

**PENGARUH PERBEDAAN KONSENTRASI AMONIA (NH₃)
TERHADAP WAKTU PERKEMBANGAN EMBRIO LANDAK LAUT
(*Tripneustes gratilla*)**

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

**SKRIPSI
MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

Oleh:
TAUFAN WIBOWO
NIM. 0610810070



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2013

RINGKASAN

TAUFAN WIBOWO. Skripsi tentang Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Amonia (NH_3) Terhadap Waktu Perkembangan Embrio Landak Laut (*tripneustes gratilla*) (dibawah bimbingan **Ir. M. Musa, MS** dan **Dr. Ir. Mohammad Mahmudi, MS**)

Seiring dengan perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi, kehidupan industri juga meningkat. Perkembangan dunia industri yang semakin pesat memberikan dampak positif bagi kehidupan manusia. Akan tetapi, pembangunan industri yang hanya mengutamakan kemajuan ekonomi tanpa memperhitungkan keadaan lingkungan menimbulkan penurunan kualitas lingkungan. Kehidupan industri sangat banyak menghasilkan zat buangan yang berbahaya. Pembuangan zat-zat tersebut secara sembarangan akan menyebabkan kerusakan lingkungan terutama pencemaran air. Selain itu, pencemaran air juga disebabkan oleh meningkatnya jumlah limbah domestik yang diakibatkan oleh bertambahnya jumlah penduduk di Indonesia. Baik limbah industri maupun limbah domestik berbahaya terhadap kualitas lingkungan hidup karena mengandung senyawa organik maupun anorganik. Salah satu senyawa organik yang dapat menimbulkan dampak negatif bagi lingkungan adalah amonia.

Bioindikator berperan penting untuk menentukan kondisi lingkungan hidup yang sebenarnya. Umumnya echinodermata merupakan hewan ideal untuk bahan uji ekotoksikologi laut. Selain mudah untuk didapatkan menurut Carnevali (2006) echinodermata memiliki siklus kehidupan yang cepat, mampu membentuk koloni, sehingga tidak dikhawatirkan terjadi penurunan populasi. Percobaan yang menggunakan telur, sperma, embrio dan juvenil serta landak laut dewasa dapat diamati dengan mudah di lapang. Untuk uji penelitian polusi laut, telur landak laut mempunyai keuntungan sebagai berikut : sederhana, mudah, cepat, sensitifitas tinggi, hasil yang seragam dan juga akurasi yang tinggi. Landak laut hidup di dasar perairan yang umumnya jernih dan tidak bergelombang besar. Berada pada kedalaman lebih dari tiga meter, di dalam zona pasang surut. Landak laut terutama fase embrionya sangat sensitif terhadap perubahan salinitas, suhu, dan pencemaran. Stadium embrio landak laut sangat baik untuk bahan bio-assay pencemaran laut (Kobayashi, 1984 dalam Sudaryanti dan Wijarni, 2006).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perbedaan konsentrasi amonia terhadap tahap waktu perkembangan fase embrio landak laut (*Tripneustes gratilla*). Penelitian ini dilaksanakan bulan Maret 2012 di laboratorium Hidrobiologi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Menurut Nazir (2003), penelitian eksperimen adalah penelitian yang dilakukan dengan mengadakan manipulasi terhadap obyek penelitian serta adanya kontrol. Perlakuannya adalah dengan menggunakan telur dan sperma landak laut yang akan diuji tingkat perkembangan embrionya dengan perbedaan kualitas air serta kandungan amonia. Pengumpulan data dengan cara deskripsi yaitu mengenai kejadian yang terjadi pada

saat penelitian dan teknik pengambilan data dilakukan dengan melakukan observasi langsung di lapangan (Suryabrata, 1983).

Metode uji berdasarkan Okazaki, (1975); (1) Induk jantan dan betina disuntik dengan KCL 0,5 M, untuk merangsang keluarnya gonad induk jantan dan gonad induk betina. (2) Induk jantan dan betina yang sudah disuntik digoyang-goyang di atas beaker glass yang sudah disiapkan hingga sperma dan telur keluar. (3) Semua sperma dan telur yang keluar ditampung pada beaker glass. (4) Telur dan sperma dimasukkan bersama-sama dalam cawan petri sambil digoyang-goyang agar telur dan sperma tercampur (pengkondisian adanya gelombang), selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 3200 rpm selama 10 menit untuk memisahkan sperma steril, dan memisahkan residu dengan supernatan. (5) Hasil sentrifugasi ini kemudian dimasukkan ke dalam mikroplate yang berisi air laut yang sudah disaring dan diberi perlakuan berupa penambahan Amonia dengan konsentrasi 0 ppm; 2,5 ppm; 5 ppm; 10 ppm; dan 20 ppm. (6) pengamatan embrio setelah fertilisasi hingga pluteus dan dihitung waktu perfase. (7) Pengamatan waktu perkembangan embrio dilakukan sebanyak empat kali ulangan.

Hasil Penelitian menunjukkan bahwa waktu perkembangan embrio pada pembelahan 2 sel dari rata-rata empat kali pengulangan pada perlakuan kontrol adalah 1 jam setelah fertilisasi. Sedangkan yang pada perlakuan yang menggunakan pencemaran amonia 2,5 ppm yaitu 1,1 jam. 5 ppm yaitu 1,17 jam. 10 ppm yaitu 1,25 dan 20 ppm yaitu 1,12 jam. Perkembangan 4 sel dari rata-rata empat kali pengulangan pada perlakuan kontrol adalah 1,97 jam setelah fertilisasi. Sedangkan yang pada perlakuan yang menggunakan pencemaran amonia 2,5 ppm yaitu 2,17 jam. 5 ppm yaitu 2,57 jam. 10 ppm yaitu 3,32 dan pada perlakuan 20 ppm mengalami kematian. Pada perkembangan 16 sel dari rata-rata empat kali pengulangan pada perlakuan kontrol adalah 3,22 jam setelah fertilisasi. Sedangkan yang pada perlakuan yang menggunakan pencemaran amonia 2,5 ppm yaitu 3,4 jam. 5 ppm yaitu 4,02 jam. Perlakuan 10 ppm embrio tidak lagi berkembang. Perkembangan 32 sel dari rata-rata empat kali pengulangan pada perlakuan kontrol adalah 4,1 jam setelah fertilisasi. Sedangkan yang pada perlakuan yang menggunakan pencemaran amonia 2,5 ppm yaitu 4,5 jam. Perlakuan 5 ppm yaitu 5,8 jam, setelah itu tidak lagi mengalami perkembangan. Perkembangan Morula dari rata-rata empat kali pengulangan pada perlakuan kontrol adalah 7,37 jam setelah fertilisasi. Sedangkan yang pada perlakuan yang menggunakan pencemaran amonia 2,5 ppm yaitu 7,72 jam. Perkembangan Blastula dari rata-rata empat kali pengulangan pada perlakuan kontrol adalah 9,37 jam setelah fertilisasi. Sedangkan yang pada perlakuan yang menggunakan pencemaran amonia 2,5 ppm yaitu 10,52 jam. Perkembangan Grastula dari rata-rata empat kali pengulangan pada perlakuan kontrol adalah 14,25 jam setelah fertilisasi. Sedangkan yang pada perlakuan yang menggunakan pencemaran amonia 2,5 ppm yaitu 16,87 jam, setelah itu tidak lagi mengalami perkembangan.

Waktu perkembangan embrio yang semakin bertambah pada setiap fase atau bahkan mengalami kematian disebabkan karena pengaruh amonia yang diberikan. Semakin banyak dosis amonia yang diberikan pada perlakuan, menghambat fase perkembangan embrio itu sendiri, juga memperlambat waktu perkembangan embrio dari satu fase ke fase berikutnya. Karena adanya kontaminasi Amonia, maka energi

yang seharusnya digunakan untuk berkembang dari fase ke fase berikutnya digunakan untuk mengganti sel yang telah rusak atau disebut sebagai sifat totipotent, sehingga waktu perkembangan embrio yang terkontaminasi menjadi lebih lambat. Menurut Setokoesoemo (1986) sifat totipotent memungkinkan jika terpapar zat yang berbahaya, sel embrio yang masih hidup akan menggantikan sel yang rusak atau mati, hingga berkembang menjadi embrio yang normal.

Dreide, *et al.*, (2006), menyatakan bahwa efek pencemaran Amonia dapat mengakibatkan penurunan pembelahan embrio dan perkembangan blastula. Amonia juga menyebabkan gangguan pada fungsi seluler yang dapat mengubah ekspresi gen pada tahap akhir perkembangan. Amonia telah terbukti menurunkan pembelahan embrio dan perkembangan blastokista, menurunkan jumlah sel blastokista, mengubah metabolisme, dan meningkatkan apoptosis.

Hal ini diperkuat dari pernyataan Hammon, *et al.*, (2000), amonia dapat mempengaruhi embrio untuk berkembang dengan menurunkan konsentrasi α -ketoglutarat dengan mengubahnya menjadi glutamat, sehingga mengurangi fluks melalui siklus TCA dan habisnya ATP dalam sel embrio. Habisnya ATP sebagai energi menyebabkan tidak berkembangnya embrio atau mengalami kematian. Seiring dengan semakin tingginya kadar amonia yang diberikan pada setiap perlakuan maka akan mengabdikan energi yang terjadi pada mitokondria sehingga mempengaruhi nucleus (inti sel) sebagai pengatur pembelahan sel dan pembawa informasi genetic. Sehingga hilangnya molekul ATP yang diperlukan untuk oksidasi sel menurunkan fase perkembangan embrio pada setiap perlakuan yang diberikan.

Berdasarkan hasil analisis data yang diperoleh dalam penelitian dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Perbedaan konsentrasi Amonia yang berbeda memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap waktu perkembangan embrio landak laut. Analisis tersebut menunjukkan bahwa embrio landak laut akan semakin sulit berkembang karena adanya pencemaran amonia.
2. Semakin banyak dosis amonia yang diberikan pada perlakuan, maka akan menghambat fase perkembangan embrio, dan memperlambat perkembangan embrio di setiap fase atau bahkan mengalami kematian.

Penelitian ekotoksikologi ini dapat membantu untuk melihat pencemaran yang ada dalam perairan, jika efek pencemaran amonia sudah membahayakan perairan maka perlu pengawasan dan penanggulangan, seperti mengawasi segala macam bentuk kegiatan industri yang berpeluang besar menyebabkan pencemaran pada lingkungan perairan, selain melalui Peraturan Pemerintah pusat maupun kota dapat dilakukan penyuluhan dari pihak-pihak yang terkait. Untuk penelitian selanjutnya diharapkan hasil yang didapat dari penelitian ini dapat dijadikan sebagai acuan atau bahan pertimbangan.

KATA PENGANTAR

Assallammualaikum Wr. Wb.

Puji syukur saya panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang dengan rahmat dan hidayahNYa penulisan laporan skripsi ini dapat terselesaikan. Laporan ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya.

Atas terselesainya laporan skripsi ini penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada :

Bapak Ir. M. Musa, MS selaku Dosen Pembimbing I

Bapak Dr. Ir. M. Mahmudi, MS selaku Dosen Pembimbing II

Ibu Ir. Herwati Umi Subarijanti, MS selaku Dosen Penguji I

Ibu Dr. Uun Yanuhar, S.Pi, M.Si selaku Dosen Penguji II

Atas segala petunjuk dan bimbingannya sejak penyusunan usulan penelitian sampai dengan selesainya penyusunan laporan skripsi ini.

Akhirnya penulis berharap semoga karya tulis ini bermanfaat dan dapat memberikan informasi bagi semua pihak yang berminat dan memerlukan.

Malang, Agustus 2013

Taufan Wibowo

PERSEMBAHAN

Selesainya laporan sebagai syarat untuk memperoleh gelar sarjana ini, penulis persembahkan kepada :

- Allah SWT , Nabi Muhammad SAW , keempat saudara (kawah, plasenta, darah dan pusar)
- Kedua Orang tua dan kakak tercinta
- Calon isriku (Riani Aulianingtyas Maulida)
- Sahabat P.K.I. (hero, bagos, eric, bidal, tom, lepek, mike, oyot, kocan, olan, itcha, ozi, andre, candra)
- Tukang Parkir (cak gatot & cak nan)
- Penjual Kantin (bu.siti, bu.yani dsb)
- Tukang Fotokopi (mbk.mita)
- Petugas Lab Hidrobiologi (mbak.hawa)
- Dosen – Dosen di Fakultas
- Birokrasi Kampus serta seluruh pegawainya
- Himpunan MSP
- Badan Eksekutif Mahasiswa serta seluruh kawan-kawan pergerakan “netral”.
- Satuan Mahasiswa Pecinta Alam Perikanan (SAMPAN)

Terima kasih atas segala kenangan, kebersamaan, dorongan dan perjuangan yang telah tercipta.

Taufan Wibowo

DAFTAR ISI

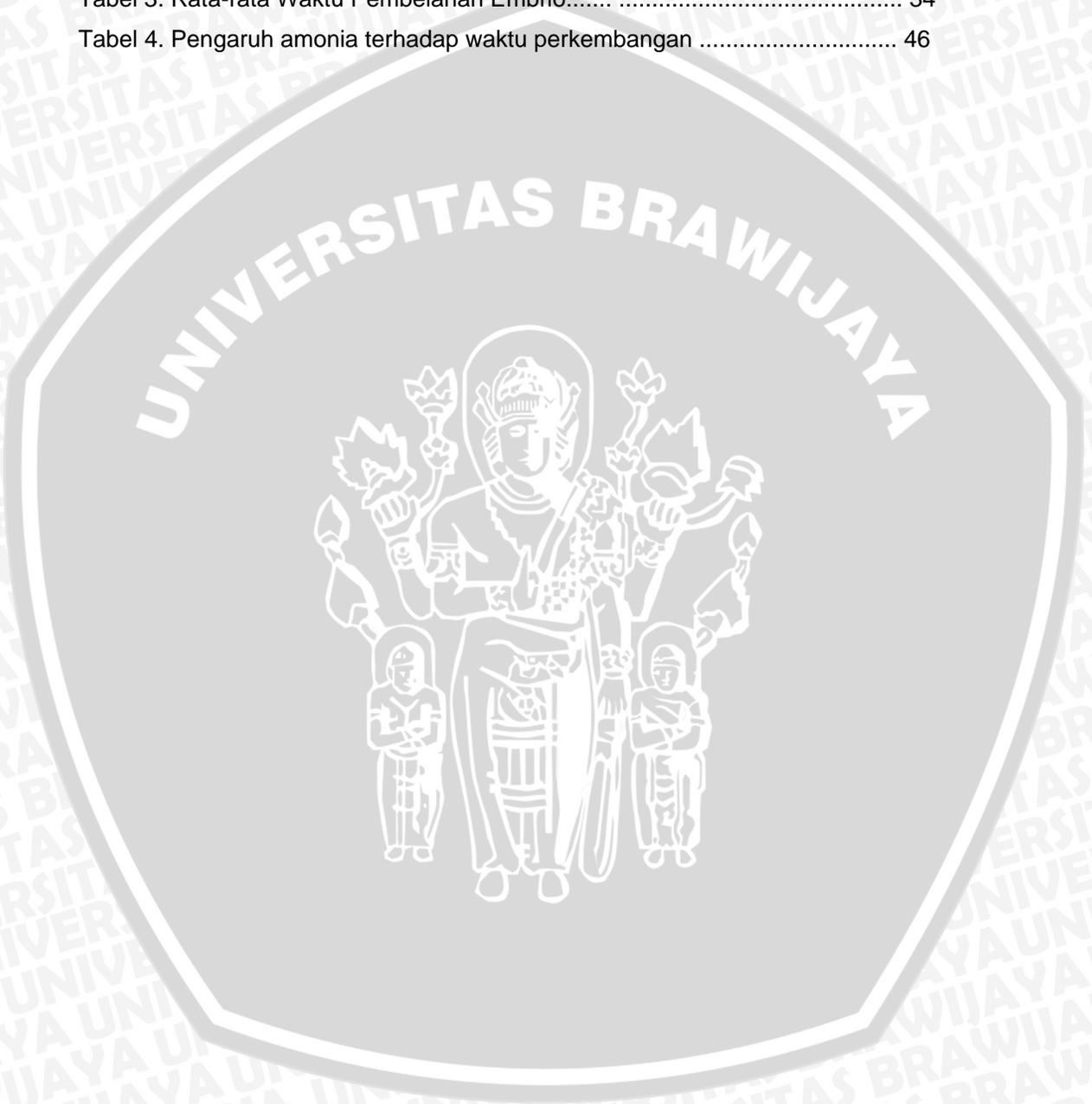
	Halaman
RINGKASAN	i
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
1.PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Hipotesa	3
1.5 Manfaat Penelitian.....	3
1.6 Waktu dan Tempat Penelitian.....	3
2. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Amonia	4
2.2 Pencemaran Amonia di Perairan	5
2.3 Pengaruh Amonia Terhadap Hewan Laut	6
2.4 Echinoidea (Landak Laut).....	6
2.4.1 Klasifikasi Landak Laut.....	7
2.4.2 Dimorfisme Seksual.....	8
2.4.3 Fertilisasi.....	8
2.5 Perkembangan Embrio.....	11
2.5.1 Pembelahan.....	11
2.5.2 Blastulasi dan Gastrulasi.....	14
2.6 Perkembangan Larva.....	18
2.6.1 Stadium Prisma Sampai Pluteus 4 Lengan.....	18
2.7 Faktor Yang Mempengaruhi Perkembangan Landak Laut.....	21
2.7.1 DO (oksigen terlarut).....	22
2.7.2 Derajat Keasaman (pH).....	23
2.7.3 Suhu.....	23
2.7.4 Salinitas.....	24

3. METODOLOGI.....	26
3.1 Materi Penelitian.....	26
3.1.1 Alat-alat yang digunakan.....	26
3.1.2 Bahan-bahan ang digunakan.....	26
3.2 Metode Penelitian.....	26
3.2.1 Pelaksanaan Penelitian.....	27
3.2.2 Metode Uji	28
3.2.3 Metode Pengukuran Kualitas Air.....	29
a. DO (oksigen terlarut).....	29
b. pH.....	30
c. Suhu.....	30
d. Salinitas.....	30
3.2.4 Skema Kerja Penelitian.....	31
3.3 Analisis Data	32
3.3.1 Analisis Uji F	32
4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	34
4.1 Pengaruh Amonia (NH ₃) Terhadap Waktu Perkembangan Embrio	34
4.2 Analisis Sidik Ragam	45
4.3 Pengamatan Kualitas Air	47
4.3.1 Suhu	47
4.3.2 pH (derajat keasaman)	48
4.3.3 Salinitas	49
4.3.4 DO (oksigen terlarut)	50
5. KESIMPULAN DAN SARAN	52
5.1 Kesimpulan	52
5.2 Saran	54
DAFTAR PUSTAKA	55
LAMPIRAN	58



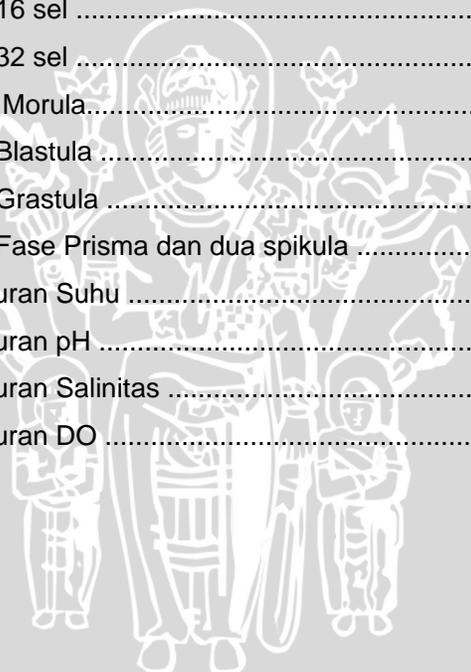
DAFTAR TABEL

Tabel 1. RAL 32
Tabel 2. Sidik Ragam (Analysis of Variance) 32
Tabel 3. Rata-rata Waktu Pembelahan Embrio..... 34
Tabel 4. Pengaruh amonia terhadap waktu perkembangan 46



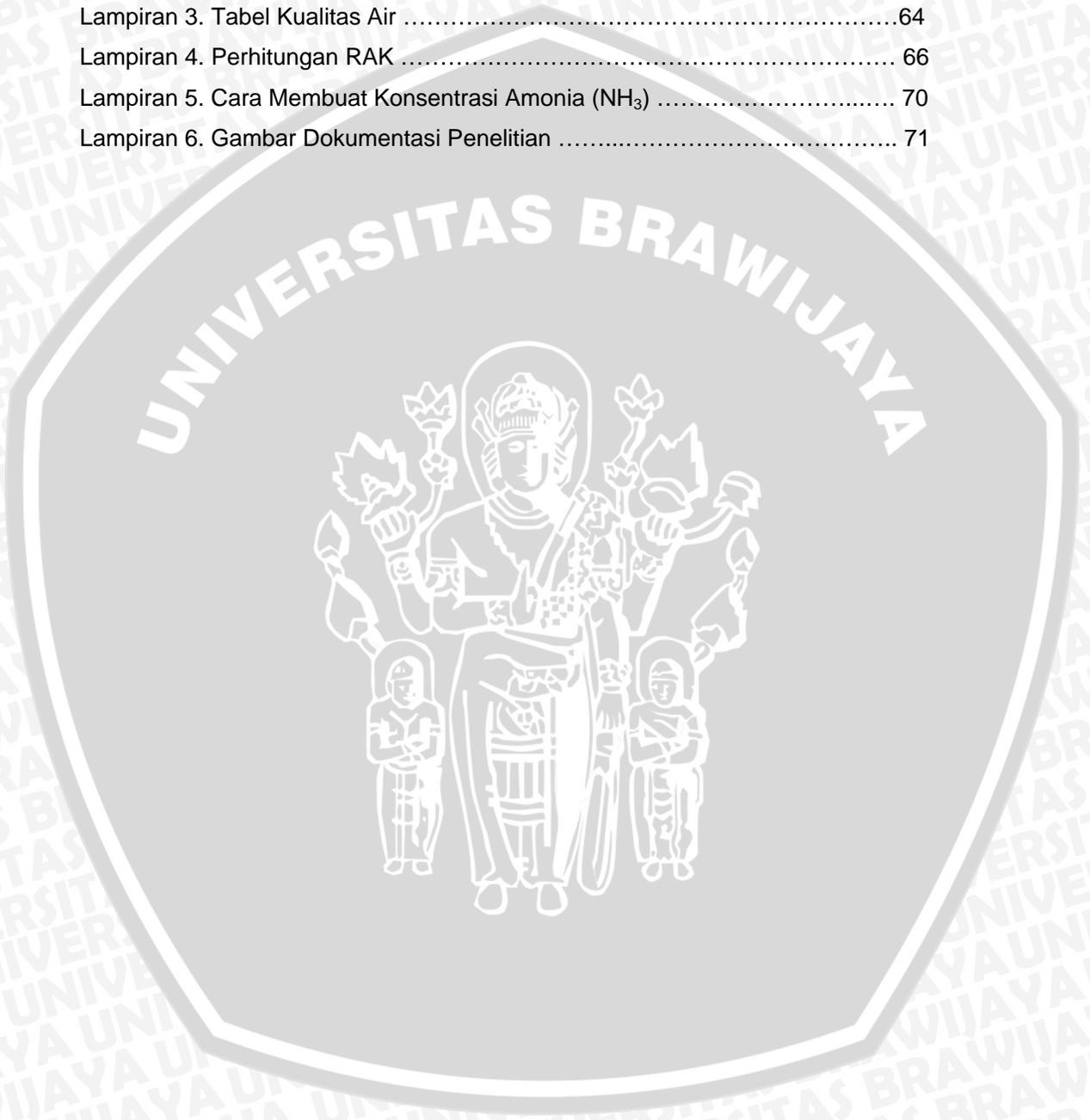
DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. <i>Tripneutes Gratilla</i>	7
Gambar 2. Tahap Pembelahan Embrio	14
Gambar 3. Tahap Blastulasi	14
Gambar 4. Ciliary Tuft	15
Gambar 5. Tahap Blastula Akhir	16
Gambar 6. Tahap Plutelus 2 Lengan	20
Gambar 7. Proses Apoptosis	22
Gambar 8. Grafik Perkembangan Embrio Landak Laut	35
Gambar 9. Fase Embrio 2 sel	38
Gambar 10. Fase Embrio 4 sel	40
Gambar 11. Fase Embrio 16 sel	41
Gambar 12. Fase Embrio 32 sel	42
Gambar 13. Fase Embrio Morula.....	43
Gambar 14. Fase Embrio Blastula	43
Gambar 15. Fase Embrio Grastula	44
Gambar 16. Fase Embrio Fase Prisma dan dua spikula	45
Gambar 17. Hasil Pengukuran Suhu	47
Gambar 18. Hasil Pengukuran pH	48
Gambar 19. Hasil Pengukuran Salinitas	49
Gambar 20. Hasil Pengukuran DO	50



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Gambar Pembelahan Sel	58
Lampiran 2. Tabel Perkembangan Embrio	62
Lampiran 3. Tabel Kualitas Air	64
Lampiran 4. Perhitungan RAK	66
Lampiran 5. Cara Membuat Konsentrasi Amonia (NH ₃)	70
Lampiran 6. Gambar Dokumentasi Penelitian	71



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Seiring dengan perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi, kehidupan industri juga meningkat. Perkembangan dunia industri yang semakin pesat memberikan dampak positif bagi kehidupan manusia. Akan tetapi, pembangunan industri yang hanya mengutamakan kemajuan ekonomi tanpa memperhitungkan keadaan lingkungan menimbulkan penurunan kualitas lingkungan. Kehidupan industri sangat banyak menghasilkan zat buangan yang berbahaya. Pembuangan zat-zat tersebut secara sembarangan akan menyebabkan kerusakan lingkungan terutama pencemaran air. Selain itu, pencemaran air juga disebabkan oleh meningkatnya jumlah limbah domestik yang diakibatkan oleh bertambahnya jumlah penduduk di Indonesia. Baik limbah industri maupun limbah domestik berbahaya terhadap kualitas lingkungan hidup karena mengandung senyawa organik maupun anorganik. Salah satu senyawa anorganik yang dapat menimbulkan dampak negatif bagi lingkungan adalah amonia.

Bioindikator berperan penting untuk menentukan kondisi lingkungan hidup yang sebenarnya. Umumnya echinodermata merupakan hewan ideal untuk bahan uji ekotoksikologi laut. Selain mudah untuk didapatkan menurut Carnevali (2006) echinodermata memiliki siklus kehidupan yang cepat, mampu membentuk koloni, sehingga tidak dikhawatirkan terjadi penurunan populasi. Percobaan yang menggunakan telur, sperma, embrio dan juvenil serta landak laut dewasa dapat diamati dengan mudah di lapang. Untuk uji penelitian polusi laut, telur landak laut mempunyai keuntungan sebagai berikut : sederhana, mudah, cepat, sensitifitas tinggi, hasil yang seragam dan juga akurasi yang tinggi. Landak laut hidup di dasar perairan yang umumnya jernih dan tidak bergelombang besar. Berada

pada kedalaman lebih dari tiga meter, di dalam zona pasang surut. Landak laut terutama fase embrionya sangat sensitif terhadap perubahan salinitas, suhu, dan pencemaran. Stadium embrio landak laut sangat baik untuk bahan bio-assay pencemaran laut (Kobayashi, 1984 *dalam* Sudaryanti dan Wijarni, 2006).

Efek toksisitas pada awal perkembangan embrionik dan larva perlu dipelajari karena merupakan saat yang paling sensitif terhadap bahan toksik (McKim, 1977 *dalam* Gray dan Metcalfe, 1999). Toksisitas terjadi karena imobilisasi dinding sel sehingga terjadi hambatan enzim atau transmisi selektif ion-ion melalui membran. Terjadinya pemaparan yang pada periode sensitif embrio ini akan menyebabkan gangguan sehingga menyebabkan terjadinya abnormalitas pada embrio.

Menurut Kobayashi, 1984 *dalam* M.T Lasut 2002, Pengamatan pada tahap-tahap perkembangan embrio melalui fertilisasi buatan diperoleh data waktu dari setiap tahap perkembangan. Tahap terpenting dari seluruh tahapan perkembangan embrio adalah tahap pembelahan pertama. Tercatat kemampuan pembelahan dua sel pada umumnya antara 45 menit hingga 90 menit dan blastula akhir terbentuk setelah 8 jam . Tahap pertengahan gastrula terjadi pada 12 jam, dan pluteus terbentuk dalam 24 jam Telur hasil fertilisasi tidak akan mengalami pembelahan di saat telur atau sperma berada dalam kondisi yg buruk atau jika air laut mengandung substansi beracun. Perkembangan juga akan terhenti pada tahap blastulasi bila air laut mengandung substansi beracun pula. Embrio yang tahan/survive akan terus mengalami perkembangan pada tahap-tahap selanjutnya dengan periode waktu yang relative sama dengan waktu normal perkembangan embrio.

1.2 Perumusan Masalah

Seberapa besar pengaruh konsentrasi amonia terhadap waktu perkembangan embrio landak laut (*Tripneustes gratilla*).

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perbedaan konsentrasi Amonia terhadap waktu perkembangan fase embrio landak laut (*Tripneustes gratilla*).

1.4 Hipotesa

H_0 = Perbedaan konsentrasi Amonia tidak berpengaruh terhadap tahapan waktu perkembangan embrio landak laut.

H_1 = Perbedaan konsentrasi Amonia berpengaruh terhadap tahapan waktu perkembangan embrio landak laut.

1.5 Manfaat Penelitian

Diharapkan penelitian ini dapat memberikan informasi ilmiah tentang efek pencemaran perairan laut oleh Amonia berdasarkan waktu perkembangan embrio landak laut (*Tripneustes gratilla*).

1.6 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan bulan Maret 2012 di laboratorium Hidrobiologi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Amonia

Amonia adalah senyawa yang terbentuk dari oksidasi bahan organik yang mengandung bahan nitrogen dalam air limbah dengan bantuan bakteri. Adanya amonia dalam *effluent* air limbah dapat menjadi indikasi adanya pencemaran senyawa organik yang mengandung nitrogen dalam buangan limbah cair yang berarti terjadi gangguan proses dalam pengolahan air limbah (Sardjito, 2007).

Menurut Dwipayani (2007) Amonia memiliki titik lebur $-75\text{ }^{\circ}\text{C}$ dan titik didih $-33.7\text{ }^{\circ}\text{C}$. 10% larutan amonia dalam air mempunyai pH 12. Amonia (NH_3) bersifat mudah larut dalam air. Sumber amonia di perairan adalah pemecahan nitrogen organik (protein dan urea) dan nitrogen anorganik yang terdapat di dalam tanah dan air, yang berasal dari dekomposisi bahan organik oleh mikroba dan jamur (amonifikasi). Sumber amonia adalah reduksi gas nitrogen yang berasal dari proses difusi udara atmosfer, limbah industri dan domestik. Amonia yang terdapat dalam mineral masuk ke badan air melalui erosi tanah. Selain terdapat dalam bentuk gas, amonia membentuk senyawa kompleks dengan beberapa ion-ion logam. Amonia juga dapat terserap kedalam bahan-bahan tersuspensi dan koloid sehingga mengendap di dasar perairan. Amonia di perairan dapat menghilang melalui proses volatilisasi karena tekanan parsial amonia dalam larutan meningkat dengan semakin meningkatnya pH. Ikan tidak bisa bertoleransi terhadap kadar amonia bebas yang terlalu tinggi karena dapat mengganggu proses pengikatan oksigen oleh darah dan pada akhirnya dapat meningkatkan sifokasi. Pada budidaya intensif, yang padat penebaran tinggi dan pemberian pakan sangat intensif, penimbunan limbah kotoran terjadi sangat cepat.

Amonia (NH_3) pada suatu perairan berasal dari urin dan feses yang dihasilkan oleh ikan. Kandungan amonia ada dalam jumlah yang relatif kecil jika dalam perairan kandungan oksigen terlarut tinggi. Sehingga kandungan amonia dalam perairan bertambah seiring dengan bertambahnya kedalaman. Pada dasar perairan kemungkinan terdapat amonia dalam jumlah yang lebih banyak dibanding perairan di bagian atasnya karena oksigen terlarut pada bagian dasar relatif lebih kecil (Welch, 1952 dalam Setiawan, 2006).

2.2 Pencemaran Amonia di Perairan

Menurut Effendi (2003), Kadar amonia dalam air laut sangat bervariasi dan dapat berubah secara cepat. Amonia dapat bersifat toksik bagi biota jika kadarnya melebihi ambang batas maksimum. Meningkatnya kadar amonia di laut berkaitan erat dengan masuknya bahan organik yang mudah terurai (baik yang mengandung unsur nitrogen maupun tidak). Tahap utama nitrifikasi, bakteri nitrifikasi seperti spesies *Nitrosomonas* mengoksidasi amonium (NH_4^+) dan mengubah amonia (NH_3) menjadi nitrit (NO_2^-). Spesies bakteri lain, seperti *Nitrobacter*, bertanggung jawab untuk oksidasi nitrit menjadi dari nitrat (NO_3^-). Proses konversi nitrit menjadi nitrat sangat penting karena nitrit merupakan racun bagi kehidupan organisme. Kadar amonia yang tinggi dapat merupakan indikasi adanya pencemaran bahan organik yang berasal dari limbah domestik, industri, dan limpasan pupuk pertanian. Kadar amonia yang tinggi juga dapat ditemukan pada dasar danau yang mengalami kondisi tanpa oksigen atau anoxic.

Konsentrasi amonia yang tinggi pada permukaan air akan menyebabkan kematian ikan yang terdapat pada perairan tersebut. Toksisitas amonia dipengaruhi oleh pH yang ditunjukkan dengan kondisi pH rendah akan bersifat racun jika jumlah amonia banyak, sedangkan dengan kondisi pH tinggi hanya dengan jumlah amonia yang sedikit akan bersifat racun juga. Selain itu, pada

saat kandungan oksigen terlarut tinggi, amonia yang ada dalam jumlah yang relatif kecil sehingga amonia bertambah seiring dengan bertambahnya kedalaman (Welch, 1952 *dalam* Setiawan, 2006).

2.3 Pengaruh Amonia Terhadap Hewan Laut

Amonia dapat meningkatkan kebutuhan oksigen pada insang dan jaringan tubuh yang mengalami kerusakan, dan menurunkan kemampuan darah dalam membawa oksigen. Dalam kondisi kronik, peningkatan amonia dapat menyebabkan timbulnya penyakit dan penurunan pertumbuhan (Boyd, 1990).

Menurut Colt dan Armstrong (1979), bahwa begitu kadar amonia meningkat dalam air, maka ekskresi amonia oleh ikan akan menurun dan kadar amonia dalam darah dan jaringan akan meningkat. Hasilnya adalah meningkatnya pH darah dan berpengaruh buruk terhadap reaksi katalis enzim dan stabilitas membrane. Amino juga meningkatkan konsumsi oksigen oleh jaringan, merusak insang, dan mengurangi kemampuan darah untuk mengikat oksigen. Perubahan histology terjadi didalam ginjal, empedu, kelenjar thyroid dan darah ikan yang terkena konsentrasi sublethal amonia.

2.4 Echinoidea (landak laut)

Echinoidea atau landak laut "Sea urchin" adalah avertebrata laut dengan bentuk tubuh radial. Cangkangnya tipis dan tersusun dari lempengan-lempengan yang berhubungan satu sama lain, mempunyai tentakel/kaki tabung yang berfungsi untuk merambat dan melekat pada suatu substrat. Seluruh tubuhnya ditumbuhi duri-duri yang bisa digerakkan (Harvey, 1956 *dalam* Wijarni, 2006).

Ciri lainnya adalah mulut yang terdapat di permukaan oral dilengkapi dengan 5 buah gigi sebagai alat untuk mengambil makanan. Hewan ini memakan bermacam-macam makanan laut, misalnya hewan lain yang telah mati, atau

organisme kecil lainnya. Alat pengambil makanan digerakkan oleh otot yang disebut *lentera arisototeles*. Sedangkan anus, *madreporit* dan lubang kelamin terdapat di permukaan atas (Pustekkom, 2005).

Menurut Wijarni (2006), landak laut hidup di dasar perairan yang umumnya jernih dan tidak tercemar, sedangkan habitat landak laut adalah subtidal yang berbatu-batu atau berkarang. Batu-batu ini berfungsi sebagai pelindung dari gerakan arus. Penyebaran geografisnya adalah tropik dan subtropik. Makanan landak laut dapat berupa tumbuhan maupun hewan yang terpotong dengan lima buah gigi pada bagian oral (mulut).

2.4.1 Klasifikasi Landak Laut dan Gambar

Dalam penelitian ini landak laut yang digunakan untuk eksperimen adalah spesies *Tripneustes Gratilla* (dapat dilihat pada Gambar 1) beserta klasifikasinya;



Gambar 1. *Tripneustes Gratilla*

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Echinodermata
Class	: Echinoidea
Family	: Tripnoideai
Genus	: Tripneustes
Spesies	: <i>Tripneustes gratilla</i>

(Wikipedia.org)

2.4.2 Dimorfisme Seksual

Landak laut dapat digunakan untuk membedakan dimorfisme seksual dengan menggunakan kaca pembesar atau mikroskop berkekuatan kecil (Swan, 1954). Beberapa karakteristik eksternal yang diamati yaitu: ukuran, bentuk dan posisi dari gonofor. Untuk gonofor jantan cenderung lebih kecil dan posisinya berada pada tengah lempeng genital. Sedangkan Ikeda (1931) melaporkan bahwa pada genus *temnopleurus* spesies *Temnopleurus alexandri*, dimorfisme seksual ditunjukkan oleh ukuran dari tinggi tubuh, yaitu untuk jantan sedikit lebih pendek daripada betina.

Pada beberapa spesies dari binatang landak laut, papille genetal menunjukkan tanda dimorfisme seksual. Secara umum papille genetal jantan lebih panjang dan mudah dilihat dibandingkan dengan betina (Tahara et al, 1958). Untuk membedakan dimorfisme seksual secara eksternal dengan lebih jelas satu dengan yang lain pada landak laut adalah dengan melihat berdasarkan warna kaki tabung bagian oral. Warna kuning ada pada yang betina dan warna putih ada pada yang jantan dari spesies *Hemicentrotus pulcherimus* (Gierse dan Pearse, 1991).

2.4.3 Fertilisasi

Sel telur dari binatang landak laut sulit dideteksi dengan mata telanjang dengan karena lebih kecil dari 10 mm. Lonning dan Wenneberg (1963) dalam Horstadius (1973) menyatakan bahwa diameter terpendek ditemukan pada *Arbacia lixula* dengan diameter 79 μm , sedangkan terpanjang terdapat pada *Echinus esculentus* dan *Strongylocentrotus droebachiensis* berturut-turut 153 dan 145 μm . Telur landak laut dapat dikeluarkan dalam keadaan tidak masak dengan warna jernih sedangkan jika dalam keadaan masak berwarna kuning

(Horstadius, 1973). Selanjutnya Horstadius (1973), menyatakan telur landak laut terbagi menjadi tiga bagian yaitu:

1. Lapisan telur yang terdiri dari dari:
 - a. Lapisan terluar berupa membran vitelin
 - b. Membran plasma (berada di bawah membran vitelin)
2. Cytoplasma yang berisi deutoplasma atau yolk (kuning telur) dan cortikel granula
- 3 Inti telur atau nukleus

Setelah gonad dalam kondisi maksimum, landak laut akan mengeluarkan isinya, selanjutnya akan terjadi fertilisasi eksternal. Fertilisasi adalah suatu proses yang kompleks, tahap pertama adalah kerjasama dari sperma menuju telur yang akhirnya terjadi penggabungan antara inti telur dan nukleus sperma. Pada tahap kedua adalah merupakan aktivitas telur, yang pada awalnya melibatkan aktivitas mitosis dan metabolisme (Runnstrom, 1933). Jika telur dari landak laut difertilisasi akan tampak perubahan warna yang menyebar di sekitar telur dari titik penetrasi sperma. Kejelasan perubahan warna ini bervariasi, tergantung dari spesies dan temperatur air laut. Awal terjadinya 30 detik setelah kontak sperma dan telur. Perubahan warna ini diikuti oleh elevasi membran fertilisasi dari permukaan telur (proses pembentukan membran fertilisasi), kemudian dalam waktu ± 1 menit setelah kontak sperma, morfologi daerah permukaan telur secara total berubah (Beryl dan Karp, 1978). Tanda pertama dari fertilisasi pada pembesaran rendah adalah elevasi dari membran fertilisasi. Permulaan fertilisasi terjadi dalam waktu beberapa detik pada titik masuknya sperma, kemudian elevasi penuh dicapai dalam waktu sekitar 1 menit. Waktu ini sebanding dengan suhu dan kondisi fisik telur.

Lapisan terluar dari korteks telur disebut membran vitelin diikuti membran plasma. Cytoplasma yang berada pada bagian bawah dari membran ini adalah

lapisan yang berisi kortikel granula. Gelombang dari kortikel berubah menjalar dari titik masuknya sperma. Kortikel granula (lapisan yang berada tepat di bawah permukaan cytoplasma) akan putus atau hancur, kemudian sebagian dari isinya akan bergabung dengan membran vitelin (membran dalam yang bersentuhan dekat dengan kortikel granula) untuk membentuk membran fertilisasi, sedangkan sebagian lagi bekerja sama dengan membran plasma untuk membentuk permukaan telur.

Lapisan hyalin adalah suatu lapisan yang berfungsi untuk menahan blastomer selama pembelahan dan juga untuk mempertahankan atau menjaga lebih lanjut proses dari perkembangan (Harvey, 1910 *dalam* Horstadius, 1973). Ruang diantara membran fertilisasi dan permukaan telur disebut ruang perivitelin, dengan adanya osmosis dari sini akan menyebabkan terjadi elevasi dan perluasan dari membran (Loeb, 1908 *dalam* Horstadius, 1973)

Keberhasilan fertilisasi telah dilaporkan oleh Aslan (1997) dengan nilai sebesar 97,8 % (kisaran = 92 % - 100 %; jumlah pengulangan = 12). Perhitungan dilakukan satu jam setelah pembuahan berlangsung, agar membran fertilisasi mudah diamati pada telur yang telah dibuahi. Bila keberhasilan fertilisasi ini dihiung setelah pembuahan berlangsung, kadang-kadang membran ini sulit untuk diketahui, karena sangat tipis dan kadang-kadang kecepatan sperma mendekati permukaan telur agak lambat. Faktor lain yang sangat menentukan keberhasilan fertilisasi adalah kematangan gonad. Bila belum matang, maka tingkat fertilisasi akan lebih rendah.

2.5 Perkembangan Embrio

2.5.1 Pembelahan

Pembelahan telur landak laut melalui beberapa tahap, seperti penjelasan dibawah ini. Spindel (poros) dari pembelahan yang pertama terletak pada bidang equator, akibatnya terbentuk 2 sel dan 4 sel yang berukuran sama yaitu pada bagian *animal pole* dan *vegetal pole*. *Vegetal pole* merupakan tempat dimana berkas pigmen mengelilingi belahan vegetal kecuali pada wilayah ekuator dan kutub, sedangkan *Animal pole* tempat dimana benda-benda kutu (polar) dibentuk ketika telur masih dalam ovarium. Pembelahan pertama terjadi pada ± 100 menit setelah fertilisasi, kemudian untuk pembelahan kedua dan seterusnya memakan waktu ± 30 menit.

Pada pembelahan ketiga spindel berubah orientasinya yaitu paralel dengan aksis animal vegetal, akibatnya pada tahap 8 sel terbentuk 4 blastomer pada belahan animal dan 4 blastomer pada belahan vegetal yang berukuran sama (Beryl dan Karp, 1978). Tahap pembelahan ke 4 membentuk 16 sel, spindel pada kwartet belahan animal berorientasi horisontal dan equatorial. Bagian dari lingkaran 8 blastomer sel yang berukuran sama pada stadium 16 sel ini disebut mesomer. Pada belahan vegetal pertengahan, spindel menahan dalam arah animal vegetal tetapi pembelahannya tidak sebanding sehingga menyebabkan 4 makromer besar ekuator dan 4 mikromer kecil pada belahan vegetal.

Awal ketidaksamaan ukuran blastomer (belahan sel telur menjadi 2 sel anak), antara makromer dan mikromer disebabkan perpindahan nukleui kearah belahan vegetal dari 4 sel vegetal stadium 8 sel. Perpindahan nukleui merupakan pergerakan yang terorganisasi secara cepat (Dan, 1984). Proses pembentukan mikromer diawali dari 4 sel vegetal stadium 8 sel, dimana terdapat celah-celah kecil pada deretan vesicular dekat kutub vegetal. Kemudian pada masa istirahat nukleui dari 4 sel vegetal tersebut pindah kebawah melalui masing-masing celah

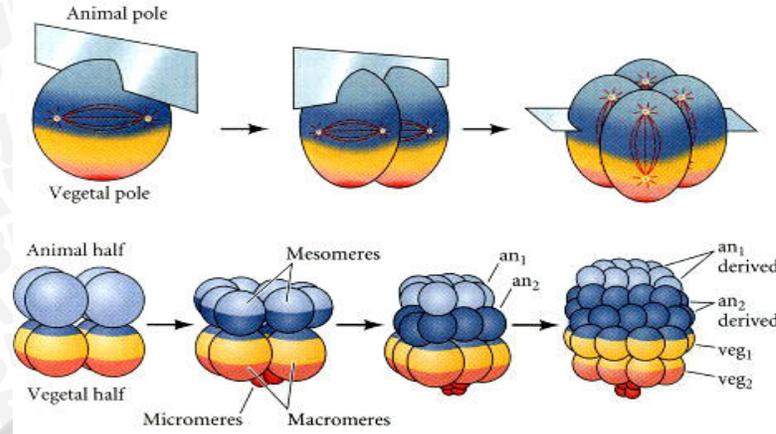
blastomer, sedangkan bagian atas terbentuk oleh satu dari dua sentriol. Hal ini merupakan kejadian pertama dalam pembelahan tidak sebanding pada landak laut. Pada 4 sel yang atas (calon mesomer) tidak ditemukan celah-celah, nukleui serta sisa-sisa kumparan sel center dan mereka membelah sebanding. Pada kejadian selanjutnya yaitu ketika sebuah spindel terbentuk, akan langsung menuju ke celah dan mengakibatkan posisi yang aneh di dalam blastomer dan hasilnya adalah mikromer. Mikromer mempunyai sedikit vesikel pada permukaannya, sedangkan volume perinuklear antara makromer dan mikromer adalah sama (Dan, 1984). Sel blastomer animal sampai stadium 16 sel ini telah terbagi sebanyak 3 pembelahan dalam keadaan sebanding. Sel blastomer animal pertengahan akan menjadi oral dan aboral ektoderm pada tingkat blastula (Cameron *et al*, 1966). Pada vegetal pertengahan, sel makromer berperan dalam pembentukan ektoderm blastula. Kemudian pada stadium istirahat turunan makromer berperan pada vegetal plate blastula untuk membentuk usus (gut) dan mesenkim sekunder dari pluteus (Horstadius, 1973).

Sebelum menuju ke bagian selanjutnya yaitu stadium 32 sel, orientasi spindel berubah kembali. Menurut Horstadius (1973), orientasi spindel dari stadium 32 sel pada belahan *animal pole* adalah meridional sehingga menghasilkan 16 mesomer yang terbagi atas 2 lingkaran 8 sel, masing-masing 8 an1 dan 8 an2. Sedangkan pada kutub vegetal terdiri dari 2 lingkaran blastomer yaitu makromer dan mikromer, pada makromer orientasi spindelnya adalah horizontal sehingga menghasilkan 8 makromer. Pembelahan ini adalah suatu proses yang terhambat, sehingga dalam beberapa menit jumlah blastomernya hanya 28. Pada mikromer orientasi spindel vertikal kemudian membelok ke equatorial, sehingga menghasilkan 4 mikromer besar dan 4 mikromer kecil (Endo, 1966). Pada pembelahan ke lima ini keturunan dari mikromer terbagi dalam mikromer besar dan mikromer kecil (Endo, 1966). Pembelahan mikromer

adalah asymetris sehingga menghasilkan 4 mikromer kecil dan 4 mikromer besar (Pehrson *et al*, 1986). Mikromer kecil terbagi sangat pelan dan berperan dalam coelomic sacs, sedangkan mikromer besar menjadi sel mesenkim primer yang akan membentuk skeleton larva (Okazaki, 1975).

Pada stadium 16 sel orientasi spindelnya adalah berbeda-beda, pada pembelahan animal berorientasi horizontal sehingga menghasilkan 2 lingkaran blastomer yang masing-masing terdiri atas 16 an1 dan 16 an2. Sedangkan pada kutub vegetal, orientasi spindel makromer adalah meridional hasilnya yaitu 2 lingkaran blastomer yang masing-masing terdiri atas 8 veg1 dan 8 veg2, demikian juga untuk mikromer orientasi spindelnya adalah horizontal dan menghasilkan 8 mikromer besar serta 8 mikromer kecil.

Pada stadium 64 sel, sel animal tersusun atas kurang teratur. Makromer terdiri atas dua deratan bertingkat sehingga pada stadium 64 sel telur dapat dibedakan menjadi 5 lapisan yaitu: an1, an2, veg1, veg2 dan mikromer (Horstadius, 1973). Pada stadium ini mikromer kecil tidak berpindah kedalam blastocoel dan namun ketika terjadi invaginasi archenteron selama proses gastrulasi akan bergabung ke dalam pharinks saat pembentukan mulut (Pehrson, 1986). Sedangkan mikromer besar bermigrasi ke dalam dinding vegetal menuju blastocoel pada lempeng vegetal. Proses pembelahan embrio dapat dilihat pada gambar 2 (dua).

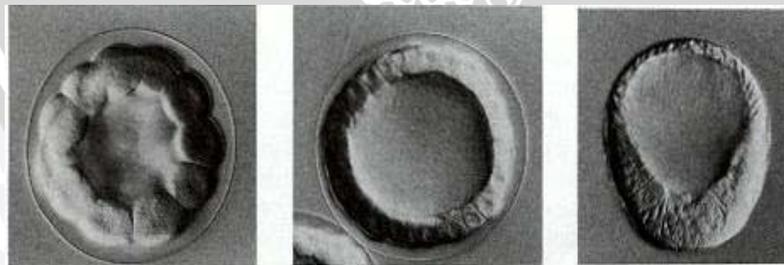


Gambar 2. Tahap Pembelahan Embrio
(biologi-online.org)

2.5.2 Blastulasi dan Gastrulasi

Pada blastulasi semua pembelahan terjadi dengan bidang pembelahan radial, sel kemudian melanjutkan untuk melekat pada lapisan hyalin (Giese dan Pearse, 1991). Sedangkan menurut Dan (1960) dalam Horstadius (1973), bahwa sejumlah pembelahan dengan orientasi spindel tangensial dan radial mengawali pembentukan dari lapisan tunggal dinding blastula.

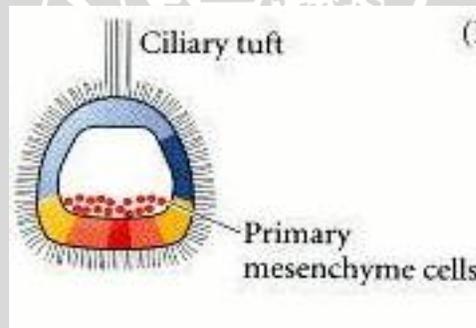
Stadium blastula landak laut pada umumnya teramati \pm 10 jam setelah fertilisasi. Pada stadium blastula, ruang tengah (central) yang terbentuk merupakan permulaan dari blastocoel yang berisi substansi koloid (dapat dilihat pada gambar 3).



Gambar 3. Tahap Blastulasi
(biologi-online.org)

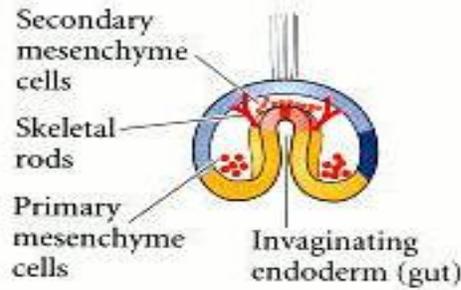
Pada tahap blastulasi silia hanya muncul pada permukaan luar, kemudian nukleus menghilang pada akhir/menjelang terbentuknya blastocoel, sedangkan pengkutuban yang berlawanan adalah tetap. Blastula mulai berputar/rotasi dalam membran fertilisasi ketika membran fertilisasi larut oleh hatching enzim, dan blastula mulai berenang dengan arah spiral kearah permukaan. Hatching enzim adalah proteolitik dengan sedikit kegiatan esterase, dimana kegiatan enzim ini meningkat didalam sitoplasma (Giease dan Pearse, 1991).

Pada belahan animal, silia yang aktif digantikan oleh sebuah tuft yang panjang, yang mungkin berfungsi mendeteksi kontak dengan lapisan air yang menyebabkan terjadinya perubahan secara langsung dalam pergerakan di air. Tuft ini biasanya disebut apical atau tuft ciliary (dapat dilihat pada gambar 4), Karena merupakan titik yang paling dorsal sehingga sering disebut *animal tuft* (Horstadius, 1973).



Gambar 4. Ciliary tuft
(biologi-online.org)

Blastula akhir adalah sebuah bidang bulatan yang sisi vegetalnya rata dan lebih tebal dari pada sisi meridional. Dinding vegetal tetap terjaga bentuknya selama perpindahan sel mesenkim primer, dan dari tempat ini archenteron mengalami invaginasi (dapat dilihat pada gambar 5).



**Gambar 5. Tahap blastula akhir
(biologi-online.org)**

Sedangkan sel mesenkim primer memusatkan diri pada pojok/sudut dari sisi ventral dan menghasilkan 2 spikula triradiate yang merupakan calon dari skeleton (Horstadius, 1973). Sebelum proses gastrulasi berlangsung, sel dari belahan vegetal berpindah ke dalam blatocoel menjadi sel mesenkim primer kemudian akan menjadi skeleton. Observasi tentang sel ini berasal dari bagian atas vegetal yang tidak berpigmen dan berbentuk mikromer selama pembelahan (Horstadius, 1973). Gastrulasi adalah sebuah proses yang kompleks, yaitu pertumbuhan yang mengiringi tingkat blastula sedangkan embrio yang terjadi disebut gastrula (Giese dan Pearse, 1991).

Pada stadium gastrulasi terjadi proses dinamisasi daerah sebagai bakal pembentuk gastrula yang terdapat pada stadium blastula, diatur dan dideretkan sesuai dengan bentuk dan susunan tubuh spesies yang bersangkutan (Giese dan Pearse, 1991). Istilah gastrula berasal dari kata gastrum/lambung, pada stadium ini terbentuk archenteron dan berkembang menjadi saluran pencernaan larva. Pada stadium gastrula telah terbentuk tiga lapisan embrional yaitu ektoderm, endoderm dan mesoderm (Yatim, 1994). Pembentukan archenteron diawali dengan proses invaginasi dari dinding vegetal, lebih lanjut Horstadius (1973) menyatakan bahwa archenteron berasal dari lempeng vegetal yang disusun oleh keturunan sel-sel mikromer.

Sedangkan proses pembentukan archenteron menurut Horstadius (1973) adalah sebagai berikut :

1. Semua materi pembentuk archenteron adalah dinding endodermal pada stadium gastrula awal.
2. Permulaan gastrulasi, yang mengawali invaginasi adalah massa keseluruhan dari dinding endodermal.
3. Pembentukan usus sederhana adalah tugas dari dinding endodermal.

Bentuk archenteron jika diamati lebih jauh, permukaannya adalah rata dan ujung archenteron tertekan menuju kutub animal yang disebabkan oleh pseudopodia sel mesenkim primer (Dan, 1984). Lapisan endodermal dari gastrula muncul pada ujung archenteron ketika dinding blastula mengitari lempeng endodermal yang asli disebut invaginasi (Horstadius, 1973).

Archenteron memanjang menuju belahan animal dituntut oleh pseudopodia sel mesenkim sekunder menuju area bakal mulut. Selama gastrulasi dinding akan berkurang dan volume embrio akan mengecil, hal ini disebabkan adanya migrasi dinding gastrula. Sel mesenkim primer terpusat pada titik-titik sisi ventral dan menghasilkan 2 spikula triradiate calon skeleton (Hardin dan Cheng, 1986).

Archenteron kemudian terbagi menjadi esofagus, lambung dan usus. Esofagus pada bagian ventral akan bergabung dengan ektoderm membentuk stomodaeum, sedangkan mulut dan rongga mulut berasal dari ektodermal (Giese dan Pearse, 1991). Pada saat embrio memasuki tahap gastrulasi terjadi proses diferensiasi dan morfogenesis, pada tahap ini embrio sangat sensitif terhadap kualitas lingkungan hidup. Seperti halnya blastula, gastrula juga *berenang* dengan arah spiral (Horstadius, 1973).

2.6 Perkembangan Larva

2.6.1 Stadium Prisma Sampai Pluteus 4 Lengan

Stadium prisma merupakan kelanjutan dari stadium gastrula dan pada stadium ini spikula triradiate sudah tumbuh memanjang sehingga mendesak dinding gastrula, karena terbentuknya mendahului proses gastrulasi. Setelah memasuki stadium prisma, larva tumbuh terus menjadi pluteus 2 lengan. Ditandai dengan terbentuknya 2 oral arms pada sisi masing-masing animal plate. Menurut Horstadius (1973) oral arms tersebut berasal dari spikula triradiate yang tumbuh ke arah animal kemudian membelok ke ventral. Archenteron pada tahap ini terbagi menjadi oesophagus, stomach dan intestine. Oesophagus kemudian tumbuh ke sisi ventral dan bertemu dengan pertumbuhan ektodermal sehingga terbentuk stomadeum, sedangkan mulut dan rongga mulut berasal dari lapisan ektodermal (Giese dan pearse, 1991).

Pembentukan skeleton adalah peranan dari sel mesenkim primer, yaitu diawali pembentukan matrik skeletal dengan bentuan pseudopodia (Okazaki, 1962). Proses pembentukan spikula pada larva landak laut menurut Okazaki (1962) adalah:

1. Langkah pertama dalam proses pembentukan spikula pada larva landak laut disusun oleh sel mesenkim primer dalam pola yang tersusun atas pasangan agregat mesenkim, rantai dorsal, rantai ventral dan pasangan rantai longitudinal.
2. Seperti langkah kedua, mesenkim skeletal yang dihasilkan oleh fusi pseudopodia dari sel-sel mesenkim primer terbentuk dalam masing-masing kelompok sel ini. Sistem matrik skeletal pada larva dilengkapi dengan fusi matrik-matrik yang terpisah.
3. munculnya spikula triradiate dalam masing-masing pasangan matrik agregat mesenkim. Pertumbuhan spikula terjadi dengan peranan

jaringan tiga lengan melalui sistem matrik, tiap skeletal triradiate meningkatkan 0,5 skeleton pluteus.

4. Sistem matrik pada seluruh tubuh merupakan satu unit.
5. Kalau fusi matrik yang terpisah dicegah, masing-masing membentuk suatu bagian dari skeleton pluteus yang tidak saling berhubungan.
6. Hasil observasi larva yang normal, semua sel mesenkim awal akan menyumbang (mendukung) pembentukan matrik, tetapi beberapa hasil eksperimen menunjukkan adanya sel-sel khusus yang membentuk matrik.

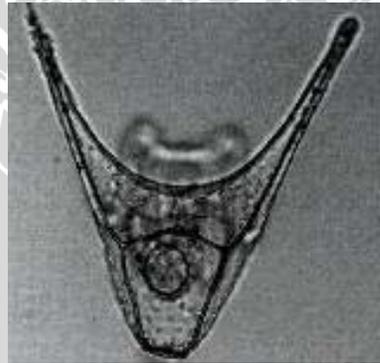
Pada stadium prisma spikula yang terbentuk akibat dari bersambungannya spikula triradiate dengan rantai dorsal, serta bagian ventral dan rantai longitudinal. Pada stadium pluteus 2 lengan, spikula terdiri dari body rod, post oral rod, dorso ventral connecting rod dan ventral transverse rod. Pada stadium pluteus 4 lengan pasangan spikula yang terbentuk terdiri atas body rod, post oral rod, dorso ventral connecting rod, ventral transverse rod, antero lateral rod dan primary recurrent rod (Okazaki, 1962).

Pendapat lain mengenai susunan spikula dan pembentukannya pada stadium pluteus 2 lengan dan 4 lengan adalah sebagai berikut : menurut (Horstadius, 1973) bahwa pembentukan spikula dari stadium pluteus 2 lengan, cabang dari spikula triradiate tumbuh kearah belahan animal, kemudian membelok ke ventral dan berperan serta dalam pembentukan 2 oral arms pada sisi masing-masing dari bidang animal.

Ventral rods tumbuh kearah masing-masing. Sedangkan lengan-lengan terbentuk ketika sepasang spikula triradiate yang dibentuk oleh sel-sel mesenkim primer diperluas menuju kearah bagian luar, menyampaikan tekanan ke ektoderm (Gustafon dan Wolpert, 1967).

Spikula bercabang disekeliling garis tengah, ini terjadi akibat pergerakan matriks ketika massa hyaloplasma baru bergabung atau ketika sel-sel melekat pada matriks. Terbentuknya cabang dari garis tengah sampai berhenti disebut anterolateral. Rod ketiga segera bercabang menjadi 2, satu berkembang keluar pada anal arms yang lain pada arah yang berlawanan dari dinding badan menyerupai sebuah tudung (apeks). Rod ini mungkin disebut body rod. Berkas silia bergerak dari bidang animal bagian atas dan bawah pada lengan/arms, dan melewati sisi ventral kemudian mengelilingi dasar atau bidang oral. Larva ini disebut pluteus (Giese dan pearse, 1991).

Anterolateral meluas di sekeliling ukuran embrio kemudian turun ke arah oral mengeluarkan lengan anterolateral pada tudung oral yang terletak diantara mulut dan berkas apical (seperti dapat dilihat pada gambar 6).



**Gambar 6. Tahap pluteus 2 lengan
(biologi-online.org)**

Post oral mendukung lengan post oral pada tepi dari circum oral diantara mulut dan anus. Kemudian hal ini terulang lagi, timbul dari anterolateral dan diperluas pada arah aboral sampai pada tubuh. Skeletal dalam tubuh mungkin bergabung dalam banyak jalan untuk membentuk struktur seperti keranjang (Gierse dan Pearse, 1991). Pasangan spikula yang rumit dari skeleton ini disebut pluteus 4 lengan. Seperti halnya pada blastula dan gastrula, pluteus juga berenang dalam arah spiral (Horstadius, 1973).

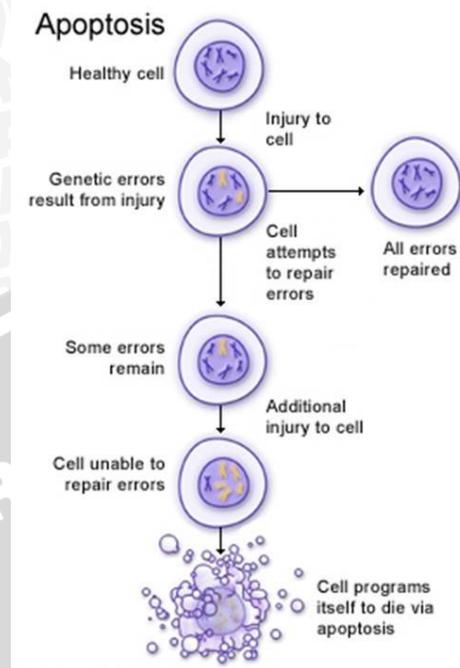
Aslan (1997) menyimpulkan bahwa siklus hidup *Echinometra mathaei*, ada 5 tahap perkembangan dari telur hingga mencapai tahap dewasa, yaitu :

1. Pembuahan telur
2. Perkembangan larva dari tahap berlegan dua hingga delapan.
3. Tahap metamorfosis
4. Perkembangan cangkang dari duri
5. Perkembangan ovum dan testes pada tingkat dewasa.

2.7 Faktor Yang Mempengaruhi Perkembangan Embrio Landak Laut

Aktifitas embrio dan pembentukan enzim chorionase dipengaruhi oleh faktor dalam dan luar. Enzim chorionase berfungsi mereduksi chorion yang terdiri dari pseudokeratine menjadi lembek. Sehingga pada bagian cangkang yang tipis dan terkena chorionase akan pecah dan ekor embrio keluar dari cangkang kemudian diikuti tubuh dan kepalanya. Faktor dalam antara lain hormon dan volume kuning telur. Hormon tersebut adalah hormon yang dihasilkan kelenjar hipofisa dan tyroid sebagai hormon metamorfosa, sedang volume kuning telur berhubungan dengan energi perkembangan embrio. Sedangkan faktor luar yang berpengaruh adalah oksigen terlarut, pH, suhu, salinitas.

Embrio juga memiliki sifat apoptosis, atau membuang sel-sel yang tidak lagi dibutuhkan. Menurut Fitriani (2008) apoptosis adalah kematian sel yang terprogram. Kematian sel ini merupakan akibat dari berbagai stimulus. Kematian sel yang terprogram merupakan bagian dari perkembangan jaringan. Pada masa embrio, perkembangan jaringan atau organ didahului oleh pembelahan sel dan deferensiasi sel yang besar-besaran dan dikoreksi melalui apoptosis. Peningkatan apoptosis yang berlebihan pada masa embrio tentu dapat menyebabkan terhentinya perkembangan jaringan. Proses apoptosis dapat dilihat pada gambar 7.



Gambar 7. proses apoptosis

2.7.1 Oksigen Terlarut (DO)

Oksigen merupakan salah satu gas yang terlarut dalam perairan. Kadar oksigen dalam perairan alami bervariasi tergantung pada suhu, salinitas, turbulensi air, dan tekanan atmosfer. Semakin besar suhu dan ketinggian serta semakin tekanan atmosfer, kadar oksigen terlarut semakin kecil (Effendi, 2003).

Perubahan sifat kimia-fisik sitoplasma setelah pembuahan akan meningkatkan pemakaian oksigen terlarut karena bertambah kentalnya sitoplasma zigot. Menurut Blaxter (1983) dalam Aziz (1988), didalam proses penetasan telur diperlukan suplai oksigen yang cukup. Untuk memenuhi kebutuhan akan oksigen terlarut dalam air, maka diperlukan aerasi dalam akuarium perlakuan.

2.7.2 Derajat Keasaman (pH)

Tingkat derajat keasaman (pH) dapat mempengaruhi proses fertilisasi dan perkembangan Sea Urchin khususnya pada klasifikasi larva (Byrne et al, 2009) dalam Jones (2011). Meningkatnya nilai pH mempengaruhi terjadinya peningkatan konsentrasi CO₂ hal ini menyebabkan menurunnya tingkat fertilisasi, tingkat pembelahan, kecepatan perkembangan dan ukuran larva pluteus (Kurihara dan Shirayama, 2004) dalam Jones 2011.

Pengaruh perubahan pH pada respirasi spermatozoa juga telah diteliti oleh Rothchild (1956). Dalam percobaan dengan *Paracentrotus lividus* dan *Echinus esculentus* terjadi peningkatan 400 % dalam penyerapan O₂ ketika pH meningkat antara 7,84 – 8,00. Perubahan pH sering kali terjadi pada saat proses pengenceran dan hal tersebut sangat sulit untuk di hindari. Peningkatan proses penyerapan oksigen akibat dari peningkatan jumlah CO₂ dapat menyebabkan efek dilusi pada spermatozoa.

2.7.3 Suhu

Menurut Hagstrom (1959) kenaikan suhu dapat mempengaruhi tingkat keberhasilan fertilisasi pada Sea Urchin, karena peningkatan suhu menyebabkan terjadinya peningkatan kecepatan renang dari sperma sehingga dapat mempercepat pertemuan antara sperma dan sel telur. Namun secara bersamaan dapat meningkatkan kemungkinan terjadinya penyimpangan pada saat proses perkembangan karena dengan meningkatnya suhu akan mengurangi kemungkinan bertahan hidup menuju fase metamorfosis dan menuju dewasa.

Pada proses fertilisasi hewan echinodermata pengaruh perbedaan suhu tidak terlalu berpengaruh besar, Menurut Aziz (1988) proses fertilisasi echinodermata tidak terhambat pada suhu 31°C, dimana tingkat keberhasilan fertilisasi berkisar antara 91% sampai 99%. Bila suhu dinaikkan sampai 34°C

tingkat keberhasilan fertilisasi tidak begitu berpengaruh, kecuali untuk bintang laut jenis *Acanthaster planci* dimana tingkat keberhasilan fertilisasinya menurun sampai 70%. Selanjutnya bila suhu percobaan terus dinaikkan sampai dengan 36°C, terlihat bahwa jenis-jenis bintang laut akan tingkat keberhasilan fertilisasinya menurun sampai 20% sampai 70%. Sedangkan untuk jenis bulu babi, suhu tinggi ini tidak berpengaruh, dimana tingkat keberhasilan fertilisasinya tetap tinggi dalam kisaran 95% sampai 98%.

2.7.4 Salinitas

Salinitas sangat berpengaruh untuk kelangsungan hidup secara keseluruhan selama proses metamorfosis. Roller et al, (1993) melaporkan bahwa pada salinitas 30 – 35 ‰ pengaruh suhu jg sangat penting untuk perkembangbiakan *Lytechinus variegatus*, karena tekanan osmotik yang terjadi ditentukan oleh jumlah volume sel, dimana angka kematian terbesar akibat konsentrasi salinitas yang tinggi terjadi pada tahap awal perkembangan embrio, namun perkembangan yang abnormal juga terjadi pada tahap perkembangan larva dengan nilai salinitas yang lebih tinggi. Data LC₅₀ menunjukkan bahwa nilai salinitas 18 ‰ adalah batas toleransi terendah untuk *Lytechinus variegatus* dewasa.

Apabila dibandingkan dengan kelompok moluska, ternyata bahwa daya adaptasi kelompok echinodermata lebih rendah. Selaput kulit yang relatif tipis dengan daya permeabilitas yang tinggi pada kelompok echinodermata merupakan salah satu sebab rendahnya daya adaptasi terhadap perubahan salinitas (Drouin et al. 1985 dalam Aziz, 1988). Salinitas adalah faktor penting yang mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan larva. Dalam hal ini fase larva lebih sensitif terhadap pengaruh penurunan ataupun penaikan salinitas dari batasan salinitas normal bila dibandingkan dengan hewan dewasa. Dari hasil

penelitian (Greenwood & Bennett,1981 *dalam* Aziz, 1988), melaporkan bahwa bulu babi jenis *Parechinus angulosus* yang hidup di perairan Afrika Selatan bila ditempatkan pada salinitas normal (34⁰/₀₀) akan mengalami tingkat keberhasilan fertilisasi sempurna (100 %). Bila salinitas diturunkan sampai dengan 19,8 ⁰/₀₀, maka tingkat keberhasilan fertalisasi akan menurun sampai dengan 50 %, dan apabila salinitas diturunkan terus sampai dengan 15 ⁰/₀₀ maka fertalisasi akan gagal total.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



3. METODOLOGI

3.1 Materi Penelitian

Objek dalam penelitian ini adalah sperma dan sel telur landak laut (*Tripneustes gratilla*), Amonia, serta air laut bersih yang sudah disaring.

3.1.1 Alat – alat yang digunakan

Alat – alat yang di gunakan dalam penelitian ini adalah cool box untuk pengambilan sampel, akuarium untuk pemeliharaan induk, mikro pipet, mikroplate, toples, mikroskop binokuler, beaker glass, DO meter, pH meter, alat suntik, cawan petri, alat sentrifugasi, aerator, refraktometer dan thermometer.

3.1.2 Bahan – bahan yang digunakan

Bahan – bahan yang digunakan berupa landak laut jantan matang gonad, landak betina matang gonad, telur landak laut, sperma landak laut serta KCL 0,5 M.

3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Menurut Nazir (2003), penelitian eksperimen adalah penelitian yang dilakukan dengan mengadakan manipulasi terhadap obyek penelitian serta adanya kontrol. Perlakuannya adalah dengan menggunakan telur dan sperma landak laut yang akan diuji tingkat perkembangan embrionya dengan perbedaan kualitas air serta kandungan Amonia. Pengumpulan data dengan cara deskripsi yaitu mengenai kejadian yang terjadi pada saat penelitian dan teknik pengambilan data dilakukan dengan melakukan observasi langsung di lapangan (Suryabrata, 1983).

Data yang diambil meliputi data primer dan data sekunder. Menurut Machdhoero (1993) data primer adalah data yang pertama kali diambil langsung dari sumbernya atau belum melalui proses pengumpulan dari lain pihak. Data primer meliputi parameter kualitas air dan embrio Landak laut (sea urchin) sebagai objek penelitian. Data sekunder adalah data yang diperoleh tidak dari sumbernya langsung melainkan sudah dikumpulkan oleh pihak lain dan sudah diolah (Machdhoero, 1993). Data sekunder meliputi kondisi umum lokasi daerah penelitian.

3.2.1 Pelaksanaan Penelitian

Tahapan – tahapan yang akan dilakukan untuk penelitian pengaruh perbedaan konsentrasi Amonia terhadap waktu perkembangan embrio landak laut (*Tripneustes gratilla*) adalah sebagai berikut :

1. Tahap persiapan alat dan bahan
 - Mempersiapkan alat – alat keperluan penelitian (setting lab)
 - Pengkondisian air laut sebagai media hidup landak laut
 - Pengambilan landak laut
 - Aklimatisasi landak laut pada media atau tempat yang baru
 - Pembuatan larutan Amonia sebagai bahan utama uji embrio
2. Tahap persiapan embrio landak laut
 - Penentuan induk jantan dan induk betina untuk diambil sperma dan telurnya
 - Penginjeksikan larutan KCL 0,5 M sebanyak 1,5 ml - 3 ml ke dalam mulut landak laut menggunakan jarum suntik ukuran 5 ml.
 - Proses fertilisasi eksternal, hingga diperoleh embrio
3. Tahap eksperimen

- Hasil fertilisasi berupa embrio diberi perlakuan dengan menggunakan larutan amonia dengan konsentrasi yang berbeda, antara lain, 0 ppm, 2,5 ppm, 5 ppm, 10 ppm, dan 20 ppm.
- Pengamatan tahap waktu perkembangan embrio landak laut dengan menggunakan mikroskop. Pengamatan berupa Fase 2 sel, 4 sel, 16 sel, 32 sel, Morula, Blastula, Grastula, Prisma hingga Prisma 2 spatula.

3.2.2 Metode Uji

Metode yang dipakai pada penelitian ini adalah uji toksisitas gamet dan embrio berdasarkan Hagstrom (1959). Setelah diperoleh landak laut, maka diperlukan pemisahan antara landak laut jantan dan landak laut betina. Spesies jantan lebih tinggi dari spesies betina, sedangkan spesies betina lebih berat dan lebih lebar diameternya dibandingkan spesies jantan. Hal ini berguna untuk memudahkan dalam mendapatkan sperma maupun telur untuk proses fertilisasi. Masing-masing induk jantan dan betina dipisahkan dengan akuarium yang berbeda dan diberikan aerator sebagai asupan oksigen. Setelah induk jantan dan betina dipersiapkan maka dilakukan pengamatan berdasarkan Okazaki, (1975):

1. Induk jantan dan betina disuntik dengan KCL 0,5 M, untuk merangsang keluarnya gonad induk jantan dan gonad induk betina.
2. Induk jantan dan betina yang sudah disuntik digoyang-goyang di atas beaker glass yang sudah disiapkan hingga sperma dan telur keluar.
3. Semua sperma dan telur yang keluar ditampung pada beaker glass.
4. Telur dan sperma dimasukkan bersama-sama dalam cawan petri sambil digoyang-goyang agar telur dan sperma tercampur (pengkondisian adanya gelombang), selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 3200

rpm selama 10 menit untuk memisahkan sperma steril, dan memisahkan residu dengan supernatan.

- 5 Hasil sentrifugasi ini kemudian dimasukkan ke dalam mikroplate yang berisi air laut yang sudah disaring dan diberi perlakuan berupa penambahan Amonia dengan konsentrasi 0 ppm; 2,5 ppm; 5 ppm; 10 ppm; dan 20 ppm.
6. Pengamatan perkembangan embrio dilakukan pada waktu 3 menit setelah fertilisasi, 15 menit, 20 menit, 30 menit, 32 menit, 40 menit, 50 menit, 54 menit, 58 menit dan seterusnya sampai terbentuk pluteus empat lengan dalam waktu 32 jam.
7. Pengamatan waktu perkembangan embrio dilakukan sebanyak empat kali ulangan.

3.2.3 Metode Pengukuran Kualitas Air

Pengukuran kualitas air meliputi kadar oksigen terlarut (DO), pH, suhu dan salinitas diukur berdasarkan panduan praktikum limnologi yang disusun oleh tim asisten limnologi (2006) adalah sebagai berikut:

a. Oksigen Terlarut (DO)

Untuk menentukan kandungan oksigen terlarut digunakan DO meter, cara pengukurannya yaitu :

- Menyiapkan DO meter
- Menstandarisasi DO meter tersebut sebelum digunakan
- Memasukkan kabel DO meter ke dalam air kemudian melihat angka pada layar DO meter.

b. pH

Pengukuran pH perairan dilakukan dengan menggunakan pH meter.

Cara pengukurannya yaitu:

- Menyiapkan pH meter
- Menstandarisasi pH meter sebelum digunakan
- Memasukkan pH meter ke dalam air kemudian melihat angka pada layar pH meter.

c. Suhu

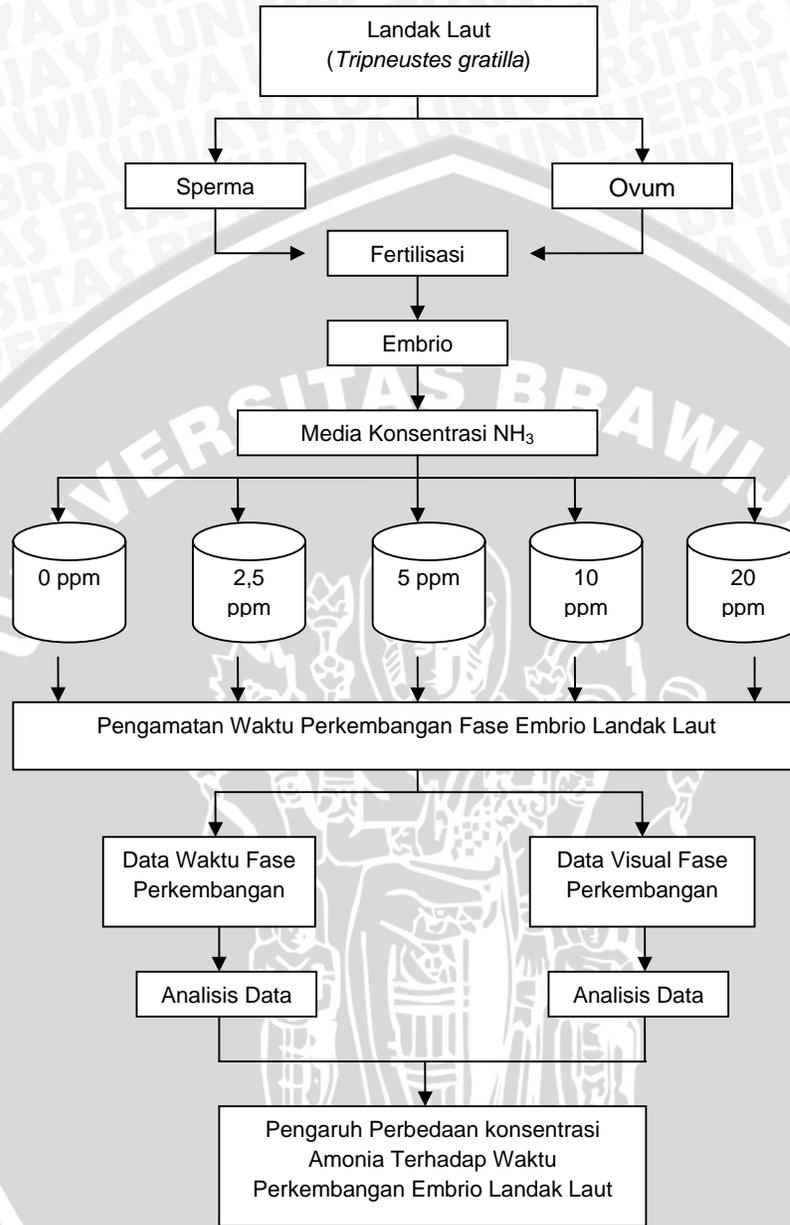
- Memasukkan ujung termometer Hg ke dalam perairan, dan menunggu beberapa saat sampai air raksa dalam termometer berhenti pada skala tertentu
- Mencatat dalam skala $^{\circ}\text{C}$
- Membaca skala pada saat termometer masih di dalam air, dan bagian air raksa termometer tidak sampai menyentuh tangan.

d. Salinitas

Salinitas diukur dengan menggunakan refraktometer, cara pengukurannya adalah:

- Membersihkan prisma dengan akuades
- Mengkalibrasi refraktometer sampai tepat pada angka nol
- Meneteskan air yang diukur salinitasnya pada prisma sebanyak 1 tetes, lalu menutupnya
- Mengamati skala yang ditunjukkan dan mencatat nilai salinitasnya.

3.2.4 Skema Kerja Penelitian



3.3 Analisis Data

3.3.1 Analisis Uji F

Pada penelitian kali ini juga dilakukan perhitungan analisis uji F dengan menggunakan metode Rancangan Acak Kelompok (RAK), dengan rumus sebagai berikut:

1. $FK = (T_{ij})^2 / (k \times t)$
2. $JK \text{ Total} = T (Y_{ij}^2) - FK$
3. $JK \text{ Kelompok} = \{(Ty_{ij})^2 / t\} - FK$
4. $JK \text{ Perlakuan} = \{TP_j^2 / k\} - FK$
5. $JK \text{ Galat} = JK \text{ total} - JK \text{ Kelompok} - JK \text{ Perlakuan}$

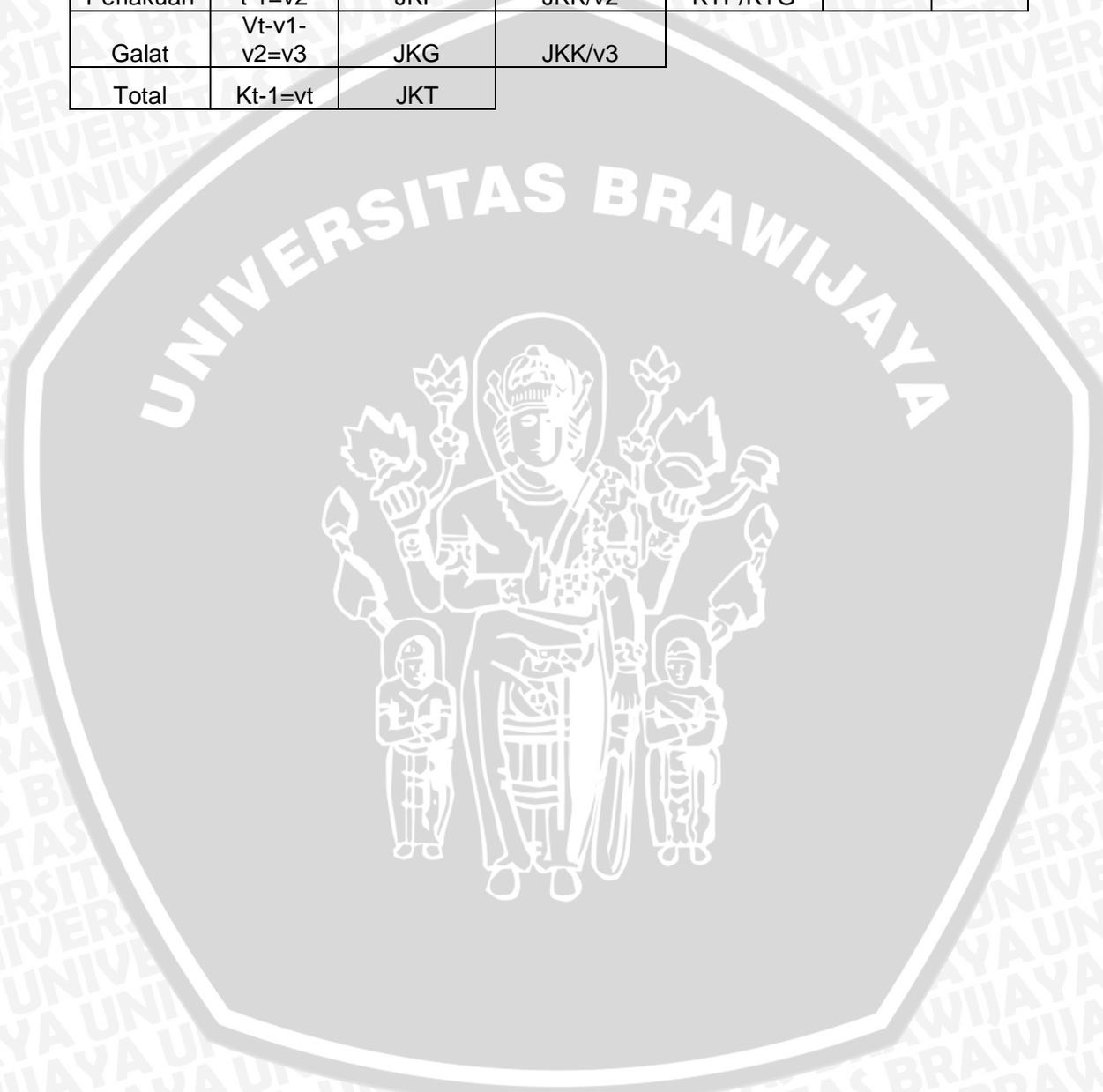
Tabel 1. RAK (Rancangan Acak Kelompok)

Perlakuan	Kelompok									Jumlah	Rata-rata
	1	2	3	4	5	6	7	8	9		
1	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	TP _j	YP
2	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	TP	YP
3	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	TP	YP
4	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	TP	YP
5	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	TP	YP
Jumlah	TK ₁	TK ₉	T _{ij}	Y _{ij}							

Perlambangan pada RAK dilakukan sebanyak (t) perlakuan pada (k) kelompok

Tabel 2. Analisis Sidik Ragam (Analysis of Variance)

SK	Db	JK	KT	Fhit	F 5%	F 1 %
Kelompok	$k-1=v_1$	JKK	JKK/v_1	KTK/KTG		
Perlakuan	$t-1=v_2$	JKP	JKK/v_2	KTP/KTG		
Galat	$Vt-v_1-v_2=v_3$	JKG	JKK/v_3			
Total	$Kt-1=vt$	JKT				



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Amonia (NH₃) Terhadap Waktu Perkembangan Embrio

Pengaruh amonia dengan konsentrasi yang berbeda terhadap waktu perkembangan embrio landak laut dapat dilihat pada tabel dibawah ini.

Tabel 3. Rata-rata Waktu Pembelahan Embrio

amonia (ppm)	Fase (jam)								
	2 sel	4 sel	16 sel	32 sel	Morula	Blastula	Grastula	Prisma	Prisma 2 spikula
0	1	1,97	3,22	4,1	7,37	9,37	14,25	21,37	42
2,5	1,1	2,17	3,4	4,5	7,72	10,52	16,87	-	-
5	1,17	2,57	4,02	5,8	-	-	-	-	-
10	1,25	3,32	-	-	-	-	-	-	-
20	1,55	-	-	-	-	-	-	-	-

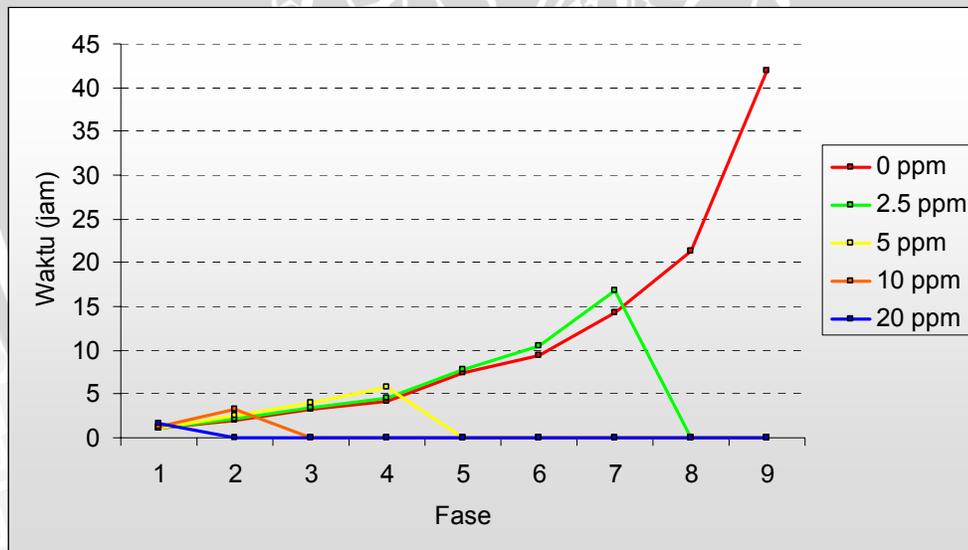
**Keterangan Gambar : (-) mati

Hasil penelitian menunjukkan bahwa amonia sangat berpengaruh terhadap waktu perkembangan embrio, terlihat pada perlakuan yang diberi amonia, embrio mengalami kesulitan untuk berkembang, dan cenderung mengalami kematian dibandingkan dengan perlakuan yang tidak menggunakan pencemaran amonia (kontrol).

Tabel diatas menunjukkan bahwa perkembangan embrio pada perlakuan 0 ppm (kontrol) embrio mampu berkembang mencapai fase prisma dua spikula, sedangkan pada perlakuan yang menggunakan pencemaran amonia, embrio mengalami kesulitan pada perkembangannya. Menurut Wijaya (1996) dalam Yudha (1999), suatu bahan toksik atau racun dapat menyebabkan kerusakan jaringan dan pada akhirnya dapat menyebabkan pelepasan protein maupun kerusakan membran sel pada embrio.

Seperti pada perlakuan 2,5 ppm embrio hanya dapat berkembang sampai pada fase gastrula setelah itu mati. Perlakuan 5 ppm embrio hanya dapat bertahan sampai pada fase pembelahan 32 sel. Perlakuan 10 ppm dan 20 ppm embrio sudah terlihat semakin sulit berkembang dan hanya mampu bertahan sampai pada fase pembelahan pertama dan kedua yaitu pembelahan dua sel dan empat sel. Masuknya amonia (NH_3) kedalam embrio menurut Hammon, *et al.*, (2000) dapat disebabkan oleh 2 hal, yaitu transpor pasif maupun transpor aktif. Pada transpor pasif, amonia masuk melalui proses difusi. Sedangkan pada transpor aktif, amonia masuk kedalam embrio seperti transpor protein pada umumnya.

Adapun grafik perkembangan embrio landak laut dari hasil rata-rata dalam 4 kali ulangan percobaan dapat dilihat pada gambar 8.



Gambar 8. Grafik Perkembangan Embrio Landak Laut

**Keterangan Gambar : 1 = pembelahan 2 sel, 2 = pembelahan 4 sel, 3 = pembelahan 16 sel, 4 = pembelahan 32 sel, 5 = pembelahan 64 sel, 6 = tahap blastula, 7 = tahap gastrula, 8 = tahap prisma, 9 = prisma 2 spikula.

Waktu perkembangan embrio yang semakin bertambah pada setiap fase atau bahkan mengalami kematian disebabkan karena pengaruh amonia yang diberikan. Semakin banyak dosis amonia yang diberikan pada perlakuan, menghambat fase perkembangan embrio itu sendiri, juga memperlambat waktu perkembangan embrio dari satu fase ke fase berikutnya. Karena adanya kontaminasi Amonia, maka energi yang seharusnya digunakan untuk berkembang dari fase ke fase berikutnya digunakan untuk mengganti sel yang telah rusak atau disebut sebagai sifat totipoteint, sehingga waktu perkembangan embrio yang terkontaminasi menjadi lebih lambat. Menurut Setokoesoemo (1986) sifat totipotent memungkinkan jika terpapar zat yang berbahaya, sel embrio yang masih hidup akan menggantikan sel yang rusak atau mati, hingga berkembang menjadi embrio yang normal.

Dreide, *et al.*, (2006), menyatakan bahwa efek pencemaran Amonia dapat mengakibatkan penurunan pembelahan embrio dan perkembangan blastula. Amonia juga menyebabkan gangguan pada fungsi seluler yang dapat mengubah ekspresi gen pada tahap akhir perkembangan. Amonia telah terbukti menurunkan pembelahan embrio dan perkembangan blastokista, menurunkan jumlah sel blastokista, mengubah metabolisme, dan meningkatkan apoptosis.

Selain itu, paparan Amonia selama tahap pra-implantasi, mulai dari zigot ke blastokista, juga menurunkan tingkat implantasi dan perkembangan janin serta meningkatkan insiden kelainan janin. Efek negatif yang diakibatkan Amonia pada perkembangan janin dapat diamati ketika periode paparan terjadi antara zigot dan dua-sel atau antara sel dua sampai delapan sel. Percobaan dengan menggunakan Amonia dari zigot ke blastosit menghasilkan pengurangan yang signifikan dalam berat janin dan crownrump panjang dibandingkan dengan blastokista yang diperlakukan tanpa Amonia. Hal ini diperkuat dari pernyataan

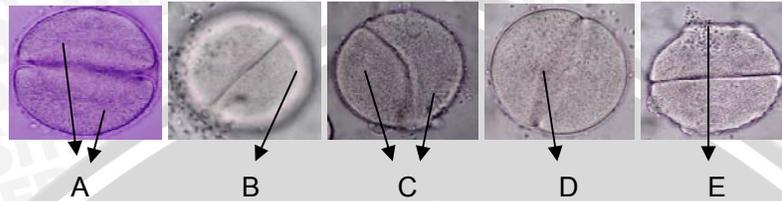
Hammon, *et al.*, (2000), amonia dapat mempengaruhi embrio untuk berkembang dengan menurunkan konsentrasi α -ketoglutarat dengan mengubahnya menjadi glutamat, sehingga mengurangi fluks melalui siklus TCA dan habisnya ATP dalam sel embrio. Habisnya ATP sebagai energi menyebabkan tidak berkembangnya embrio atau mengalami kematian.

Seiring dengan semakin tingginya kadar amonia yang diberikan pada setiap perlakuan maka akan mengabdikan energi yang terjadi pada mitokondria sehingga mempengaruhi nucleus (inti sel) sebagai pengatur pembelahan sel dan pembawa informasi genetic. Sehingga hilangnya molekul ATP yang diperlukan untuk oksidasi sel menurunkan fase perkembangan embrio pada setiap perlakuan yang diberikan.

Perkembangan fase embrio pada konsentrasi 0 ppm (kontrol) dapat mencapai fase terakhir sebelum dapat dikatakan sebagai tahap perkembangan larva, yaitu fase prisma 2 spikula. Hal ini sesuai dengan Okazaki (1975) yaitu setelah embrio berkembang menjadi pluteus 2 spikula selanjutnya akan disebut dengan larva dan berkembang menjadi pluteus 4 spikula dan terus berkembang menjadi pluteus banyak spikula sampai menjadi landak laut muda.

Pengamatan dengan menggunakan mikroskop binokuler (pembesaran 400x) tanpa pemberian amonia (kontrol) diperoleh hasil rata-rata pembelahan 2 sel terjadi dalam 1 jam setelah fertilisasi (dapat dilihat pada tabel 3). Pada pengamatan dengan pemberian amonia 2,5 ppm diperoleh pembelahan rata-rata 1,1 jam setelah fertilisasi atau lebih lambat dari perlakuan kontrol. Perlakuan pemberian amonia dengan konsentrasi 5 ppm diperoleh hasil pembelahan rata-rata 1,17 jam setelah fertilisasi. Sedangkan pada perlakuan dengan amonia 10 ppm, pembelahan pertama diperoleh hasil rata-rata terjadi dalam 1,25 jam

setelah fertilisasi dan pada perlakuan amonia 20 ppm pembelahan 2 sel diperoleh hasil rata-rata 1,55 jam setelah fertilisasi. Pembelahan pertama yaitu pembelahan 2 sel (dapat dilihat pada Gambar 9).

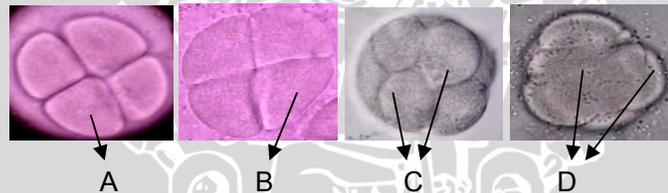


Gambar 9. Fase Perkembangan 2 sel

Keterangan: (A) Perkembangan embrio dua sel menghasilkan dua sel anak yang identik pada perlakuan 0 ppm, (B) Terjadi pembengkakan sel pada perlakuan 2,5 ppm, (C) dua sel anak tidak identik / simetris pada perlakuan 5 ppm, (D) pembelahan sitoplasma tidak sempurna pada perlakuan 10 ppm, (E) tidak normalnya Animal Pole pada perlakuan 20 ppm.

Alur pembelahan tampak ditengah-tengah dimensi panjang yang membagi dua spindel, dan sel telur menjadi berbentuk kepompong dan membelah menjadi dua anak sel yang disebut blastomer yang mempunyai ukuran sama. Sedangkan pada perlakuan amonia 2,5 ppm dapat dilihat bahwa bentuk dan ukuran kedua blastomer nampak mulai berbeda. Perlakuan 5 ppm dan 10 ppm bentuk dan ukuran blastomer yang semakin berbeda dan tidak simetris. Perlakuan 20 ppm dalam tempo yang lebih lama sel semakin sulit untuk membelah, semakin tampak jelas bahwa bentuk dan ukuran dari 2 sel atau blastomer sangat berbeda dan terlihat jelas pada permukaan membran plasma dari blastomer yang tidak rata, hal ini terjadi akibat difusi amonia pada konsentrasi yang sangat tinggi melalui membran plasma.

Pembelahan kedua yaitu pembelahan 4 sel menghasilkan empat blastomer yang berukuran sama. Ruang pusat diantara blastomer-blastomer tersebut dinamakan blastocoel. Pengamatan tanpa pemberian amonia (kontrol) diperoleh hasil rata-rata pembelahan 4 sel dari 4 kali pengulangan terjadi dalam 1,97 jam setelah fertilisasi. Pengamatan dengan pemberian amonia 2,5 ppm diperoleh pembelahan rata-rata 2,17 jam setelah fertilisasi atau lebih lambat dari perlakuan kontrol. Perlakuan pemberian amonia dengan konsentrasi 5 ppm diperoleh hasil pembelahan rata-rata 2,57 jam setelah fertilisasi. Sedangkan pada perlakuan dengan amonia 10 ppm, pembelahan kedua diperoleh hasil rata-rata terjadi dalam 3,32 jam setelah fertilisasi dan pada perlakuan amonia 20 ppm pembelahan 4 sel tidak lagi diperoleh (dapat dilihat pada Gambar 10).



Gambar 10. Fase Pembelahan 4 sel

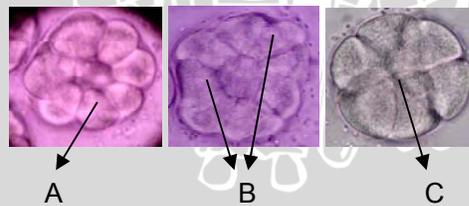
Keterangan: (A) Empat blastomer yang berukuran sama pada 0 ppm, (B) terjadi pembengkakan pada salah satu blastomer pada perlakuan 2,5 ppm, (C) Keempat blastomer nampak semakin tidak simetris pada perlakuan 5 ppm, (D) Pembelahan 4 sel yang tidak sempurna serta terjadi pembengkakan dinding sel pada perlakuan 10 ppm.

Fase pembelahan 4 sel, pada perlakuan kontrol dapat dilihat sel telur membelah menjadi 4 sel atau 4 blastomer yang normal dimana masing – masing memiliki bentuk dan ukuran pada bidang vegetal yang sama serta permukaan membran plasma blastomer yang halus. Pembelahan 4 sel dengan perlakuan konsentrasi Amonia 2,5 ppm, efek toksik Amonia melalui difusi pada membran sel mempengaruhi bentuk dan ukuran masing – masing dari keempat blastomer yang cenderung tidak sama dan permukaan membran plasma blastomer yang

tampak kasar. Sedangkan pada perlakuan konsentrasi Amonia 5 ppm keempat blastomer tidak memiliki bidang vegetal yang sama sehingga masing – masing blastomer memiliki bentuk dan ukuran yang tidak sama. Perlakuan dengan konsentrasi Amonia 10 ppm, keempat blastomer terlihat semakin sulit untuk melakukan pembelahan akibat efek toksisitas yang sangat tinggi dari Amonia.

Hal ini disebabkan oleh kandungan Amonia yang terlalu tinggi sehingga mencemari media pengamatan embrio. Dapat disimpulkan bahwa amonia (NH_3) pada hampir seluruh konsentrasi tidak berdampak pada pembelahan dua sel dan empat sel, hal ini sesuai dengan Dreide, *et al.*, (2006), yang menyatakan bahwa pencemaran Amonia tidak terlalu berpengaruh terhadap kemampuan pembelahan sel pada tingkat pertama, namun secara bertahap akan mengurangi kemampuan perkembangan sel.

Tahap pembelahan ketiga, yaitu pembelahan 16 sel mempunyai karekteristik yang berbeda, dimana terbentuk 8 blastomer yang berukuran sama membentuk lingkaran. Bagian dari lingkaran 8 sel yang sama disebut mesomer. (dapat dilihat pada Gambar 11).



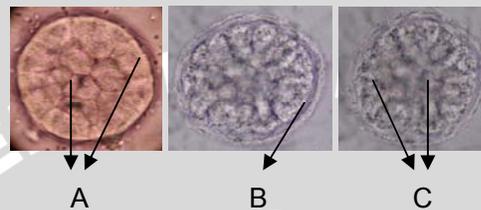
Gambar 11. Fase Pembelahan 16 Sel

Keterangan : (A) 8 blastomer pada perlakuan 0 ppm, (B) Ukuran Blastomer tidak sama serta tidak teratur pada perlakuan 2,5 ppm, (C) Perkembangan Blastomer tidak sempurna serta Mesomer nampak tidak jelas pada perlakuan 5 ppm

Pengamatan tanpa pemberian amonia (kontrol) diperoleh hasil rata-rata pembelahan 16 sel terjadi dalam 3,22 jam setelah fertilisasi. Pengamatan dengan pemberian amonia 2,5 ppm diperoleh pembelahan rata-rata 3,4 jam setelah fertilisasi atau lebih lambat dari perlakuan kontrol. Perlakuan pemberian amonia dengan konsentrasi 5 ppm diperoleh hasil pembelahan rata-rata 4,02 jam setelah fertilisasi. Sedangkan pada perlakuan dengan amonia 10 ppm dan 20 ppm, pembelahan ketiga sudah sulit untuk ditemukan. Pembelahan sempurna terjadi pada perlakuan kontrol, dapat terlihat bahwa lingkaran 8 blastomer sel yang berukuran sama pada stadium 16 sel ini disebut mesomer, tetapi pembelahannya tidak sebanding sehingga menyebabkan terdapat 4 makromer besar dan 4 mikromer kecil. Pada perlakuan dengan konsentrasi Amonia 2,5 ppm menyebabkan bentuk dan ukuran mesomer yang tidak sama serta susunan mesomer yang tidak teratur, sehingga sangat sulit untuk membedakan antara mesomer dengan makromer dan mikromer. Sedangkan pada perlakuan konsentrasi Amonia 5 ppm pengaruh amonia melalui difusi pada masing – masing membran plasma dari sel menyebabkan terhambatnya pembelahan sel, baik itu mesomer ataupun mikromer dan makromer.

Pembelahan keempat, jumlah sel yang terbentuk pada fase ini berjumlah 32 sel. Pada pengamatan tanpa pemberian amonia (kontrol) diperoleh hasil rata-rata pembelahan 32 sel terjadi dalam 4,1 jam setelah fertilisasi. Pengamatan dengan pemberian amonia 2,5 ppm diperoleh pembelahan rata-rata 4,5 jam setelah fertilisasi atau lebih lambat dari perlakuan kontrol. Perlakuan pemberian amonia dengan konsentrasi 5 ppm diperoleh hasil pembelahan rata-rata 5,8 jam setelah fertilisasi, kemudian tidak ditemukan perkembangan lagi atau mengalami kematian.

Pembelahan 32 sel, untuk perlakuan kontrol pada sel embrio terdapat 16 mesomer yang terbagi atas 2 lingkaran. Sedangkan pada kutub vegetal terdiri dari 2 lingkaran blastomer yaitu makromer dan mikromer, pada makromer orientasi spindelnya adalah horizontal sehingga menghasilkan 8 makromer (dapat dilihat pada Gambar 12).

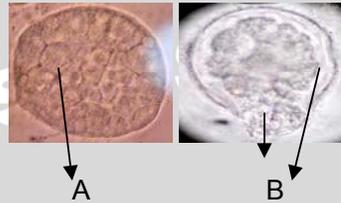


Gambar 12. Fase Pembelahan 32 Sel

Keterangan : (A) 16 mesomer yang terdiri dari 2 lingkaran pada perlakuan 0 ppm, (B) terjadinya pembengkakan pada satu sisi dinding sel pada perlakuan 2,5 ppm, (C) makromer dan mikromer nampak tidak beraturan pada perlakuan 5 ppm

Pembelahan ini adalah suatu proses yang terhambat, sehingga dalam beberapa menit jumlah blastomernya hanya 28, pada mikromer orientasi spindel vertikal kemudian membelok ke equatorial, sehingga menghasilkan 4 mikromer besar dan 4 mikromer kecil. Sedangkan pada perlakuan dengan konsentrasi Amonia 2,5 ppm dan 5 ppm toksisitas Amonia yang tinggi menyebabkan pembelahan yang tidak sempurna, hal ini dapat dilihat dari mesomer yang tidak dipisahkan oleh 2 lingkaran dan masing – masing blastomer yaitu makromer orientasi spindelnya tidak lagi horizontal dan begitupula dengan mikromer yang terlihat tidak lagi berorientasi secara vertikal. Hal ini disebabkan oleh konsentrasi Amonia tinggi yang masuk melalui difusi pada masing – masing membran plasma sel embrio, sehingga pembelahan mesomer dan blastomer terhambat.

Tahap pembelahan kelima, yaitu pembelahan 64 sel, perkembangan embrio memasuki fase morula. Pengamatan tanpa pemberian amonia (kontrol) diperoleh hasil rata-rata pembelahan 64 sel terjadi dalam 7,37 jam setelah fertilisasi. Sedangkan pada pengamatan dengan pemberian amonia 2,5 ppm diperoleh pembelahan rata-rata 7,72 jam setelah fertilisasi (dapat dilihat pada Gambar 13).



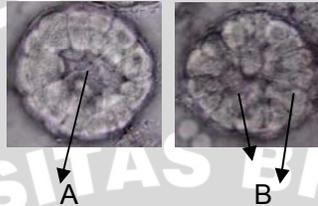
Gambar 13. Fase Pembelahan Morula

Keterangan: (A) embrio terdiri dari 64 sel pada perlakuan 0 ppm, (B) terjadinya penebalan serta kebocoran pada dinding sel pada perlakuan 2,5 ppm

Stadium 64 sel, untuk perlakuan kontrol dapat dilihat bahwa sel animal tersusun kurang teratur. Makromer terdiri atas dua deratan bertingkat sehingga pada stadium 64 sel telur dapat dibedakan menjadi 5 lapisan yaitu: an1, an2, veg1, veg2 dan mikromer. Sedangkan pada perlakuan dengan konsentrasi Amonia 2,5 ppm toksisitas Amonia menyebabkan bentuk dari kedua makromer yang tidak teratur, bahkan pada dinding sel mengalami abnormal, sehingga pada fase 64 sel ini sangat sulit untuk mengidentifikasi masing – masing dari lima lapisan tersebut.

Selanjutnya embrio mengalami fase blastulasi, dimana untuk mencapai tahap pembelahan ini pada perlakuan kontrol dibutuhkan waktu rata-rata 9,37 jam setelah fertilisasi sedangkan pada perlakuan 2,5 ppm dibutuhkan waktu rata-rata 10,52 jam setelah fertilisasi.

Stadium blastula landak laut pada umumnya teramati \pm 10 jam setelah fertilisasi. Pada stadium blastula, ruang tengah (central) yang terbentuk merupakan permulaan dari blastocoel yang berisi substansi koloid (dapat dilihat pada Gambar 14).



Gambar 14. Fase Perkembangan Blastula

Keterangan : (A) pada perlakuan 0 ppm, kutub fungsional dan kutub vegetatif telah selesai dibentuk. Hal ini ditandai dengan dibentuknya rongga di antara kedua kutub yang berisi cairan dan disebut blastosol. (B) Gagalnya pembentukan Blastosol, sehingga sel mesenkim nampak tidak beraturan pada perlakuan 2,5 ppm

Memasuki fase Blastula, pada perlakuan kontrol susunan sel embrio tersusun atas blastosol dan sel mesenkim primer yang dibungkus oleh selaput telur. Sel mesenkim primer tersusun dibagian bawah dalam blastosol. Namun pada perlakuan dengan konsentrasi Amonia 2,5 ppm dinding blastosol terlihat kasar serta tidak beraturan sedangkan sel mesenkim primer menyebar hampir diseluruh bagian dalam blastosol dan permukaan selaput telur dari sel terlihat tidak rata.

Pengamatan tanpa pemberian amonia (kontrol) pada fase gastrulasi diperoleh hasil rata-rata fase gastrulasi terjadi dalam 14,25 jam setelah fertilisasi sedangkan pada pengamatan dengan pemberian amonia 2,5 ppm diperoleh rata-rata 16,87 jam setelah fertilisasi. Dalam perlakuan kontrol, dinding sel akan berkurang dan volume embrio akan mengecil, hal ini disebabkan adanya migrasi dinding gastrula (dapat dilihat pada Gambar 15).

Pada stadium gastrula telah terbentuk tiga lapisan embrional yaitu ektoderm, endoderm dan mesoderm. Pembentukan archenteron diawali dengan proses invaginasi dari dinding vegetal yang berasal dari lempeng vegetal yang disusun oleh keturunan sel-sel mesenkim.

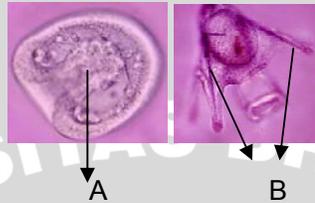


Gambar 15. Fase Perkembangan Grastula

Keterangan : (A) Pada perlakuan 0 ppm sel-sel pada kutub vegetatif membentuk lekukan ke arah dalam (invaginasi), (B) pembengkakan sel-sel serta gagalnya invaginasi pada perlakuan 2,5 ppm

Sel mesenkim primer terpusat pada titik - titik sisi ventral yang nantinya akan menghasilkan 2 spikula triradiate calon skeleton Saat embrio memasuki tahap gastrulasi terjadi proses diferensiasi dan morfogenesis, pada tahap ini embrio sangat sensitif terhadap kualitas lingkungan hidup. Hal tersebut dapat dilihat pada fase gastrula dengan perlakuan konsentrasi amonia 2,5 ppm, toksisitas amonia menyebabkan terhambatnya proses diferensiasi dan morfogenesis sehingga menghambat migrasi dinding gastrula sehingga sel embrio tidak membentuk blastopor dan akhirnya pembelahan sel embrio terhenti. Grastula selanjutnya berkembang membentuk prisma yang mempunyai bentuk simetri bilateral dengan sisi vegetal merata mendatar dan lebih tebal dari sisi yang lain. Dinding vegetal bagian dasar invaginasi terus berlangsung membentuk archenteron.

Kemudian Embrio landak laut memasuki fase prisma dan fase dua spikula. Pada perlakuan kontrol diperoleh hasil perkembangan embrio memasuki fase prisma dengan rata-rata 21,37 jam setelah fertilisasi dan menjadi fase dua spikula yang dalam waktu rata-rata 42 jam setelah fertilisasi (dapat dilihat pada Gambar 16).



Gambar 16. Fase Pembelahan Prisma dan Fase Dua Spikula

Keterangan : (A) Pembentukan Archenteron (B) terbentuknya 2 oral arms pada sisi masing masing animal plate

Bentuk archenteron jika diamati lebih jauh, permukaannya adalah rata dan ujung archenteron tertekan menuju kutub animal yang disebabkan oleh pseudopodia sel mesenkim primer. Ujung archenteron bergabung menjadi stomodeum, sel-sel mesenchyme sekunder pada ujung archenteron membentuk 2 massa lateral yang akan berkembang menjadi sepasang vesicle coelom kecil pada sisi esophagus.

Setelah memasuki stadium prisma, embrio tumbuh terus menjadi fase dua spikula. Ditandai dengan terbentuknya 2 oral arms pada sisi masing-masing animal plate. Spikula bercabang disekeliling garis tengah, ini terjadi akibat pergerakan matriks ketika massa hyaloplasma baru bergabung atau ketika sel-sel melekat pada matriks. Terbentuknya cabang dari garis tengah sampai berhenti disebut anterolateral.

4.2 Analisis Sidik Ragam (ANOVA)

Hasil analisis uji anova dengan menggunakan metode Rancangan Acak Kelompok (RAK) diperoleh F hitung, yang menjelaskan bahwa perlakuan dengan pemberian pengaruh amonia yang berbeda pada embrio landak laut berbeda sangat nyata pada taraf uji F 1% dan F 5 %. Berdasarkan hasil ini maka analisis hipotesis awal (H_1) yang diajukan, bahwa perbedaan konsentrasi amonia yang berbeda memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap waktu perkembangan embrio landak laut dapat diterima. Analisis tersebut menunjukkan bahwa embrio landak laut akan semakin sulit berkembang karena adanya pencemaran amonia. Setelah dilakukan Analisis Sidik Ragam (ANOVA), didapatkan bahwa perlakuan 0 ppm berbeda nyata terhadap perlakuan 2,5 ppm, 5 ppm, 10 ppm, dan 20 ppm. Perlakuan 2,5 ppm berbeda nyata terhadap perlakuan 0 ppm, 5 ppm, 10 ppm, dan 20 ppm. Perlakuan 5 ppm tidak berbeda nyata terhadap perlakuan 10 ppm dan 20 ppm, namun berbeda nyata terhadap perlakuan 0 ppm dan 2,5 ppm. Perlakuan 10 ppm tidak berbeda nyata terhadap perlakuan 5 ppm dan 20 ppm, namun berbeda nyata terhadap perlakuan 0 ppm dan 2,5 ppm. Perlakuan 20 ppm tidak berbeda nyata terhadap perlakuan 5 ppm dan 10 ppm, namun berbeda nyata terhadap perlakuan 0 ppm dan 2,5 ppm.

Tabel 4. Pengaruh amonia terhadap waktu perkembangan

Perlakuan (ppm)	Rata-Rata (jam)	Notasi
0	11,62	C
2,5	5,14	B
5	1,5	A
10	0,50	A
20	0,17	A

Keterangan:

Notasi yang berbeda menunjukkan terdapat perbedaan nyata

Notasi yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan nyata.

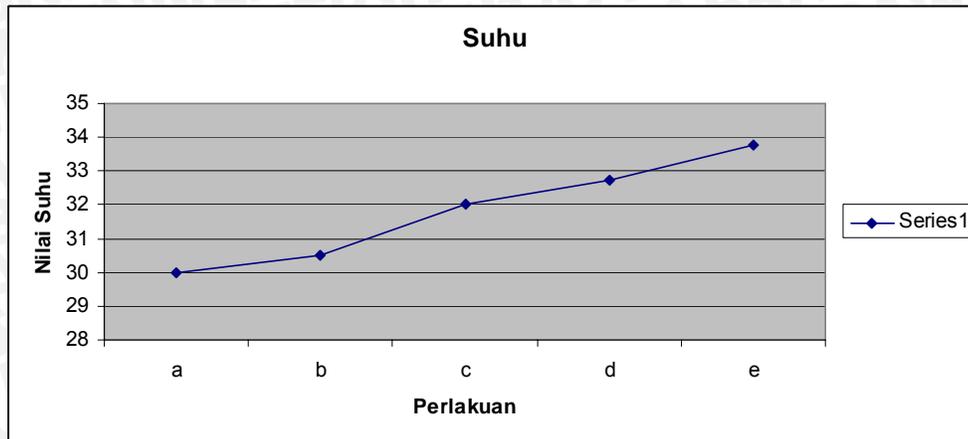
Hasil analisis perlakuan pemberian amonia dengan konsentrasi 0 ppm; 2,5 ppm; 5 ppm; 10 ppm; 20 ppm diperoleh rata-rata waktu perkembangan fase tertinggi yaitu 11,62 jam pada konsentrasi 0 ppm, dan rata-rata perkembangan fase embrio terendah yaitu 0,17 jam pada konsentrasi 20 ppm. Perbedaan total rata-rata perkembangan fase embrio dipengaruhi oleh besar kecilnya konsentrasi amonia yang diberikan. Semakin kecil konsentrasi amonia yang terlarut pada media perkembangan embrio, maka kemungkinan embrio untuk mencapai fase maksimal akan semakin besar. Demikian pula sebaliknya, semakin besar konsentrasi amonia yang terlarut pada media perkembangan embrio, maka semakin kecil pula kemungkinan embrio untuk berkembang atau hidup.

4.3 Pengamatan Kualitas Air

Pada penelitian kali ini dilakukan juga pengamatan mengenai parameter kualitas air yang berpengaruh terhadap waktu perkembangan embrio landak laut. Adapun parameter yang diamati meliputi: suhu, salinitas, oksigen terlarut (DO), dan Ph.

4.3.1 Suhu

Hasil pengukuran suhu pada penelitian pengaruh perbedaan konsentrasi Amonia (NH_3) terhadap perkembangan embrio landak laut, diperoleh nilai total rata-rata suhu tertinggi yaitu 33,7 °C pada konsentrasi Amonia 20 ppm dan nilai total rata-rata suhu terendah yaitu 30 °C pada konsentrasi 0 ppm (kontrol) dalam empat kali ulangan. Adapun hasil yang didapatkan mengenai pengukuran suhu perairan pada penelitian kali ini dapat dilihat pada gambar 17.



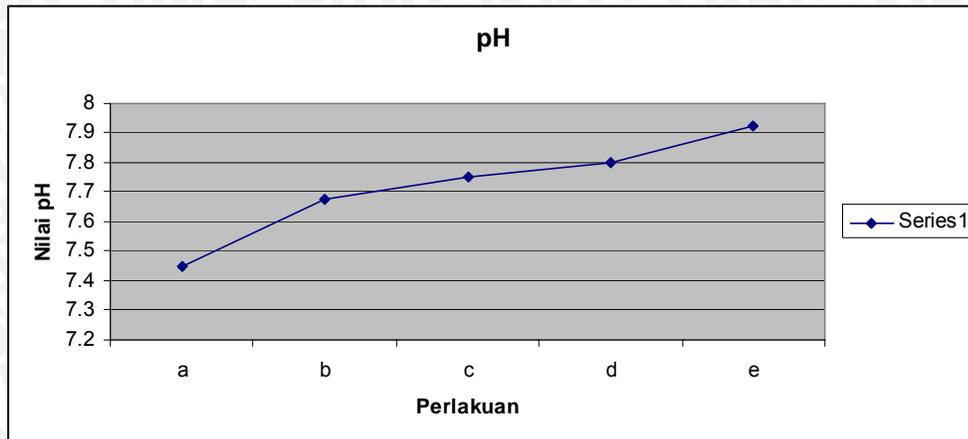
**Keterangan : a; 0 ppm, b; 2,5 ppm, c; 5 ppm, d; 10 ppm, e; 20 ppm

Gambar 17. Hasil pengukuran suhu

Peningkatan ataupun penurunan suhu dapat diakibatkan pada waktu pengambilan sample, karena suhu pengambilan sample pada pagi, siang maupun malam dapat terjadi perubahan. Selain itu menurut Zelni (2008), hubungan Amonia dengan suhu adalah berbanding lurus. Artinya, semakin besar kadar Amonia pada perairan, maka semakin besar pula suhu pada perairan tersebut. Pada umumnya semakin tinggi temperatur, akan semakin cepat berlangsungnya proses reaksi kimia, dengan demikian akan akan memungkinkan terjadinya pelarutan yang lebih cepat terhadap bahan-bahan pencemar tertentu (Marganof, 2007).

4.3.2 pH (derajat keasaman)

Berbeda dengan suhu, pada penelitian kali ini pH merupakan faktor penting dalam perkembangan embrio landak laut. Dari hasil yang didapatkan bahwa embrio sangat sulit untuk berkembang, bahkan mati ketika diberi lingkungan perairan yang mempunyai pH yang cukup tinggi (asam) dibanding ketika diberi lingkungan perairan yang mempunyai pH normal (dapat dilihat pada gambar 18).



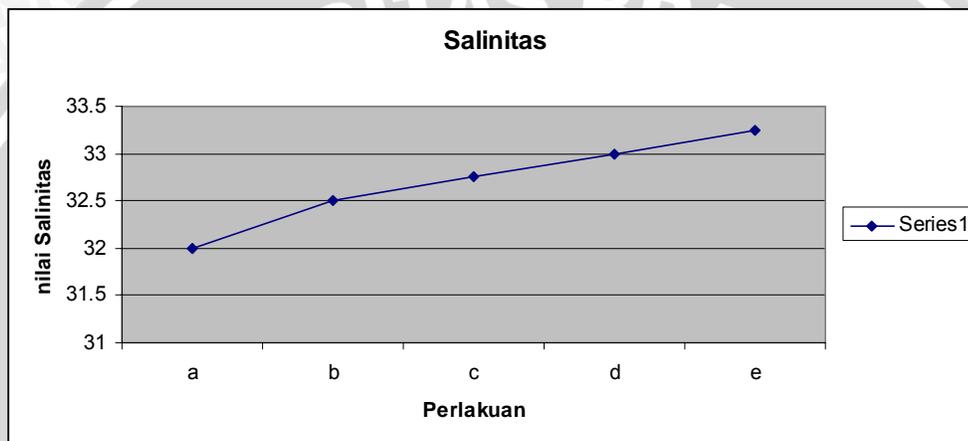
**Keterangan : a; 0 ppm, b; 2,5 ppm, c; 5 ppm, d; 10 ppm, e; 20 ppm

Gambar 18. Hasil pengukuran pH

Hasil pengukuran pH pada penelitian pengaruh perbedaan konsentrasi Amonia (NH_3) terhadap waktu perkembangan embrio landak laut, diperoleh nilai total rata-rata pH tertinggi yaitu 7,9 pada konsentrasi Amonia 20 ppm dan nilai total rata-rata pH terendah yaitu 7,4 pada konsentrasi 0 ppm (kontrol) dalam empat kali ulangan. Hasil pengukuran dari konsentrasi yang berbeda tidak terlalu nampak perbedaan pH pada media perkembangan embrio. Namun tetap saja diperoleh nilai total rata-rata tertinggi terjadi pada konsentrasi Amonia 20 ppm (konsentrasi tertinggi), hal ini diperkuat oleh Zelni (2008), hubungan Amonia dengan pH berbanding lurus, artinya semakin banyak kadar Amonia pada suatu perairan, maka semakin besar pula jumlah pH yang terkandung, ataupun sebaliknya. Amonia yang tinggi akan menyebabkan pH dalam air akan terganggu. Kenaikan amonia dalam air akan meningkatkan pH, sehingga akan sangat toksik bagi organisme (Barus, 2002).

4.3.3 Salinitas

Salinitas merupakan parameter penunjuk jumlah padatan total yang terlarut dalam air, setelah semua karbonat dikonversi menjadi oksida, semua bromida dan iodida digantikan oleh klorida dan semua bahan organik telah dioksidasi (Effendi, 2003). Adapun hasil yang didapatkan mengenai pengukuran salinitas perairan pada penelitian kali ini dapat dilihat pada gambar 19, dibawah ini :



**Keterangan : a; 0 ppm, b; 2,5 ppm, c; 5 ppm, d; 10 ppm, e; 20 ppm

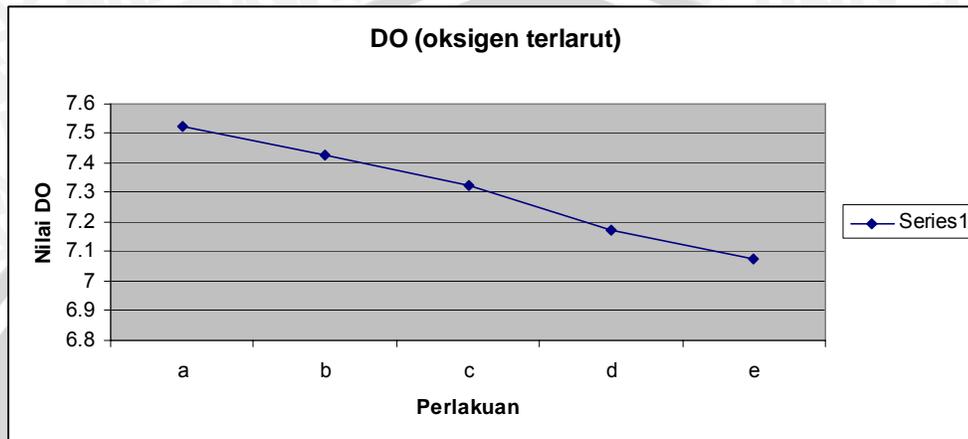
Gambar 19. Hasil pengukuran salinitas

Hasil pengukuran Salinitas pada penelitian pengaruh perbedaan konsentrasi amonia terhadap perkembangan embrio landak laut, diperoleh nilai total rata-rata salinitas tidak jauh berbeda. Hanya pada konsentrasi amonia 20 ppm, salinitas mencapai titik tertinggi yaitu 33,25 %.

4.3.4 DO (oksigen terlarut)

Oksigen terlarut merupakan suatu faktor yang sangat penting di dalam suatu ekosistem air. Pengaruh oksigen terlarut terhadap fisiologis organisme air terutama adalah dalam proses respirasi bagi sebagian besar organisme air. Oksigen terlarut dalam air berpengaruh secara nyata terhadap organisme air

yang memang mutlak membutuhkan oksigen terlarut untuk respirasinya (Barus, 2002). Hasil pengukuran kandungan oksigen dalam perairan (DO) pada penelitian kali dapat dilihat pada gambar 20 dibawah ini :



**Keterangan : a; 0 ppm, b; 2,5 ppm, c; 5 ppm, d; 10 ppm, e; 20 ppm

Gambar 20. Hasil pengukuran DO

Hasil rata-rata DO yang didapatkan berkisar antara 7,1 sampai 7,8 ppm. Pada penelitian terlihat pengaruh kandungan nilai DO terhadap perkembangan embrio landak laut, dimana embrio dapat hidup dan berkembang pada saat mempunyai cakupan oksigen terlarut yang cukup pada perairan. Menurut Zelni (2008) hubungan antara oksigen terlarut dengan amonia adalah berbanding terbalik. Semakin besar kandungan amonia pada perairan, maka akan semakin sedikit, kandungan oksigen yang terlarut pada perairan.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil analisis data yang diperoleh dalam penelitian dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Perbedaan konsentrasi Amonia yang berbeda memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap waktu perkembangan embrio landak laut. Analisis tersebut menunjukkan bahwa embrio landak laut akan semakin sulit berkembang karena adanya pencemaran amonia.
2. Semakin banyak dosis amonia yang diberikan pada perlakuan, maka akan menghambat fase perkembangan embrio, dan memperlambat perkembangan embrio di setiap fase atau bahkan mengalami kematian.

5.2 Saran

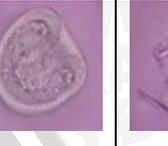
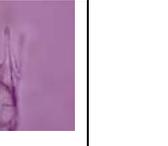
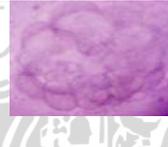
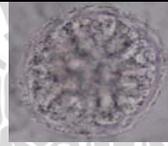
Penelitian ekotoksikologi ini dapat membantu untuk melihat pencemaran yang ada dalam perairan, jika efek pencemaran amonia sudah membahayakan perairan maka perlu pengawasan dan penanggulangan, seperti mengawasi segala macam bentuk kegiatan industri yang berpeluang besar menyebabkan pencemaran pada lingkungan perairan, selain melalui Peraturan Pemerintah pusat maupun kota dapat dilakukan penyuluhan dari pihak-pihak yang terkait. Untuk penelitian selanjutnya diharapkan hasil yang didapat dari penelitian ini dapat dijadikan sebagai acuan atau bahan pertimbangan.

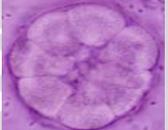
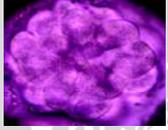
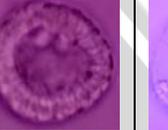
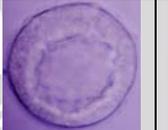
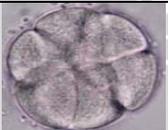
DAFTAR PUSTAKA

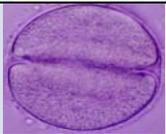
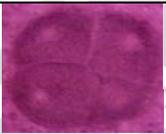
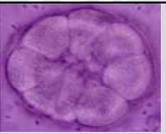
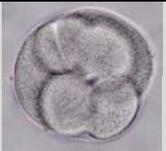
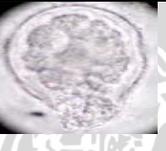
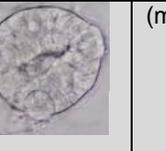
- Au, DWT, MWL, Chiang RSS, Wu. 1999. Effects of Cadmium and Phenol on Motility and Ultrastructure of Sea Urchin and Mussel Spermatozoa.
- Aziz, A. 1988. Pengaruh Salinitas Terhadap Sebaran Fauna Echinodermata. Oseana, Volume XIX, Nomor : 2 Hal 23-32.
- Aziz, A. 1988. Pengaruh Tekanan Panas Terhadap Fauna Echinodermata. Oseana, Volume XIII, Nomor: 3 Hal 125-132. Balai Penelitian Dan Pengembangan Biologi Laut, Pusat Penelitian Dan Pengembangan Oceanografi-LIPI, Jakarta.
- Aslan, Laode, M. 1997. Siklus Hidup Bulu Babi (*Echinometra mathaei*)
- Berryl and Karp ,R. D. 1978. Specific allograft reactivity in *Dermasterias imbnicata*. Transplantation 22: 434-439
- Barus. 2002. Pengantar Limnologi. Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sumatra Utara. Medan
- Boyd, C.E. 1990. Water Quality In Ponds For Aquaculture. Alabama Agricultural Experiment Station. Auburn University. USA.
- Cameron, R. A., Fraser, S. E., Britten, R. J. and Davidson, E. H. 1966. Macromere cell fates during sea urchin development. Development 113,1085-1091.
- Carnevali, Candia. 2006. Regeneration in Echinoderms: repair, regrowth, cloning. Department of Biology, University of Milan. Milan, Italy.
- Colt J and Armstrong D. 1979. Nitrogen Toxicity to Fish, Crustaceans and Molluscs. Department of Civil Engineering, University of California. California.
- Dan-Sohkawa M, Fujisawa H. 1984. Cell dynamics of the blastulation process in the starfish, *Asterina pectinifera*. Dev. Biol; 77: 328-339.
- Deirdre L. Zander. 2006. Perturbations in Mouse Embryo Development and Viability Caused by Ammonium Are More Severe after Exposure at the Cleavage Stages. Research Centre for Reproductive Health, 3 Department of Obstetrics and Gynaecology, University of Adelaide. Australia
- Dwipayani, N.M.U. 2001. Study Penyisihan Gas Amoniak (NH₃) Menggunakan Teknik Biofiltrasi di Bawah Kondisi Anaerob. Bandung : fakultas Teknik Lingkungan
- Effendi, H. 2003. Telaah Kualitas Air Bagi Pengelolaan Sumber Daya Dan Lingkungan Hidup. Kanisius. Yogyakarta.
- Endo, Y. 1966. Development and differentiation. Iwanami Shoten, Tokyo, pp. 1-61 (in Japanese).

- Fitriani, Lumonga. 2008. Apoptosis. Departement Patologi Anatomi. Medan.
- Gierse AC, Pearse JS. 1991. *Reproduction of Marine Invertebrates*. Vol VI. Academy Press. New York, pp 513-662
- Gray, M. A and C.D Metcalfe. 1999. Life Stages of Japanese Medaka. *Aquatic Toxicology* 46; Hal 149-154.
- Gustafson T, Wolpert L. 1967. Cellular movement and contact in sea urchin morphogenesis. *Biol. Rev.* 1967; 42: 442-498.
- Hagstorm, B.E. 1959. *Experimentall Cell Research*. Volume 17. Pages 256-261.
- Hardin J D, Cheng L Y. 1986. The mechanisms and mechanics of archenteron elongation during sea urchin gastrulation. *Dev. Biol.* 1986; 115: 490-501.
- Herawati, N. 2007. *Analisa Risiko Lingkungan Aliran Air Lumpur Lapindo Ke Badan Air*.
- Hammon, D.S., Wang, S., Holyoak, G.R., 2000. Ammonia concentration in bovine follicular fluid and itseffect during in vitro maturation on subsequent embryo development. *Anim. Reprod. Sci.* 58, 1-8.
- Hörstadius, S. 1973. *Experimental Embryology of Echinoderms*. Clarendon Press, Oxford.
- Jones, Briana. 2011. Effects of pH and temperature on fertilization and early development in the sea urchin, *Lytechinus pictus*.
- Kobayashi, N. 1984. *Marine Ecotoxicological Testing with Echinoderms*. *Ecol. Testing for the Marine Env.* (1): 341-40
- Kyomoto, Masato, Seiko Morinaga, Nagisa Ooi. 2009. Distinct embryotoxic effects of lithium appeared in a new assessment model of the sea urchin: the whole embryo assay and the blastomere culture assay.
- Lasut, M.T., Deiske A. Sumilat & Deddy T. Arbie. 2002. pengaruh konsentrasi sublethal diazinon 60 EC terhadap perkembangan awal embrio bulu babi. *Ekoton* vol.2, No, 1: 17-24. Universitas Sam Ratulangi
- Marganof. 2003 *Potensi Limbah Udang sebagai Penyerap Logam Berat*, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Marc, Julie. Cecile Maguer. Robert Belle. Odile Mulner-Lorillon. 2002. Sharp dose- and time-dependent toxicity of mercuric chloride at the cellular level in sea urchin embryos
- Mckim. 1977. *Toxicology and Applied Pharmacology*. Volume 42, issue 3, Pages 523-530.
- Mochyi, Machdhoero. 1993. *Metodologi Penelitian*. Penerbit UMM press. Malang

- Nasir, M. 2003. Metode Penelitian, Jakarta. Ghalia Indonesia.
- Okazaki. K. 1975. Sea Urchin Embryo Biochemistry And Morphogenesis. J. Bracher.
- Pagano, Geovani, Agostino Esposito, Giovan Giacomo Giordano. 1982. Fertilization and Larval Development in Sea Urchins Following Exposure of Gametes and Embryos to Cadmium.
- Pehrson, J. R. and Cohen, L. H. (1986). The fate of the small micromeres in sea urchin development. Dev. Biol. 113, 522-526.
- Roller, Richard, A. 1993. Effects of temperature and salinity acclimation of adults on larval survival, physiology, and early development of *Lytechinus variegatus* (Echinodermata: Echinoidea).
- Rothchild, Lord, 1956b. The Respiration Dilution Effect in sea urchin spermatozoa. Vie et Milieu, 7: 405-412.
- Sardjito. 2007. Efektifitas Dosis Kaporit Dalam Menurunkan Kadar Amoniak Limbah Cair. Yogyakarta
- Setiawan, 2006. Teknik Pembenihan dan Cara Cepat Pembesaran Lobster Air Tawar. PT.AgromediaPustaka. Jakarta.
- Setokoesoemo, B. R. 1986. Masalah Pengaruh Lingkungan pada Perkembangan Embrio. Pidato Pengukuhan jabatan Guru Besar pada Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Surabaya.
- Suryabrata, 1983. Metodologi Penelitian. PT raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Swann K, Whitaker M. 1954. Stimulation of the Na/H exchanger of sea urchin eggs by phorbol ester. Nature. 314(6008):274-277.
- Thongra, W. 1997. Toxicity of cadmium, Zinc and Copper On Sperm Cell Fertilization Of Sea Urchin, *Diadema Setosum*.
- Wijarni. 2001. Perkembangan Embrio Hasil Hibidrase Beberapa Variasi Landak Laut. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang.
- Wijarni dan Sudaryanti. 2006. Landak Laut Sebagai Bioindikator. Biomonitoring. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang.
- Yatim, W. 1994. Reproduksi dan Embryologi. Edisi Ketiga. Penerbit Tarsito. Bandung.
- Yudha, I. G.1999. toksisitas akud dan pengaruh subletal endosulfan terhadap pertumbuhan dan kondisi hematologist ikan lel dumbo (*clarias glariepinus*). Tesis. Program pasca sarjana. ITB.
- Zelni, Meri. 2008. studi kualitas air sungai batang arau pada musim hujan. Other thesis. Fakultas teknik. <http://repository.unand.ac.id/id/eprint/11800>

PERLAKUAN (AMONIA)	PERKEMBANGAN EMBRIO ULANGAN KEDUA								
	2 sel	4 sel	16 sel	32 sel	Morula	Blastula	Gastrula	Prisma	Prisma 2 spatula
0 ppm									
2,5 ppm								(mati)	(mati)
5 ppm					(mati)	(mati)	(mati)	(mati)	(mati)
10 ppm				(mati)	(mati)	(mati)	(mati)	(mati)	(mati)
20 ppm			(mati)	(mati)	(mati)	(mati)	(mati)	(mati)	(mati)

PERLAKUAN (AMONIA)	PERKEMBANGAN EMBRIO ULANGAN KETIGA								
	2 sel	4 sel	16 sel	32 sel	Morula	Blastula	Gastrula	Prisma	Prisma 2 spatula
0 ppm									
2,5 ppm								(mati)	(mati)
5 ppm					(mati)	(mati)	(mati)	(mati)	(mati)
10 ppm			(mati)	(mati)	(mati)	(mati)	(mati)	(mati)	(mati)
20 ppm		(mati)	(mati)	(mati)	(mati)	(mati)	(mati)	(mati)	(mati)

PERLAKUAN (AMONIA)	PERKEMBANGAN EMBRIO ULANGAN KEEMPAT								
	2 sel	4 sel	16 sel	32 sel	Morula	Blastula	Gastrula	Prisma	Prisma 2 spatula
0 ppm									
2,5 ppm								(mati)	(mati)
5 ppm					(mati)	(mati)	(mati)	(mati)	(mati)
10 ppm			(mati)	(mati)	(mati)	(mati)	(mati)	(mati)	(mati)
20 ppm		(mati)	(mati)	(mati)	(mati)	(mati)	(mati)	(mati)	(mati)



Lampiran 2. Tabel Perkembangan Embrio

Percobaan Pertama

Fase/ perlakuan	2 sel	4 sel	16 sel	32 sel	Morula	Blastula	Gastrula	Prisma	Prisma 2 spikula
0 ppm	1 jam	2 jam	3,5 jam	4,3 jam	8 jam	10 jam	15 jam	20 jam	40 jam
2,5 ppm	1 jam	2,5 jam	4,1 jam	5 jam	9,3 jam	11 jam	17,5 jam	-	-
5 ppm	1,2 jam	3 jam	4,6 jam	6 jam	-	-	-	-	-
10 ppm	1,5 jam	3,5 jam	-	-	-	-	-	-	-
20 ppm	1 jam	-	-	-	-	-	-	-	-

Percobaan Kedua

Fase/ perlakuan	2 sel	4 sel	16 sel	32 sel	Morula	Blastula	Gastrula	Prisma	Prisma 2 spikula
0 ppm	0,7 jam	1,6 jam	2,6 jam	3 jam	5,1 jam	7 jam	11 jam	23 jam	44 jam
2,5 ppm	0,9 jam	2,1 jam	3 jam	4 jam	6 jam	8 jam	16 jam	-	-
5 ppm	1 jam	2,5 jam	3,7 jam	5,2 jam	-	-	-	-	-
10 ppm	1 jam	3 jam	3,5 jam	-	-	-	-	-	-
20 ppm	1,2 jam	-	-	-	-	-	-	-	-

Percobaan Ketiga

Fase/ perlakuan	2 sel	4 sel	16 sel	32 sel	Morula	Blastula	Gastrula	Prisma	Prisma 2 spikula
0 ppm	1 jam	2 jam	3 jam	4,5 jam	8,1 jam	10 jam	15 jam	21 jam	42 jam
2,5 ppm	1 jam	2 jam	3,5 jam	5 jam	8,6 jam	11 jam	17 jam	-	-
5 ppm	1 jam	2,5 jam	4 jam	6 jam	-	-	-	-	-
10 ppm	1 jam	3 jam	-	-	-	-	-	-	-
20 ppm	1 jam	-	-	-	-	-	-	-	-

Percobaan Keempat

Fase/ perlakuan	2 sel	4 sel	16 sel	32 sel	Morula	Blastula	Gastrula	Prisma	Prisma 2 spikula
0 ppm	1,3 jam	2,3 jam	3,8 jam	4,6 jam	8,3 jam	10,5 jam	16 jam	21,5 jam	42 jam
2,5 ppm	1,5 jam	2,1 jam	3 jam	4 jam	7 jam	12,1 jam	17 jam	-	-
5 ppm	1,5 jam	2,3 jam	3,8 jam	6 jam	-	-	-	-	-
10 ppm	1,5 jam	3,8 jam	-	-	-	-	-	-	-
20 ppm	1,3 jam	-	-	-	-	-	-	-	-

KETERANGAN : (-) = MATI

Lampiran 3. Tabel Kualitas Air

Ulangan Pertama

Konsentrasi (ppm)	DO	Suhu (°C)	Salinitas (‰)	pH
0	7,7	29	32	7,4
2,5	7,4	30	32	7,6
5	7,4	32	32	7,6
10	7,3	32	33	7,7
20	7,1	34	33	7,8

Ulangan Kedua

Konsentrasi (ppm)	DO	Suhu (°C)	Salinitas (‰)	pH
0	7,5	30	32	7,4
2,5	7,5	30	33	7,7
5	7,5	30	33	7,7
10	7,4	31	33	7,8
20	7,3	32	34	7,9

KETERANGAN : (-) = MATI

Ulangan Ketiga

Konsentrasi (ppm)	DO	Suhu (°C)	Salinitas (‰)	pH
0	7,6	29	32	7,5
2,5	7,5	30	33	7,7
5	7,3	33	33	7,8
10	7	34	33	7,8
20	7	34	33	8

Ulangan Keempat

Konsentrasi (ppm)	DO	Suhu (°C)	Salinitas (‰)	pH
0	7,3	32	32	7,5
2,5	7,3	32	32	7,7
5	7,1	33	33	7,9
10	7	34	33	7,9
20	6,9	35	33	8

Lampiran 4. Perhitungan (Rancang Acak Kelompok) RAK

Perlakuan	Fase	Ulangan				Total	Rata-rata
		I	II	III	IV		
0	1	1	0.7	1	1.3	4	1
	2	2	1.6	2	2.3	7.9	1.975
	3	3.5	2.6	3	3.8	12.9	3.225
	4	4.3	3	4.5	4.6	16.4	4.1
	5	8	5.1	8.1	8.3	29.5	7.375
	6	10	7	10	10.5	37.5	9.375
	7	15	11	15	16	57	14.25
	8	20	23	21	21.5	85.5	21.375
	9	40	44	42	42	168	42
2.5	1	1	0.9	1	1.5	4.4	1.1
	2	2.5	2.1	2	2.1	8.7	2.175
	3	4.1	3	3.5	3	13.6	3.4
	4	5	4	5	4	18	4.5
	5	9.3	6	8.6	7	30.9	7.725
	6	11	8	11	12.1	42.1	10.525
	7	17.5	16	17	17	67.5	16.875
	8	0	0	0	0	0	0
	9	0	0	0	0	0	0
5	1	1.2	1	1	1.5	4.7	1.175
	2	3	2.5	2.5	2.3	10.3	2.575
	3	4.6	3.7	4	3.8	16.1	4.025
	4	6	5.2	6	6	23.2	5.8
	5	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0
	7	0	0	0	0	0	0
	8	0	0	0	0	0	0
	9	0	0	0	0	0	0
10	1	1.5	1	1	1.5	5	1.25
	2	3.5	3	3	3.8	13.3	3.325
	3	0	0	0	0	0	0
	4	0	0	0	0	0	0
	5	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0
	7	0	0	0	0	0	0
	8	0	0	0	0	0	0
	9	0	0	0	0	0	0
20	1	1.7	1.2	1.5	1.8	6.2	1.55
	2	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0
	4	0	0	0	0	0	0
	5	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0
	7	0	0	0	0	0	0
	8	0	0	0	0	0	0
	9	0	0	0	0	0	0

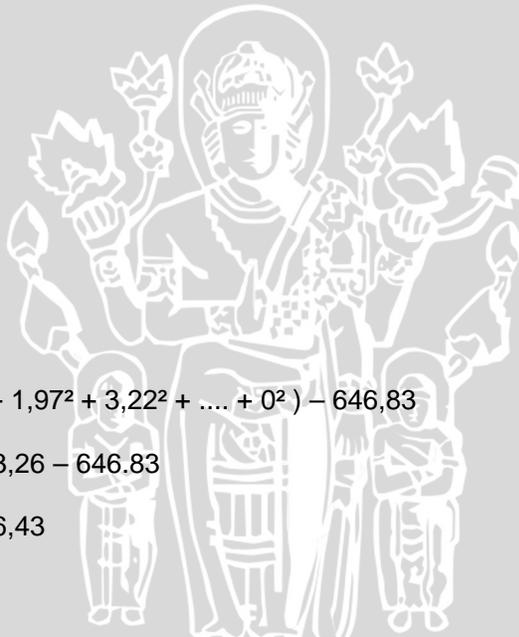
Data pengaruh perlakuan terhadap hasil percobaan (jam)

Perlakuan	Kelompok									Jumlah	Rata-rata
	1	2	3	4	5	6	7	8	9		
0	1	1.97	3.22	4.1	7.37	9.37	14.25	21.37	42	104.65	11.62
2.5	1.1	2.17	3.4	4.5	7.72	10.52	16.87	0	0	46.28	5.14
5	1.17	2.57	4.02	5.8	0	0	0	0	0	13.56	1.5
10	1.25	3.32	0	0	0	0	0	0	0	4.57	0.5
20	1.55	0	0	0	0	0	0	0	0	1.55	0.17
Jumlah	6.07	10.03	10.64	14.4	15.09	19.89	31.12	21.37	42	170.61	18.95

$$\begin{aligned}
 FK &= \frac{170,61^2}{5 \times 9} \\
 &= \frac{29.107,77}{45} \\
 &= 646,83
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK \text{ Total} &= (1^2 + 1,97^2 + 3,22^2 + \dots + 0^2) - 646,83 \\
 &= 3.163,26 - 646,83 \\
 &= 2.516,43
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK \text{ Kelompok} &= \frac{6,07^2 + 10,03^2 + 14,4^2 + \dots + 42^2}{5} - 646,83 \\
 &= \frac{4.270,46}{5} - 646,83 \\
 &= 207,26
 \end{aligned}$$



$$\begin{aligned}
 \text{JK Perlakuan} &= \frac{6,07^2 + 10,03^2 + 14,4^2 + \dots + 42^2}{9} - 646,83 \\
 &= \frac{13.300,62}{9} - 646,83 \\
 &= 831,01
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK Galat} &= \text{JK total} - \text{JK Kelompok} - \text{JK Perlakuan} \\
 &= 2.516,43 - 207,26 - 831,01 \\
 &= 1.478,16
 \end{aligned}$$

Tabel Analisis Sidik Ragam

SK	Db	JK	KT	F _{hit}	F 5%	F 1 %
Kelompok	8	207,26	25,90	0,56 ^{tn}	2,28	3,12
Perlakuan	4	831,01	207,75	4,49 ^{**}	2,67	3,97
Galat	32	1.478,16	46,19			
Total	44	2.516,43				

Keterangan : ^{tn} tidak berbeda nyata
^{**} berbeda sangat nyata

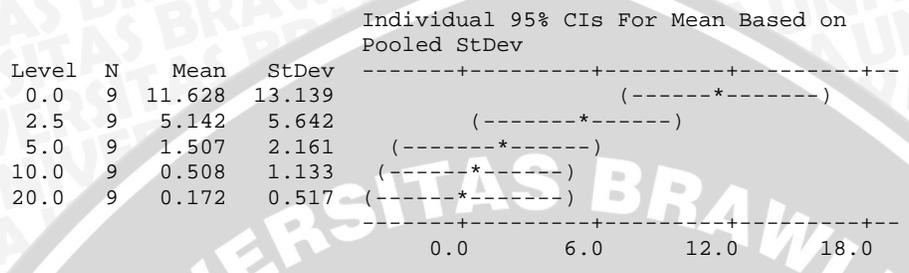
Dari hasil analisis sidik ragam diketahui bahwa:

$F_{hitung} > F_{tabel}$ (1 % dan 5%), terima H_1 artinya bahwa perbedaan perlakuan konsentrasi amonia memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap perkembangan embrio landak laut selama pengamatan.

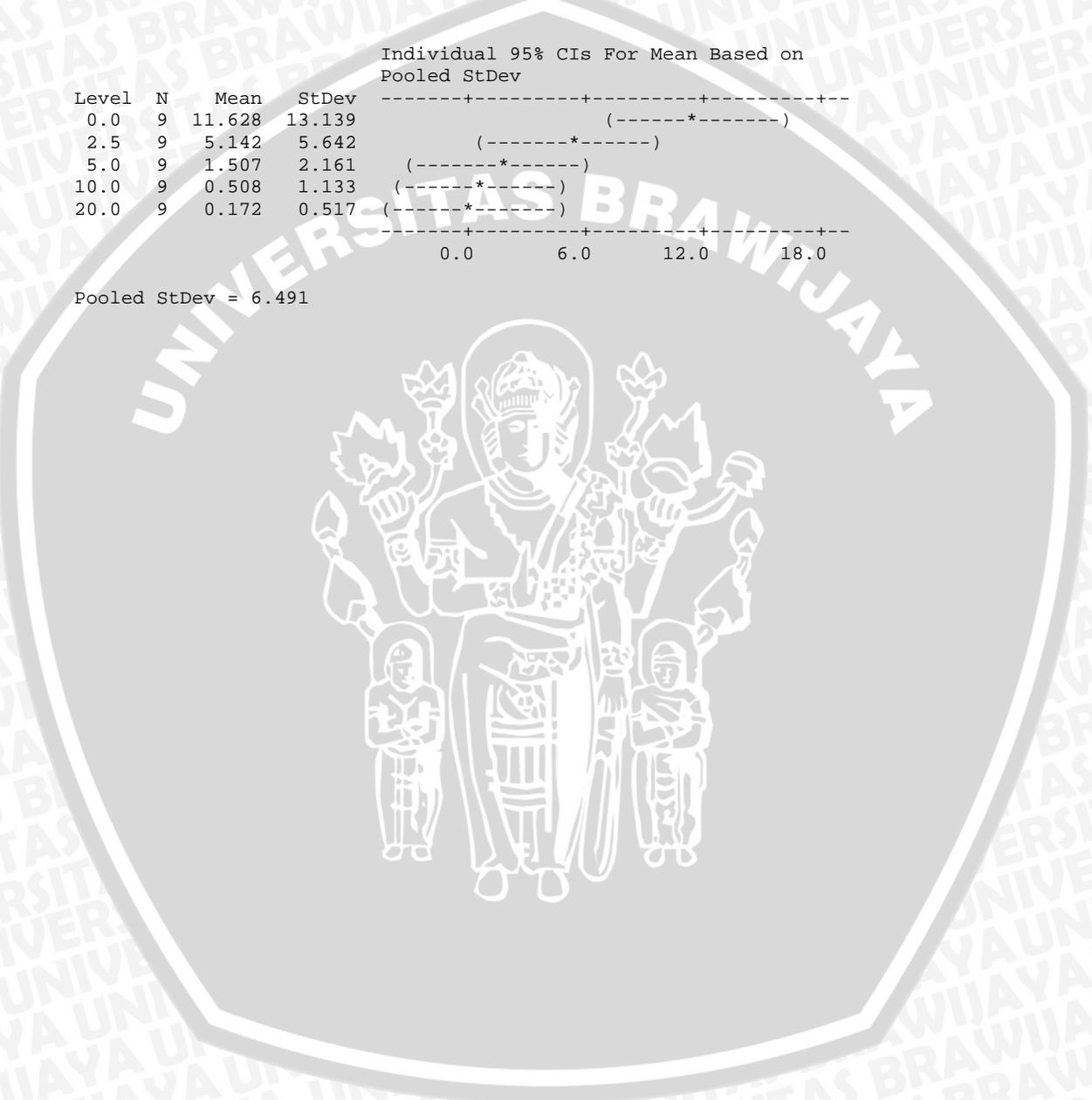
One-way ANOVA: Fase versus Amonia

Source	DF	SS	MS	F	P
Amonia	4	831.0	207.8	4.93	0.003
Error	40	1685.4	42.1		
Total	44	2516.4			

S = 6.491 R-Sq = 33.02% R-Sq(adj) = 26.33%



Pooled StDev = 6.491



Lampiran 5. Cara Membuat Konsentrasi Amonia (NH₃)

Berat Jenis = 0,91 Kg/L
= 910 gr/L
= 910.000 mg/L (ppm)
1 mikro (μ) = 0,001 ml

- Konsentrasi 2,5 ppm

$$\begin{aligned}V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\V_1 \times 910.000 &= 3000 \text{ ml} \times 2,5 \\V_1 &= 7.500 / 910.000 \\&= 0,0082 \text{ ml} \\&= 8,2 \mu\end{aligned}$$

- Konsentrasi 5 ppm

$$\begin{aligned}V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\V_1 \times 910.000 &= 3000 \text{ ml} \times 5 \\V_1 &= 15000 / 910.000 \\&= 0,164 \text{ ml} \\&= 16,4 \mu\end{aligned}$$

- Konsentrasi 10 ppm

$$\begin{aligned}V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\V_1 \times 910.000 &= 3000 \text{ ml} \times 10 \\V_1 &= 30.000 / 910.000 \\&= 0,032 \text{ ml} \\&= 32,9 \mu\end{aligned}$$

- Konsentrasi 20 ppm

$$\begin{aligned}V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\V_1 \times 910.000 &= 3000 \text{ ml} \times 20 \\V_1 &= 60.000 / 910.000 \\&= 0,065 \text{ ml} \\&= 65,9 \mu\end{aligned}$$

Lampiran 6. Gambar Dokumentasi Penelitian



Media hidup landak laut



KCL, alat suntik, pH meter, Do meter, refraktometer



Induk jantan dan betina



media perkembangan embrio



Supernatan Landak Laut



Alat Sentrifugasi



mikroskop

