



DEPARTMENT
ENVIRONMENTAL ENGINEERING

TUGAS AKHIR

Uji Toksisitas Limbah Penyamakan Kulit Terhadap Zebrafish (*Danio Rerio*) Dengan Metode *Fish Embryo Toxicity* (Fet)

Febianda Rachmadhati

21513105

Pebimbing I:

Any Juliani, S.T., M.Sc. (Res.Eng.), Ph.D.

Pebimbing II:

Dr. apt. Farida Hayati, S.Si., M.Si.

Program Studi Teknik Lingkungan

Fakultas Teknik Sipil Dan Perencanaan

Universitas Islam Indonesia

2025



DEPARTMENT
ENVIRONMENTAL ENGINEERING

BACHELOR THESIS

**Toxicity Test of Tannery Industry Wastewater to Zebrafish
(*Danio Rerio*) Using The *Fish Embryo Toxicity* (FET) Method**

Febianda Rachmadhati

21513105

Supervisor I:

Any Juliani, S.T., M.Sc. (Res.Eng.), Ph.D.

Supervisor II:

Dr. apt. Farida Hayati, S.Si., M.Si.

Environmental Engineering Bachelor Program

Faculty of Civil Engineering and Planning

Universitas Islam Indonesia

2025

LEMBAR PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

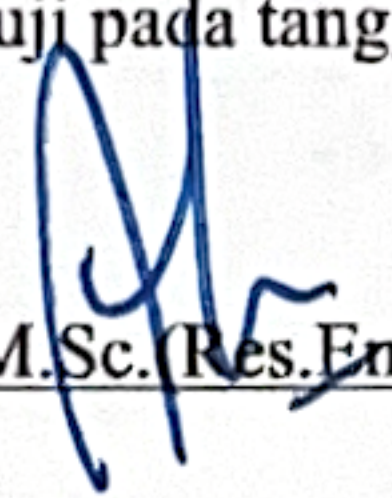
Uji Toksisitas Air Limbah Industri Penyamakan Kulit Terhadap *Zebrafish* (*Danio Rerio*) Dengan Menggunakan Metode *Fish Embryo Toxicity* (FET)

Tugas akhir ini disusun dan diajukan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Teknik (S.T.) pada Program Studi Teknik Lingkungan Program Sarjana Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan Universitas Islam Indonesia.

Febianda Rachmadhati

21513105

Tugas akhir ini telah diuji pada tanggal 16 September 2025 dan disetujui oleh:


Any Juliani, S.T., M.Sc.(Res.Eng.), Ph.D.

(Pembimbing 1)


Dr. apt. Farida Hayati, S.Si., M.Si.

(Pembimbing 2)

 22/9/25
Dr. Suphia Rahmawati, S.T., M.T.

(Penguji)

Mengetahui,

Ketua Prodi Teknik Lingkungan Program Sarjana

 22/9/25
Any Juliani, S.T., M.Sc.(Res.Eng.), Ph.D.

PERNYATAAN

Saya, penyusun tugas akhir ini, menyatakan bahwa:

1. Karya tulis ini adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik apapun, baik di Universitas Islam Indonesia, maupun di perguruan tinggi lainnya.
2. Karya tulis ini merupakan gagasan, rumusan, dan studi saya sendiri, tanpa bantuan pihak lain, kecuali arahan dosen pembimbing.
3. Dalam karya tulis ini tidak terdapat karya atau pendapat orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dalam naskah dengan disebutkan nama penulis dan dicantumkan dalam daftar pustaka.
4. Perangkat lunak atau program komputer yang digunakan dalam tugas akhir ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya. Bukan tanggung jawab Universitas Islam Indonesia.
5. Tidak ada penggunaan kecerdasan buatan (*artificial intelligence*, AI) dalam penyusunan karya tugas akhir ini kecuali:
 - a. untuk membantu dalam kadar yang wajar (seperti membantu mengoreksi, mencari ide, dan mencari referensi), dan
 - b. tercantum dan dijelaskan perihal penggunaannya secara eksplisit di dalam karya tugas akhir ini.Implikasi dari penggunaan AI tersebut menjadi tanggung jawab saya sepenuhnya.
6. Pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya. Apabila di kemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, saya bersedia menerima sanksi akademik dengan pencabutan gelar yang sudah diperoleh serta sanksi lainnya sesuai dengan norma yang berlaku di perguruan tinggi.

Yogyakarta, 16 September 2025,



Febianda Rachmadhati
21513105

PRAKATA

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Segala puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas limpahan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir yang berjudul “Uji Toksisitas Air Limbah Industri Penyamakan Kulit Terhadap Zebrafish (*Danio Rerio*) Dengan Menggunakan Metode *Fish Embryo Toxicity* (FET)” dengan baik dan tepat pada waktunya. Tugas Akhir ini ditulis dalam rangka memenuhi syarat untuk mencapai gelar Sarjana Teknik pada Program Studi Teknik Lingkungan Universitas Islam Indonesia.

Dalam proses penyusunan Tugas Akhir ini, penulis banyak menerima dukungan, doa, serta bantuan dari berbagai pihak. Untuk itu, dengan penuh rasa hormat dan terima kasih, penulis ingin menyampaikan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada:

1. Kepada kedua orang tua penulis, Ibu Nurmaningsih dan Ayah Kamaruddin tercinta. Terimakasih atas segala kasih sayang yang diberikan dalam membesarkan dan membimbing penulis selama ini sehingga dapat terus berjuang dalam meraih impian dan cita-cita. Kesuksesan dan segala hal baik yang kedepannya akan penulis dapatkan adalah karena dan untuk kalian berdua.
2. Bang Miko, Bang Raka, Kak Yola, dan adik besarku Adit, yang selalu menjadi sumber semangat dan motivasi bagi penulis. Dukungan dan keceriaan kalian membuat penulis terus kuat dan bertekad hingga akhirnya dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini dengan baik.
3. Ibu Any Juliani, S.T., M.Sc. (Res.Eng.), Ph.D., selaku Dosen Pembimbing I, atas segala bimbingan, arahan, serta kesabaran beliau dalam membimbing penulis selama proses penyusunan Tugas Akhir ini. Terima kasih juga disampaikan kepada Ibu Dr. apt. Farida Hayati, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembimbing II, atas dukungan dan masukan yang sangat berarti dalam penyempurnaan karya ini. Tak lupa kepada Ibu Dr. Suphia Rahmawati, S.T.,

M.T., selaku dosen penguji, yang telah memberikan berbagai saran dan evaluasi konstruktif yang sangat membantu dalam memperbaiki dan menyempurnakan isi Tugas Akhir ini.

4. Ibu Any Juliani, S.T., M.Sc. (Res.Eng.) selaku Ketua Program Studi Teknik Lingkungan, dan Bapak Adam Rus Nugroho, S.T., M.T., selaku Koordinator Tugas Akhir atas dukungan dalam pelaksanaan tugas ini.
5. Seluruh dosen di Program Studi Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan, Universitas Islam Indonesia, yang telah dengan tulus membagikan ilmu, wawasan, serta pengalaman berharga selama masa perkuliahan. Terima kasih atas dedikasi dan kontribusi yang telah menjadi fondasi penting dalam perjalanan akademik penulis.
6. Para laboran di Laboratorium Teknik Lingkungan yang telah membantu dan membimbing selama proses kerja praktik di laboratorium.
7. Tika, Hana, Caca, Intan selaku teman-teman perjuangan yang senantiasa memberikan semangat, dukungan, serta bantuan selama proses penyelesaian Tugas Akhir ini. Terima kasih telah berjuang hingga sejauh ini dan selalu setia menemani dalam setiap langkahnya.
8. Zaidan, yang selalu setia mendampingi di setiap langkah. Atas segala dukungan, semangat, dan perhatian yang tak pernah putus selama proses ini.
9. Seluruh keluarga besar Teknik Lingkungan angkatan 2021 yang tidak bisa disebutkan satu per satu, namun turut memberikan semangat dan warna selama masa perkuliahan.
10. Kepada semua pihak yang telah membantu secara langsung maupun tidak langsung dalam proses penyusunan Tugas Akhir ini.

Penulis menyadari bahwa Tugas Akhir ini masih memiliki kekurangan. Oleh karena itu, penulis sangat terbuka terhadap kritik dan saran yang membangun demi penyempurnaan di masa mendatang. Semoga Tugas Akhir ini dapat memberikan manfaat bagi para pembaca dan dapat menjadi dasar untuk pengembangan lebih lanjut.

Wassalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Yogyakarta, 16 September 2025

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Febi' with a stylized flourish above it.

Febianda Rachmadhati

Uji Toksisitas Air Limbah Industri Penyamakan Kulit Terhadap Zebrafish (*Danio Rerio*) Dengan Menggunakan Metode Fish Embryo Toxicity (FET)

Mahasiswa : Febianda Rachmadhati
NIM : 21513105
Program Studi : Teknik Lingkungan - Program Sarjana
Pembimbing 1 : Any Juliani, S.T., M.Sc. (Res.Eng.), Ph.D.
Pembimbing 2 : Dr. apt. Farida Hayati, S.Si., M.Si.

Abstrak

Industri penyamakan kulit melalui tiga tahap utama yaitu pra-penyamakan, penyamakan dan pasca-penyamakan, menghasilkan limbah cair yang mengandung bahan organik, amonia, sulfida, minyak-lemak, dan logam berat seperti kromium yang berpotensi mencemari perairan. Penelitian ini bertujuan menilai tingkat toksisitas limbah cair sebelum dan sesudah pengolahan di Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL), menganalisis parameter kimia, serta hubungannya dengan hasil uji toksisitas. Metode yang digunakan adalah *Fish Embryo Toxicity* (FET) sesuai pedoman OECD 236 dengan organisme uji embrio ikan zebra (*Danio rerio*) dan parameter koagulasi, pembentukan somit, pelepasan tailbud, detak jantung, kelainan morfologi, serta kematian. Konsentrasi uji adalah 3,1–0,2% untuk influen dan 50–3,1% untuk efluen, sedangkan nilai LC_{50} dihitung dengan analisis probit dari seluruh konsentrasi. Hasil penelitian menunjukkan LC_{50} influen sebesar 5,15% dan LC_{50} efluen 23,86%, menandakan bahwa IPAL mampu menurunkan toksisitas meskipun belum sepenuhnya menghilangkan dampak berbahaya. Analisis kimia memperlihatkan penurunan signifikan kadar pencemar pada efluen dibandingkan influen, walau beberapa parameter masih mendekati atau sedikit di atas baku mutu. Hubungan antara kualitas fisika-kimia dan hasil FET menunjukkan bahwa tingginya COD, BOD, amonia, sulfida, dan kromium berkorelasi dengan rendahnya nilai LC_{50} . Dengan demikian, metode FET berbasis OECD 236 efektif untuk mengevaluasi dampak limbah cair penyamakan kulit sekaligus menilai kinerja IPAL.

Kata kunci: Limbah cair, penyamakan kulit, *zebrafish*, *Fish Embryo Toxicity* (FET), LC_{50} , OECD 236, probit.

Toxicity Test of Industrial Wastewater Tanning Leather Against Zebrafish (*Danio Rerio*) Using Fish Embryo Toxicity (FET)

Method

Student : Febianda Rachmadhati
Student Number : 21513105
Study Program : Teknik Lingkungan - Program Sarjana
Supervisor 1 : Any Juliani, S.T., M.Sc. (Res.Eng.), Ph.D.
Supervisor 2 : Dr. apt. Farida Hayati, S.Si., M.Si.

Abstract

The leather tanning industry goes through three main stages: pre-tanning, tanning, and post-tanning, producing liquid waste containing organic matter, ammonia, sulfides, oils and fats, and heavy metals such as chromium, which have the potential to pollute waterways. This study aims to assess the toxicity levels of liquid waste before and after treatment at the Wastewater Treatment Plant (WWTP), analyze chemical parameters, and their relationship with toxicity test results. The method used was the *Fish Embryo Toxicity* (FET) test in accordance with OECD Guideline 236, using zebrafish embryos (*Danio rerio*) as test organisms and parameters including coagulation, somite formation, tailbud detachment, heartbeat, morphological abnormalities, and mortality. Test concentrations ranged from 3.1–0.2% for influent and 50–3.1% for effluent, while LC₅₀ values were calculated using probit analysis across all concentrations. The results showed an LC₅₀ of 5.15% for influent and 23,86% for effluent, indicating that the WWTP can reduce toxicity although it does not completely eliminate harmful effects. Chemical analysis revealed a significant reduction in pollutant levels in effluent compared to influent, although some parameters were still close to or slightly above quality standards. The relationship between physical-chemical quality and FET results shows that high levels of COD, BOD, ammonia, sulfide, and chromium correlate with low LC₅₀ values. Thus, the FET method based on OECD 236 is effective for evaluating the impact of leather tanning wastewater while assessing WWTP performance.

Keywords: Wastewater, leather tanning, *zebrafish*, *Fish Embryo Toxicity* (FET), LC₅₀, OECD 236, probit.

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN.....	iii
PRAKATA.....	iv
Abstrak	vii
Abstract	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
BAB I.....	1
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	2
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
1.5 Ruang Lingkup	3
BAB II.....	4
TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Limbah Industri Penyamakan Kulit	4
2.2 Toksisitas.....	10
2.3 Zebrafish.....	10
2.4 Fish Embryo Toxicity (FET)	12
2.5 Penelitian Terdahulu.....	15
BAB III	19
METODE PENELITIAN.....	19
3.1 Diagram Alir Penelitian.....	19
3.2 Waktu dan Lokasi Penelitian.....	20
3.3 Alat dan Bahan	20

3.3.1 Alat.....	20
3.3.2 Bahan	21
3.4 Sampling Air Limbah.....	21
3.5 Uji Parameter Kimia.....	21
3.6 Persiapan dan Pelaksanaan Uji Toksisitas.....	25
3.6.1 Persiapan Pra Uji Toksisitas	25
3.6.2 Pelaksanaan Uji Toksisitas	30
3.6.3 Analisis Data Uji.....	33
BAB IV	38
HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA.....	38
4.1 Karakter Air Limbah Penyamakan Kulit.....	38
4.2 Toksisitas <i>Embryo Zebrafish</i>	41
4.2.1 Validasi Data.....	41
4.2.2 Uji Pendahuluan.....	42
4.2.3 Uji Toksisitas Utama	44
4.2.4 Konsentrasi Kematian Lc50.....	60
4.2.5 Toxic Unit acute (TU _a)	61
4.4 Hubungan Kualitas Air Limbah Penyamakan Kulit Terhadap Kematian Embrio	62
BAB V.....	66
KESIMPULAN DAN SARAN.....	66
5.1 Kesimpulan.....	66
5.2 Saran	67
DAFTAR PUSTAKA	68
LAMPIRAN.....	75
RIWAYAT HIDUP.....	92

DAFTAR TABEL

Table 2.1 Baku Mutu Air Limbah Industri Penyamakan Kulit LH RI Nomor 5 Tahun 2014	8
Table 2.2 Baku Mutu Air Limbah Industri dan Peraturan Daerah Istimewa Yogyakarta Nomor 7 Tahun 2016	9
Table 2.3 Penelitian Terdahulu	15
Tabel 3.1 Pengamatan Toksisitas akut pada embrio ikan zebra.....	32
Tabel 4.1 Hasil Uji Parameter Karakteristik Air Limbah Penyamakan Kulit.....	38
Tabel 4. 2 Hasil parameter uji limbah dengan metode adsorpsi selama 24 jam dan 48 jam.	39
Tabel 4. 3 Perhitungan Toxic Unit Acute Berdasarkan Nilai LC50%	62

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Diagram alir proses produksi penyamakan kulit.....	7
Gambar 2.3 ikan dewasa zebrafish jantan (A) dan betina (B).....	11
Gambar 3.1 Diagram Alir Penelitian.....	19
Gambar 3.2 Ruangan Pemeliharaan Ikan Zebra.....	27
Gambar 3.3 (a) Pemijahan, (b) Seleksi embrio	28
Gambar 3.4 Pembuatan Finding Range.....	30
Gambar 3.5 Pengamatan.....	32
Gambar 3.6 Diagram Alir Prosedur Uji Toksisitas	34
Gambar. 4. 1 Grafik Hasil Uji Validasi (kontrol negatif dan kontrol positif)	42
Gambar. 4. 2 Uji Pendahuluan pada Limbah Influen Penyamakan Kulit	43
Gambar. 4. 3 Uji Pendahuluan pada Limbah Efluen Penyamakan Kulit	44
Gambar. 4. 4 Embrio Mengalami Kematian	45
Gambar. 4. 5 Grafik Uji Toksisitas pada Limbah Influen Penyamkan Kulit Parameter Kematian (n=20)	46
Gambar. 4. 6 Grafik Uji Toksisitas pada Limbah Efluen Penyamkan Kulit Parameter Kematian (n=20)	47
Gambar. 4. 7 Embrio Mengalami Koagulasi.....	48
Gambar. 4. 8 Grafik Uji Toksisitas pada Limbah Influen Penyamkan Kulit Parameter Koagulasi (n=20)	49
Gambar. 4. 9 Grafik Uji Toksisitas pada Limbah Efluen Penyamkan Kulit Parameter Koagulasi (n=20)	49
Gambar. 4. 10 Embrio Mengalami Pembentukan Somit.....	50
Gambar. 4. 11 Grafik Uji Toksisitas pada Limbah Influen Penyamkan Kulit Parameter Pembentukan Somit (n=20)	51
Gambar. 4. 12 Grafik Uji Toksisitas pada Limbah Efluen Penyamkan Kulit Parameter Pembentukan Somit (n=20)	52
Gambar. 4. 13 Embrio Mengalami Pelepasan Tail-Bud dari Yolk	53
Gambar. 4. 14 Grafik Uji Toksisitas pada Limbah Influen Penyamkan Kulit Parameter Tail-Bud dari Yolk (n=20)	53

Gambar. 4. 15 Grafik Uji Toksisitas pada Limbah Efluen Penyamkan Kulit Parameter Tail-Bud dari Yolk (n=20).....	54
Gambar. 4. 16 Embrio Mengalami Detak Jantung.....	54
Gambar. 4. 17 Grafik Uji Toksisitas pada Limbah Influen Penyamkan Kulit Parameter Detak Jantung (n=20).....	55
Gambar. 4. 18 Grafik Uji Toksisitas pada Limbah Efluen Penyamkan Kulit Parameter Detak Jantung (n=20).....	56
Gambar. 4. 19 embrio mengalami kelainan (a) kelainan Edema perikardial, (b) kelainan ekor bengkok, (c) kelaianan edema parikardial dan kelaiana bentuk tubuh.....	57
Gambar. 4. 20 (a) Embrio Masih dalam Korion, (b) Embrio Sudah Lepas dari Korion	58
Gambar. 4. 21 Grafik Uji Toksisitas pada Limbah Influen Penyamkan Kulit Parameter Hatching (n=20).....	59
Gambar. 4. 22 Grafik Uji Toksisitas pada Limbah Efluen Penyamkan Kulit Parameter Hatching (n=20).....	59

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 <i>ethical clearance</i>	75
Lampiran 2 Perhitungan Rangkaian Konsentrasi Limbah Penyamakan Kulit Influen dan Efluen.....	76
Lampiran 3 Hasil Pengamatan Kelompok Uji Embrio Ikan Zebra	78
Lampiran 4 Perhitungan Lc50 Limbah Penyamakan Kulit	88
Lampiran 5 Dokuentasi Pengambilan Sampel dan Selama Proses Pengujian	91

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Air bersih merupakan komponen esensial dalam kehidupan manusia dan lingkungan, baik untuk konsumsi, pertanian, maupun keberlangsungan ekosistem perairan. Namun, pesatnya perkembangan industri telah meningkatkan potensi pencemaran air, terutama akibat pembuangan limbah cair yang tidak diolah secara memadai (Darmono, 2001). Salah satu industri yang memberikan kontribusi signifikan terhadap pencemaran air adalah industri penyamakan kulit.

Industri penyamakan kulit menggunakan berbagai bahan kimia, seperti garam kromium trivalen (Cr^{3+}), untuk mengubah kulit mentah menjadi kulit jadi yang tahan lama. Proses ini menghasilkan limbah cair yang mengandung logam berat, senyawa organik, dan partikel tersuspensi yang sulit terurai. Bila dibuang langsung ke badan air tanpa pengolahan, limbah tersebut dapat menurunkan kualitas air, menyebabkan kematian biota akuatik, dan menimbulkan dampak kesehatan bagi manusia jika bahan berbahaya masuk ke rantai makanan (Suprpti Ningsih, Saraswati, & Sholeh, 2019).

Logam berat seperti kromium dikenal bersifat toksik dan bioakumulatif. Dalam konsentrasi tertentu, kromium dapat menyebabkan stres oksidatif pada organisme air dan berdampak pada fungsi fisiologisnya. Dalam jangka panjang, kromium juga berpotensi menyebabkan gangguan kesehatan manusia seperti kerusakan hati, ginjal, dan kanker (Darmono, 2001). Oleh karena itu, diperlukan upaya untuk mengevaluasi tingkat toksisitas dari limbah cair industri ini sebelum dibuang ke lingkungan.

Selama ini, penilaian bahaya limbah lebih banyak berfokus pada parameter fisik dan kimia. Namun pendekatan tersebut belum cukup menggambarkan efek toksik secara biologis, khususnya efek gabungan dari senyawa kompleks. Maka dari itu, uji toksisitas menjadi pendekatan yang sangat penting untuk melengkapi hasil analisis laboratorium.

Salah satu metode uji toksisitas yang saat ini banyak digunakan adalah *Fish Embryo Toxicity (FET) Test* dengan embrio ikan zebra (*Danio rerio*) sebagai

organisme model. Metode ini direkomendasikan karena memiliki sensitivitas tinggi terhadap bahan toksik, hemat biaya, serta memenuhi aspek etika karena menggunakan embrio yang belum diakui sebagai hewan vertebrata penuh dalam beberapa regulasi (Wijaya, 2020). Dengan menggunakan FET, dampak toksik limbah cair terhadap perkembangan embrio dapat diamati secara langsung, sehingga memberikan gambaran nyata mengenai potensi risiko lingkungan dari limbah industri penyamakan kulit.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian adalah:

1. Bagaimana tingkat toksisitas limbah cair penyamakan kulit sebelum dan setelah pengolahan dalam IPAL berdasarkan uji *Fish Embryo Toxicity* (FET)?
2. Bagaimana karakteristik parameter kimia limbah cair penyamakan kulit sebelum dan setelah pengolahan dalam IPAL?
3. Apa hubungan antara parameter fisika dan kimia dengan nilai uji toksisitas menggunakan metode *Fish Embryo Toxicity* (FET) pada limbah limbah penyamakan kulit sebelum dan setelah pengolahan dalam IPAL?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Untuk menganalisis tingkat toksisitas limbah cair penyamakan kulit sebelum dan setelah pengolahan dalam Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL) menggunakan metode *Fish Embryo Toxicity* (FET).
2. Untuk mengidentifikasi dan mengevaluasi karakteristik parameter kimia limbah cair penyamakan kulit sebelum dan setelah pengolahan dalam IPAL.
3. Untuk mengkaji hubungan antara parameter fisika dan kimia limbah cair penyamakan kulit dengan nilai toksisitas berdasarkan uji *Fish Embryo Toxicity* (FET) sebelum dan setelah pengolahan dalam IPAL.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

a. Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan mendukung pengembangan ilmu dan teknologi teknik lingkungan, serta membantu permasalahan air limbah terutama pada parameter toksikologi.

b. Manfaat Praktis

Penelitian ini diharapkan menjadi rekomendasi optimalisasi dan evaluasi kinerja IPAL Industri Penyamakan Kulit pada PT.X dan mendukung perlindungan ekosistem perairan dengan mendorong pengolahan limbah yang lebih efektif dan ramah lingkungan sesuai dengan baku mutu yang berlaku.

1.5 Ruang Lingkup

Dalam penelitian ini terdapat beberapa Batasan sebagai berikut:

- 1 Uji toksisitas akut dilakukan pada sampel limbah industri penyamakan kulit PT.X, baik untuk influen maupun efluen.
- 2 Pengujian toksisitas akut dilakukan menggunakan metode uji *static-non-renewal* dimana contoh uji yang sama digunakan selama 96 jam.
- 3 Uji toksistas akut menggunakan metode *Fish Embryo Toxicity* (FET) dengan parameter yang diukur adalah LC50 (OECD, 2013).
- 4 Air yang digunakan untuk pengenceran sampel limbah dalam pengujian toksisitas adalah air aquades.
- 5 Organisme uji yang digunakan adalah *Embryo* dari *Zebrafish* (*Danio rerio*).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Limbah Industri Penyamakan Kulit

Industri penyamakan kulit merupakan sektor yang mengilahkan kulit mentah (*hides dan skin*) menjadi kulit tersamak (*leather*) menggunakan bahan penyamak untuk memberikan ketahanan terhadap kerusakan fisik dan kimiawi (Putri, 2022). Proses penyamakan kulit terdiri dari tiga tahapan utama, yaitu pra-penyamakan, penyamakan, dan pasca-penyamakan. Proses Penyamakan bertujuan untuk mengubah sifat-sifat kulit mentah yang mudah rusak menjadi kulit tersamak yang lebih kuat dan tahan lama.

Sebagai salah satu industri yang menghasilkan limbah cair dalam jumlah besar, industri penyamakan kulit menghasilkan sekitar 30-35 m³ air limbah untuk setiap 1 ton kulit mentah yang diproses. Limbah ini mengandung berbagai polutan organik dan kimiawi, termasuk bahan-bahan penyamak seperti kapur, natrium sulfida, ammonium sulfat, garam dapur, asam sulfat, dan kromium. Dalam proses penyamakan, kulit hanya dapat menyerap sekitar 60-70% larutan kromium sulfat, sementara sisanya terbawa dalam limbah cair. Oleh karena itu, limbah kromium merupakan salah satu jenis limbah yang paling banyak dihasilkan (Kuncoro & Soedjono, 2022).

2.1.1 Proses Penyamakan Kulit

Berdasarkan (Kuncoro, 2022) proses penyamakan kulit terdiri dari tiga tahapan utama, yaitu:

A. Pra-Penyamakan (*Beamhouse*)

Berikut merupakan tahap awal untuk mempersiapkan kulit mentah sebelum disamak. Tahapan ini mencakup:

1. Perendaman (*Soaking*)

Perendaman dilakukan dengan mencampurkan air, soda abu, dan bakterisida ke dalam larutan rendaman. Tujuannya untuk melembutkan kulit, menghilangkan garam pengawet, darah, serta sisa-sisa jaringan organik dari kulit mentah. Limbah yang

dihasilkan mengandung garam, mineral, BOD, COD, TSS, nitrogen, dan amonia, sebagai akibat dari pelarutan zat organik dan mineral dalam air rendaman.

2. Pengapuran (*Liming*)

Proses ini menggunakan air, kapur, glukosa, dan natrium sulfida (Na_2S). Tujuannya adalah menghilangkan rambut dan jaringan ikat non-kolagen, serta menaikkan pH kulit. Limbah yang dihasilkan mengandung kalsium, Na_2S , albumin, serta peningkatan signifikan pada BOD, COD, TSS, nitrogen, dan amonia, akibat reaksi dengan protein dan senyawa belerang.

3. Penghilangan Kapur (*Deliming*)

Deliming dilakukan dengan bahan air, NH_4Cl , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, dan air bersih, untuk menghilangkan sisa-sisa kapur dari kulit. Proses ini menurunkan pH kulit dan menghentikan proses degradasi yang tidak diinginkan. Limbah dari tahap ini mengandung asam, amonia, sulfida, serta tetap tinggi pada BOD, COD, TSS, dan nitrogen.

4. Pengikisan Protein (*Bating*)

Menggunakan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, proses ini bertujuan menguraikan protein yang tidak diperlukan, memperhalus permukaan kulit, dan meningkatkan fleksibilitas. Limbah yang dihasilkan mengandung protein larut air, amonia, sulfida, BOD, COD, TSS, dan nitrogen, sebagai akibat dari reaksi enzimatik pada jaringan kulit.

5. Pengikisan Minyak dan Lemak

Proses ini dilakukan dengan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dan surfaktan untuk menghilangkan lemak dan minyak alami dalam kulit. Hal ini penting agar kulit dapat menyerap zat penyamak dengan optimal. Limbah dari proses ini mengandung minyak dan lemak, amonia, sulfida, serta tetap tinggi dalam BOD, COD, TSS, dan nitrogen.

6. Pengasaman (*Pickling*)

Proses ini menggunakan air, garam, asam sulfat, dan asam format untuk menurunkan pH kulit dan menghilangkan sisa alkali. Tahap ini sangat penting sebelum penyamakan krom. Limbah yang dihasilkan mengandung asam, protein, mineral, amonia, sulfida, serta BOD, COD, dan TSS yang masih signifikan.

B. Penyamakan (*Tanning*)

Penyamakan merupakan tahap inti dalam proses pengolahan kulit. Menggunakan kromium sulfat, natrium bikarbonat, sytan, asam format, dan bakterisida, proses ini bertujuan mengikat kolagen dalam serat kulit sehingga menjadi stabil, kuat, dan tahan terhadap pembusukan mikroba serta panas. Limbah dari proses ini mengandung kromium trivalen, sytan, amonia, nitrogen, serta BOD, COD, dan TSS yang tetap tinggi.

C. Pasca Penyamakan (*Post-Tanning*)

Tahap penyempurnaan kulit yang telah tersamak. Tahapan ini meliputi:

1. *Pressing*

Pressing merupakan proses menekan kulit dengan tekanan tinggi untuk mengurangi ketebalan, menghilangkan kerutan, dan memberikan permukaan yang lebih halus dan rata yang bertujuan memperbaiki penampilan kulit.

2. Penyamakan Sekunder (*Retanning*)

Proses ini menguatkan kembali struktur kulit menggunakan bahan tambahan seperti sytan atau kromium. *Retanning* membantu meningkatkan daya tahan kulit terhadap pemakaian dan pengolahan selanjutnya.

3. Pewarnaan (*Dyeing*)

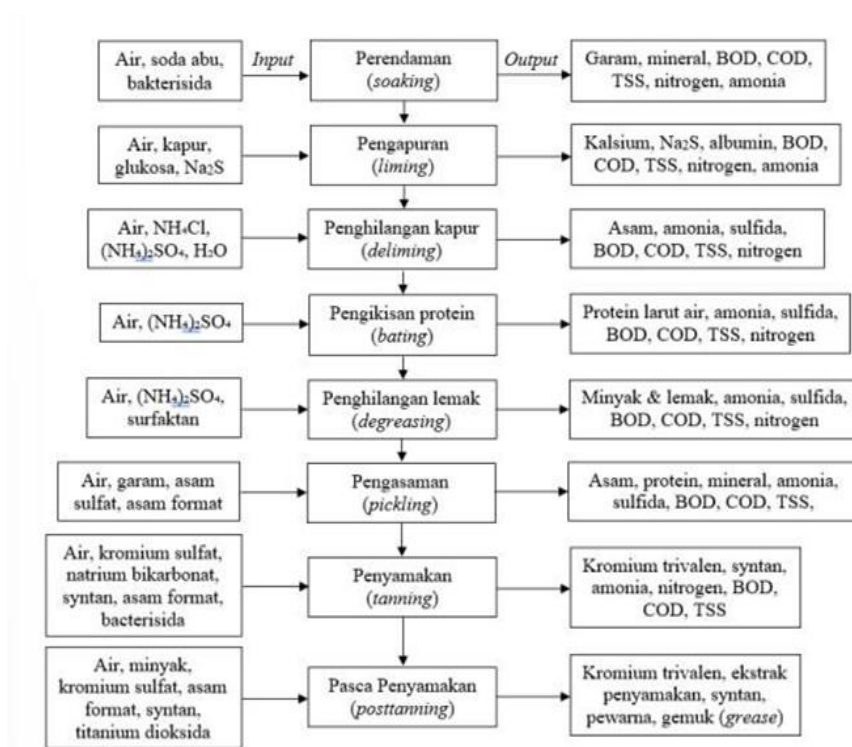
Kulit diberi warna menggunakan pewarna sintetis atau alami. Pewarnaan dilakukan agar warna meresap merata dan tahan

lama. Limbah dari tahap ini mengandung ekstrak penyamakan, sytan, dan pewarna, serta sisa kromium bila digunakan.

4. Perminyakan (*Fatliquoring*)

Penambahan minyak dan lemak khusus untuk melembutkan dan menjaga fleksibilitas kulit. Proses ini juga menjaga kelembaban kulit agar tidak kaku. Limbah yang dihasilkan mengandung lemak (*grease*) dan sisa bahan seperti titanium dioksida jika digunakan.

Berikut merupakan diagram alir proses produksi penyamakan kulit:



Gambar 2. 1 Diagram alir proses produksi penyamakan kulit

Sumber: Kuncoro & Soedjono, 2022

2.1.2 Pengelolaan Limbah Cair Industri Penyamakan Kulit

Industri penyamakan kulit menghasilkan limbah cair yang harus dikelola dengan hati-hati untuk mencegah pencemaran lingkungan. Berdasarkan peraturan Menteri Lingkungan Hidup Republik Indonesia Nomor 5 tahun 2014, air limbah dari industri penyamakan kulit harus memenuhi standar baku mutu tertentu

sebelum dibuang ke lingkungan. **Tabel 2.1** menunjukkan parameter baku mutu air limbah untuk proses penyamakan kulit menggunakan krom dan daun-daunan.

Proses penyamakan dengan krom menghasilkan limbah yang mengandung kadar krom total yang tinggi, sementara proses penyamakan menggunakan daun-daunan cenderung menghasilkan limbah dengan kandungan pencemar yang lebih rendah. Oleh karena itu, pengelolaan air limbah ini sangat penting untuk memastikan bahwa limbah yang dibuang tidak merusak kualitas air dan ekosistem (PerMen LH RI, 2014).

Table 2.1 Baku Mutu Air Limbah Industri Penyamakan Kulit LH RI Nomor 5 Tahun 2014

Parameter	Proses Penyamakan Menggunakan Krom		Proses Penyamakan Menggunakan Daun-daunan	
	Kadar Paling Tinggi (mg/L)	Beban Pencemaran Paling Tinggi (Kg/ton)	Kadar Paling Tinggi (mg/L)	Beban Pencemaran Paling Tinggi (Kg/ton)
BOD5	50	2	70	2,8
COD	110	4,4	180	7,2
TSS	60	2,4	50	2
Krom Total (Cr)	0,6	0,024	0,1	0,004
Minyak dan Lemak	5	0,2	5	0,2
Nitrogen Total (sebagai N)	10	0,4	15	0,6
Ammonia Total	0,5	0,02	0,5	0,02
Sulfida (sebagai S)	0,8	0,032	0,5	0,02
pH	6,0 - 9,0		6,0 - 9,0	
Debit limbah paling tinggi	40 m3 per ton bahan baku		40 m3 per ton bahan baku	

Sumber : PerMen LH Republik Indonesia Nomor 5 Tahun 2014

Khusus di wilayah Daerah Istimewa Yogyakarta, ketentuan ini diperketat melalui peraturan daerah yang menyesuaikan baku mutu air limbah dengan kondisi geografis, ekologis, dan karakter sosial masyarakat setempat. Penyesuaian

ini bertujuan untuk meningkatkan efektivitas pengendalian pencemaran dan menjamin keberlanjutan kualitas lingkungan. Dalam konteks industri penyamakan kulit, regulasi ini sangat relevan karena proses penyamakan menghasilkan limbah cair yang berpotensi mengandung bahan berbahaya seperti krom, ammonia, dan sulfida. Oleh karena itu, pemenuhan baku mutu air limbah bukan hanya kewajiban hukum, tetapi juga merupakan tanggung jawab moral industri dalam menjaga kelestarian lingkungan hidup.

Table 2.2 Baku Mutu Air Limbah Industri dan Peraturan Daerah Istimewa Yogyakarta Nomor 7 Tahun 2016

Parameter	Proses Penyamakan Menggunakan Krom		Proses Penyamakan Menggunakan Daun-daunan	
	Kadar Paling Tinggi (mg/L)	Beban Pencemaran Paling Tinggi (Kg/ton)	Kadar Paling Tinggi (mg/L)	Beban Pencemaran Paling Tinggi (Kg/ton)
BOD5	50	2	70	2,8
COD	110	4,4	180	7,2
TSS	60	2,4	50	2
Krom Total (Cr)	0,6	0,024	0,1	0,004
Minyak dan Lemak	5	0,2	5	0,2
Nitrogen Total (sebagai N)	10	0,4	15	0,6
Ammonia Total	0,5	0,02	0,5	0,02
Sulfida (sebagai S)	0,8	0,032	0,5	0,02
TDS	2000	80	2000	80
suhu	$\pm 3^{\circ}\text{C}$ terhadap suhu udara		$\pm 3^{\circ}\text{C}$ terhadap suhu udara	
pH	6,0 - 9,0		6,0 - 9,0	
Debit limbah paling tinggi	40 m3 per ton bahan baku		40 m3 per ton bahan baku	

Sumber : Peraturan Daerah Istimewa Yogyakarta Nomor 7 Tahun 2016

PT.X memiliki beberapa tahapan pengolahan air limbah dari proses penyamakan kulit, yang meliputi proses penyaringan, bak pengendap awal, koagulasi dan flokulasi, pengendapan akhir, hingga menuju ke Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL) milik Dinas Lingkungan Hidup. Air limbah yang

masuk (*inlet*) berasal dari proses tanning dan re-tanning yang digabung menjadi satu aliran.

Pada tahap awal, air limbah melewati proses penyaringan dan pengendapan menggunakan screen dan tabung recovery. Di dalam tabung recovery ini ditambahkan bahan kimia berupa *anionic flocculant* yang berfungsi untuk memisahkan kandungan krom dari air limbah. Setelah krom terpisah, zat tersebut berubah menjadi bentuk padat, kemudian dikeringkan dan diserahkan kepada pihak ketiga untuk dikelola lebih lanjut.

Sementara itu, limbah cair yang tersisa dari proses ini langsung diarahkan ke IPAL milik perusahaan. Dari IPAL internal, air limbah kemudian disalurkan melalui pipa menuju IPAL milik DLH setempat untuk menjalani pengolahan lanjutan sebelum akhirnya dibuang ke lingkungan dengan aman.

2.2 Toksisitas

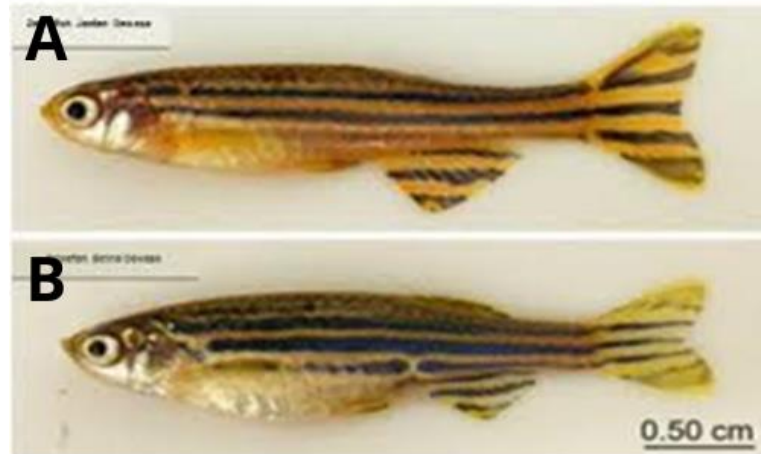
Toksikologi adalah cabang ilmu yang mempelajari dampak kerusakan yang ditimbulkan oleh suatu zat terhadap organisme hidup. Uji toksisitas bertujuan untuk mengevaluasi efek toksik suatu zat dan menetapkan batasan keamanan terkait kandungan zat tersebut dalam berbagai media, baik air maupun udara. Uji toksisitas pada hewan uji dilakukan dengan memperkenalkan substansi ke dalam tubuh organisme dalam dosis tertentu, dan pengamatan dilakukan pada parameter seperti kematian, cedera, atau perubahan perilaku (Mukono, 2005; Soemirat, 2005).

Dalam uji toksisitas, istilah LD50% (*lethal dose 50*) dan LC50% (*lethal concentration 50*) digunakan untuk menunjukkan dosis atau konsentrasi suatu bahan kimia yang dapat menyebabkan kematian pada 50% populasi organisme yang diuji. Uji toksisitas akut ini memberikan informasi penting mengenai potensi bahaya suatu zat dan sangat berguna dalam penilaian risiko terhadap lingkungan dan kesehatan manusia (Priyanto, 2010).

2.3 Zebrafish

Ikan zebra (*danio rerio*) merupakan ikan tawar berasal dari Asia Selatan, terutama dari negara-negara seperti India, Pakistan, Bangladesh, dan Nepal. Ikan

ini dikenal luas sebagai organisme model dalam berbagai penelitian biomedis dan toksikologi karena berbagai keunggulannya. Secara morfologis, ikan zebra jantan memiliki tubuh ramping menyerupai torpedo dengan garis biru keemasan yang membentang dari kepala hingga ekor. Sementara itu, ikan betina cenderung lebih besar dan gemuk, terutama di bagian perut, karena membawa telur, serta memiliki garis-garis berwarna biru keperakan (Zeng, 2017).



Gambar 2.2 Ikan Zebra Dewasa Jantan (A) dan betina (B)

Sumber: Europe PMC

Ikan zebra dapat tumbuh hingga 6,4 cm (2,5 inci) dan memiliki umur hidup sekitar 2–3 tahun. Mereka mencapai kedewasaan seksual pada usia 10–12 minggu dan dapat bertelur setiap 5–10 hari tergantung pada kondisi lingkungan. Dalam kondisi optimal, sepasang ikan zebra dewasa mampu menghasilkan 200–300 butir telur setiap pagi, menjadikannya sangat produktif terutama pada usia 6–12 bulan (Hill et al., 2005). Ikan ini termasuk dalam kategori pembiak fotoperiodik, di mana proses kawin biasanya terjadi pada jam-jam awal setelah matahari terbit (Hisaoka & Firlit, 1962).

Reproduksi ikan zebra sangat bergantung pada kualitas dan ketersediaan pakan. Untuk mempertahankan produktivitasnya, ikan ini dapat diberi pakan seperti udang air asin hidup (*Artemia*), *paramecia* untuk larva, serta pakan komersial berbentuk serpihan. Kualitas nutrisi berpengaruh langsung terhadap kesuburan dan tingkat keberhasilan pemijahan (Spence et al., 2006).

Menurut Kimmel et al. (1995), perkembangan embrio ikan zebra terdiri atas beberapa tahapan, dimulai dari periode zigot, diikuti oleh pembelahan sel, blastula, gastrula, segmentasi, faringula, hingga akhirnya penetasan. Telur ikan zebra biasanya menetas dalam waktu 48–72 jam pada suhu optimal 28,5 °C. Waktu penetasan ini dapat dipengaruhi oleh ketebalan korion (cangkang telur) serta aktivitas otot embrio.

Salah satu keunggulan utama ikan zebra sebagai organisme model adalah kemudahan dalam memperoleh embrio dan biaya pemeliharaan yang rendah. Selain itu, embrio ikan zebra bersifat transparan, sehingga peneliti dapat dengan mudah mengamati perkembangan morfologi dan perilaku secara real-time di dalam korion (Wijaya, 2020). Keunggulan lainnya adalah tingkat kemiripan DNA ikan zebra dengan manusia yang mencapai sekitar 70–85%, menjadikannya sangat relevan dalam studi biomedis dan pengujian toksisitas senyawa kimia.

2.4 Fish Embryo Toxicity (FET)

Uji toksisitas embrio ikan, atau *Fish Embryo Toxicity Test* (FET), merupakan metode pengujian yang digunakan untuk mengevaluasi dampak toksik bahan kimia terhadap embrio ikan pada tahap awal perkembangan. Metode ini telah diadopsi oleh Organisasi untuk Kerja Sama dan Pembangunan Ekonomi (OECD) dalam *OECD Test Guideline* 236 sebagai alternatif pengujian toksisitas akut pada ikan dewasa. Dengan menggunakan embrio ikan zebra (*Danio rerio*), uji ini menawarkan pendekatan yang lebih etis dan efisien karena mengurangi penggunaan hewan dewasa dan tidak melibatkan hewan vertebrata secara hukum di banyak yurisdiksi hingga embrio mencapai tahap tertentu (OECD, 2013).

Ikan zebra dipilih sebagai organisme model karena memiliki sejumlah keunggulan, antara lain kemudahan pemeliharaan, tingkat reproduksi yang tinggi, serta sensitivitas yang baik terhadap berbagai jenis bahan kimia. Selain itu, embrio ikan zebra bersifat transparan dan perkembangan biologisnya berlangsung cepat dan terprediksi, sehingga memungkinkan observasi morfologi dan fisiologi secara langsung selama masa uji (Scholz et al., 2008).

Dalam uji FET, embrio ikan zebra dipaparkan terhadap bahan uji selama 96 jam pasca pembuahan (*hours post fertilization/hpf*). Selama periode tersebut,

diamati empat titik akhir utama sebagai indikator toksisitas, yaitu koagulasi embrio, kegagalan pembentukan somit, tidak terbentuknya pelepasan ekor dari yolk, dan tidak adanya detak jantung. Berdasarkan data pengamatan tersebut, dapat dihitung nilai LC_{50} (*Lethal Concentration 50%*), yaitu konsentrasi bahan uji yang menyebabkan kematian pada 50% embrio yang diuji (OECD, 2013).

Metode FET memiliki keunggulan signifikan dalam pengujian toksisitas limbah cair, terutama untuk menilai potensi bahaya terhadap lingkungan akuatik. FET memungkinkan deteksi dini terhadap efek toksik karena embrio sangat peka terhadap berbagai jenis bahan pencemar, seperti logam berat, senyawa organik kompleks, serta campuran limbah industri yang sukar terurai. Selain itu, FET dinilai lebih efisien karena hanya memerlukan waktu uji yang singkat, volume sampel kecil, dan tidak membutuhkan ruang uji berskala besar. Metode ini juga mendukung prinsip 3R (*Replacement, Reduction, Refinement*) dalam pengujian hewan, menjadikannya pendekatan yang lebih etis dalam studi toksikologi lingkungan (Embry et al., 2010).

Uji toksisitas merupakan pendekatan penting dalam menilai dampak senyawa pencemar terhadap organisme hidup di lingkungan perairan. Berbagai organisme uji telah digunakan untuk tujuan ini, di antaranya *Daphnia magna*, ikan dewasa, dan embrio ikan zebra (*Danio rerio*). Salah satu metode yang berkembang luas adalah *Fish Embryo Toxicity Test* (FET), yang menggunakan embrio ikan zebra berusia di bawah 5 hari pasca pembuahan. Metode ini dinilai lebih etis karena pada usia tersebut embrio belum termasuk dalam definisi vertebrata secara hukum, sehingga tidak tunduk pada regulasi perlindungan hewan percobaan di banyak negara (OECD, 2013). FET juga memungkinkan pengamatan langsung terhadap perubahan morfologis seperti koagulasi, pembentukan somit yang gagal, kegagalan pelepasan ekor dari yolk, serta tidak adanya detak jantung, menjadikannya metode yang sensitif dalam mendeteksi toksisitas awal (Embry et al., 2010).

Jika dibandingkan, uji toksisitas menggunakan *Daphnia magna* menawarkan waktu uji yang lebih cepat (48 jam) dan mudah dilakukan, dengan parameter utama berupa imobilisasi. Namun, *Daphnia* tidak memiliki tahap embriogenesis kompleks, sehingga tidak mampu menunjukkan kelainan

perkembangan struktural akibat paparan senyawa toksik (Klüver et al., 2019). Akibatnya, sensitivitas *Daphnia* terhadap limbah kompleks seperti dari industri penyamakan kulit—yang mengandung logam berat dan senyawa organik persisten—cenderung lebih rendah dibanding FET. Sementara itu, uji toksisitas pada ikan dewasa digunakan untuk mengamati efek sistemik dan perilaku seperti perubahan aktivitas, nafsu makan, atau kematian. Meskipun memberikan informasi mengenai toksisitas jangka panjang, metode ini memerlukan fasilitas besar, biaya tinggi, serta menimbulkan pertimbangan etika lebih besar karena menggunakan hewan vertebrata dewasa (Braunbeck et al., 2005).

Dari ketiga metode tersebut, FET dianggap paling seimbang dari segi efisiensi, sensitivitas, dan pertimbangan etika. FET mampu memberikan data toksikologi yang lebih relevan untuk senyawa yang memengaruhi perkembangan awal, terutama dalam limbah cair kompleks seperti dari industri penyamakan kulit. Dibandingkan *Daphnia magna* yang kurang responsif terhadap gangguan perkembangan, dan ikan dewasa yang mahal serta kompleks secara teknis, FET memungkinkan skrining toksisitas secara cepat dan akurat. Oleh karena itu, metode ini sangat direkomendasikan untuk digunakan sebagai uji awal dalam penilaian kualitas limbah cair industri yang berpotensi mengganggu kehidupan organisme akuatik (Scholz et al., 2008; Embry et al., 2010).

2.5 Penelitian Terdahulu

Dalam melakukan penelitian ini diperlukan kajian-kajian dari penelitian sebelumnya terkait topik yang akan diujikan tersebut. Dapat dilihat pada **table 2.3** mengenai penelitian terkait yang berhubungan dengan tugas akhir ini

Table 2.3 Penelitian Terdahulu

No.	Referensi	Hewan Uji	Sampel	Hasil
1	Dewi, dkk (2024)	Zebrafish	Ekstrak EtanolT emu Blenyeh (Curcuma purpu rascensBlume)	Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak rimpang temu blenyeh memiliki efek toksik dengan nilai LC50 sebesar 83,7 ppm. Nilai LC50 tersebut termasuk dalam kategori toksik menurut parameter uji toksisitas. Hal ini mengindikasikan bahwa senyawa bioaktif dalam ekstrak rimpang temu blenyeh, seperti flavonoid, alkaloid, dan tanin, yang berperan sebagai racun perut, penghambat proliferasi sel, dan pemicu apoptosis, dapat bersifat toksik bagi sel normal manusia tetapi berpotensi digunakan dalam pengobatan kanker.
2	Safitri, 2023	Zebrafish	Industri penyamakan kulit	Hasil yang didapat <ol style="list-style-type: none"> 1. Toksisitas <i>Effluent</i>: Dikategorikan sebagai <i>non-toxic</i>, Nilai LC50 71,0566. 2. Toksisitas <i>Influent</i>: Dikategorikan sebagai <i>toxic</i>, Nilai LC50 4,0241. 3. Hasil Parameter Kimia <i>Effluent</i>: BOD: 52,504 mg/L

				<p>COD: 117,206 mg/L</p> <p>Ammonia: 0,642 mg/L</p> <p>Sulfida: 1,8 mg/L</p> <p>Krom: 2,253 mg/L</p> <p>TDS: 8,728 mg/L</p> <p>TSS: 1,050 mg/L</p> <p>minyak lemak: 0,027 mg/L</p> <p>nitrogen total: 4,139 mg/L</p> <p>pH: 6-9</p>
3	Radinal, 2020	Zebrafish	Ekstrak Etanol Daun Pegagan (<i>Centella asiatica</i> <i>L.</i>)	Hasil yang diperoleh dari pengamatan secara mikroskopis adanya abnormalitas berupa edema perikardium dan abnormalitas somit baik pada sediaan SNEDDS maupun ekstrak. Nilai LC50 yang diperoleh dari sediaan SNEDDS sebesar 8,4878 ppm, sedangkan pada ekstrak sebesar 14,9933. Hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa sediaan SNEDDS bersifat lebih toksik dibandingkan dengan ekstrak.
4	Braunbeck, dkk (2005)	<ul style="list-style-type: none"> • Embrio ikan zebra (<i>Danio rerio</i>) • Medaka (<i>Oryzias latipes</i>) • Ikan tenggiri (<i>Pimephales promelas</i>) 	-	<p>Hasil Penelitian</p> <ul style="list-style-type: none"> • Terdapat hubungan yang dapat diandalkan antara uji embrio ikan dan uji ikan akut. • Sabuk kepercayaan garis regresi relatif kecil, tetapi rentang prediksinya relatif luas. • Embrio ikan zebra dapat beradaptasi dengan berbagai tingkat oksigen dan dapat bertahan hidup pada konsentrasi 2 mg/L

				<p>tanpa malformasi.</p> <ul style="list-style-type: none"> Fungsi penghalang korion embrio ikan zebra meningkat seiring dengan lipofilisitas senyawa uji.
5	Affandi & Ishak, 2019	Zebrafish	Penambangan Timah	<p>LC50 = 14,21%</p> <p>Uji toksisitas terhadap air limbah pertambangan timah menyebabkan kematian zebrafish akibat pH yang rendah sehingga menyebabkan kerusakan insang</p>
6	Fachria, R., Ramdan, H., & Aryantha, I. N. P. (2019)	-	<p>Limbah cair industri penyamakan kulit dari proses pengapuran, penyamakan, dan pewarnaan di Pabrik Kamila Leather, Garut</p>	<p>pengolahan menggunakan metode adsorpsi dengan arang aktif dan ijuk selama 48 jam:</p> <p>pH</p> <ul style="list-style-type: none"> Sebelum pengolahan: 3,60 Setelah 48 jam: 5,11 <p>Total Suspended Solid (TSS)</p> <ul style="list-style-type: none"> Sebelum: 409 mg/L Setelah 48 jam: 114 mg/L <p>Biological Oxygen Demand (BOD5)</p> <ul style="list-style-type: none"> Sebelum: 301 mg/L Setelah 48 jam: 70,5 mg/L <p>Chemical Oxygen Demand (COD)</p> <ul style="list-style-type: none"> Sebelum: 1004 mg/L Setelah 48 jam: 236 mg/L <p>Fenol</p>

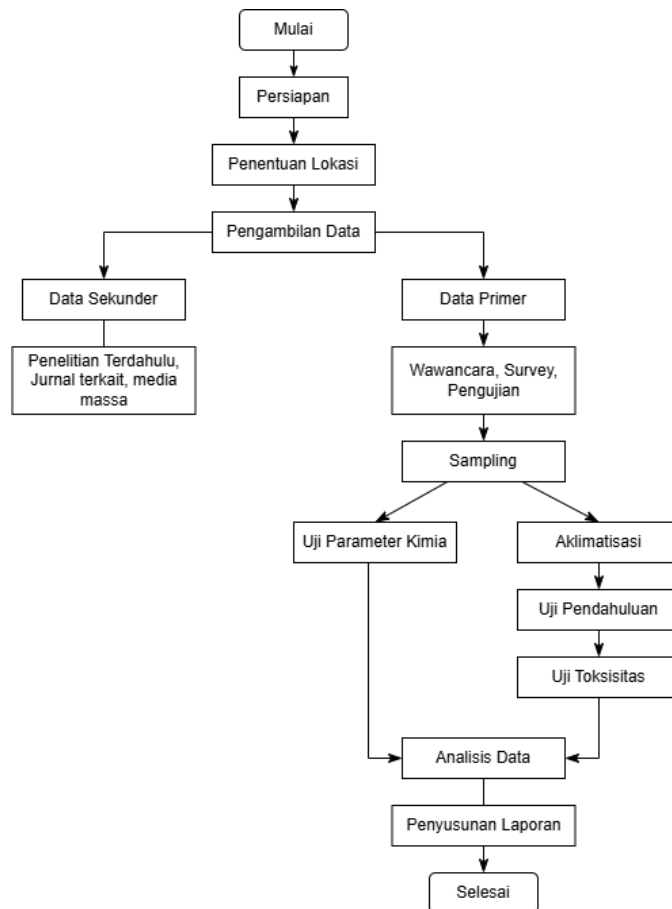
				<ul style="list-style-type: none"> • Sebelum: 0,10 mg/L • Setelah 48 jam: < 0,007 mg/L <p>Total Kromium (Cr)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Sebelum: < 0,08 mg/L • Setelah 48 jam: < 0,08 mg/L <p>Total Amonium (NH₃-N)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Sebelum: 0,26 mg/L • Setelah 48 jam: 0,40 mg/L <p>Sulfida (S²⁻)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Sebelum: < 0,01 mg/L • Setelah 48 jam: < 0,01 mg/L <p>Minyak dan Lemak</p> <ul style="list-style-type: none"> • Sebelum: < 2 mg/L • Setelah 48 jam: < 2 mg/L
--	--	--	--	---

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Diagram Alir Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan melalui serangkaian tahapan yang terstruktur. Berikut adalah diagram alir yang menggambarkan metode penelitian yang akan diterapkan:



Gambar 3.1 Diagram Alir Penelitian

Penelitian ini diawali dengan tahap persiapan yang mencakup perencanaan metodologi dan penentuan lokasi. Setelah itu, dilakukan pengambilan data yang dibagi menjadi dua sumber: data sekunder yang diperoleh dari penelitian terdahulu, jurnal, dan media massa, serta data primer melalui wawancara, survei, dan pengujian langsung. Selanjutnya dilakukan proses sampling untuk pengujian laboratorium. Sampel yang diperoleh digunakan untuk dua jenis analisis, yaitu uji parameter kimia dan uji toksisitas. Untuk uji toksisitas, dilakukan aklimatisasi

ikan zebrafish, uji pendahuluan, dan uji utama dengan metode *Fish Embryo Toxicity* (FET). Data hasil uji kemudian dianalisis untuk mengetahui hubungan antara parameter kimia dan tingkat toksisitas limbah sebelum dan sesudah pengolahan IPAL. Hasil akhir disusun dalam bentuk laporan penelitian.

3.2 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan di dua laboratorium berbeda yaitu Lab Kualitas Air Program Studi Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan, untuk uji parameter kimia, dan Lab Studi Farmasi untuk proses aklimatisasi, uji pendahuluan, dan uji toksikologi. Sampel air limbah yang digunakan berasal dari IPAL Industri Penyamakan Kulit PT. X Bantul, Yogyakarta. Penelitian dilakukan selama bulan November 2024 sampai Mei 2025.

3.3 Alat dan Bahan

Berikut alat dan bahan yang digunakan dalam melakukan pengujian:

3.3.1 Alat

- Mikroskop
- Inkubator
- Pipet mikro
- Pelat 24-sumur
- Cawan petri
- Termometer
- pH meter
- Spektrofotometer (untuk pengukuran parameter kimia)
- Timbangan analitik
- Oven
- Akuarium
- Gelas ukur, labu ukur
- Corong
- Buret
- Tabung reaksi
- Erlenmeyer
- Bluetip

3.3.2 Bahan

- Ikan zebra (*Danio rerio*)
- Air sampel limbah Penyamakan Kulit
- Larutan uji (bahan kimia yang akan diuji)
- Reagen COD, sulfida, ammonia,
- Larutan pengencer
- Aquades
- Larutan pengawetan (H_2SO_4 , HNO_3)
- Garam ikan
- Kain strimin
- Kelereng

3.4 Sampling Air Limbah

Pengambilan sampel air limbah dari industri penyamakan kulit dilakukan dengan metode grab sampling pada beberapa titik strategis, yaitu di bagian *influent* dan *effluent* IPAL internal, serta pada saluran pembuangan yang mengalir dari berbagai tahap proses sebelum dialirkan ke IPAL komunal yang dikelola oleh Dinas Lingkungan Hidup (DLH) setempat. Sampel air limbah disimpan dalam wadah yang memenuhi persyaratan menurut SNI 6989.59:2008, yaitu terbuat dari bahan yang tidak bereaksi dengan limbah seperti kaca, *polietilen* (PE), *polipropilen* (PP), atau *politetrafluoroetilen* (PTFE). Wadah tersebut harus kuat, dapat ditutup rapat, tidak mudah pecah, bebas kontaminan, dan mampu menjaga kestabilan sifat kimia dari air limbah selama penyimpanan (BSN, 2008).

Selama proses sampling, dilakukan juga pengukuran *in situ* terhadap parameter-parameter yang sensitif terhadap perubahan, seperti suhu. Karena sifatnya yang mudah berubah, parameter tersebut harus diuji langsung di lokasi tanpa proses pengawetan sebelumnya, sesuai pedoman yang tercantum dalam SNI 6989.59:2008.

3.5 Uji Parameter Kimia

Analisis kimia limbah dalam uji toksisitas embrio ikan zebra dilakukan untuk memastikan bahwa kondisi media uji sesuai dengan standar yang berlaku

dan untuk mendukung validitas hasil penelitian. Parameter kimia yang diukur meliputi pH, kesadahan total, konduktivitas, dan oksigen terlarut. pH larutan uji dipertahankan dalam rentang 6,5–8,5 dengan variasi maksimal 1,5 unit selama pengujian, dan dapat disesuaikan menggunakan HCl atau NaOH jika diperlukan. Kesadahan total dianjurkan berada pada kisaran 100–300 mg/L CaCO_3 untuk mencegah pengendapan berlebihan yang dapat mempengaruhi toksisitas bahan kimia. Konduktivitas diukur untuk memantau kestabilan ion terlarut dalam larutan uji, meskipun pedoman OECD 236 tidak menetapkan batas spesifik. Sementara itu, oksigen terlarut harus tetap $\geq 80\%$ dari saturasi di semua konsentrasi uji dan kontrol untuk mendukung kelangsungan hidup embrio selama 96 jam. Pengukuran parameter ini mengacu pada pedoman OECD 236 yang memberikan batasan kualitas air untuk pengujian toksisitas akut pada organisme air tawar. Data ini penting untuk memastikan validitas uji dan relevansi hasil terhadap lingkungan.

Beberapa parameter kualitas air limbah penyamakan kulit yang akan diuji adalah sebagai berikut:

1. Biochemical Oxygen Demand (BOD5)

Sesuai SNI 6989.72-2009, sampel dicampur dengan air bebas sulfida dan diinkubasi dalam ruangan gelap pada suhu 20°C selama 5 hari. Perbedaan konsentrasi oksigen terlarut pada hari pertama dan kelima digunakan untuk menghitung nilai BOD. Metode yang digunakan titrasi secara iodimetri.

2. Chemical Oxygen Demand (COD)

Menurut SNI 6989.2-2019, analisis COD dilakukan dengan mereaksikan sampel air dengan larutan kalium dikromat ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) dalam suasana asam (H_2SO_4) dan pemanasan pada suhu 150°C selama 2 jam. Setelah reaksi selesai, kelebihan dikromat dititrasi dengan larutan ferroin untuk menentukan jumlah oksigen yang dibutuhkan.

3. Total Suspended Solid (TSS)

Mengikuti SNI 6989.3-2009, pengukuran TSS dilakukan dengan cara menyaring sampel air limbah menggunakan membran atau kertas saring yang sudah ditimbang terlebih dahulu. Sampel disaring untuk memisahkan padatan tersuspensi yang terdapat dalam air. Setelah

penyaringan, kertas saring yang mengandung padatan tersebut dikeringkan pada suhu tertentu hingga beratnya konstan, kemudian ditimbang kembali. Selisih berat kertas saring sebelum dan sesudah penyaringan menunjukkan massa padatan tersuspensi dalam sampel. Nilai TSS dihitung dalam mg/L dengan membandingkan massa padatan terhadap volume sampel yang disaring.

4. Kromium Total

Metode pada SNI 6989.84-2019 menggunakan Spektrofotometri Serapan Atom (SSA) untuk menentukan krom total dalam air limbah. Proses dimulai dengan pencernaan sampel menggunakan asam untuk melarutkan semua bentuk krom. Setelah itu, sampel diuapkan menjadi atom bebas dalam alat SSA, yang mengukur penyerapan cahaya krom pada panjang gelombang tertentu. Hasil penyerapan ini dibandingkan dengan standar krom untuk menghitung konsentrasi krom total dalam sampel. Metode ini akurat dan sensitif untuk memantau kadar krom dalam limbah cair.

5. Minyak dan Lemak

Metode pengujian minyak dan lemak dalam air limbah menurut SNI 6989.10-2011 dilakukan dengan cara ekstraksi menggunakan pelarut organik, seperti n-heksana. Sampel air dicampur dengan pelarut tersebut, sehingga minyak dan lemak larut ke dalam fase organik. Setelah itu, pelarut dipisahkan dan diuapkan, lalu sisa residu minyak dan lemak ditimbang. Jumlah residu yang tertinggal menunjukkan konsentrasi minyak dan lemak dalam sampel, yang dinyatakan dalam mg/L.

6. pH (Derajat Keasaman)

Menurut SNI 06-6989.11-2004, pengukuran pH dilakukan dengan metode elektrometri atau potensiometri, yang bertujuan untuk mengetahui tingkat aktivitas ion hidrogen dalam suatu larutan. Alat yang digunakan adalah pH meter, yang memberikan nilai derajat keasaman langsung dari sampel uji. Selain itu, pH juga dapat diukur

menggunakan indikator pH universal yang menunjukkan warna sesuai, sehingga dapat menentukan apakah sampel bersifat asam atau basa.

7. Suhu (Temperature)

Berdasarkan SNI 06-6989.23-2005, pengukuran suhu dilakukan dengan menggunakan termometer, di mana perubahan air raksa menunjukkan suhu sampel yang dapat dibaca pada skala termometer ($^{\circ}\text{C}$).

8. Total Dissolved Solid (TDS)

Metode analisis TDS mengacu SNI 6989.27-2019 yang dilakukan dengan cara menguapkan larutan sampel air hingga semua padatan terlarut tersisa sebagai residu kering. Proses dimulai dengan mengambil volume tertentu sampel, kemudian sampel disaring untuk menghilangkan padatan tersuspensi. Larutan hasil saringan kemudian diuapkan dalam cawan penguapan pada suhu sekitar 180°C hingga kering. Setelah itu, cawan dikeringkan dalam oven pada suhu 180°C untuk memastikan semua air hilang, kemudian ditimbang. Berat residu padatan terlarut yang tertinggal dihitung dan dinyatakan sebagai konsentrasi TDS dalam mg/L.

9. Sulfida

Mengacu pada SNI 6989.70-2009, Metode ini menggunakan reaksi pembentukan metilen biru untuk menentukan kadar sulfida dalam air limbah. Dalam kondisi asam, sulfida bereaksi dengan reagen N, N-dimetil-p-fenilendiamina dan FeCl_3 membentuk senyawa berwarna biru (metilen biru). Intensitas warna biru yang terbentuk diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang sekitar 670 nm. Konsentrasi sulfida ditentukan dengan membandingkan absorbansi sampel terhadap larutan standar sulfida.

10. Nitrogen Total

Pengujian nitrogen total dilakukan melalui proses digesti (pencernaan) dengan asam kuat seperti asam sulfat dan katalis, untuk mengubah seluruh bentuk nitrogen (organik maupun anorganik)

menjadi amonia (NH_3). Amonia yang terbentuk kemudian dianalisis menggunakan salah satu dari beberapa metode berikut:

1. Metode Destilasi dan Titrasi (SNI 06-6989.52-2005)
Setelah digesti, amonia dibebaskan dengan penambahan basa, didestilasi, lalu ditangkap dalam larutan asam dan ditentukan kadarnya melalui titrasi.
2. Metode Spektrofotometri (SNI 06-6989.79-2011)
Amonia hasil digesti direaksikan dengan reagen Nessler atau salisilat sehingga menghasilkan warna, yang kemudian diukur intensitasnya menggunakan spektrofotometer.
3. Metode Kjeldahl (SNI 06-6989.9-2004)
Ini merupakan metode klasik yang mencakup tiga tahap: pencernaan, netralisasi dan destilasi, serta titrasi. Digunakan terutama untuk nitrogen organik dan amonia.

11. Ammonia Total

Mengacu pada SNI 6989.30-2005, Metode ini menggunakan titrasi Nessler untuk menentukan kadar ammonia total dalam sampel air limbah. Sampel direaksikan dengan reagen Nessler yang menghasilkan warna kuning hingga coklat, sesuai dengan konsentrasi ammonia yang ada. Intensitas warna ini kemudian diukur secara spektrofotometri pada panjang gelombang tertentu (biasanya sekitar 420 nm). Berdasarkan hasil pengukuran warna, konsentrasi ammonia total dihitung dengan membandingkan nilai absorbansi sampel terhadap standar ammonia yang telah diketahui.

3.6 Persiapan dan Pelaksanaan Uji Toksisitas

3.6.1 Persiapan Pra Uji Toksisitas

1. Kode Etik (*ethical clearance*)

Pada penelitian ini, telah dilakukan pengajuan kode etik hewan uji kepada Komisi Etik Penelitian Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta, untuk memastikan bahwa seluruh prosedur penggunaan hewan uji

mengikuti standar etika penelitian yang berlaku. Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik (*ethical clearance*) dari komisi tersebut dan telah diterbitkan sertifikat etik penelitian sebagai bukti kelayakan etis pelaksanaan uji toksisitas terhadap hewan.

2. Pemeliharaan Hewan Uji

Ikan zebra (*Danio rerio*) yang digunakan dalam penelitian ini dipelihara dan dikembangbiakkan di Laboratorium Studi Farmasi dengan mengikuti standar pemeliharaan hewan uji berdasarkan pedoman OECD 236 (2013). Induk jantan dan betina yang sehat dipelihara dalam akuarium berukuran proporsional dengan kepadatan tidak melebihi 1 ekor per liter, untuk memastikan ruang gerak yang cukup dan mengurangi stres pada ikan. Suhu air dipertahankan pada kisaran 26 ± 1 °C dengan siklus pencahayaan 14 jam terang dan 10 jam gelap guna mendukung ritme biologis alami ikan. Aerasi disediakan secara kontinu untuk menjaga kadar oksigen terlarut di atas 6 mg/L. Air dalam akuarium difiltrasi menggunakan sistem penyaringan mekanik dan biologis guna menjaga kejernihan, kestabilan parameter kualitas air, serta mencegah akumulasi limbah organik dan sisa pakan. Ikan diberi pakan berupa pelet halus dan cacing beku dua kali sehari, namun tidak berlebihan untuk menghindari pencemaran air. Kesehatan dan perilaku ikan dipantau setiap hari untuk mendeteksi gejala stres atau penyakit, serta untuk memastikan ikan layak digunakan sebagai indukan dalam proses pemijahan. Proses pemijahan dilakukan dengan menempatkan induk jantan dan betina dalam rasio 2:1 pada wadah pemijahan khusus yang dilengkapi jaring dasar untuk mencegah telur dimakan induk. Telur dikumpulkan pada pagi hari, dan embrio yang berumur ≤ 3 jam pasca fertilisasi (hpf) dipilih untuk digunakan dalam uji toksisitas.



Gambar 3.2 Ruangan Pemeliharaan Ikan Zebra

3. Aklimatisasi Ikan

Ikan zebra (*Danio rerio*) yang digunakan adalah ikan dewasa sehat tanpa riwayat penyakit atau pengobatan dalam dua bulan terakhir. Aklimatisasi dilakukan di akuarium dengan kepadatan satu ekor per liter, menggunakan air RO (*Reverse Osmosis*) yang memenuhi standar kualitas, yakni pH 6,5–8,5, suhu $26 \pm 1^{\circ}\text{C}$, dan kadar oksigen terlarut minimal 80% dari saturasi. Pencahayaan diatur selama 12–16 jam per hari dan dikendalikan secara otomatis, termasuk fase gelap yang disesuaikan dengan siklus lingkungan alami.

Ikan dipisahkan berdasarkan jenis kelamin dengan rasio 40% betina dan 60% jantan dalam kantong plastik, lalu kantong tersebut digenangkan di akuarium selama proses adaptasi suhu. Setelah itu, karetnya dibuka agar air dari dalam plastik perlahan menyatu dengan air akuarium. Selama masa aklimatisasi selama tujuh hari, ikan tidak digunakan untuk pengujian dan diberi pakan secara teratur, yaitu pelet pada pagi hari sebelum pukul 09.00 dan cacing atau daphnia pada sore hari sebelum pukul 16.00. Kondisi lingkungan akuarium dipantau secara berkala untuk menjaga kesehatan dan kenyamanan ikan selama masa adaptasi.

4. Pemijahan dan Seleksi Embrio

Zebrafish digunakan khusus untuk pemijahan agar diperoleh embrio sebagai objek penelitian. Ikan jantan dan betina sehat, berukuran sedang, dan bebas penyakit dipilih dengan rasio 2:1 atau 1:1, lalu dipisahkan ke akuarium pemijahan yang telah disiapkan dengan air RO yang dicampur *methylene blue* dan garam ikan hingga TDS 700–850. Media penempelan telur seperti cawan petri dan kain strimin disusun di akuarium, dengan tambahan kelereng atau eceng gondok bila perlu. Pemberian pakan rutin dan pencahayaan siklus 14 jam terang dan 10 jam gelap diterapkan selama pemijahan berlangsung pada enam akuarium sekaligus untuk meningkatkan keberhasilan. Setelah pemijahan, ikan dikembalikan ke akuarium terpisah lalu berikan label penggunaan dan embrio diambil untuk pengujian toksisitas.

Setelah embrio diperoleh, telur yang mengalami koagulasi dipisahkan menggunakan pipet tetes untuk memilih embrio sehat. Embrio kemudian diperiksa di mikroskop untuk memastikan usia dan tahap perkembangan sesuai standar. Embrio yang lolos seleksi ditempatkan satu per satu ke dalam well plate berisi larutan uji, siap untuk dilakukan pengujian toksisitas.



(a)

(b)

Gambar 3.3 (a) Pemijahan, (b) Seleksi embrio

5. Pembuatan dan Pengujian Kontrol (Negatif dan Positif)

Kontrol negatif dibuat menggunakan air suling (*aquades*) yang telah disesuaikan standarnya dan tidak ditambahkan bahan uji apa pun. Tujuannya adalah untuk memastikan tidak ada pengaruh luar terhadap kelangsungan hidup embrio. Sementara itu, kontrol positif menggunakan zat 3,4-dikloroanilin dengan konsentrasi 4 mg/L sesuai rekomendasi pedoman OECD 236, yang berfungsi sebagai pembanding untuk melihat efek toksik dari bahan uji.

6. Pembuatan Finding Range/ Uji Pendahuluan

Penelitian ini mengacu pada pedoman OECD 236 (2013) dengan pendekatan efisien, di mana tahap penentuan kisaran konsentrasi (*range finding*) dilakukan secara langsung dan dilanjutkan sebagai bagian dari uji toksisitas utama, tanpa pemisahan tahapan dan tanpa pengulangan (*replicate*) untuk setiap konsentrasi. Uji dilakukan menggunakan wellplate 24-sumur untuk memungkinkan pengujian simultan berbagai konsentrasi bahan uji dalam volume kecil yang terkontrol. Pengenceran limbah dilakukan menggunakan labu ukur 50 mL guna memastikan ketelitian volume. Pada tahap awal, dilakukan uji pendahuluan untuk mengetahui rentang konsentrasi yang menimbulkan efek toksik terhadap embrio ikan zebra (*Danio rerio*). Untuk sampel influen (limbah sebelum pengolahan), rentang konsentrasi yang diuji adalah 100% hingga 0,025%, sedangkan pada efluen (limbah setelah pengolahan), rentang konsentrasi awal yang diuji adalah 100% hingga 3,1%. Berdasarkan hasil pengamatan embrio pada konsentrasi tersebut, ditentukan lima konsentrasi akhir yang digunakan sebagai dasar uji toksisitas. Konsentrasi uji toksisitas untuk influen adalah 3,1%, 1,6%, 0,8%, 0,4%, dan 0,2%, sedangkan untuk efluen adalah 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, dan 3,1%. Masing-masing konsentrasi dimasukkan ke dalam satu sumur wellplate sebanyak 2 mL per sumur, dengan satu embrio ikan zebra berumur ≤ 3 jam pasca fertilisasi (hpf) dalam tiap sumur. Pengamatan dilakukan setiap 24 jam hingga 96 jam *post fertilization*, dengan fokus pada parameter toksisitas seperti koagulasi,

pembentukan somit, pelepasan ekor (*tailbud*), detak jantung, kelainan morfologi, dan kematian. Meskipun tidak dilakukan ulangan, data dari uji ini tetap dianalisis secara deskriptif untuk mengidentifikasi efek toksik dan memperkirakan nilai LC_{50} secara indikatif berdasarkan respon embrio terhadap konsentrasi yang diuji.



Gambar 3.4 Pembuatan Finding Range

3.6.2 Pelaksanaan Uji Toksisitas

1. Konsentrasi uji

Analisis kimia terhadap air limbah dalam uji toksisitas menggunakan embrio ikan zebra (*Danio rerio*) bertujuan untuk memastikan bahwa media uji berada dalam kondisi yang sesuai standar serta untuk menjamin validitas hasil penelitian. Parameter kimia yang dianalisis meliputi pH, kesadahan total, konduktivitas, dan kadar oksigen terlarut. Nilai pH dijaga dalam rentang 6,5 hingga 8,5, dengan toleransi perubahan maksimum 1,5 unit selama masa uji. Penyesuaian pH dilakukan bila diperlukan dengan penambahan larutan HCl atau NaOH. Sementara itu, tingkat kesadahan total dipertahankan dalam kisaran 100–300 mg/L $CaCO_3$ guna mencegah terjadinya pengendapan yang dapat memengaruhi interaksi bahan kimia dan efektivitas uji toksisitas. Konduktivitas diukur untuk mengamati stabilitas ion dalam media, meskipun pedoman OECD No. 236 tidak menetapkan batas angka spesifik untuk parameter ini. Oksigen terlarut juga menjadi perhatian penting karena harus dijaga

minimal 80% dari tingkat kejenuhan untuk mendukung kelangsungan hidup embrio selama periode pengujian 96 jam. Seluruh parameter tersebut dievaluasi berdasarkan acuan dari OECD No. 236 (2013), yang memberikan panduan mutu air dalam uji toksisitas akut pada organisme air tawar, sehingga data yang dihasilkan dapat dianggap valid dan relevan secara ekologis.

2. Pengujian Toksisitas Akut pada Embrio Zebrafish

Uji toksisitas akut ini mengikuti panduan *OECD* No. 236 tahun 2013 tentang *Fish Embryo Acute Toxicity (FET) Test*. Dalam metode ini, embrio ikan zebra (*Danio rerio*) yang telah dibuahi dipaparkan dengan bahan uji selama 96 jam, dan dilakukan pengamatan setiap 24 jam untuk menilai dampak toksik. Selama masa paparan, diamati empat indikator utama kematian embrio, yaitu: embrio mengalami koagulasi (penggumpalan), tidak terbentuknya somit (struktur awal tulang belakang), kegagalan pelepasan ekor dari kuning telur (*yolk*), serta tidak adanya detak jantung. Keempat parameter ini mewakili tahapan penting dalam perkembangan embrio dan menjadi indikator valid untuk menentukan tingkat toksisitas bahan yang diuji. Metode FET dipilih karena dianggap lebih etis dibandingkan penggunaan ikan dewasa, serta mendukung prinsip 3R (*Replacement, Reduction, Refinement*) dalam pengujian hewan laboratorium (OECD, 2013).

3. Pengamatan

Pengamatan terhadap embrio ikan zebra (*Danio rerio*) dilakukan setiap 24 jam selama 96 jam masa paparan untuk menilai efek toksik dari sampel limbah. Proses pengamatan dilakukan secara visual dengan menggunakan mikroskop, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 3.5, di mana embrio diamati langsung dalam well plate berisi larutan uji. Metode ini memungkinkan pemantauan morfologi dan fungsi fisiologis embrio secara tepat pada setiap interval waktu.



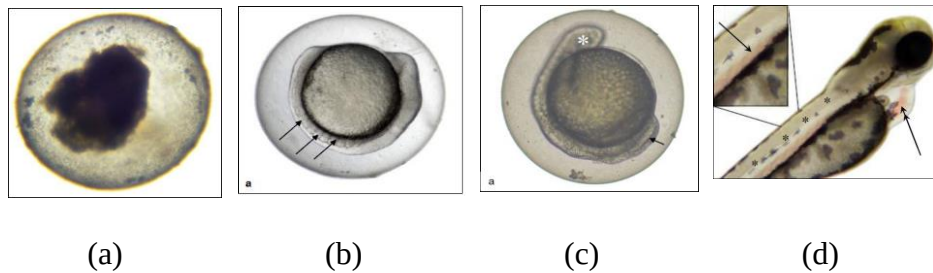
Gambar 3.5 Pengamatan

Empat parameter utama yang diamati dalam uji toksisitas ini meliputi: koagulasi embrio, kurangnya pembentukan somit, ekor tidak terlepas dari yolk, dan kurangnya detak jantung. Keempat parameter tersebut digunakan sebagai indikator biologis untuk menentukan kematian embrio dan tingkat toksisitas bahan uji. Pengamatan masing-masing parameter dilakukan secara sistematis pada jam ke-24, 48, 72, dan 96 seperti dirangkum dalam Tabel 3.1 berikut:

Tabel 3.1 Pengamatan Toksisitas akut pada embrio ikan zebra

Pengamatan	Waktu Pemaparan (Jam)			
	24	48	72	96
Koagulasi Embrio	+	+	+	+
Kurangnya Pembentukan Somit	+	+	+	+
Ekor Tidak Terlepas	+	+	+	+
Kurangnya Detak Jantung		+	+	+

Koagulasi embrio merupakan tanda awal kematian, ditandai dengan perubahan warna menjadi putih keruh akibat rusaknya struktur tubuh. Kurangnya pembentukan somit, yaitu segmen tubuh yang seharusnya terbentuk sebanyak ± 20 dalam 24 jam pertama, menunjukkan gangguan proses embriogenesis. Jika somit tidak terbentuk hingga 48 jam, hal ini menandakan adanya retardasi perkembangan. Ekor yang tidak terlepas dari kantung kuning telur (*yolk sac*) menunjukkan kegagalan perkembangan morfologi, karena dalam kondisi normal bagian ekor akan sepenuhnya terlepas dari yolk. Kurangnya detak jantung, yang mulai dapat diamati sejak 48 jam pasca pembuahan, merupakan indikator fisiologis penting untuk menyatakan kematian embrio secara pasti.



Gambar 3 6 Parameter Pengamatan Embrio Ikan Zebra yang diberikan larutan uji: (a) Koagulasi embrio, (b) Pembentukan somit, (c) Kegagalan lepasnya bagian tailbud dari yolk, (d) Detak jantung (OECD,2013)

3.6.3 Analisis Data Uji

1. Data Uji Toksisitas

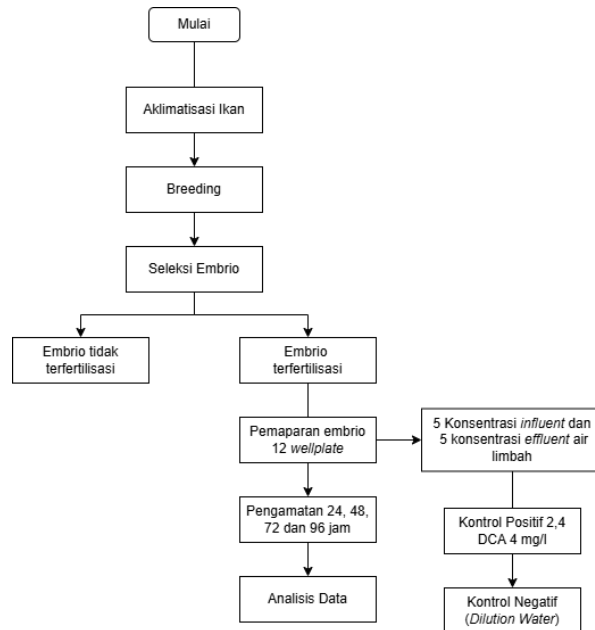
Analisis data uji toksisitas dilakukan untuk menentukan nilai LC50 (*Lethal Concentration* 50%), yaitu konsentrasi bahan uji yang menyebabkan kematian 50% dari embrio ikan zebra (*Danio rerio*) dalam waktu 96 jam pengujian, sesuai dengan pedoman OECD 236 (OECD, 2013). Selama masa pengujian, kematian embrio dicatat secara berkala setiap 24 jam untuk memantau perkembangan efek toksik secara rinci.

Metode analisis yang digunakan adalah regresi probit, yaitu teknik statistik yang memodelkan hubungan antara persentase kematian embrio dan konsentrasi bahan uji. Dengan menggunakan regresi probit, diperoleh nilai LC50 beserta batas kepercayaan 95%, yang menunjukkan tingkat keyakinan terhadap estimasi tersebut (Finney, 1971). Nilai ini sangat

penting sebagai indikator potensi toksisitas bahan kimia terhadap organisme uji.

Selain itu, grafik respons konsentrasi-kematian dibuat untuk memvisualisasikan hubungan antara kenaikan konsentrasi bahan uji dengan tingkat mortalitas embrio ikan zebra. Grafik ini membantu dalam memahami pola efek toksik dan memperlihatkan apakah kematian embrio meningkat secara signifikan dengan peningkatan konsentrasi.

Hasil analisis ini memberikan gambaran yang jelas tentang potensi bahaya bahan uji terhadap perkembangan embrio, sehingga dapat digunakan sebagai dasar untuk pengambilan keputusan terkait pengelolaan limbah dan perlindungan lingkungan (OECD, 2013; Westerfield, 2007).



Gambar 3.7 Diagram Alir Prosedur Uji Toksisitas

Berikut merupakan rumus-rumus yang digunakan dalam analisis data uji toksisitas. Rumus-rumus ini dirancang untuk menghitung berbagai parameter yang diamati pada embrio ikan selama proses pengujian. Parameter yang dianalisis meliputi persentase embrio yang mengalami koagulasi, pembentukan somit, pelepasan tail-bud dari yolk, pengamatan detak jantung, serta tingkat kematian embrio. Perhitungan ini bertujuan untuk memberikan interpretasi kuantitatif terhadap tingkat toksisitas

limbah, yang menjadi dasar penting dalam menilai dampaknya terhadap organisme uji.

- Perhitungan persentase parameter koagulasi:
$$\frac{\text{jumlah embrio yang mengalami koagulasi}}{\text{jumlah total embrio pada awal pengamatan}} \times 100\%$$
- Perhitungan persentase parameter pembentukan somit:
$$\frac{\text{jumlah embrio yang mengalami pembentukan somit}}{\text{jumlah embrio yang hidup}} \times 100\%$$
- Perhitungan persentase parameter pelepasan tail-bu dari yolk:
$$\frac{\text{jumlah embrio yang mengalami pelepasan tail-bu dari yolk}}{\text{jumlah embrio yang hidup}} \times 100\%$$
- Perhitungan persentase parameter pengamatan detak jantung:
$$\frac{\text{jumlah embrio yang diamati detak detak jantung}}{\text{jumlah embrio yang hidup}} \times 100\%$$
- Perhitungan persentase jumlah kematian:
$$\frac{\text{jumlah embrio yang mengalami kematian}}{\text{jumlah total embrio pada awal pengamatan}} \times 100\%$$
- Perhitungan Persentase jumlah kelainan:
$$\frac{\text{jumlah embrio yang mengalami kelainan}}{\text{jumlah total embrio pada awal pengamatan}} \times 100\%$$
- Perhitungan Persentase jumlah *Hatching*:
$$\frac{\text{jumlah embrio yang mengalami } Hatching}{\text{jumlah embrio yang hidup}} \times 100\%$$

2. Data Uji Kimia

Analisis data parameter kimia dilakukan terhadap sampel air limbah pada bagian influen dan efluen Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL) untuk mengevaluasi efektivitas proses pengolahan dan memastikan bahwa kondisi media uji memenuhi standar kualitas lingkungan yang berlaku. Parameter yang dianalisis meliputi pH, suhu, kesadahan total, konduktivitas, oksigen terlarut (DO), *total dissolved solids* (TDS), *chemical oxygen demand* (COD), ammonia, nitrogen total, sulfida, krom total, *total suspended solids* (TSS), serta kandungan minyak dan lemak. Pengukuran dilakukan pada sampel influen dan efluen secara langsung untuk memperoleh gambaran komprehensif mengenai perubahan

karakteristik kimia limbah akibat proses pengolahan. Data hasil pengukuran ini juga berfungsi sebagai dasar dalam menilai potensi toksisitas limbah terhadap organisme uji, serta digunakan untuk mendukung validitas dan keandalan hasil uji toksisitas secara keseluruhan.

3. Kaitannya antara Uji Toksisitas dan Uji Kimia

Uji kimia dan uji toksisitas merupakan dua pendekatan yang saling melengkapi dalam penilaian kualitas dan dampak limbah terhadap lingkungan. Uji kimia bertujuan untuk mengukur parameter fisik dan kimia dari sampel limbah, seperti pH, *chemical oxygen demand* (COD), ammonia, logam berat, dan lain-lain, sehingga dapat diketahui komposisi serta tingkat pencemaran bahan kimia yang terkandung di dalamnya. Sementara itu, uji toksisitas berfokus pada pengujian efek biologis langsung limbah terhadap organisme hidup, misalnya embrio ikan zebra (*Danio rerio*), guna menilai potensi bahaya bahan kimia tersebut terhadap makhluk hidup dalam kondisi nyata. Dengan menggabungkan hasil uji kimia dan toksisitas, peneliti dapat memperoleh gambaran yang lebih lengkap mengenai karakteristik limbah dan dampaknya terhadap ekosistem. Data kimia membantu mengidentifikasi jenis dan konsentrasi polutan utama, sedangkan data toksisitas menunjukkan apakah konsentrasi tersebut menimbulkan efek merugikan secara biologis. Selain itu, kombinasi kedua uji ini sangat penting dalam mengevaluasi efektivitas proses pengolahan limbah, dengan membandingkan perubahan parameter kimia dan tingkat toksisitas sebelum dan sesudah pengolahan. Oleh karena itu, integrasi uji kimia dan uji toksisitas menjadi dasar yang kuat dalam pengelolaan limbah yang ramah lingkungan dan perlindungan ekosistem.

4. Validasi Tes Berdasarkan Pedoman OECD

Berdasarkan pedoman OECD untuk uji toksisitas akut embrio ikan, beberapa kriteria harus dipenuhi untuk validasi tes. Tingkat pembuahan telur yang diuji harus mencapai minimal 70%, dan suhu air selama pengujian dipertahankan pada 26 ± 1 °C. Tingkat kelangsungan hidup embrio dalam kontrol negatif (tanpa zat uji) harus minimal 90% selama 96

jam, sedangkan pada kontrol positif (4 mg/L 3,4-dikloroanilin untuk ikan zebra), setidaknya 30% embrio harus mengalami kematian setelah 96 jam. Selain itu, tingkat penetasan pada control negative harus minimal 80%, dan konsentrasi oksigen terlarut pada control negative serta konsentrasi tertinggi zat uji harus mencapai minimal 80% dari saturasi.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

4.1 Karakter Air Limbah Penyamakan Kulit

Air limbah penyamakan diperoleh dari PT.X, Bantul, Yogyakarta dianalisis mengetahui parameter kimia yang mencerminkan tingkat pencemaran. Hasil Pengujian menunjukkan antara air limbah sebelum (influen) dan sesudah (effluen) melalui proses IPAL. Pengujian dilakukan terhadap parameter BOD, COD, TDS, TSS, ammonia, nitrogen total, sulfida, dan krom total. Hasil analisis ditampilkan pada **Tabel 4.1**:

Tabel 4.1 Hasil Uji Parameter Karakteristik Air Limbah Penyamakan Kulit

No	Parameter	Peraturan Daerah Istimewa Yogyakarta Nomor 7 Tahun 2016	PerMen LH Republik Indonesia Nomor 5 Tahun 2014	Hasil Influen	Hasil Effluen	Hasil Baku Mutu
		Kadar Paling Tinggi (mg/L)	Kadar Paling Tinggi (mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	
1	BOD5	50	50	449	143	Melebihi
2	COD	110	110	939	896	Melebihi
3	TSS	60	60	1800	1728	Melebihi
4	Krom Total (Cr)	0,6	0,6	1,19	0,14	Memenuhi
5	Minyak dan Lemak	5	5	2	1,1	Memenuhi
6	Nitrogen Total (sebagai N)	10	10	110	48,9	Melebihi
7	Ammonia Total	0,5	0,5	3,49	2,78	Melebihi
8	Sulfida (sebagai S)	0,5	0,8	0,47	14,5	Melebihi
9	TDS	2000	-	10276	9840	Melebihi
10	pH	6 sd 9	6 sd 9	3	8	Memenuhi
11	suhu	± 3°C terhadap suhu udara	-	28	27	Memenuhi

Hasil pengujian menunjukkan bahwa sebagian besar parameter pada efluen, seperti COD, TDS, amonia, nitrogen total, dan sulfida, masih melampaui ambang batas yang ditetapkan dalam baku mutu. Temuan ini mengindikasikan bahwa meskipun air limbah telah melalui proses pengolahan, kandungan zat pencemar di dalamnya masih cukup tinggi dan berpotensi menimbulkan dampak toksik terhadap lingkungan perairan, termasuk terhadap organisme sensitif seperti embrio ikan zebra (*Danio rerio*).

Dalam penelitian yang telah dilakukan oleh (Fachria, dkk, 2019) menjelaskan efektivitas metode adsorpsi dalam menurunkan kadar pencemar limbah cair penyamakan kulit yaitu sebagai berikut:

Tabel 4.2 Hasil parameter uji limbah dengan metode adsorpsi selama 24 jam dan 48 jam.

Parameter	Hasil			Baku mutu (mg/l)
	Sebelum pengolahan (mg/l)	Pengolahan 24 jam (mg/l)	Pengolahan 48 jam (mg/l)	
pH	3,6	5,09	5,11	6,0–9,0
TSS	409	58	114	60
BOD5 20°C	301	95	70,5	50
COD dari K ₂ Cr ₂ O ₇	1004	318	236	110
Fenol	0,1	0,03	< 0,007	0,5
Total Kromium	< 0,08	< 0,08	< 0,08	0,6
Total Amonium (NH ₃ -N)	0,26	0,24	0,4	0,5
Sulfida	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,8
Minyak dan Lemak	< 2	< 2	< 2	5

Sampel limbah dalam penelitian ini diperoleh dari industri penyamakan kulit Kamila Leather yang berlokasi di Sukaregang, Garut, Jawa Barat, dengan komposisi limbah berasal dari tiga tahapan proses utama, yaitu pengapuran, penyamakan, dan pewarnaan. Ketiga jenis limbah tersebut dicampur secara proporsional hingga mencapai volume total 20 liter, menjadikan pengujian dilakukan dalam skala kecil sebagai representasi simulasi laboratorium. Proses pengolahan dilakukan menggunakan metode adsorpsi dengan media campuran ijuk dan arang aktif, kemudian dilakukan pengujian kualitas air limbah setelah waktu kontak selama 24 dan 48 jam.

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa metode adsorpsi mampu menurunkan kadar beberapa parameter pencemar secara signifikan, terutama fenol, COD, dan BOD. Namun demikian, beberapa parameter penting seperti pH, TSS dan COD masih belum memenuhi baku mutu lingkungan yang berlaku. Hal ini menunjukkan bahwa meskipun efektif dalam menurunkan sebagian kandungan pencemar, metode adsorpsi berbasis ijuk dan arang aktif lebih sesuai digunakan sebagai sistem pengolahan limbah skala kecil atau sebagai unit pendahuluan (pretreatment), dan tetap memerlukan tahapan pengolahan lanjutan agar efluen benar-benar aman dibuang ke lingkungan.

Untuk mengurangi beban pencemar, industri penyamakan kulit PT. X telah dilengkapi dengan Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL). Sistem IPAL ini dirancang untuk menangani limbah cair yang mengandung zat organik dan anorganik berbahaya, terutama logam berat seperti krom. Pada tahap awal, limbah disaring untuk memisahkan padatan berukuran besar. Selanjutnya, limbah yang mengandung krom diarahkan ke unit khusus dan ditambahkan *anionic flocculant*, yaitu bahan kimia berbasis polimer yang berfungsi untuk menggumpalkan ion krom dalam tabung *recovery*. Endapan krom yang terbentuk kemudian dikeringkan dan diserahkan kepada pihak ketiga berizin untuk pengelolaan limbah B3.

Setelah pemisahan krom, air limbah disaring kembali dan dimasukkan ke dalam unit pengendapan awal. Proses ini diikuti dengan koagulasi dan flokulasi untuk mengikat partikel halus dan senyawa organik yang tersisa, kemudian masuk ke tahapan pengendapan akhir. Limbah cair hasil akhir selanjutnya dialirkan ke saluran milik Dinas Lingkungan Hidup (DLH) untuk pengolahan lanjutan sebelum dibuang ke badan air penerima.

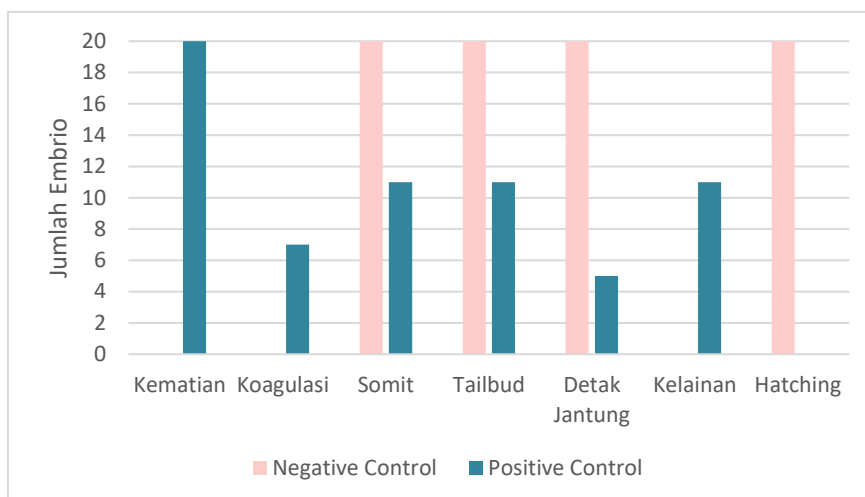
Meskipun rangkaian proses IPAL telah dijalankan, hasil pengolahan limbah oleh pihak industri masih belum sepenuhnya memenuhi baku mutu yang tercantum dalam Perda DIY Nomor 7 Tahun 2016, terutama pada parameter seperti BOD, COD, TSS, TDS, Nitrogen total, amonia, dan sulfida. Ketidaksesuaian ini menunjukkan bahwa kualitas efluen yang dibuang ke lingkungan masih dapat menimbulkan efek negatif, terutama bagi biota air.

4.2 Toksisitas *Embryo Zebrafish*

Pengujian toksisitas dalam penelitian ini menggunakan metode *Fish Embryo Toxicity* (FET) yang memiliki keunggulan dalam mendeteksi dampak toksik secara efisien, sensitif, dan etis. Embrio ikan zebra (*Danio rerio*) dipilih sebagai organisme uji karena perkembangannya yang cepat, transparan, dan responsif terhadap berbagai bahan pencemar, termasuk logam berat dan senyawa kompleks dalam limbah industri. Dengan mengamati indikator seperti koagulasi, pembentukan somit, pelepasan ekor, dan detak jantung selama 96 jam, FET memberikan gambaran langsung mengenai efek biologis dari limbah cair. Pada bagian ini akan disajikan hasil pengamatan toksisitas terhadap embrio yang dipaparkan dengan sampel influen dan efluen, disertai analisis konsentrasi mematikan (LC_{50}) serta evaluasi hubungan antara parameter kimia limbah dengan tingkat toksisitas yang ditimbulkan.

4.2.1 Validasi Data

Hasil uji validasi menunjukkan bahwa embrio ikan zebra (*Danio rerio*) pada kontrol negatif (nC) berkembang secara normal dengan 20 embrio hidup selama 96 jam tanpa mengalami gejala toksik. Parameter pembentukan somit, pelepasan tali-bud, dan detak jantung menunjukkan tingkat keberhasilan 100%, dimana tidak ditemukan embrio yang mengalami koagulasi, kelainan morfologi, maupun kematian. Hal ini sejalan dengan kriteria yang ditetapkan oleh OECD 236, yaitu tingkat kelangsungan hidup embrio pada kontrol negatif harus $\geq 90\%$ tanpa adanya efek toksik. Kondisi ini memastikan bahwa kualitas air akuades yang digunakan sebagai kontrol negatif tidak menimbulkan stres atau gangguan perkembangan terhadap embrio, serta mendukung validitas sistem pengujian secara keseluruhan.



Gambar. 4.1 Grafik Hasil Uji Validasi (kontrol negatif dan kontrol positif)

Sebaliknya, hasil pada kontrol positif (pC) yang menggunakan senyawa 3,4-dikloroanilin (4 mg/L) menunjukkan adanya respon toksik yang signifikan. Sebanyak 7 embrio mengalami koagulasi, 11 embrio gagal membentuk somit secara normal, dan 11 gagal melepaskan tali-bud. Selain itu, terdapat 5 embrio aktivitas detak jantung, terdapat 11 embrio dengan kelainan morfologi, dan seluruh embrio mengalami kematian (100%) secara bertahap dari jam 24 hingga 96. Temuan ini menunjukkan bahwa senyawa uji berhasil memicu efek toksik yang nyata, sebagaimana disyaratkan dalam uji validasi menurut OECD 236. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa sistem uji yang digunakan telah tervalidasi dengan baik dan mampu membedakan kondisi toksik dan non-toksik secara akurat, sehingga layak digunakan untuk tahap selanjutnya dalam pengujian toksisitas air limbah industri penyamakan kulit.

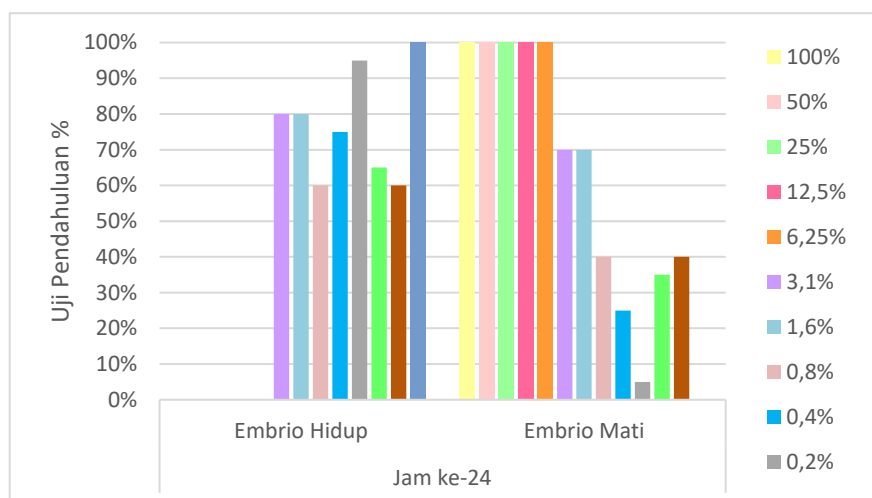
4.2.2 Uji Pendahuluan

Uji pendahuluan dilakukan untuk mengetahui kisaran konsentrasi air limbah penyamakan kulit yang tepat untuk digunakan dalam uji toksisitas utama menggunakan embrio ikan zebra (*Danio rerio*). Uji ini mencakup dua jenis sampel, yaitu influen (limbah sebelum pengolahan) dan efluen (limbah setelah pengolahan). Embrio ikan dipaparkan pada tingkat konsentrasi limbah, mulai dari 100% hingga 0,025% pada influen dan 100% hingga 3,1% pada efluen yang diamati selama 96 jam. Tujuan dari uji ini adalah untuk melihat bagaimana respon embrio terhadap berbagai tingkat paparan, mulai dari gejala ringan hingga

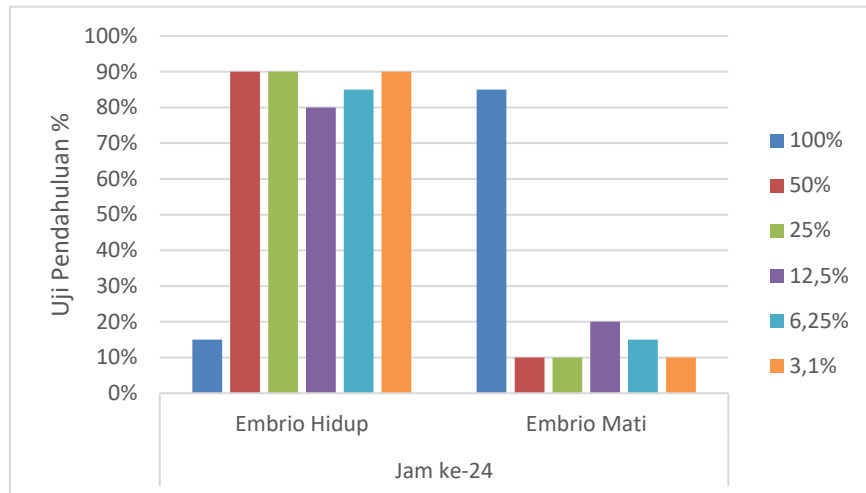
kematian, sehingga bisa ditentukan rentang konsentrasi yang paling sesuai untuk penghitungan LC_{50} .

Berdasarkan **Gambar 4.2** hasil pengamatan terhadap embrio ikan zebra (*Danio rerio*) selama 96 jam, diketahui bahwa tingkat kematian embrio sangat dipengaruhi oleh konsentrasi limbah penyamakan kulit. Pada konsentrasi tinggi (100% hingga 6,25%), seluruh embrio mengalami kematian dalam 24 jam pertama, ditandai dengan koagulasi. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan toksik dalam limbah, seperti logam berat dan senyawa organik, sangat mematikan dalam waktu singkat. Sementara itu, pada konsentrasi menengah (3,1% hingga 0,2%), kematian embrio terjadi secara bertahap hingga 96 jam dan disertai gejala toksisitas lain seperti keterlambatan pembentukan somit, pelepasan tailbud yang tidak sempurna, detak jantung yang melemah, serta kelainan morfologi seperti ekor bengkok. Respons bertahap ini menjadi dasar dalam menentukan nilai LC_{50} , karena mencerminkan hubungan antara dosis dan efek biologis yang lebih proporsional.

Menariknya, pada konsentrasi yang lebih rendah (0,1% hingga 0,025%), jumlah kematian tidak sepenuhnya lebih rendah dibanding konsentrasi menengah. Beberapa peningkatan kematian pada konsentrasi rendah diduga terjadi karena kualitas limbah yang telah mengalami perubahan selama masa penyimpanan, sehingga menghasilkan senyawa baru yang tetap bersifat toksik. Oleh karena itu, meskipun konsentrasi rendah terlihat tidak langsung mematikan, namun tetap menimbulkan efek toksik dan perlu diperhatikan dalam evaluasi risiko limbah cair penyamakan kulit terhadap organisme akuatik.



Gambar. 4.2 Uji Pendahuluan pada Limbah Influen Penyamakan Kulit



Gambar. 4.3 Uji Pendahuluan pada Limbah Efluen Penyamakan Kulit

Berdasarkan **Gambar 4.4**, hasil uji toksisitas terhadap embrio ikan zebra (*Danio rerio*) menggunakan limbah efluen penyamakan kulit, terlihat bahwa kematian embrio terjadi terutama pada konsentrasi tinggi. Pada konsentrasi 100%, seluruh embrio mati dalam waktu 24 jam, yang mengindikasikan bahwa meskipun limbah telah melalui proses pengolahan (efluen), tetap mengandung senyawa toksik yang bersifat akut terhadap embrio. Sementara pada konsentrasi 50%, kematian embrio mulai terjadi secara bertahap, dimulai dari jam ke-48 hingga jam ke-96. Pada konsentrasi lebih rendah seperti 25%, 12,5%, 6,25%, dan 3,1%, embrio sebagian besar bertahan hidup hingga jam ke-96, walaupun tetap menunjukkan adanya kematian bertahap.

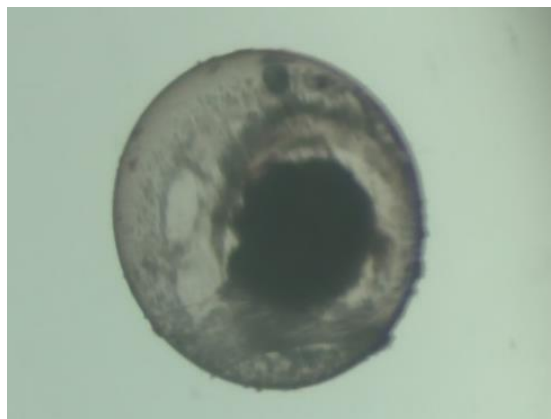
Fenomena ini menunjukkan bahwa proses pengolahan limbah mampu menurunkan tingkat toksisitas secara signifikan, namun belum sepenuhnya menghilangkan efek berbahaya terhadap organisme uji. Adanya pola kematian bertahap pada konsentrasi menengah hingga rendah menunjukkan bahwa residu toksik dalam efluen masih memberikan efek subletal yang berpotensi mengganggu perkembangan embrio.

4.2.3 Uji Toksisitas Utama

Dalam uji utama ini, embrio ikan zebra (*zebrafish*) dipaparkan terhadap air limbah penyamakan kulit untuk mengetahui seberapa berbahaya limbah tersebut terhadap perkembangan embrio. Sampel limbah yang digunakan terdiri dari influen (limbah sebelum diolah) dengan konsentrasi 3,1%, 1,6%, 0,8%, 0,4%, dan

0,2%, serta efluen (limbah setelah diolah) dengan konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, dan 3,1%. Tujuan dari uji ini adalah untuk menentukan nilai LC_{50} , yaitu konsentrasi yang dapat menyebabkan kematian pada 50% embrio uji. Nilai LC_{50} ini penting sebagai indikator tingkat toksisitas limbah secara kuantitatif. Rentang konsentrasi yang digunakan dalam uji utama ditetapkan berdasarkan hasil uji pendahuluan, sehingga dipilih konsentrasi yang masih menimbulkan respons biologis namun tidak langsung menyebabkan kematian total. Pengamatan dilakukan setiap 24 jam selama 96 jam untuk mengevaluasi dampak toksisitas akut terhadap perkembangan embrio, seperti kelainan, gangguan pembentukan organ, atau gejala lain yang menunjukkan kerusakan akibat paparan limbah.

Parameter kematian merupakan indikator utama dalam uji toksisitas FET (OECD 236, 2013), dengan kriteria seperti tidak adanya detak jantung setelah 48 jam post fertilisasi, tidak terbentuknya somit, ekor yang tidak berkembang, serta koagulasi. Kematian embrio meningkat seiring naiknya konsentrasi limbah, baik pada influen maupun efluen. Hal ini dapat disebabkan oleh kandungan toksik seperti logam berat, senyawa organik, atau gangguan fisiologis seperti stres oksidatif dan kerusakan membran sel (Scholz et al., 2008; Hill et al., 2005).

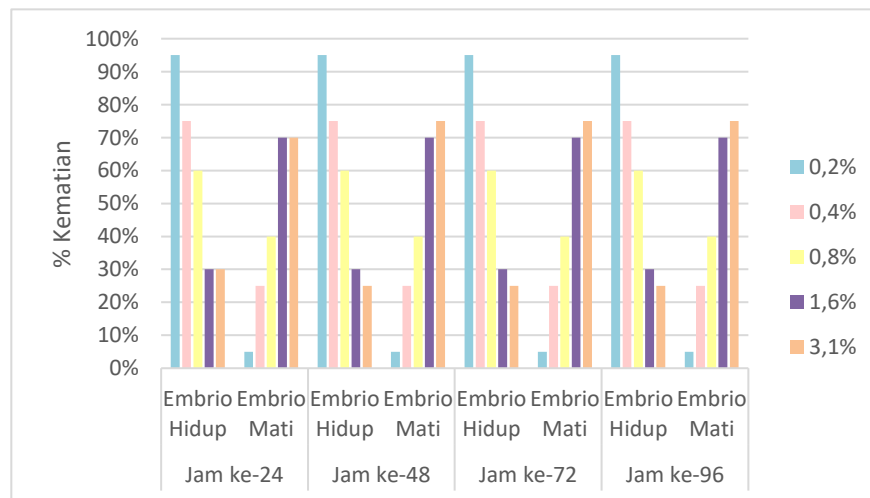


Gambar. 4.5 Embrio Mengalami Kematian

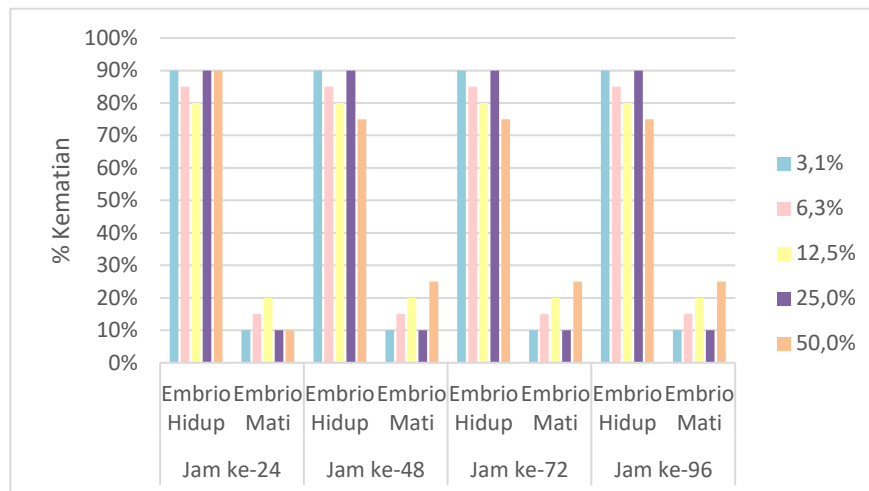
Berdasarkan **Gambar. 4.5**, terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi limbah influen penyamakan kulit, semakin banyak pula embrio ikan zebra (*Danio rerio*) yang mengalami kematian. Pada konsentrasi tertinggi yaitu 3,1%, sebagian besar embrio mati karena koagulasi, yaitu kondisi ketika sel-sel embrio menggumpal dan berhenti berkembang. Selain itu, terdapat pula kematian yang disebabkan oleh kegagalan pembentukan somit (struktur awal tubuh) yang

berhenti berkembang di jam ke-48, kemudian berubah menjadi gumpalan dan akhirnya mati. Ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi 3,1%, toksisitas limbah tidak hanya bekerja sejak awal, tetapi juga dapat mengganggu perkembangan embrio yang sempat tumbuh.

Sementara itu, pada empat konsentrasi lainnya (1,6%, 0,8%, 0,4%, dan 0,2%), kematian embrio umumnya terjadi karena koagulasi di jam ke-24. Meskipun angka kematian lebih rendah dibandingkan konsentrasi 3,1%, efek toksik tetap terlihat. Selain itu, meskipun pada embrio yang masih hidup tidak ditemukan kelainan morfologi yang jelas, beberapa konsentrasi menunjukkan adanya penundaan dalam proses penetasan korion. Hal ini menunjukkan bahwa meskipun embrio tidak mati atau cacat secara fisik, limbah tetap bisa menghambat perkembangan embrio secara normal. Penundaan ini kemungkinan disebabkan oleh adanya zat kimia yang mengganggu proses pematangan embrio atau melemahkan enzim yang membantu embrio keluar dari korion. Dengan begitu, walaupun tidak semua dampak limbah terlihat secara langsung, sebenarnya limbah influen tetap berbahaya dan berisiko terhadap kehidupan ikan zebra.



Gambar. 4.6 Grafik Uji Toksisitas pada Limbah Influen Penyamakan Kulit
Parameter Kematian (n=20)



Gambar. 4.7 Grafik Uji Toksisitas pada Limbah Efluen Penyamakan Kulit
Parameter Kematian (n=20)

Pada **Gambar. 4.6**, hasil uji toksisitas limbah efluen, terlihat bahwa tingkat kematian embrio ikan zebra (*Danio rerio*) cukup tinggi pada semua konsentrasi yang diuji. Meskipun begitu, penyebab kematian di tiap konsentrasi menunjukkan pola yang menarik. Pada konsentrasi rendah seperti 3,1% dan 25%, sebagian besar kematian disebabkan oleh koagulasi, yaitu kondisi di mana embrio menggumpal dan berhenti berkembang. Meski jumlah yang mengalami koagulasi hanya 2–3 ekor dari 20, gejala ini menjadi tanda awal bahwa limbah masih bersifat toksik.

Namun, pada konsentrasi tertinggi yaitu 50%, efek toksisitas dari limbah efluen menunjukkan dampak yang paling kompleks dan serius terhadap embrio ikan zebra (*Danio rerio*). Dari 20 embrio yang diuji, sebanyak 18 embrio membentuk somit dan 17 embrio telah berhasil melepaskan tailbud pada jam ke-24, menandakan bahwa pada awalnya proses perkembangan embrio berjalan relatif normal. Namun, pada jam ke-48, perkembangan embrio mengalami gangguan serius. Beberapa embrio yang sebelumnya membentuk struktur tubuh mulai menunjukkan tanda-tanda tidak berkembang lebih lanjut, mengalami penggumpalan, dan akhirnya mati. Fenomena ini menunjukkan bahwa pada kadar tinggi, senyawa kimia dalam limbah tidak hanya menyebabkan kematian dini melalui koagulasi, tetapi juga mampu menghentikan proses perkembangan yang sedang berlangsung seperti pembentukan somit dan diferensiasi tubuh. Hal ini memperkuat kesimpulan bahwa semakin tinggi konsentrasi limbah, semakin besar

pula potensi gangguan yang ditimbulkan terhadap perkembangan dan kelangsungan hidup embrio, baik yang terjadi secara langsung maupun bertahap.

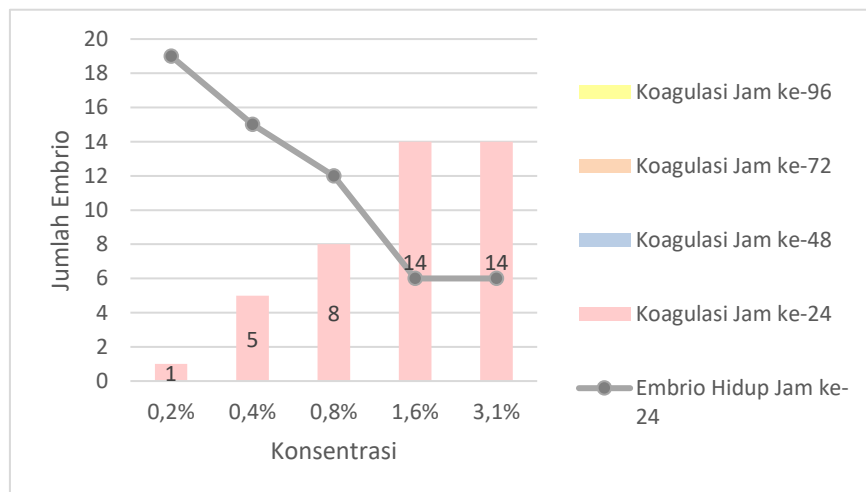


Gambar. 4.8 Embrio Mengalami Koagulasi

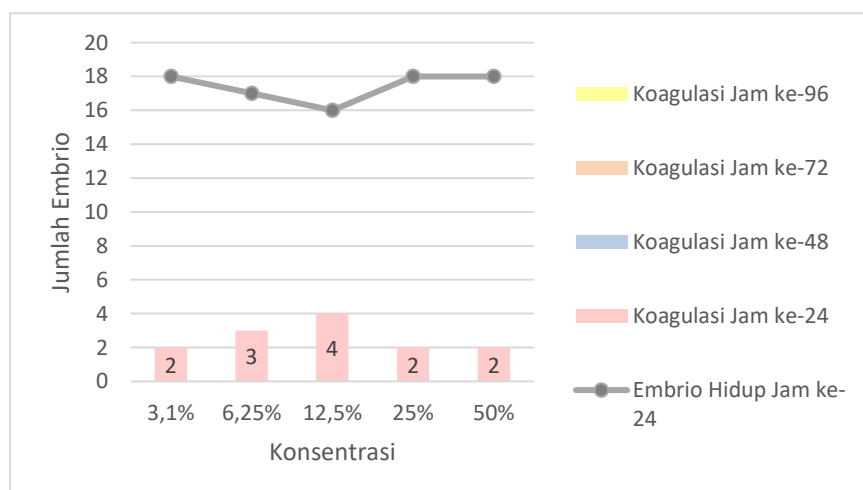
Koagulasi sering kali mulai terjadi dalam 24 jam pertama setelah pembuahan dan merupakan indikasi kematian dini, jarang sekali koagulasi dapat dilihat pada tahap perkembangan selanjutnya. Koagulasi merupakan salah satu indikator utama kematian dini pada embrio ikan zebra dalam uji toksisitas akut. Kondisi ini ditandai dengan terbentuknya massa putih buram di dalam korion, yang menunjukkan bahwa embrio gagal berkembang sejak awal akibat gangguan pada proses pembelahan sel. Koagulasi mencerminkan kematian embrio sebelum mencapai tahap perkembangan morfologis seperti pembentukan somit atau pelepasan ekor, sehingga sering digunakan sebagai parameter kritis untuk menilai efek toksik akut dari paparan bahan berbahaya. Jika embrio telah berkembang secara morfologis dan baru menunjukkan kematian pada waktu lebih lanjut, seperti setelah 48 jam, maka bentuk kematian tersebut tidak lagi dikategorikan sebagai koagulasi, melainkan kematian non-koagulasi. Oleh karena itu, keberadaan koagulasi dalam jumlah besar pada awal pengamatan menunjukkan bahwa senyawa yang terdapat dalam sampel uji memiliki tingkat toksisitas yang tinggi, karena mampu menghambat perkembangan embrio sejak fase paling awal kehidupannya.

Pada **Gambar 4.8**, pengamatan terhadap sampel influen menunjukkan tingkat koagulasi yang sangat tinggi pada konsentrasi 3,1% dan 1,6%, dengan persentase mencapai 70%. Tingkat koagulasi ini konsisten dari jam ke-24 hingga

jam ke-96, yang menunjukkan bahwa senyawa toksik dalam air limbah mentah menyebabkan kematian dini embrio secara masif dalam waktu singkat setelah pembuahan. Pada konsentrasi 0,8%, tingkat koagulasi menurun menjadi sekitar 40%, sementara pada konsentrasi 0,4% dan 0,2%, koagulasi tercatat sebesar 25% dan 10%. Pola ini mencerminkan adanya hubungan dosis-respons yang jelas; semakin tinggi konsentrasi limbah, semakin tinggi pula tingkat kematian dini embrio. Koagulasi ditandai dengan perubahan warna embrio menjadi putih keruh seperti kapas basah, bentuk tubuh yang sudah tidak terlihat jelas, dan tidak ada gerakan sama sekali, menandakan bahwa embrio sudah mati di awal perkembangan.



Gambar. 4.9 Grafik Uji Toksisitas pada Limbah Influen Penyamakan Kulit
Parameter Koagulasi (n=20)



Gambar. 4.10 Grafik Uji Toksisitas pada Limbah Efluen Penyamakan Kulit
Parameter Koagulasi (n=20)

Sebaliknya, pada **gambar 4.9** hasil pengamatan pada efluen menunjukkan tingkat koagulasi yang jauh lebih rendah, berkisar antara 10% hingga 20% pada semua konsentrasi yang diuji (50%, 25%, 12,5%, 6,25%, dan 3,1%). Puncak koagulasi terjadi pada konsentrasi 12,5% dengan persentase sekitar 20%, sementara konsentrasi lainnya relatif stabil di angka 10–15% tanpa perbedaan mencolok antara waktu pengamatan (24–96 jam). Hal ini menunjukkan bahwa proses pengolahan limbah telah berhasil menurunkan toksisitas efluen terhadap embrio, khususnya dalam mencegah kematian dini. Meskipun tingkat koagulasi yang rendah, adanya koagulasi pada efluen menunjukkan bahwa masih terdapat residu senyawa toksik yang tidak sepenuhnya terdegradasi dalam proses pengolahan.



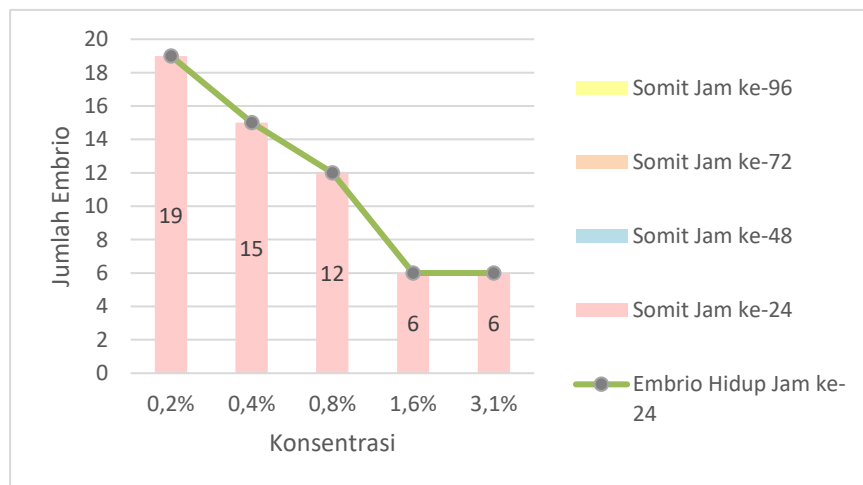
Gambar. 4.11 Embrio Mengalami Pembentukan Somit

Pembentukan somit merupakan indikator penting dalam tahap awal perkembangan embrio ikan zebra (*Danio rerio*), karena menandai dimulainya proses pembentukan sistem saraf dan rangka tubuh (OECD, 2013). Proses ini umumnya terjadi setelah 24 jam pasca pembuahan. Dalam penelitian ini, seluruh embrio yang tidak mengalami koagulasi menunjukkan pembentukan somit, meskipun pada perlakuan dengan air limbah, terutama pada konsentrasi tinggi, pembentukan somit tampak melambat. Hal ini mengindikasikan adanya pengaruh toksik dari senyawa dalam limbah yang dapat menghambat perkembangan embrio meskipun belum menyebabkan kematian langsung.

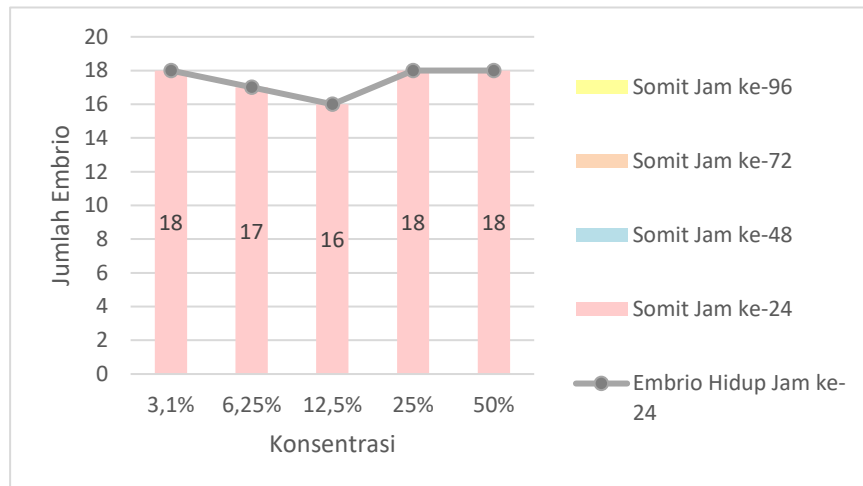
Pada **Gambar. 4.11** Pada konsentrasi influen, di atas menunjukkan hubungan antara konsentrasi limbah efluen penyamakan kulit dengan jumlah embrio ikan zebra (*Danio rerio*) yang berhasil membentuk somit pada jam ke-24. Pembentukan somit merupakan salah satu tanda utama perkembangan embrio

yang normal dan biasanya mulai terjadi sekitar jam ke-24 setelah pembuahan. Dari grafik terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi limbah, jumlah embrio yang mampu membentuk somit menurun secara signifikan. Pada konsentrasi terendah (0,2%), sebanyak 19 embrio masih hidup dan menunjukkan pembentukan somit. Namun, pada konsentrasi tertinggi (3,1%), hanya 6 embrio yang masih hidup dan membentuk somit pada jam ke-24. Hal ini menunjukkan bahwa paparan limbah pada konsentrasi tinggi dapat menghambat proses awal perkembangan embrio.

Menariknya, meskipun pada konsentrasi 3,1% masih ada 6 embrio yang berhasil membentuk somit di jam ke-24, perkembangan selanjutnya tidak berlangsung dengan normal. Embrio-embrio tersebut mulai mengalami kematian pada jam ke-48. Kematian ini disebabkan oleh perkembangan somit yang terhenti dan embrio berubah menjadi gumpalan, yang menandakan adanya kerusakan struktur akibat toksisitas limbah.



Gambar. 4.12 Grafik Uji Toksisitas pada Limbah Influen Penyamakan Kulit Parameter Pembentukan Somit (n=20)



Gambar. 4.13 Grafik Uji Toksisitas pada Limbah Efluen Penyamakan Kulit Parameter Pembentukan Somit (n=20)

Pada **Gambar. 4.12** grafik efluen, menunjukkan jumlah embrio ikan zebra (*Danio rerio*) yang berhasil membentuk somit pada jam ke-24 setelah terpapar limbah efluen penyamakan kulit pada berbagai konsentrasi, yaitu 3,1%, 6,25%, 12,5%, 25%, dan 50%. Sama seperti pada uji influen, pembentukan somit di jam ke-24 tetap terjadi pada sebagian besar embrio, meskipun limbah telah melalui proses pengolahan. Terlihat bahwa pada konsentrasi terendah hingga tertinggi, yaitu 3,1% hingga 50%, jumlah embrio yang hidup dan membentuk somit cukup stabil, berkisar antara 16 hingga 18 embrio dari total 20. Artinya, paparan efluen pada tahap awal belum menghambat proses awal perkembangan embrio seperti pembentukan somit. Bahkan pada konsentrasi tertinggi (50%), sebanyak 18 embrio masih mampu membentuk somit pada jam ke-24, menunjukkan bahwa efek toksik belum langsung muncul di fase awal perkembangan.

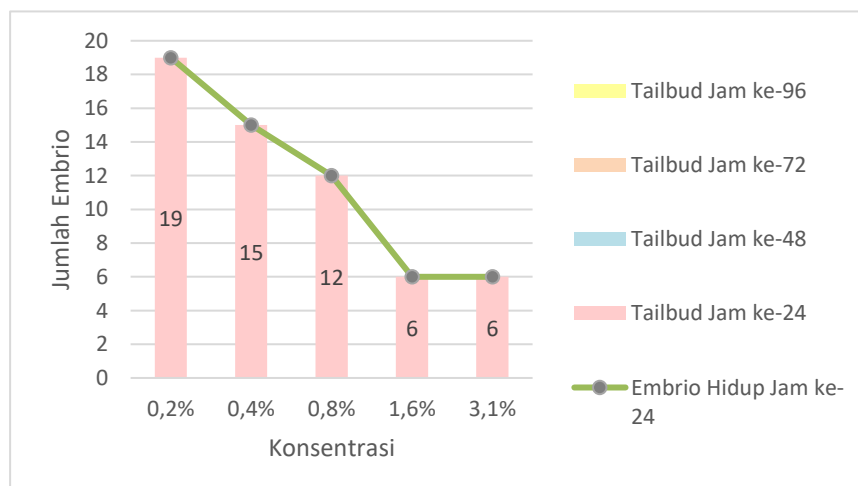
Namun, kematian embrio mulai tampak pada jam ke-48. Sebagian embrio yang awalnya hidup dan telah membentuk somit mengalami kematian secara tiba-tiba karena proses perkembangan tubuh tidak berlanjut. Kondisi ini serupa dengan yang terjadi pada uji influen, di mana toksisitas tidak langsung mematikan, melainkan mengganggu perkembangan bertahap hingga akhirnya embrio gagal bertahan.



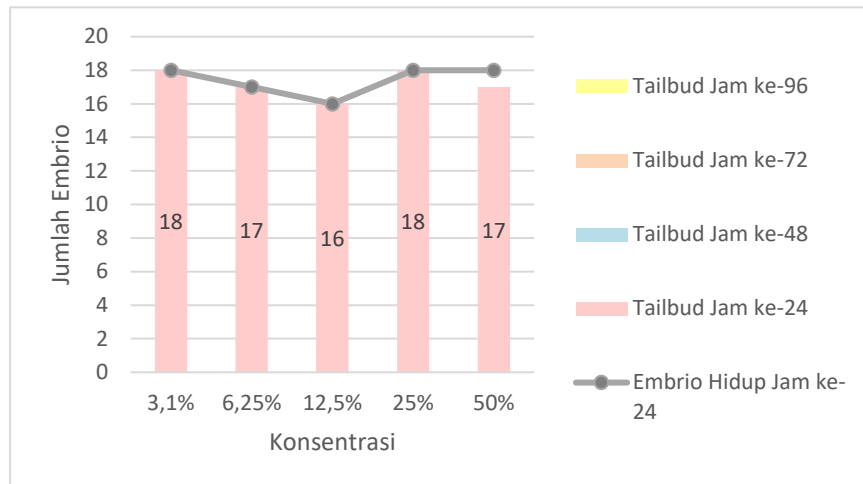
Gambar. 4.14 Embrio Mengalami Pelepasan Tail-Bud dari Yolk

Parameter lain yang diamati adalah pelepasan tailbud dari yolk, yaitu tahap awal perkembangan embrio yang menandakan terbentuknya bagian ekor. Tailbud yang berhasil melepaskan diri menunjukkan perkembangan normal, sedangkan kegagalan pelepasan dapat mengindikasikan adanya gangguan akibat paparan toksik. Oleh karena itu, parameter ini digunakan untuk mendeteksi efek subletal dari limbah terhadap perkembangan embrio (OECD, 2013).

Berdasarkan pengamatan pada **Gambar. 4.14** pembentukan tailbud pada sampel influen menunjukkan pola yang serupa dengan grafik somit, di mana jumlah embrio yang berhasil membentuk tailbud pada jam ke-24 menurun seiring meningkatnya konsentrasi limbah. Hal ini menandakan bahwa kandungan toksik pada air limbah influen secara langsung memengaruhi perkembangan embrio sejak tahap awal hingga tahapan lanjutan seperti pembentukan tailbud. Dengan semakin sedikitnya embrio yang mencapai fase ini, dapat disimpulkan bahwa pengaruh toksisitas pada influen cukup kuat dan bersifat progresif, menghambat kelanjutan proses perkembangan embrio.

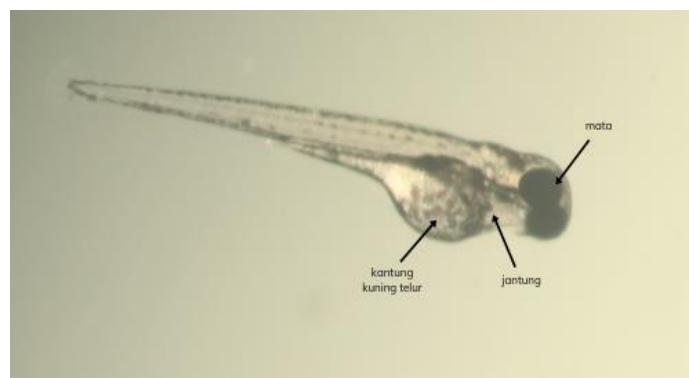


Gambar. 4.15 Grafik Uji Toksisitas pada Limbah Influen Penyakitan Kulit Parameter Tail-Bud dari Yolk (n=20)



Gambar. 4.16 Grafik Uji Toksisitas pada Limbah Efluen Penyamakan Kulit Parameter Tail-Bud dari Yolk (n=20)

Pada **Gambar. 4.15**, grafik efluen menunjukkan bahwa pada semua konsentrasi, termasuk konsentrasi tertinggi (50%), sebagian besar embrio masih mampu membentuk somit pada jam ke-24. Namun, pada grafik tailbud, terlihat bahwa hanya satu embrio tidak mengalami pelepasan tailbud di konsentrasi 50%, meskipun sebelumnya 18 embrio berhasil membentuk somit. Hal ini menunjukkan bahwa meskipun efluen tidak langsung menghambat perkembangan awal, efek toksisitasnya tetap signifikan dan mulai terlihat jelas pada tahapan lanjutan. Dengan demikian, efluen masih memiliki dampak toksik yang dapat mengganggu perkembangan embrio secara bertahap, terutama saat memasuki fase diferensiasi struktur tubuh lebih kompleks seperti tailbud.

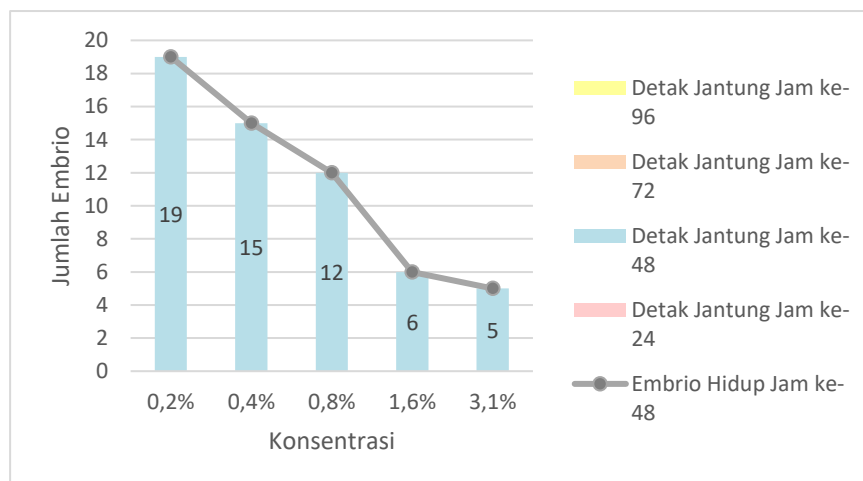


Gambar. 4.17 Embrio Mengalami Detak Jantung

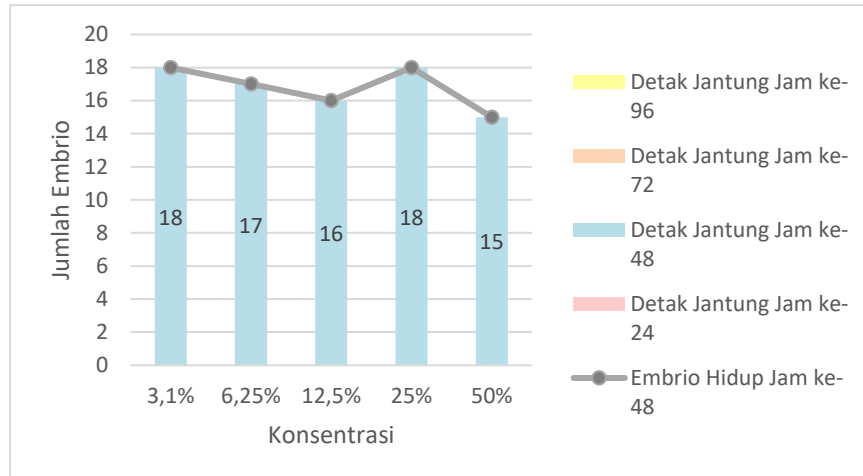
Jantung merupakan organ pertama yang berkembang pada embrio ikan zebra dan memiliki tahapan pembentukan yang menyerupai proses embriogenesis

pada manusia. Setelah 24 jam pasca pembuahan, perkembangan jantung ikan zebra setara dengan embrio manusia berusia sekitar 3 minggu (Denvir et al., 2008). Detak jantung mulai terdeteksi sekitar 48 jam setelah fertilisasi, dan menurut pedoman OECD 236 (2016), detak jantung digunakan sebagai parameter penting untuk menilai viabilitas dan perkembangan embrio secara normal. Gangguan pada detak jantung dapat mengindikasikan adanya stres fisiologis akibat paparan bahan toksik.

Berdasarkan **Gambar 4.17**, Grafik menunjukkan bahwa detak jantung embrio mulai terlihat pada jam ke-48, sesuai dengan tahap perkembangan normal. Pada konsentrasi 0,2%, hampir seluruh embrio (19 ekor) memiliki detak jantung, menandakan kondisi yang masih relatif normal. Namun, seiring meningkatnya konsentrasi limbah influen, jumlah embrio dengan detak jantung menurun tajam—menjadi 15 ekor di 0,4%, 12 ekor di 0,8%, hingga hanya tersisa 5 ekor di 3,1%. Penurunan ini mengindikasikan bahwa zat toksik dalam limbah mengganggu perkembangan jantung embrio, sehingga pada konsentrasi tinggi, embrio tidak mampu membentuk detak jantung atau mengalami kematian sebelum tahap tersebut tercapai.



Gambar. 4.18 Grafik Uji Toksisitas pada Limbah Influen Penyamakan Kulit Parameter Detak Jantung (n=20)



Gambar. 4.19 Grafik Uji Toksisitas pada Limbah Efluen Penyamakan Kulit
Parameter Detak Jantung (n=20)

Pada **Gambar 4.18**, Grafik menunjukkan bahwa detak jantung embrio yang terpapar efluen mulai terdeteksi pada jam ke-48 di semua konsentrasi. Pada konsentrasi 3,1% dan 25%, jumlah embrio yang memiliki detak jantung mencapai 18 ekor, menunjukkan perkembangan yang relatif normal. Namun, pada konsentrasi 6,25% hingga 50%, jumlah embrio dengan detak jantung sedikit menurun, dari 17 ekor menjadi 15 ekor. Penurunan ini mengindikasikan bahwa meskipun limbah telah diolah, masih terdapat zat sisa toksik yang dapat memengaruhi perkembangan jantung embrio. Namun demikian, dibandingkan influen, efluen menunjukkan dampak yang lebih ringan, karena jumlah embrio yang mampu membentuk detak jantung pada konsentrasi tinggi tetap lebih tinggi.



(a) Influen 0,025%



(b) Efluen 6,25%



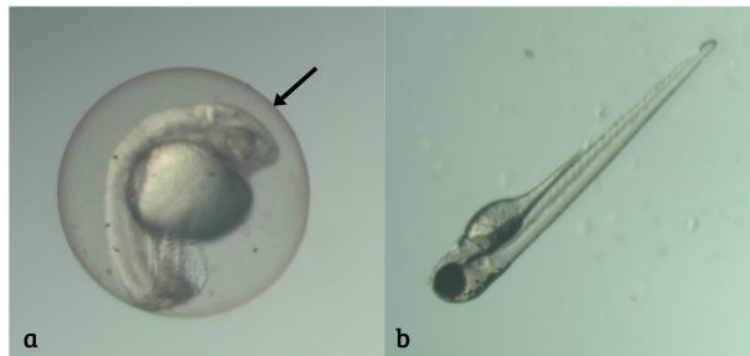
(c) Kontrol Positif

Gambar. 4.20 embrio mengalami kelainan (a) kelainan Edema perikardial, (b) kelainan ekor bengkok, (c) kelaianan edema parikardial dan kelaiana bentuk tubuh

Kelainan atau deformitas morfologi pada embrio ikan zebra (*Danio rerio*) merupakan parameter penting dalam mendeteksi adanya efek teratogenik, yaitu gangguan pada proses pembentukan struktur tubuh akibat paparan bahan toksik. Berdasarkan hasil pengamatan, tidak ditemukan kelainan morfologi pada seluruh konsentrasi influen (3,1%, 1,6%, 0,8%, 0,4%, dan 0,2%) selama periode pengamatan dari 24 hingga 96 jam. Ketiadaan deformitas morfologis ini bukan berarti tidak adanya efek toksik, melainkan karena sebagian besar embrio telah mengalami koagulasi dan kematian dini sebelum mencapai tahap perkembangan di mana deformitas dapat muncul. Hal ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi influen tersebut, senyawa berbahaya bersifat letal akut, sehingga menyebabkan kematian embrio sebelum diferensiasi organ terjadi.

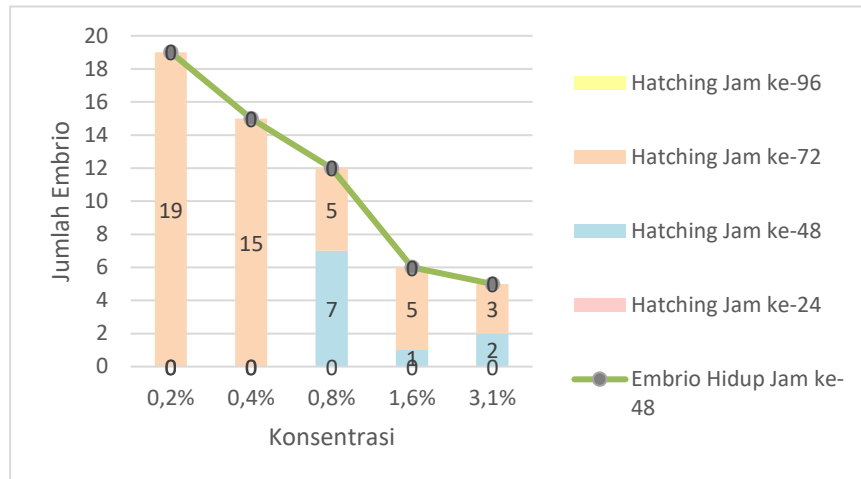
Pada konsentrasi efluen 6,25%, tercatat satu kasus deformitas sebesar 5% yang muncul antara jam ke-72 hingga 96. Kelainan tersebut kemungkinan berupa bentuk ekor tidak normal, yang umum terjadi akibat paparan senyawa toksik dalam dosis subletal. Limbah penyamakan kulit mengandung bahan kimia seperti kromium, amonia, dan sulfida yang meskipun telah melalui proses pengolahan, residunya masih dapat berdampak terhadap perkembangan embrio. Paparan logam berat seperti kromium diketahui dapat mengganggu embriogenesis dan menyebabkan kelainan morfologi pada embrio ikan zebra, seperti ekor bengkok, pembengkakan jantung (*pericardial edema*), dan pembesaran kantung kuning telur (*yolk sac edema*). Kondisi ini disebabkan oleh stres oksidatif serta gangguan

metabolik yang merusak fungsi osmoregulasi, sehingga memicu akumulasi cairan pada jaringan tubuh embrio (Tian et al., 2019). Munculnya deformitas pada konsentrasi menengah mengindikasikan bahwa dosis subletal memungkinkan embrio bertahan hidup namun mengalami gangguan perkembangan (*teratogenik*), sementara pada konsentrasi tinggi seperti 50%, paparan bersifat akut dan menyebabkan kematian dini sebelum kelainan sempat terbentuk. Hal ini menunjukkan bahwa meskipun efluen memiliki toksisitas lebih rendah dibanding influen, senyawa residu di dalamnya masih berpotensi mengganggu morfogenesis embrio pada konsentrasi tertentu.

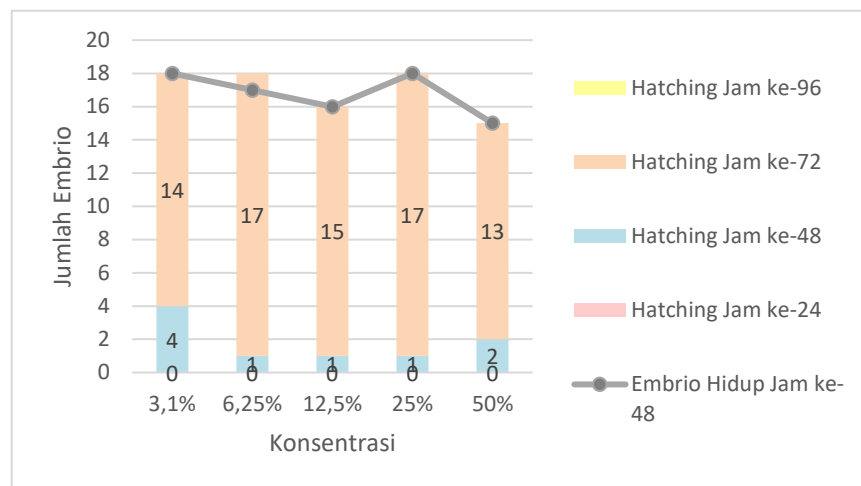


Gambar. 4.21 (a) Embrio Masih dalam Korion, (b) Embrio Sudah Lepas dari Korion

Hatching atau penetasan embrio ikan zebra (*Danio rerio*) merupakan proses penting yang menandai keberhasilan perkembangan embrio hingga keluar dari membran pelindung (korion), biasanya terjadi pada usia 48 jam pasca pembuahan dalam kondisi lingkungan optimal. Dalam uji toksisitas, keterlambatan atau kegagalan penetasan dapat menjadi indikator adanya gangguan fisiologis akibat paparan senyawa toksik, seperti amonia, logam berat, atau bahan organik kompleks. Senyawa-senyawa ini dapat menghambat aktivitas enzim hatching atau menyebabkan kelainan morfologi yang menghambat embrio keluar dari korion. Meskipun dalam penelitian ini tidak ditemukan keterlambatan penetasan yang signifikan, pengamatan terhadap hatching tetap penting karena mencerminkan dampak subletal dari limbah terhadap embrio yang tidak selalu terlihat melalui kematian saja (Kimmel et al., 1995).



Gambar. 4.22 Grafik Uji Toksisitas pada Limbah Influen Penyamakan Kulit
Parameter Hatching (n=20)



Gambar. 4.23 Grafik Uji Toksisitas pada Limbah Efluen Penyamakan Kulit
Parameter Hatching (n=20)

Pada **Gambar. 4.21**, terlihat bahwa proses penetasan (*hatching*) embrio yang umumnya terjadi pada jam ke-48 mengalami keterlambatan signifikan pada perlakuan dengan air limbah (influen). Pada konsentrasi 0,8%, hanya 7 embrio yang berhasil menetas tepat waktu di jam ke-48. Bahkan pada konsentrasi 0,2% dan 0,4%, tidak ada satu pun embrio yang menetas di jam ke-48, dan justru baru menetas di jam ke-72. Hal ini menandakan adanya hambatan atau gangguan fisiologis yang memperlambat proses penetasan. Semakin tinggi konsentrasi limbah, jumlah embrio yang berhasil menetas pun semakin menurun. Pada konsentrasi 3,1%, hanya 2 embrio yang menetas, dan itu pun tertunda hingga jam

ke-72. Penundaan ini dapat disebabkan oleh adanya senyawa toksik dalam limbah penyamakan kulit yang mengganggu enzim pencernaan korion atau melemahkan gerakan embrio untuk menembus membran pelindungnya. Keterlambatan ini juga menunjukkan bahwa kualitas air sangat berpengaruh terhadap keberhasilan dan waktu penetasan embrio ikan zebra.

Pada **Gambar. 4.21**, terlihat bahwa proses penetasan (*hatching*) embrio yang umumnya terjadi pada jam ke-48 mengalami keterlambatan signifikan pada seluruh perlakuan dengan air limbah hasil pengolahan (efluen). Pada semua konsentrasi efluen (3,1% hingga 50%), jumlah embrio yang berhasil menetas di jam ke-48 sangat rendah, yaitu hanya 4 embrio. Penetasan baru mulai terjadi secara signifikan pada jam ke-72, dengan jumlah embrio menetas tertinggi sebesar 17 ekor pada konsentrasi 6,25% dan 25%. Hal ini menunjukkan bahwa meskipun toksisitas efluen lebih rendah dibandingkan influen, masih terjadi hambatan fisiologis yang menyebabkan embrio tidak mampu menetas tepat waktu. Penundaan ini mengindikasikan bahwa senyawa residu dalam efluen kemungkinan masih mengganggu kerja enzim pencernaan korion atau memperlambat aktivitas embrio dalam menembus membran pelindungnya. Selain itu, pada konsentrasi tertinggi (50%), jumlah embrio yang menetas bahkan menurun menjadi 13 ekor, menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi efluen tetap berdampak terhadap keterlambatan dan keberhasilan penetasan embrio ikan zebra.

4.2.4 Konsentrasi Kematian Lc50

a. Influen

Nilai LC_{50} (*Lethal Concentration 50%*) untuk sampel influen limbah penyamakan kulit ditentukan menggunakan metode analisis regresi Probit, yaitu metode statistik yang menghubungkan konsentrasi zat uji dengan tingkat kematian organisme uji (embrio ikan zebra). Embrio dipaparkan pada rentang konsentrasi 100% sampai 0,2%. Hasil pengamatan persentase kematian kemudian diubah ke dalam bentuk log konsentrasi ($\log \%$) dan nilai Probit, lalu dipetakan dalam grafik regresi linier.

Dari analisis diperoleh persamaan regresi: $y = 1,4503x + 4,9866$ dengan koefisien determinasi $R^2 = 0,8654$. Artinya, model regresi mampu menjelaskan sekitar 86,54% variasi data kematian akibat perbedaan konsentrasi, sehingga model dapat dianggap cukup akurat.

Dengan menggunakan acuan Probit 5,0 (mewakili 50% kematian), diperoleh nilai $\log LC_{50} = 0,711854$, yang setelah dikonversi menghasilkan LC_{50} aktual sebesar 5,15%. Hal ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi influen 5,15%, sebanyak 50% embrio ikan zebra mati dalam waktu 96 jam paparan.

b. Efluen

Nilai LC_{50} (*Lethal Concentration 50%*) untuk sampel efluen juga ditentukan menggunakan metode analisis regresi Probit. Sama seperti pada influen, embrio ikan zebra (*Danio rerio*) dipaparkan pada beberapa tingkat konsentrasi, yaitu 100% sampai 3,1%. Hasil pengamatan persentase kematian kemudian diubah ke dalam bentuk log konsentrasi (log %) dan nilai Probit, lalu dipetakan dalam grafik regresi linier. Dari analisis diperoleh persamaan regresi: $y = 1,678x + 2,4111$ dengan koefisien determinasi $R^2 = 0,5228$. Artinya, model regresi mampu menjelaskan sekitar 52,2% variasi data kematian akibat perbedaan konsentrasi, sehingga model juga dapat dianggap cukup akurat.

Dengan menggunakan acuan Probit 5,0 (mewakili 50% kematian), diperoleh nilai $x = (5 - 2,4111) / 1,678 = 1,3778$. Nilai ini kemudian dikonversi melalui antilog, sehingga diperoleh LC_{50} aktual sebesar 23,86%. Hal ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi efluen 23,86%, sebanyak 50% embrio ikan zebra mati dalam waktu 96 jam paparan.

4.2.5 Toxic Unit acute (TU_a)

Nilai Toxic Unit akut (TU_a) digunakan untuk menggambarkan tingkat toksisitas suatu zat terhadap organisme uji dan dihitung dengan rumus $TU_a = 100 / LC_{50}$ (%). Berdasarkan hasil perhitungan, sampel influen memiliki nilai LC_{50} sebesar 5,15%, sehingga TU_a -nya adalah $100 / 5,15\% = 19,41$. Sementara itu, efluen memiliki nilai LC_{50} sebesar 23,86%, dengan TU_a sebesar 4,19. Nilai TU_a

yang lebih tinggi pada influen menunjukkan bahwa air limbah sebelum pengolahan lebih toksik terhadap embrio ikan zebra (*Danio rerio*) dibandingkan dengan air limbah setelah pengolahan.

Perbedaan nilai ini terjadi karena pada influen, senyawa pencemar masih berada dalam bentuk asli tanpa perlakuan, sedangkan pada efluen, beberapa senyawa beracun kemungkinan telah berkurang akibat proses pengolahan di IPAL. Namun, meskipun toksisitas efluen lebih rendah, nilai LC_{50} yang diperoleh menunjukkan bahwa limbah masih bersifat toksik. Berdasarkan klasifikasi toksisitas akut, TU_a antara 1 hingga 10 termasuk kategori toksik sedang, sedangkan TU_a di atas 10 termasuk kategori toksik tinggi. Oleh karena itu, influen berada dalam kategori toksik tinggi, sedangkan efluen tergolong toksik sedang.

Tabel 4.3 Perhitungan Toxic Unit Acute Berdasarkan Nilai $LC_{50}\%$

Toxic Unit acute (TU_a)	
LC50 %	TU_a
Influen	
5,15	19.41
Efluen	
23,86	4,19

4.3 Hubungan Kualitas Air Limbah Penyamakan Kulit Terhadap Kematian Embrio

Kematian embrio ikan zebra (*Danio rerio*) merupakan indikator penting dalam menilai tingkat toksisitas air limbah, terutama pada tahap awal kehidupan organisme akuatik. Berdasarkan hasil uji toksisitas menggunakan metode OECD 236, limbah penyamakan kulit—baik influen (sebelum pengolahan) maupun efluen (setelah pengolahan)—terbukti memberikan pengaruh signifikan terhadap kelangsungan hidup embrio. Paparan influen pada konsentrasi tinggi (100%, 50%, 25%, dan 12,5%) menyebabkan kematian total embrio dalam waktu 24 jam, yang mengindikasikan adanya senyawa toksik seperti kromium, amonia, sulfit, dan bahan organik lainnya. Sementara itu, efluen menunjukkan tingkat kematian lebih rendah, sekitar 30% pada konsentrasi 50% dan terus menurun pada konsentrasi yang lebih rendah, menandakan bahwa proses pengolahan IPAL cukup efektif dalam menurunkan toksisitas, meskipun sisa kontaminan masih terdeteksi. Nilai

LC₅₀ yang diperoleh menunjukkan bahwa influen lebih toksik (LC₅₀ = 5,15%) dibandingkan efluen (LC₅₀ = 23,86%), yang memperkuat hubungan dosis-respons antara konsentrasi limbah dan tingkat kematian embrio.

Dari seluruh parameter fisik dan kimia yang diuji turut berkontribusi dalam memperburuk kondisi embrio selama paparan:

1. BOD5 (*Biochemical Oxygen Demand*)

BOD tinggi menunjukkan tingginya beban organik yang dapat dikonsumsi mikroorganisme. Proses dekomposisi ini menghabiskan oksigen dalam air, menyebabkan hipoksia. Dalam kondisi ini, embrio mengalami stres oksidatif, koagulasi, dan perkembangan embrionik abnormal (Hammer, 2020; Boyd, 1990).

2. COD (*Chemical Oxygen Demand*)

COD menggambarkan kandungan bahan kimia organik dan anorganik yang dapat teroksidasi. Nilai COD yang tinggi menunjukkan adanya senyawa toksik (seperti tanin atau krom organik) yang dapat merusak sistem enzimatik embrio. Akibatnya, terjadi gangguan pertumbuhan somit, deformasi struktur tubuh, dan penurunan tingkat penetasan (Hammer, 2020).

3. TSS (*Total Suspended Solids*)

TSS yang tinggi menyebabkan kekeruhan air, mengganggu penetrasi cahaya dan menurunkan kadar oksigen terlarut. Kondisi ini berpotensi menyebabkan stres oksidatif dan iritasi pada korion (cangkang embrio), yang berujung pada gangguan perkembangan fisik dan morfologi, serta mengganggu perkembangan organ yang dapat menyebabkan kematian dini. (Murugesan et al., 2012).

4. Krom Total

Sebagai logam berat utama dalam industri penyamakan, kromium sangat beracun bagi embrio. Paparan kromium menyebabkan stres oksidatif (kondisi ketika tubuh tidak mampu menetralkan zat beracun, sehingga sel-sel menjadi rusak), kerusakan DNA (mengganggu pembentukan sel dan jaringan tubuh), gangguan sistem saraf, dan deformasi somit (Zahangir et al., 2015). Dalam konsentrasi tinggi,

krom dapat menyebabkan kegagalan organogenesis dan kematian embrio.

5. Minyak dan Lemak

Kehadiran minyak dan lemak di permukaan air mengganggu pertukaran gas antara air dan udara, serta menutupi korion embrio. Hal ini mengganggu pertukaran gas, menyumbat insang, serta mengandung senyawa toksik yang menempel pada permukaan tubuh ikan (Hammer, 2020).

6. Nitrogen Total (sebagai N)

Nitrogen total yang tinggi menjadi indikasi adanya senyawa nitrat dan nitrit yang bersifat toksik. Nitrat dan nitrit merupakan senyawa nitrogen yang dapat bersifat toksik bagi ikan, terutama pada fase embrio dan larva. Nitrat dalam konsentrasi tinggi (≥ 3 mg/L) dapat menghambat pertumbuhan dan perkembangan, serta dicurigai mengganggu sistem hormonal. Nitrit lebih toksik karena menyebabkan methemoglobinemia yang menghambat pengikatan oksigen oleh darah, memicu hipoksia dan kematian. Nilai aman nitrit sangat rendah, sekitar 0,02 mg/L, dan menjadi lebih berbahaya saat kadar klorida rendah (Nordin, dkk, 2009).

7. Amonia Total

Amonia bebas (NH_3) bersifat neurotoksik dan sangat berbahaya bagi embrio. Amonia menghambat kerja enzim penting dalam siklus perkembangan sel, menyebabkan edema, gangguan sistem saraf pusat, serta kerusakan membran sel embrionik. Hal ini dapat menghambat detak jantung dan menimbulkan kematian embrio. Konsentrasi aman NH_3 : $<0,05$ mg/L (Hammer, 2020).

8. Sulfida (sebagai S)

Sulfida adalah senyawa yang sangat beracun bagi organisme akuatik. Ia menghambat enzim mitokondria seperti sitokrom oksidase, yang diperlukan untuk respirasi sel. Akibatnya, terjadi kematian jaringan embrio secara cepat dan dapat menyebabkan stress dengan ditandai perubahan perilaku, bahkan pada konsentrasi rendah. Sulfida juga

menyebabkan bau busuk yang dapat menandakan kondisi anaerob ekstrem (Putri, 2018).

9. TDS (*Total Dissolved Solids*)

TDS menggambarkan jumlah ion terlarut dalam air. Jika TDS melebihi 2000 mg/L, tekanan osmotik meningkat drastis. Hal ini dapat mempersulit ikan menjaga keseimbangan air dan garam tubuh, menyebabkan stres dan kerusakan ginjal (Hammer, 2020).

10. pH

pH memengaruhi kestabilan enzim dan metabolisme embrio. Dalam kisaran normal 6–9, embrio berkembang optimal. Namun, pH ekstrem (<6 atau >9) bisa menyebabkan gangguan ionik, produksi lendir berlebih di insang, serta penurunan kemampuan hemoglobin mengikat oksigen (Efek *Bohr dan Root*), yang berdampak pada gangguan pernapasan dan kematian (Hammer, 2020; Burggren et al., 1991; Zahangir et al., 2015).

11. Suhu

Suhu berperan penting dalam kecepatan perkembangan embrio. Suhu optimal bagi zebrafish adalah sekitar 27-28,5°C. Jika suhu terlalu rendah atau tinggi, proses pembelahan sel dan perkembangan organ dapat terganggu. Ini bisa menyebabkan keterlambatan hatching (penetasan), pembentukan somit yang tidak sempurna, hingga kegagalan pembentukan detak jantung embrio bahkan kematian (Hammer, 2020).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian pada industri penyamakan kulit di PT. X yang berlokasi di Kawasan Industri Sitimulyo, Piyungan, Bantul, ditemukan hasil sebagai berikut:

1. Hasil uji FET menunjukkan nilai LC_{50} influen sebesar 5,15% (sangat toksik) dan LC_{50} efluen sebesar 23,86% (lebih rendah toksisitasnya), sehingga IPAL mampu menurunkan tingkat toksisitas meskipun belum sepenuhnya aman bagi biota akuatik.
2. Limbah influen masih mengandung banyak pencemar seperti bahan organik, padatan tersuspensi, amonia, sulfida, dan logam kromium dengan kadar yang sangat tinggi hingga melewati batas aman. Setelah melalui pengolahan di IPAL, kandungan pencemar pada efluen berkurang cukup banyak, meskipun beberapa parameter masih belum sepenuhnya sesuai dengan standar baku mutu yang ditetapkan.
3. Tingginya BOD, COD, amonia, sulfida, TSS, dan kromium pada influen berkorelasi dengan rendahnya nilai LC_{50} (toksisitas tinggi), sedangkan penurunan parameter tersebut pada efluen sejalan dengan meningkatnya nilai LC_{50} , sehingga toksisitas berkurang.

5.2 Saran

Beberapa saran untuk mendukung pengembangan penelitian kedepannya:

1. Untuk meningkatkan keakuratan dan validitas data, penelitian selanjutnya disarankan melakukan pengulangan pada setiap konsentrasi uji. Replikasi penting untuk memastikan hasil yang akurat dan mengurangi potensi kesalahan pada pengamatan.
2. Pengujian toksisitas dapat dilakukan pada setiap unit pengolahan air limbah (IPAL) dan setelah pengolahan oleh Dinas Lingkungan Hidup (DLH) sebelum limbah dibuang ke badan air penerima, guna memastikan limbah yang dilepaskan memenuhi standar lingkungan dan tidak membahayakan ekosistem.

DAFTAR PUSTAKA

- Aslam, S., & Yousafzai, A. M. (2017). Chromium toxicity in fish: A review article. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 5(3), 1483-1488.
- Ati, V. M., Meye, E. D., Refli, A. O., Amalo, D., & Jebatu, U. L. (2022). Moringa leaf (*Moringa oleifera* L) flavonoids utilization in suppressing growth of *Aedes aegypti* larvae Pemanfaatan Flavonoid Daun Kelor (*Moringa oleifera* L) dalam Menekan Pertumbuhan Larva Nyamuk *Aedes aegypti*. *Jurnal Ilmiah Berkala: Sains dan Terapan Kimia*, 16(1).
- Bérubé, R., LeFauve, M. K., Khalaf, A., Aminioroomi, D., & Kassotis, C. D. (2025). Effects of organic and inorganic contaminants and their mixtures on metabolic health and gene expression in developmentally exposed zebrafish. *Environmental Toxicology and Chemistry*, vga099.
- Blessings Aquarium. (t.t.). The Impact of pH Levels on Fish Health and How to Adjust Them. Diakses pada [tanggal kamu mengakses], dari <https://www.blessingsaquarium.com/post/the-impact-of-ph-levels-on-fish-health>
- Braunbeck, T., Böttcher, M., Hollert, H., Kosmehl, T., Lammer, E., Leist, E., ... & Seitz, N. (2005). Towards an alternative for the acute fish test in chemical assessment: the fish embryo toxicity test goes multi-species-an update. *ALTEX-Alternatives to animal experimentation*, 22(2), 87-102.
- Burggren, W., McMahon, B., & Powers, D. (1991). Fungsi pernapasan darah. Dalam C. Ladd Prosser (Ed.), *Lingkungan dan metabolisme fisiologi hewan. Fisiologi hewan komparatif* (edisi ke-4). Wiley-Liss, Inc., 605 Third Avenue, New York, NY 10158-0012.
- Chagas, T. Q., da Silva Alvarez, T. G., Montalvao, M. F., Mesak, C., Rocha, T. L., da Costa Araujo, A. P., & Malafaia, G. (2019). RETRACTED: Behavioral toxicity of tannery effluent in zebrafish (*Danio rerio*) used as model system.

- Cohen, T., Hee, S. S. Q., & Ambrose, R. F. (2001). Trace metals in fish and invertebrates of three California coastal wetlands. *Marine Pollution Bulletin*, 42(3), 224-232.
- Darmono, L. H., & Hidup, L. (2001). Pencemaran hubungannya dengan toksikologi senyawa logam. Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- Dewi, A., Pramiastuti, O., & Nurhidayati, L. G. (2024). Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Temu Blenyeh (*Curcuma purpurascens* Blume) terhadap Ikan Zebra
- Embry, M. R., Belanger, S. E., Braunbeck, T. A., Galay-Burgos, M., Halder, M., Hinton, D. E., ... & Whale, G. (2010). The fish embryo toxicity test as an animal alternative method in hazard and risk assessment and scientific research. *Aquatic toxicology*, 97(2), 79-87.
- Ezenwaji, E. E., Ahiadu, H. O., Nzoiwu, C. P., & Ekolok, A. M. (2014). An analysis of the relationship between temperature variation and fish production in Lagos, Nigeria. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science*, 11(3), 38-43.
- Fachria, R., Ramdan, H., & Aryantha, I. N. P. (2019). Efektivitas pengolahan limbah cair industri penyamakan kulit Sukaregang Garut dengan adsorben karbon aktif dan ijuk. *Jurnal Pengelolaan Lingkungan Berkelanjutan (Journal of Environmental Sustainability Management)*, 379-388.
- Fachria, R., Ramdan, H., & Aryantha, I. N. P. (2019). Efektivitas pengolahan limbah cair industri penyamakan kulit Sukaregang Garut dengan adsorben karbon aktif dan ijuk. *Jurnal Pengelolaan Lingkungan Berkelanjutan (Journal of Environmental Sustainability Management)*, 379-388.
- Finney, D.J. Probit Analysis. Cambridge University Press, New York, (1971) p. 337.
- Hammer, H. S. (2020). Water quality for zebrafish culture. In *The zebrafish in biomedical research* (pp. 321-335). Academic Press.

- Hargreaves, J. A. (1998). Nitrogen biogeochemistry of aquaculture ponds. *Aquaculture*, 166(3-4), 181-212.
- Haron, N., Tajudin, N. N., Wahab, W. A., Nasir, M. H. M., Asia, S., & Jusoh, H. M. (2023). Toxicity of *Anacardium occidentale* shoots (Pucuk Gajus) Extract on Zebrafish Embryos. *Revelation and Science*, 13(2).
- Hayati, F. (2020). Perbandingan Uji Toksisitas Akut Sediaan Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System (Snedds) Ekstrak Etanol Daun Pegagan (*Centella asiatica* L.) dengan Ekstrak Etanol Daun Pegagan pada Embrio Ikan Zebra (*Danio rerio*).
- Hayati, F., Nugraha, A. T., Ansori, R., & Faizah, W. S. (2020). Toksisitas ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* L. Urb.) pada embrio ikan zebra (*Danio rerio*). In *Prosiding Seminar Nasional Hasil Penelitian dan Pengabdian Masyarakat dengan tema "Kesehatan Modern dan Tradisional* (pp. 124-131).
- Hentemann, M., Mousavi, K., & Bertheussen, K. (2011). Differential pH in embryo culture. *Fertility and sterility*, 95(4), 1291-1294.
- Hill, A. J., Teraoka, H., Heideman, W., & Peterson, R. E. (2005). Zebrafish as a model vertebrate for investigating chemical toxicity. *Toxicological sciences*, 86(1), 6-19.
- Hisaoka, K. K., & Firlit, C. F. (1962). Ovarian cycle and egg production in the zebrafish, *Brachydanio rerio*. *Copeia*, 788-792.
- Hisaoka, K. K., & Firlit, C. F. (1962). Ovarian cycle and egg production in the zebrafish, *Brachydanio rerio*. *Copeia*, 788-792.
- Indonesia, P. R. (2014). Undang-undang Republik Indonesia nomor 5 tahun 2014 tentang aparatur sipil negara.
- Kimmel, C. B., Miller, C. T., Kruze, G., Ullmann, B., BreMiller, R. A., Larison, K. D., & Snyder, H. C. (1998). The shaping of pharyngeal cartilages during early development of the zebrafish. *Developmental biology*, 203(2), 245-263.
- Kleinhappel, T. K., Burman, O. H., John, E. A., Wilkinson, A., & Pike, T. W. (2019). The impact of water pH on association preferences in fish. *Ethology*, 125(4), 195-202.

- Klüver, N., Vogs, C., Altenburger, R., & Scholz, S. (2019). Developmental toxicity in fish embryos—how and when to apply the fish embryo toxicity test. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 38(12), 2525–2536.
- Kuncoro, Y. M., & Soedjono, E. S. (2022). Studi Pustaka: Teknologi Pengolahan Air Limbah pada Industri Penyamakan Kulit. *Jurnal Teknik ITS*, 11(3), C142-C149.
- OECD. (1994). OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. Oecd.
- Letelier-Gordo, C. O., Aalto, S. L., Suurnäkki, S., & Pedersen, P. B. (2020). Increased sulfate availability in saline water promotes hydrogen sulfide production in fish organic waste. *Aquacultural Engineering*, 89, 102062.
- Levit, S. M. (2010). A literature review of effects of ammonia on fish. Center for Science in Public Participation, Bozeman, Montana.
- Maulaya, I. (2024). Toxicity of Activated-carbon Purified Centella Asiatica (L.) Urb. Methanolic Extract on Zebrafish (Danio Rerio) Embryos (Doctoral dissertation, Universitas Islam Indonesia).
- Miller, L. L., et al. (2012). Impact of organic matter on fish health: A review of biochemical oxygen demand and chemical oxygen demand in aquatic ecosystems. *Environmental Toxicology and Chemistry*.
- Moura, D. S., Mota, R. O. D. D., Gonçalves, J. F., Vasconcelos, N. F. D., Reis, M. A., & Grisolia, C. K. (2019). Evaluation of the embryotoxicity in zebrafish (Danio rerio) of the flocculant and coagulant compounds used for water remediation. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 31, e12.
- Mukono, H. J. (2010). Toksikologi lingkungan. Pusat Penerbitan dan Percetakan Unair.
- Murtini, J. T., Triwibowo, R., Priyanto, N., Indriati, N., & Ariyani, F. (2010). Uji toksisitas sub kronik Spirulina platensis secara in- vivo. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan* Vol, 5(2).
- Murugesan, A. G., Ramathilaga, A., Samson Ponselvan, J. K., & Dinakaran Michael, R. (2012). Immunotoxicity of tannery effluent to the freshwater fish Cyprinus carpio. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 88, 639-643.

- Nabilah, I. (2015). *Uji Toksisitas Akut LC (50-96jam) Limbah Cair Industri Penyamakan Kulit Terhadap Tingkat Mortalitas Ikan Mas (Cyprinus carpio) Pada Bak-bak Percobaan* (Doctoral dissertation, Universitas Brawijaya).
- Nordin, R. N., Pommen, L. W., & Meays, C. L. (2009). Water quality guidelines for nitrogen (nitrate, nitrite, and ammonia). Water Stewardship Division, Ministry of Environment, Province of British Columbia, Canada, 1-29.
- Putri, G. L. (2018). Kadar hidrogen sulfida dan keluhan pernapasan pada petugas di pengolahan sampah super depo sutorejo surabaya. *Jurnal Kesehatan Lingkungan*, 10(2), 211-219.
- Putri, S. E. (2022). *PENGHILANGAN NODA FATTY SPEW PADA KULIT GOLF GLOVE MENGGUNAKAN LIMANOL PEW DI. CV. YOGYA KARYA ANDINI, BANTUL* (Doctoral dissertation, Politeknik ATK).
- Roychowdhury, P., Aftabuddin, M., & Pati, M. K. (2024). A review on the impact of thermal stress on fish biochemistry. *Aquatic Sciences and Engineering*, 39(2), 121-129.
- Safitri, G. A. (2023). *Uji Toksisitas Air Limbah Industri Penyamakan Kulit Terhadap Zebrafish (Danio Rerio) Dengan Menggunakan Metode Whole Effluent Toxicity (Wet)* (Doctoral dissertation, Universitas Islam Indonesia).
- Santana Maldonado, C., Weir, A., & Rumbelha, W. K. (2023). A comprehensive review of treatments for hydrogen sulfide poisoning: Past, present, and future. *Toxicology mechanisms and methods*, 33(3), 183-196.
- Scholz, S., Fischer, S., Gündel, U., Küster, E., Luckenbach, T., & Voelker, D. (2008). The zebrafish embryo model in environmental risk assessment—applications beyond acute toxicity testing. *Environmental science and pollution research*, 15, 394-404.
- Sobanska, M., Scholz, S., Nyman, A. M., Cesnaitis, R., Gutierrez Alonso, S., Klüber, N., ... & De Coen, W. (2018). Applicability of the fish embryo acute toxicity (FET) test (OECD 236) in the regulatory context of Registration, Evaluation, Authorisation, and Restriction of

- Chemicals (REACH). Environmental toxicology and chemistry, 37(3), 657-670.
- Spence, R., & Smith, C. (2006). Mating preference of female zebrafish, *Danio rerio*, in relation to male dominance. *Behavioral Ecology*, 17(5), 779-783.
- Suprapti Ningsih, S., Suraswati, A., & Sholeh, M. (2006). Penggunaan zeolite alam untuk mengurangi kandungan krom dan nh_4^+ dalam air limbah penyamakan kulit. *Majalah Kulit Karet Dan Plastik*, 22, 16-9.
- Tian, S., Teng, M., Meng, Z., Yan, S., Jia, M., Li, R., ... & Zhu, W. (2019). Toxicity effects in zebrafish embryos (*Danio rerio*) induced by prothioconazole. *Environmental Pollution*, 255, 113269.
- Tiong, J. L. L. (2011). Optimization of Zebrafish Mating System in UNIMAS Fish Facility (Doctoral dissertation, Universiti Malaysia Sarawak).
- Westerfield, M. (2007). The Zebrafish Book; A guide for the laboratory use of zebrafish (*Danio rerio*). (*No Title*).
- United States Environmental Protection Agency. (2012). Dissolved Oxygen and Biochemical Oxygen Demand.
- von Hellfeld, R., Brotzmann, K., Baumann, L., Strecker, R., & Braunbeck, T. (2020). Adverse effects in the fish embryo acute toxicity (FET) test: a catalogue of unspecific morphological changes versus more specific effects in zebrafish (*Danio rerio*) embryos. *Environmental Sciences Europe*, 32, 1-18.
- Wijaya, R. C. (2020). Lethal concentration 50% of patchouli oil (*Pogostemon cablin*) towards zebrafish embryo (*Danio rerio*). *Herb-Medicine Journal: Terbitan Berkala Ilmiah Herbal, Kedokteran dan Kesehatan*, 3(2), 1-6.
- Yang, L., Ho, N. Y., Alshut, R., Legradi, J., Weiss, C., Reischl, M., ... & Strähle, U. (2009). Zebrafish embryos as models for embryotoxic and teratological effects of chemicals. *Reproductive Toxicology*, 28(2), 245-253.

- Yousif, R., CHOUDHARY, M. I., AHMED, S., & AHMED, Q. (2021). Bioaccumulation of heavy metals in fish and other aquatic organisms from Karachi Coast, Pakistan. *Nusantara Bioscience*, 13(1).
- Zahangir, MdM., Haque, F., & Mostakim, GM (2015). Respon stres sekunder ikan zebra terhadap pH yang berbeda: Evaluasi secara musiman. *Laporan Akuakultur*, 2, 91e96.
- Zulfahmi, I., El Rahimi, S. A., Adani, K. H., Nasution, I. A., Nafis, B., & Utami, C. S. (2024). Reproductive performance of Zebra Fish (*Danio rerio*) exposed to palm oil mill effluent in chronic toxicity. In *BIO Web of Conferences* (Vol. 87, p. 02004). EDP Sciences.

LAMPIRAN

Lampiran 1 *ethical clearance*



FAKULTAS
KEDOKTERAN

Gedung Dr. Soekiman Wirjosandjojo
Kampus Terpadu Universitas Islam Indonesia
Jl. Kaliurang km 14,5 Yogyakarta 55584
T. (0274) 898444 ext. 2096, 2097
F. (0274) 898459 ext. 2007
E. fk@uii.ac.id
W. fk.uii.ac.id

Nomor : 14/Ka.Kom.Et/70/KE/II/2025

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK

ETHICAL APPROVAL

Komite Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran dan kesehatan, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul :

The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Islamic University of Indonesia, with regards of the protection of human rights and welfare in medical and health research, has carefully reviewed the research protocol entitled :

"Uji Toksisitas Air Limbah dengan Menggunakan Metode *Fish Embryo Toxicity* (FET)"

Peneliti Utama : Any Juliani
Principal Investigator

Nama Institusi : Program Studi Teknik Lingkungan FTSP UII
Name of the Institution

dan telah menyetujui protokol tersebut diatas.
and approved the above-mentioned protocol.



Yogyakarta, 20 Februari 2025

Ketua
Chairman

dr. Riana Rahmawati, M.Kes, Ph.D

**Ethical Approval* berlaku satu tahun dari tanggal persetujuan

***Peneliti berkewajiban*

1. Menjaga kerahasiaan identitas subyek penelitian
2. Memberitahukan status penelitian apabila :
 - a. Setelah masa berlakunya keterangan lolos kaji etik, penelitian masih belum selesai, dalam hal ini *ethical clearance* harus diperpanjang
 - b. Penelitian berhenti di tangan jalan
3. Melaporkan kejadian serius yang tidak diinginkan (*serious adverse events*)
4. Peneliti tidak boleh melakukan tindakan apapun pada subyek sebelum penelitian lolos kaji etik dan *informed consent*

Lampiran 2 Perhitungan Rangkaian Konsentrasi Limbah Penyamakan Kulit Influen dan Efluen

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

- C_1 = konsentrasi stok (dalam %, misal 100%)
- V_1 = volume larutan stok yang dibutuhkan (mL)
- C_2 = konsentrasi yang diinginkan (mL)
- V_2 = volume akhir larutan (mL) → 50 mL (labu ukur)

Influen

- a. Konsentrasi 3,1%

$$100 \times v_1 = 3,125 \times 50 = \frac{156,25}{100} = 1,56 \text{ ml}$$

$$\text{Pelarut} = 50 - 1,56 = 48,44 \text{ ml}$$

- b. Konsentrasi 1,6%

$$100 \times v_1 = 1,5625 \times 50 = \frac{78,125}{100} = 0,78 \text{ ml}$$

$$\text{Pelarut} = 50 - 0,78 = 49,22 \text{ ml}$$

- c. Konsentrasi 0,8%

$$100 \times v_1 = 0,78 \times 50 = \frac{39}{100} = 0,39 \text{ ml}$$

$$\text{Pelarut} = 50 - 0,39 = 49,61 \text{ ml}$$

- d. Konsentrasi 0,4%

$$100 \times v_1 = 0,39 \times 50 = \frac{19,5}{100} = 0,195 \text{ ml}$$

$$\text{Pelarut} = 50 - 0,195 = 49,805 \text{ ml}$$

- e. Konsentrasi 0,2%

$$100 \times v_1 = 0,2 \times 50 = \frac{10}{100} = 0,1 \text{ ml}$$

$$\text{Pelarut} = 50 - 0,1 = 49,9 \text{ ml}$$

Efluen

- a) Konsentrasi 50%

$$100 \times v_1 = 50 \times 50 = \frac{2500}{100} = 25 \text{ ml}$$

$$\text{Pelarut} = 50 - 25 = 25 \text{ ml}$$

- b) Konsentrasi 25%

$$100 \times v_1 = 25 \times 50 = \frac{1250}{100} = 12,5 \text{ ml}$$

$$\text{Pelarut} = 50 - 12,5 = 37,5 \text{ ml}$$

- c) Konsentrasi 12,5%

$$100 \times v_1 = 12,5 \times 50 = \frac{625}{100} = 6,25 \text{ ml}$$

$$\text{Pelarut} = 50 - 6,25 = 43,75 \text{ ml}$$

- d) Konsentrasi 6,25%

$$100 \times v_1 = 6,25 \times 50 = \frac{312,5}{100} = 3,13 \text{ ml}$$

$$\text{Pelarut} = 50 - 3,13 = 46,87 \text{ ml}$$

- e) Konsentrasi 3,1%

$$100 \times v_1 = 3,125 \times 50 = \frac{156,25}{100} = 1,56 \text{ ml}$$

$$\text{Pelarut} = 50 - 1,56 = 48,44 \text{ ml}$$

Lampiran 3 Hasil Pengamatan Kelompok Uji Embrio Ikan Zebra

Influen

a. Konsentrasi 3,1%

INFLUEN																									
Konsentrasi	NO	PARAMETER PENGUJIAN																							
3,1%		KOAGULASI				PEMBENTUKAN SOMIT				PELEPASAN TAILBUD DARI YOLK				DETAK JANTUNG				KELAINAN				KEMATIAN			
		Jam Ke-				Jam Ke-				Jam Ke-				Jam Ke-				Jam Ke-				Jam Ke-			
		24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96
a1					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
a2	+	+	+	+																	+	+	+	+	
a3	+	+	+	+																	+	+	+	+	
a4	+	+	+	+																	+	+	+	+	
b1					+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
b2					+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
b3	+	+	+	+																	+	+	+	+	
b4	+	+	+	+																	+	+	+	+	
c1	+	+	+	+																	+	+	+	+	
c2	+	+	+	+																	+	+	+	+	
c3	+	+	+	+																	+	+	+	+	
c4	+	+	+	+																	+	+	+	+	
d1	+	+	+	+																	+	+	+	+	
d2	+	+	+	+																	+	+	+	+	
d3	+	+	+	+																	+	+	+	+	
d4					+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
e1	+	+	+	+																	+	+	+	+	
e2					+				+													+	+	+	
e3	+	+	+	+																	+	+	+	+	
e4					+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
f1					+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
f2					+	+	+	+	+	+	+	+	+			+	+								
f3	+	+	+	+																	+	+	+	+	
f4					+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								

b. Konsentrasi 1,6%

INFLUEN																											
Konsentrasi	N O	PARAMETER PENGUJIAN																									
1,6%		KOAGULASI				PEMBENTUKAN SOMIT				PELEPASAN TAILBUD DARI YOLK				DETAK JANTUNG				KELAINAN				KEMATIAN					
		Jam Ke-				Jam Ke-				Jam Ke-				Jam Ke-				Jam Ke-				Jam Ke-					
		24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96		
	a 1	+	+	+	+																		+	+	+	+	
	a 2	+	+	+	+																			+	+	+	+
	a 3					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+									
	a 4					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+									
	b 1					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+									
	b 2	+	+	+	+																			+	+	+	+
	b 3					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+									
	b 4	+	+	+	+																			+	+	+	+
	c 1					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+									
	c 2	+	+	+	+																			+	+	+	+
	c 3	+	+	+	+																			+	+	+	+
	c 4	+	+	+	+																			+	+	+	+
	d 1					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+									
	d 2	+	+	+	+																			+	+	+	+
	d 3	+	+	+	+																			+	+	+	+
	d 4	+	+	+	+																			+	+	+	+
	e 1	+	+	+	+																			+	+	+	+
	e 2	+	+	+	+																			+	+	+	+
	e 3	+	+	+	+																			+	+	+	+
	e 4	+	+	+	+																			+	+	+	+
	f 1					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+									
	f 2					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+									
	f 3					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+									
	f 4					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+									

c. Konsentrasi 0,8%

INFLUEN																									
Konsentrasi	N O	PARAMETER PENGUJIAN																							
0,8%		KOAGULASI				PEMBENTUKAN SOMIT				PELEPASAN TAILBUD DARI YOLK				DETAK JANTUNG				KELAINAN				KEMATIAN			
		Jam Ke-				Jam Ke-				Jam Ke-				Jam Ke-				Jam Ke-				Jam Ke-			
		24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96
	a 1	+	+	+	+																	+	+	+	+
	a 2					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	a 3					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	a 4					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	b 1					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	b 2					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	b 3	+	+	+	+																	+	+	+	+
	b 4					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	c 1	+	+	+	+																	+	+	+	+
	c 2					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	c 3					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	c 4	+	+	+	+																	+	+	+	+
	d 1					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	d 2	+	+	+	+																	+	+	+	+
	d 3	+	+	+	+																	+	+	+	+
	d 4					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	e 1					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	e 2					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	e 3	+	+	+	+																	+	+	+	+
	e 4	+	+	+	+																	+	+	+	+
	f 1					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	f 2					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	f 3					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	f 4					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								

d. Konsentrasi 0,4%

INFLUEN																									
Konsentra si	N O	PARAMETER PENGUJIAN																							
0,4%		KOAGULAS I				PEMBENTU KAN SOMIT				PELEPASA N TAILBUD DARI YOLK				DETAK JANTUNG				KELAINAN				KEMATIAN			
		Jam Ke-				Jam Ke-				Jam Ke-				Jam Ke-				Jam Ke-				Jam Ke-			
		2 4	4 8	7 2	9 6	2 4	4 8	7 2	9 6	2 4	4 8	7 2	9 6	2 4	4 8	7 2	9 6	2 4	4 8	7 2	9 6	2 4	4 8	7 2	9 6
	a 1					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	a 2					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	a 3					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	a 4	+	+	+	+																	+	+	+	+
	b 1					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	b 2	+	+	+	+																	+	+	+	+
	b 3					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	b 4					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	c 1					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	c 2	+	+	+	+																	+	+	+	+
	c 3					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	c 4					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	d 1	+	+	+	+																	+	+	+	+
	d 2	+	+	+	+																	+	+	+	+
	d 3					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	d 4					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	e 1					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	e 2					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	e 3					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	e 4					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	f 1					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	f 2					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	f 3					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	f 4					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								

e. Konsentrasi 0,2%

INFLUEN																									
Konsentrasi	N O	PARAMETER PENGUJIAN																							
0,2%		KOAGULASI				PEMBENTUKAN SOMIT				PELEPASAN TAILBUD DARI YOLK				DETAK JANTUNG				KELAINAN				KEMATIAN			
		Jam Ke-				Jam Ke-				Jam Ke-				Jam Ke-				Jam Ke-				Jam Ke-			
		24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96
	a 1					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	a 2					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	a 3					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	a 4					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	b 1					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	b 2					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	b 3					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	b 4					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	c 1					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	c 2					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	c 3					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	c 4					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	d 1					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	d 2	+	+	+	+																	+	+	+	+
	d 3					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	d 4					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	e 1					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	e 2					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	e 3					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	e 4					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	f 1					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	f 2					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	f 3	+	+	+	+																	+	+	+	+
	f 4					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								

Efluen

a. Konsentrasi 50%

EFLUEN

Konsentra si		PARAMETER PENGUJIAN																							
50%	N O	KOAGULAS I				PEMBENTU KAN SOMIT				PELEPASA N TAILBUD DARI YOLK				DETAK JANTUNG				KELAINAN				KEMATIAN			
		Jam Ke-				Jam Ke-				Jam Ke-				Jam Ke-				Jam Ke-				Jam Ke-			
		2 4	4 8	7 2	9 6	2 4	4 8	7 2	9 6	2 4	4 8	7 2	9 6	2 4	4 8	7 2	9 6	2 4	4 8	7 2	9 6	2 4	4 8	7 2	9 6
		a 1	+	+	+	+																	+	+	+
a 2					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
a 3					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
a 4	+	+	+	+																		+	+	+	+
b 1					+				+														+	+	+
b 2					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
b 3					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
b 4					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
c 1					+				+													+	+	+	
c 2					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
c 3					+																	+	+	+	
c 4					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
d 1					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
d 2					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
d 3					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
d 4					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
e 1					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
e 2					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
e 3					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
e 4					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
f 1					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
f 2					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
f 3					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
f 4					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									

b. Konsentrasi 25%

EFLUEN

Konsentrasi	N O	PARAMETER PENGUJIAN																								
		KOAGULASI				PEMBENTUKAN SOMIT				PELEPASAN TAILBUD DARI YOLK				DETAK JANTUNG				KELAINAN				KEMATIAN				
		Jam Ke-				Jam Ke-				Jam Ke-				Jam Ke-				Jam Ke-				Jam Ke-				
		2 4	4 8	7 2	9 6	2 4	4 8	7 2	9 6	2 4	4 8	7 2	9 6	2 4	4 8	7 2	9 6	2 4	4 8	7 2	9 6	2 4	4 8	7 2	9 6	
25%	a 1					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
	a 2					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
	a 3	+	+	+	+																	+	+	+	+	
	a 4					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
	b 1					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
	b 2					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
	b 3					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
	b 4	+	+	+	+																	+	+	+	+	
	c 1					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
	c 2					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
	c 3					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
	c 4					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
	d 1					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
	d 2					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
	d 3					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
	d 4					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
	e 1					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
	e 2					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
	e 3					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
	e 4					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
	f 1					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
	f 2	+	+	+	+																		+	+	+	+
	f 3					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
	f 4					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									

c. Konsentrasi 12,5%

EFLUEN

Konsentrasi	N O	PARAMETER PENGUJIAN																							
		KOAGULASI				PEMBENTUKAN SOMIT				PELEPASAN TAILBUD DARI YOLK				DETAK JANTUNG				KELAINAN				KEMATIAN			
		Jam Ke-				Jam Ke-				Jam Ke-				Jam Ke-				Jam Ke-				Jam Ke-			
		2 4	4 8	7 2	9 6	2 4	4 8	7 2	9 6	2 4	4 8	7 2	9 6	2 4	4 8	7 2	9 6	2 4	4 8	7 2	9 6	2 4	4 8	7 2	9 6
12,50 %	a 1					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	a 2					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	a 3					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	a 4					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	b 1					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	b 2					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	b 3					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	b 4					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	c 1	+	+	+	+																	+	+	+	+
	c 2					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	c 3					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	c 4					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	d 1					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	d 2	+	+	+	+																	+	+	+	+
	d 3	+	+	+	+																	+	+	+	+
	d 4					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	e 1					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	e 2					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	e 3					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	e 4	+	+	+	+																	+	+	+	+
	f 1					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	f 2					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	f 3					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	f 4	+	+	+	+																	+	+	+	+

d. Konsentrasi 6,25%

EFLUEN																									
Konsentrasi	N O	PARAMETER PENGUJIAN																							
6,25 %		KOAGULASI				PEMBENTUKAN SOMIT				PELEPASAN TAILBUD DARI YOLK				DETAK JANTUNG				KELAINAN				KEMATIAN			
		Jam Ke-				Jam Ke-				Jam Ke-				Jam Ke-				Jam Ke-				Jam Ke-			
		24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96
a1					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
a2	+	+	+	+																	+	+	+	+	
a3					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
a4	+	+	+	+																	+	+	+	+	
b1					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
b2					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
b3					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
b4	+	+	+	+																	+	+	+	+	
c1					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
c2					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
c3					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
c4					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+			+	+					
d1					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
d2					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
d3					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
d4					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
e1					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
e2					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
e3					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
e4					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
f1	+	+	+	+																	+	+	+	+	
f2	+	+	+	+																	+	+	+	+	
f3					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+									
f4					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+				+					

e. Konsentrasi 3,1%

EFLUEN

Konsentrasi	N O	PARAMETER PENGUJIAN																							
		KOAGULASI				PEMBENTUKAN SOMIT				PELEPASAN TAILBUD DARI YOLK				DETAK JANTUNG				KELAINAN				KEMATIAN			
		Jam Ke-				Jam Ke-				Jam Ke-				Jam Ke-				Jam Ke-				Jam Ke-			
		2 4	4 8	7 2	9 6	2 4	4 8	7 2	9 6	2 4	4 8	7 2	9 6	2 4	4 8	7 2	9 6	2 4	4 8	7 2	9 6	2 4	4 8	7 2	9 6
3,1%	a 1					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	a 2					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	a 3					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	a 4					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	b 1					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	b 2					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	b 3					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	b 4					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	c 1					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	c 2					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	c 3					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	c 4					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	d 1					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	d 2	+	+	+	+																	+	+	+	+
	d 3					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	d 4					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	e 1					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	e 2					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	e 3	+	+	+	+																	+	+	+	+
	e 4					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	f 1					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	f 2					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								
	f 3	+	+	+	+																	+	+	+	+
	f 4					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+								

Lampiran 4 Perhitungan Lc50 Limbah Penyamakan Kulit

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	—	2.07	2.95	3.12	3.25	3.30	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
—	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.46	7.51	7.58	7.65	7.75	7.88	8.09

Gambar Konversi Persentasi ke probit

- Tabel Nilai Lc50 Yang Di Hitung Untuk Influen

Influen			
Konsentrasi (%)	Log (%)	Probit	% Dead
100	2,00	7,13	100%
50	1,70	7,13	100%
25	1,40	7,13	100%
12,5	1,10	7,13	100%
6,25	0,80	7,13	100%
3,1	0,49	5,67	75%
1,6	0,20	5,52	70%
0,8	-0,10	4,75	40%
0,4	-0,40	4,33	25%
0,2	-0,70	3,36	5%

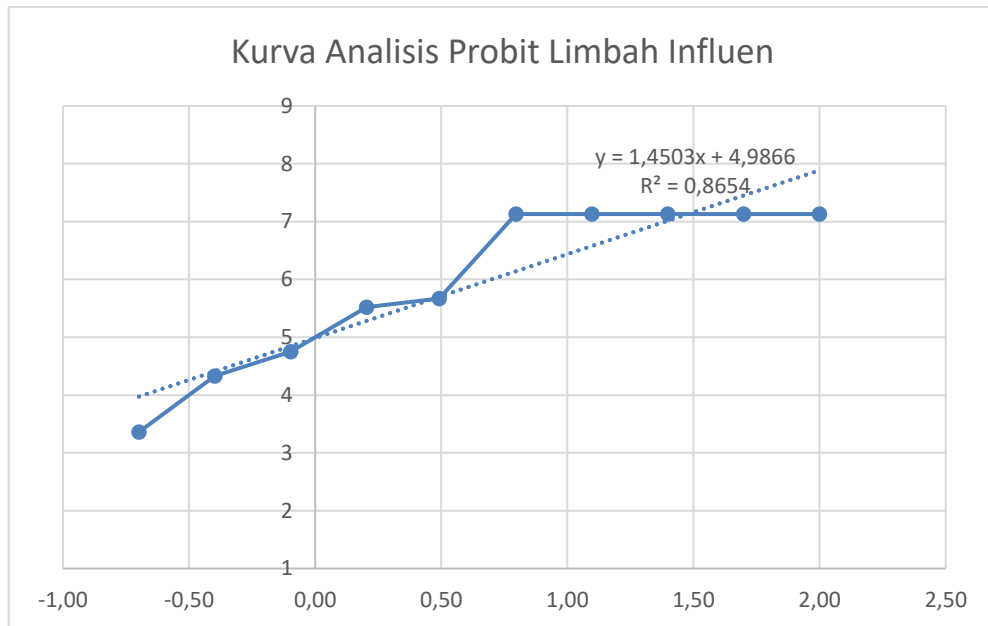
Intercept	4,987	b
Log (%)	1,450	a

persamaan $y = ax + b$
 $5 = 1,450x + 4,986$
 $x = 0,711854$

Lc50 = antilog x
 Lc50 = antilog x = **5,150549** %

Tua $19,41541$

- Grafik Nilai Lc50 Yang Dihitung Untuk Influen



- Tabel Nilai Lc50 Yang Dihitung Untuk Efluen

Efluen			
Konsentrasi (%)	Log (%)	Probit	% Dead
100	2,00	7,13	100%
50	1,70	4,33	25%
25	1,40	3,72	10%
12,5	1,10	4,16	20%
6,25	0,80	3,96	15%
3,1	0,49	3,72	10%

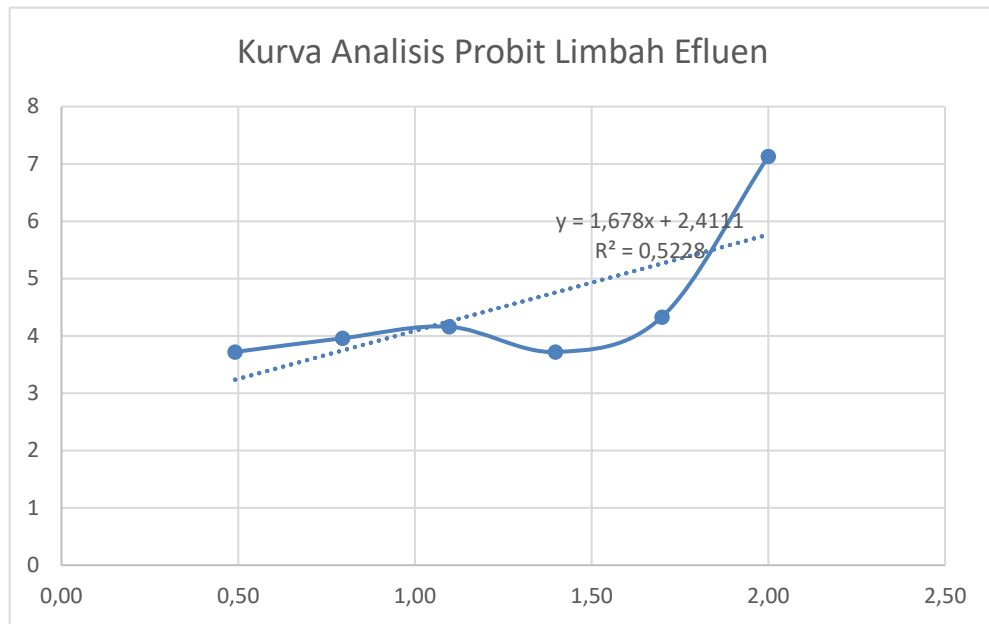
Intercept	2,411	b
Log (%)	1,678	a

persamaan $y = ax + b$
 $5 = 1,678x + 2,411$
 $x = 1,377778$

Lc50 = antilog x
 Lc50 = antilog x = **23,8659** %

Tua 4,190079

- Grafik Nilai Lc50 Yang Dihitung Untuk Efluen



Tabel Kategori Klasifikasi TU_a (Acute Toxic Unit)

TU_a	Kategori Toksisitas
< 3	Tidak toksik (<i>Non toxic</i>)
3 – 10	Sedikit toksik (<i>Slightly toxic</i>)
10-50	Toksik (<i>Toxic</i>)
> 50 – 100	Sangat toksik (<i>Very toxic</i>)
> 100	Sangat toksik (<i>Extremely toxic</i>)

Sumber : Khotimah et al, 2018

Lampiran 5 Dokumentasi Pengambilan Sampel dan Selama Proses Pengujian



RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama Febianda Rachmadhati, lahir di Batam, pada tanggal 19 Februari 2003. Penulis merupakan putri keempat dari Bapak Kamaruddin dan Ibu Nurmaningsih. Pendidikan dasar hingga menengah ditempuh di SDN 004 Batam, SMP Hangnadim Malay School Batam, dan SMA Muhammadiyah 2 Yogyakarta. Pada tahun 2021, penulis diterima sebagai mahasiswa Program Studi Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan, Universitas Islam Indonesia (UII), dan menyelesaikan studi pada tahun 2025. Selama menempuh pendidikan di UII, penulis aktif dalam berbagai kegiatan non-akademik yang menunjang pengembangan diri, khususnya dalam kepanitiaan di tingkat jurusan. Beberapa peran yang pernah dijalankan antara lain sebagai anggota Divisi Publikasi, Dokumentasi, dan Desain (PDD) dalam kegiatan olahraga jurusan, serta anggota Divisi Dekorasi dan Dokumentasi (Dekdok) dalam kegiatan Malam Keakraban Teknik Lingkungan.