. Kurva regresi denyut jantung embrio Ikan Zebra disajikan pada Gambar 23.



**Gambar 23.** Kurve Regresi Denyut Jantung Ikan Zebra

Berdasarkan hubungan antara perbedaan dosis MSG terhadap denyut jantung pada gambar diatas dapat diketahui bahwa pola kurva membentuk linier dengan persamaan  $y = 132.4 + 0.0252x$  dengan hubungan korelasi positif. Nilai  $R^2$  (koefisien determinasi) = 0.9698. Nilai  $R^2$  tersebut dapat dikatakan bahwa

keterkaitan antara pemberian dosis MSG dengan denyut jantung 96%. Semakin tinggi memberikan dampak terhadap denyut jantung.

#### 4.5 Fluktuasi Konsumsi DO

Hasil pengamatan yang telah dilakukan, didapatkan akumulasi nilai fluktuasi konsumsi DO pada masing-masing perlakuan disajikan pada Tabel 11.

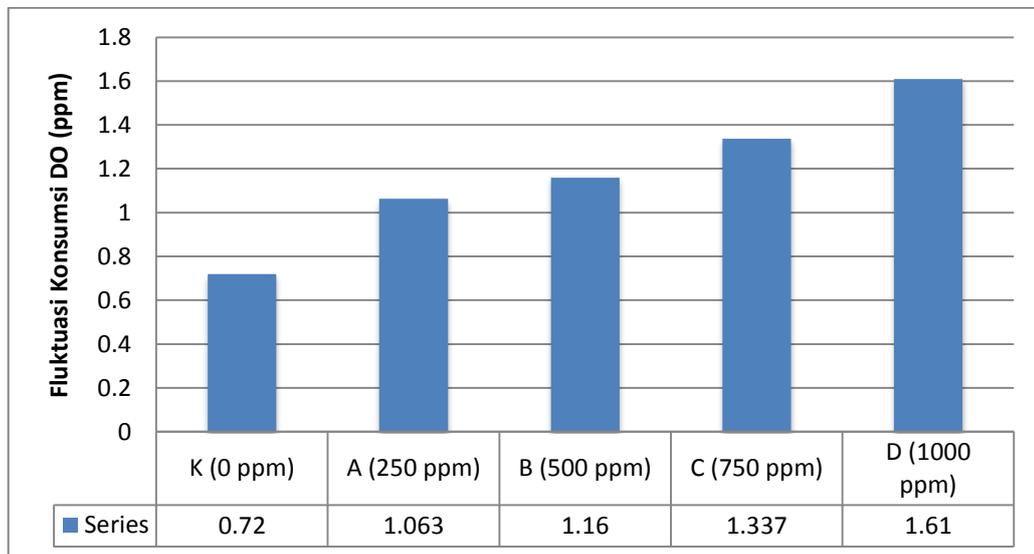
**Tabel 12.** Akumulasi Data Fluktuasi konsumsi DO

Perlakuan	Ulangan (ppm)			Total	Rerata (ppm)
	1	2	3		
K (0 ppm)	0.85	0.47	0.74	2.16	0.72
A (250 ppm)	0.92	0.84	1.02	3.19	1.063
B (500 ppm)	1.23	0.91	1.34	3.48	1.16
C (750 ppm)	1.47	1.24	1.3	4.01	1.337
D (1.000 ppm)	1.76	1.33	1.73	4.82	1.61
Total				17.66	

Berdasarkan hasil pengamatan fluktuasi konsumsi DO embrio ikan zebra sampai menetas didapatkan hasil rata-rata pada masing-masing perlakuan diantaranya pada perlakuan K (0ppm) sebesar 0.72 ppm, perlakuan A (250 ppm) 1.06 ppm, perlakuan B (500 ppm) 1.16 ppm, perlakuan C (750 ppm) 1.34 ppm dan perlakuan D (1.000 ppm) 1.61 ppm. Nilai fluktuasi konsumsi DO terendah pada perlakuan K (0 ppm) sedangkan yang tertinggi terdapat pada perlakuan D (1.000 ppm). Kebutuhan oksigen meningkat bila terjadi ketidak seimbangan di dalam tubuh. Hal ini bisa sebagai indikasi adanya tingkat stres atau adanya gangguan di dalam tubuh pada perlakuan MSG dengan dosis tinggi.

Menurut Royan *et al.* (2014), berbagai sumber stres baik berupa faktor lingkungan maupun faktor biotik akan mempunyai dampak negatif terhadap perubahan fisiologis tubuh hewan. Perubahan tersebut meliputi, gangguan pertumbuhan, produktivitas dan semua aktivitas yang merupakan akibat dari mekanisme homeostasis dalam tubuh yang terganggu atau mengalami ketidak seimbangan.

Dari keseluruhan data fluktuasi konsumsi DO masing-masing perlakuan dapat dibuat grafik seperti yang dilihat pada Gambar 24.



**Gambar 24.** Grafik Fluktuasi konsumsi DO

Dari hasil grafik diketahui bahwa semakin tinggi dosis MSG maka semakin besar pula konsumsi oksigen. Perlakuan D (1.000 ppm) menunjukkan nilai fluktuasi konsumsi DO paling tinggi sedangkan K (0 ppm) fluktuasi konsumsi DO paling sedikit. Peningkatan fluktuasi konsumsi DO menunjukkan adanya peningkatan konsumsi oksigen sebagai indikasi stress yang meningkat sebagai respon adaptasi terhadap lingkungan dan juga adanya kebutuhan energi yang besar. Hal ini sesuai dengan pendapat Putra (2015), bertambahnya kebutuhan oksigen bisa sebagai indikasi tingkat metabolisme dalam tubuh yang mengalami peningkatan. Selain itu peningkatan konsumsi oksigen juga menunjukkan adanya stress sehingga dibutuhkan banyak energi untuk menyesuaikan diri dengan kondisi lingkungan.

Data hasil penelitian terlebih dahulu data tersebut dilakukan uji kenormalitasan data dengan SPSS. Tujuan dari uji kenormalitasan digunakan untuk mengetahui normal tidaknya suatu data. Hasil uji kenormalitasan data fluktuasi konsumsi DO menyatakan data normal dan dapat dilihat pada lampiran

5. Berdasarkan analisa sidik ragam fluktuasi konsumsi DO dapat diperoleh hasil seperti yang disajikan pada Tabel 12 berikut.

**Tabel 13.** Sidik Ragam Fluktuasi konsumsi DO

Sumber Keragaman	DB	JK	KT	Fhitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	1.52	0.38	11.38**	3.48	5.99
Acak	10	0.34	0.034			
Total	14	1.86				

Keterangan: \*\* (Berbeda sangat nyata)

Dari hasil perhitungan analisa sidik ragam pada Tabel 12 menunjukkan bahwa F hitung lebih besar daripada F tabel 5% dan F tabel 1%. Hal ini menunjukkan bahwa terjadi peningkatan konsumsi oksigen pada penambahan dosis perlakuan. Adanya peningkatan oksigen bisa dikarenakan oleh beberapa faktor, diantaranya tingkat stress yang meningkat sehingga mempengaruhi kondisi fisiologis. Menurut Maharajan *et al.* (2013), menyatakan bahwa peranan pernafasan dan konsumsi oksigen adalah parameter fisiologis yang penting untuk menilai toksisitas racun.

Selanjutnya dilakukan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui notasi. Hasil uji BNT dapat dilihat pada Tabel 13 berikut ini.

**Tabel 14.** Tabel BNT Fluktuasi konsumsi DO

Rerata Perlakuan		K	A	B	C	D	Notasi
		0.69	0.93	1.16	1.34	1.61	
<b>K</b>	0.69	-	-	-	-	-	a
<b>A</b>	0.93	0.24 <sup>ns</sup>	-	-	-	-	a
<b>B</b>	1.16	0.47**	0.23 <sup>ns</sup>	-	-	-	b
<b>C</b>	1.34	0.65**	0.41*	0.18 <sup>ns</sup>	-	-	bc
<b>D</b>	1.61	0.92**	0.68**	0.45**	0.27 <sup>ns</sup>	-	c

Keterangan : ns (tidak berbeda nyata)

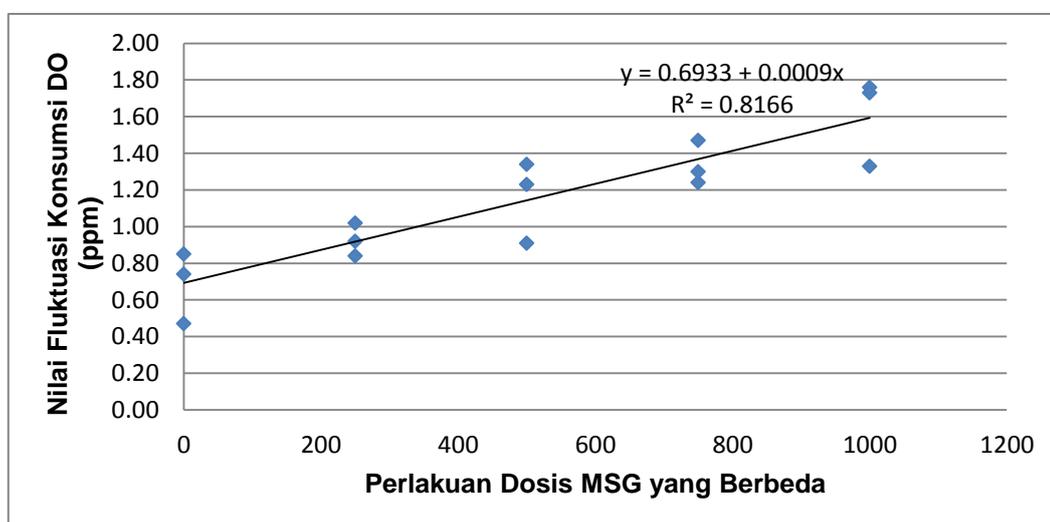
\* (Berbeda nyata)

\*\* (Berbeda sangat nyata)

Dari Tabel uji BNT diatas diketahui bahwa perlakuan K (0 ppm) tidak berbeda nyata dengan perlakuan A (250 ppm). Perlakuan A (250 ppm) berbeda sangat nyata dengan perlakuan B (500 ppm). Perlakuan B (500 ppm) tidak berbeda nyata dengan perlakuan C (750 ppm). Perlakuan C tidak berbeda nyata

dengan perlakuan D (1.000 ppm). Namun perlakuan B (500 ppm) berbeda sangat nyata dengan perlakuan D (1.000 ppm). Hal ini menunjukkan meningkatnya MSG membuat kebutuhan konsumsi oksigen juga semakin meningkat. Menurut Anurogo dan Ikrar (2014), ketika glutamat dalam jumlah yang banyak berkumpul di ruang sinaptik maka pompa ATP akan berusaha untuk mencegah akumulasi berlebihan glutamat. ATP juga bekerja untuk mengurangi kelebihan  $Ca_2^+$  di dalam sel. Meningkatnya kebutuhan ATP berpengaruh pada kebutuhan oksigen. Refdi *et al.* (2014), menjelaskan bahwa tubuh memiliki sistem homeostatis, dimana semakin banyak jumlah ATP yang dibutuhkan maka akan semakin banyak oksigen yang diperlukan dalam tubuh.

Setelah dilakukan uji BNT kemudian dilakukan analisa *polinomial ortogonal* untuk mengetahui bentuk kurva regresi . Untuk lebih jelasnya mengenai hasil analisa *polinomial ortogonal* dapat dilihat pada Lampiran 5. Kurva regresi daya tetas telur Ikan Zebra disajikan pada Gambar 25.



**Gambar 25.** Kurva Regresi Fluktuasi konsumsi DO

Berdasarkan hubungan antara perbedaan dosis MSG terhadap fluktuasi konsumsi DO pada gambar diatas dapat diketahui bahwa pola kurva membentuk linier dengan persamaan  $y = 0.6933 + 0.0009x$  dengan nilai korelasi postif  $R^2$  (koefisien determinasi) = 0.8166. Nilai  $R^2$  tersebut dapat dikatakan bahwa

pemberian dosis MSG yang tinggi juga dapat memberikan pengaruh terhadap banyaknya oksigen yang dibutuhkan.

#### 4.6 Kualitas Air

Ikan hias merupakan salah satu ikan hias yang disukai oleh kalangan masyarakat, selain mempertahankan kualitas sel telurnya, perkembangan embrionya juga dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Menurut Adipu *et al.* (2011), faktor eksternal yang berpengaruh terhadap daya tetas telur adalah lingkungan diantaranya temperatur air, oksigen terlarut, dan pH. Kisaran kualitas air selama penelitian disajikan pada Tabel 14.

**Tabel 15.** Kisaran Nilai Kualitas Air

Parameter	Kisaran	Literatur
Suhu ( $^{\circ}\text{C}$ )	25.4 – 26.78	25 – 30 (Sutisna dan Sutarmanto, 1995)
Oksigen Terlarut (ppm)	3.29 – 4.89	3,00-5,00 (Sutisna dan Sutarmanto, 1995)
pH	7.15 – 8.36	6,7 – 8,2 (Prihastuti <i>et al.</i> , 2013)

Data kualitas air secara terperinci pada Lampiran 6. Kisaran kualitas air selama penelitian diketahui masih sesuai dengan kriteria media inkubasi telur yang sesuai dengan pendapat Prihastuti *et al.* (2013) dan Sutisna dan Sutarmanto (1995).