TA/TL/2025/1996

JURUSAN
TEKNIK LINGKUNGAN

TUGAS AKHIR

Toksisitas Limbah Cair Industri Batik Kota Yogyakarta menggunakan Metode *Fish Embryo Toxicity* (FET)

Hana Fadiyah Dwi Ningrum
21513018

Dosen Pembimbing:
Any Juliani, S.T., M.Sc.(Res.Eng.), Ph.D.
Dr. Apt. Farida Hayati, S.Si., M.Si.

Program Studi Teknik Lingkungan Program Sarjana
Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan
Universitas Islam Indonesia
2025

DEPARTMENT
ENVIRONMENTAL ENGINEERING

BACHELOR THESIS

Toxicity of Liquid Waste from the Batik Industry in Yogyakarta City Using the *Fish Embryo Toxicity* (FET)

Hana Fadiyah Dwi Ningrum
21513018

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

Toksisitas Limbah Cair Industri Batik Kota Yogyakarta 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.

Hana Fadiyah Dwi Ningrum
20513018

Tugas akhir ini telah diuji pada tanggal 15 Juli 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)

22/7 25

Dr. Suptia Rahmawati, S.T., M.T. (Penguji)

Mengetahui,
Ketua Prodi Teknik Lingkungan Program Sarjana

FAKULTAS TEKNIK SIPIL DAN PERENCANAAN

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, 15 Juli 2025

Yang membuat pernyataan,



Hana Fadiyah Dwi Ningrum

21513018

PRAKATA

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Puji Syukur atas kehadirat Allah SWT, yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul "Toksisitas Limbah Cair Industri Batik Kota Yogyakarta menggunakan Metode *Fish Embryo Toxicity* (FET)" dengan baik.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini tidak mungkin terselesaikan tanpa adanya dukungan, bantuan, dan bimbingan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Orang tua penulis, Bapak Suwarno dan Ibu Mirna Liza yang selalu mendukung dan percaya pada penulis dan memberikan do'a dan kasih sayang yang sangat luar biasa dalam setiap langkah hidup penulis.
2. Ibu Any Juliani, S.T., M.Sc.(Res.Eng.), Ph.D. dan ibu Dr. Apt. Farida Hayati, S.Si., M.Si, selaku dosen pembimbing skripsi yang telah memberikan arahan dan saran sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik.
3. Ibu Dr. Suphia Rahmawati, S.T., M.T., selaku dosen penguji yang telah memberikan arahan dan saran sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik.
4. Saudara penulis, Muhammad Dafa Maulana, Ulfa Dwi Okta, dan Iffah Innayah yang selalu memberikan semangat dan mengingatkan untuk mengerjakan skripsi ini.
5. Sahabat penulis, Annisa Nurrahma, yang telah menjadi teman penulis dari awal perkuliahan hingga akhir, mendengarkan banyak keluhan, membantu banyak dalam progres tugas besar, dan membuat penulis tetap semangat untuk menyelesaikan perkuliahan bersama.
6. Rekan penelitian penulis, Kanza, Intan, Tika, Pebi, dan, Tata yang telah banyak membantu penulis dalam segala proses dalam

mengerjakan Tahun Akhir dan sering bersama mulai dari masa proposal hingga skripsi ini selesai.

7. Teman penulis, Isti, Dyah, Rizal, Sahrul, Aden, Lulu, Afi, Lia, Ica, Ayong, Fira, Amel, Rifqi, dan Kintan yang telah banyak membantu selama masa perkuliahan.
8. Teman sekolah penulis, Astria, Raihan, Jihan, dan Ade yang selalu mendengarkan keluh kesah penulis selama perkuliahan, dan memberikan banyak tips dalam mengerjakan skripsi.
9. Teman-teman Teknik Lingkungan Angkatan 2021 yang telah membantu penulis selama masa perkuliahan.
10. Seluruh dosen pengajar Program Studi Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan, Universitas Islam Indonesia, yang telah memberikan ilmu pengetahuan selama penulis menempuh pendidikan.
11. Seluruh pihak yang tidak bisa disebutkan satu-persatu, yang telah memberikan dukungan kepada penulis.
12. Terakhir, untuk diri sendiri, terima kasih karena sudah berjuang dan tidak berhenti di tengah-tengah masa perkuliahan.

Penulis menyadari bahwa tugas akhir ini masih banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan masukan, kritik, maupun saran yang membangun dalam perbaikan dan kelayakan laporan tugas akhir ini. semoga laporan tugas akhir ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Wassalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Yogyakarta, 15 Juli 2025



Hana Fadiyah Dwi Ningrum

Toksisitas Limbah Cair Industri Batik Kota Yogyakarta menggunakan Metode *Fish Embryo Toxicity* (FET)

Mahasiswa	: Hana Fadiyah Dwi Ningrum
NIM	: 21513018
Program Studi	: Teknik Lingkungan - Program Sarjana
Pembimbing	: Any Juliani, S.T., M.Sc.(Res.Eng.), Ph.D.
	Dr. Apt. Farida Hayati, S.Si., M.Si.

Abstrak

Industri batik memberikan kontribusi penting bagi perekonomian dan pelestarian budaya Indonesia. namun aktivitas produksinya menghasilkan limbah cair yang berpotensi mencemari lingkungan, terutama pada proses pelorodan dan pewarnaan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan nilai toksisitas air limbah proses pelorodan dan pewarnaan menggunakan metode *Fish Embryo Toxicity* (FET), menganalisis karakteristik fisik dan kimia limbah, dan menganalisis hubungan uji toksisitas dengan parameter kimia. *Zebra Fish* (*Danio rerio*) digunakan sebagai hewan uji dengan perlakuan dimulai dari proses aklimatisasi, pemijahan, uji pendahuluan, dan uji toksisitas selama 96 jam. Nilai LC_{50} didapatkan dengan menggunakan metode *Spearman-Karber*. Nilai LC_{50} pada limbah pelorodan yaitu sebesar 3,79 dengan TUa sebesar 26,38, sedangkan pada limbah pewarnaan menghasilkan nilai LC_{50} sebesar 23,73 dengan TUa sebesar 4,21. Hasil analisis karakteristik fisik dan kimia limbah nglorod menunjukkan bahwa kadar BOD5, COD, TSS, fenol, sulfida, dan minyak dan lemak melewati baku mutu menurut Peraturan Daerah Istimewa Yogyakarta Nomor 7 Tahun 2016 Tentang Baku Mutu Air Limbah. Sedangkan pada sampel air limbah pewarnaan, hasil pengujian menunjukkan bahwa kadar BOD5, TSS, sulfida, dan pH tidak memenuhi baku mutu yang ditetapkan. Parameter fisik dan kimia memiliki hubungan dengan hasil uji toksisitas, dimana parameter seperti BOD, COD, TSS, fenol, sulfida, pH, dan kromium berkontribusi terhadap respon biologis embrio ikan zebra (*Danio rerio*) melalui kematian, kelainan, dan gangguan perkembangan embrio.

Kata kunci: Embrio Ikan Zebra (*Danio rerio*), *Fish Embryo Toxicity* (FET), Industri Batik, *Lethal Concentration* (LC_{50}), Uji Toksisitas.

Toxicity of Liquid Waste from the Batik Industry in Yogyakarta City Using the Fish Embryo Toxicity (FET)

Student	: Hana Fadiyah Dwi Ningrum
Student Number	: 21513018
Study Program	: Environmental Engineering – Bachelor Program
Supervisor	: Any Juliani, S.T., M.Sc.(Res.Eng.), Ph.D.
	Dr. Apt. Farida Hayati, S.Si., M.Si.

Abstract

The batik industry makes an important contribution to Indonesia's economy and cultural preservation. However, its production activities generate liquid waste that has the potential to pollute the environment, especially during the bleaching and dyeing processes. This study aims to determine the toxicity value of wastewater from the bleaching and dyeing processes using the Fish Embryo Toxicity (FET) method, analyze the physical and chemical characteristics of the waste, and analyze the relationship between toxicity tests and chemical parameters. Zebra fish (Danio rerio) were used as test animals, with treatments starting from the acclimatization process, spawning, preliminary tests, and 96-hour toxicity tests. The LC_{50} value was obtained using the Spearman-Karber method. The LC_{50} value for the dyeing wastewater was 3.79 mg/L with a TUa of 26.38, while the dyeing wastewater produced an LC_{50} value of 23.73 mg/L with a TUa of 4.21. The results of the physical and chemical analysis of the bleaching (nglorod) waste showed that the levels of BOD_5, COD, TSS, phenol, sulfide, and oil and grease exceeded the quality standards based on Yogyakarta Special Region Regulation Number 7 of 2016 concerning Wastewater Quality Standards. Meanwhile, the dyeing wastewater sample, the test results showed that the levels of BOD_5, TSS, sulfide, and pH did not meet the established quality standards. Physical and chemical parameters are related to toxicity test results, where parameters such as BOD, COD, TSS, phenol, sulfide, pH, and chromium contribute to the biological response of zebrafish embryos (Danio rerio) through death, abnormalities, and developmental disorders.

Key words: Batik Industry, Fish Embryo Toxicity (FET), Lethal Concentration (LC_{50}), Toxicity Test, Zebra Fish Embryo (Danio rerio)

DAFTAR ISI

PRAKATA i
Abstrak iii
DAFTAR ISI v
DAFTAR TABEL vii
DAFTAR GAMBAR viii
DAFTAR LAMPIRAN i
BAB I PENDAHULUAN 1
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Perumusan Masalah 3
1.3 Tujuan Penelitian 3
1.4 Manfaat Penelitian 3
1.5 Ruang Lingkup 4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA 5
2.1 Limbah Industri Batik 5
2.2 Uji Toksisitas 8
2.3 Fish Embryo Toxicity (FET) 9
2.4 Penelitian Terdahulu 10
BAB III METODE PENELITIAN 13
3.1 Diagram Alir Penelitian 13
3.2 Waktu dan Lokasi 14
3.3 Alat dan Bahan 14
3.3.1 Alat 14
3.3.2 Bahan 15
3.4 Pengambilan Data 16
3.4.1 Sampling 16
3.4.2 Persiapan Pra Uji Toksisitas 16
3.4.3 Pelaksanaan Uji Toksisitas 18
3.4.4 Analisis Parameter Fisik & Kimia Limbah 22

3.4.5 Analisis Data Uji Toksisitas 23
3.4.6 Keterkaitan Uji Toksisitas dan Uji Kimia 25
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 26
4.1 Etika Penelitian 26
4.2 Sumber Limbah 26
4.3 Karakteristik Air Limbah 28
4.4 Uji Validitas 32
4.5 Uji Pendahuluan 34
4.6 Uji Toksisitas 37
4.6.1 Kematian Embrio 37
4.6.2 Pembentukan dan Perkembangan Parameter Pengamatan 40
4.6.3 Kelainan 49
4.7 Perhitungan Toksisitas 53
4.7.1 LC_{50} 53
4.7.2 Toxic Unit Acute (TUa) 53
4.8 Keterkaitan Parameter Fisik dan Kimia Limbah dengan Uji Toksisitas 54
BAB V PENUTUP 56
5.1 Kesimpulan 56
5.2 Saran 56
DAFTAR PUSTAKA 58
LAMPIRAN I ETHICAL CLEARANCE 62
LAMPIRAN II UJI FISH EMBRYO TOXICITY (FET) 63
LAMPIRAN III DOKUMENTASI 77
RIWAYAT HIDUP 79

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Baku Mutu Air Limbah Industri Batik 8
Tabel 2. 2 Penelitian Terdahulu 10
Tabel 3. 1 Tabel Pengamatan 21
Tabel 3. 2 Metode Analisis Parameter Fisik & Kimia Limbah 23
Tabel 3. 3 Klasifikasi Toksisitas Akut 25
Tabel 4. 1 Rangkuman Kegiatan Uji Toksisitas Limbah 28
Tabel 4. 2 Hasil Uji Parameter Kimia Air Limbah Pelorodan dan Pewarnaan Industri Batik 29
Tabel 4. 3 Hasil Nilai Perhitungan LC50 53
Tabel 4. 4 Hasil Nilai Perhitungan TUa 53

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Proses Pembuatan Batik 6
Gambar 3. 1 Diagram Alir Penelitian 13
Gambar 3. 2 Aklimatisasi Ikan Zebra 17
Gambar 3. 3 Proses Pemijahan (*Breeding*) Ikan Zebra 18
Gambar 3. 4 Embrio Hasil Pemijahan (Breeeding) Ikan Zebra 18
Gambar 3. 5 Well Plate 19
Gambar 3. 6 Skema Prosedur Uji Toksisitas Limbah 19
Gambar 3. 7 Koagulasi Embrio 21
Gambar 3. 8 Pelepasan Tailbud 21
Gambar 3. 9 Pembentukan Somit 21
Gambar 3. 10 Pembentukan Somit 21
Gambar 3. 11 Kelainan Skoliosis 21
Gambar 3. 12 Detak Jantung 21
Gambar 4. 1 Uji Validasi pada Kontrol Negatif dan Kontrol Positif 32
Gambar 4. 2 Tidak Terbentuknya Somit pada Kontrol Positif 34
Gambar 4. 3 Kelainan Struktur Tulang Belakang (Skoliosis) pada Kontrol Positif jam ke-96 34
Gambar 4. 4 Edema pada Kontrol Positif Jam Ke-48 34
Gambar 4. 5 (a) Mortalitas Embrio pada Uji pendahuluan Limbah Nglorod (b) Mortalitas Embrio pada Uji Pendahuluan Limbah Pewarnaan 35
Gambar 4. 6 Koagulasi Embrio pada Pengamatan Jam Ke-24 36
Gambar 4. 7 (a) Mortalitas Embrio pada Uji Toksisitas Limbah Nglorod (b) Mortalitas Embrio pada Uji Toksisitas Limbah Pewarnaan 38
Gambar 4. 8 Koagulasi pada Uji Toksisitas Limbah Nglorod 39
Gambar 4. 9 (a) Pembentukan Somit pada Uji Toksisitas Limbah Nglorod (b) Pembentukan Somit pada Uji Toksisitas Limbah Pewarnaan 40
Gambar 4. 10 Kondisi Embrio Umur 1,5 Jam 41
Gambar 4. 11 Somit pada Embrio Ikan Zebra jam Ke-24 41
Gambar 4. 12 Pembentukan Somit pada Jam Ke-24 42
Gambar 4. 13 Kematian Embrio pada Jam Ke-72 42
Gambar 4. 14 (a) Pelepasan *Tail-Bud* dari *Yolk* pada Uji Toksisitas Limbah Nglorod (b) Pelepasan *Tail-Bud* dari *Yolk* pada Uji Toksisitas Limbah Pewarnaan 43
Gambar 4. 15 Pelepasan Tail-Bud pada Pengamatan Jam Ke-24 44
Gambar 4. 16 Pelepasan Tail-Bud pada Jam Ke-24 44
Gambar 4. 17 Kematian Embrio pada Jam Ke-72 44
Gambar 4. 18 (a) Detak Jantung Terlihat pada Uji Toksisitas Limbah Nglorod (b) Detak Jantung Terlihat pada Uji Toksisitas Limbah Pewarnaan 45

Gambar 4. 19 (a) Hatching Embrio pada Uji Toksisitas Limbah Nglorod (b) Hatching Embrio pada Uji Toksisitas Limbah Pewarnaan 47
Gambar 4. 20 Keterlambatan Hatching pada Embrio Pengamatan Jam Ke-96 48
Gambar 4. 21 Kelainan pada Proses Hatching Pengamatan Jam Ke-96..... 49
Gambar 4. 22 (a) Kelainan Embrio pada Uji Toksisitas Limbah Nglorod (b) Kelainan Embrio pada Uji Toksisitas Limbah Pewarnaan 50
Gambar 4. 23 Skoliosis 51
Gambar 4. 24 Edema Perikardium 51
Gambar 4. 25 Edema Yolk pada Uji Toksisitas Limbah Nglorod 51

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran I. 1 Ethical Clearance 62
Lampiran II. 1 Data Jumlah Kematian Embrio pada Uji Validitas..... 63
Lampiran II. 2 Data Jumlah Perkembangan Embrio pada Uji Validitas 63
Lampiran II. 3 Data Jumlah Kematian Embrio pada Limbah Nglorod 63
Lampiran II. 4 Data Jumlah Perkembangan Embrio pada Limbah Nglorod 64
Lampiran II. 5 Data Jumlah Kelainan Embrio pada Limbah Nglorod 65
Lampiran II. 7 Data Jumlah Kematian Embrio pada Limbah Pewarnaan 66
Lampiran II. 8 Data Jumlah Perkembangan Embrio pada Limbah Pewarnaan 67
Lampiran II. 9 Data Jumlah Kelainan Embrio pada Limbah Pewarnaan 68
Lampiran II. 10 Perhitungan LC50 Limbah Nglorod 69
Lampiran II. 11 Grafik Spearman Karber LC50 Limbah Nglorod 71
Lampiran II. 12 LC50 Limbah Nglorod 72
Lampiran II. 13 Perhitungan LC50 Limbah Pewarnaan 73
Lampiran II. 14 Grafik Spearman Karber LC50 Limbah Pewarnaan 75
Lampiran II. 15 LC50 Limbah Pewarnaan 76
Lampiran II. 16 Dokumentasi Kegiatan Sampling 77
Lampiran II. 17 Dokumentasi Kegiatan Laboratorium..... 78

BAB I
PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Industri batik merupakan salah satu sektor yang memberikan kontribusi signifikan terhadap ekonomi di Indonesia, baik dalam skala nasional maupun lokal. Produksi batik tidak hanya menjadi sumber penghidupan masyarakat lokal tetapi juga dapat memperkuat citra budaya Indonesia di mata dunia. Batik yang sebelumnya hanya dikenal sebagai produk seni budaya, kini berkembang menjadi komoditas industri yang dihasilkan dalam berbagai skala, dari skala kecil hingga skala yang besar. Namun, dibalik pertumbuhan industri batik, terdapat permasalahan lingkungan yang signifikan, khususnya terkait limbah cair yang dihasilkan selama proses produksi yang berpotensi mencemari lingkungan (Indrayani, 2018).

Proses produksi pada industri batik menghasilkan limbah cair, khususnya pada proses pewarnaan dan pelorodan yang menghasilkan limbah cair dalam jumlah besar. Limbah ini dapat mengandung zat berbahaya seperti bahan kimia organik, logam berat seperti kromium, dan zat pewarna sintetis yang bersifat toksik. Jika tidak diolah dengan baik, limbah cair ini dapat mencemari lingkungan, khususnya badan air di sekitar area pembuangan apabila melebihi ambang batas yang telah ditentukan (Juliardi et al., 2020). Pembuangan limbah cair ke lingkungan dapat merugikan kehidupan, terutama bagi biota perairan akibat adanya pencemaran oleh limbah. Upaya yang dapat dilakukan untuk mengetahui tingkat toksisitas limbah cair tersebut yaitu dengan melakukan pengujian secara biologi, dikarenakan kondisi percobaan dapat dilakukan pengawasan secara terkontrol, serta respon hewan yang diuji dapat digunakan sebagai monitoring berkala suatu limbah (Andriani & Hartini, 2017).

Metode *Fish Embryo Toxicity* (FET) merupakan metode dalam melakukan uji toksisitas akut dengan menggunakan embrio ikan sebagai hewan ujinya. Metode FET dilakukan dengan menggunakan embrio dari ikan zebra (*Danio rerio*) (OECD, 2013). Menurut OECD 236, metode ini melibatkan eksposur embrio ikan zebra terhadap zat yang diuji selama 96 jam, dengan pengamatan pada setiap 24

jam, hingga empat pengamatan apikal dicatat sebagai indikator kematian. Metode ini memiliki kelebihan dalam uji toksisitas, karena penggunaan embrio ikan zebra memiliki proses embriogenesis yang cepat sehingga waktu pengamatan yang diperlukan yaitu sekitar 96 jam, serta embrio ikan zebra memiliki struktur tubuh transparan yang mempermudah pengamatan perkembangan organ. Selain itu, penggunaan embrio ikan zebra dalam uji toksisitas membantu mengurangi jumlah penggunaan hewan dalam penelitian, seperti penggunaan tikus dan kelinci yang membutuhkan waktu penelitian cukup lama pada metode uji toksisitas teratogenik sesuai OECD 414 (Mulyani et al., 2020). Metode uji toksisitas menggunakan embrio ikan zebra telah distandarkan dalam panduan OECD 236, yang mencakup langkah-langkah untuk mengukur efek toksik pada tahap perkembangan embrio. Metode ini memanfaatkan karakteristik embrio ikan zebra yang sangat responsif terhadap paparan zat toksik (Wiendarlina et al., 2022).

Melalui penelitian ini, diharapkan dapat melakukan pengujian toksisitas menggunakan metode FET untuk mengetahui nilai LC_{50} dan tingkat toksisitas dari limbah industri batik untuk mengevaluasi dampak lingkungan dan kesehatan masyarakat dari limbah cair industri batik di Kota Yogyakarta. Pengukuran parameter fisik dan kimia pada limbah cair diperlukan untuk mengetahui apakah limbah yang dihasilkan dari proses industri batik telah memenuhi standar baku mutu sebelum dibuang ke lingkungan, sehingga dapat dipastikan bahwa limbah yang dihasilkan tidak akan menimbulkan masalah bagi kesehatan, baik kesehatan lingkungan maupun kesehatan masyarakat sekitar. Namun, pengukuran parameter fisik dan kimia yang dilakukan oleh industri batik untuk mengukur karakteristik limbah belum sepenuhnya mampu menggambarkan dampak nyata dari campuran seluruh zat kimia dalam limbah terhadap organisme hidup. Oleh karena itu, pengujian toksisitas menggunakan metode FET yang semakin berkembang di Indonesia dapat memberikan hasil yang lebih komprehensif, serta hasil dari penelitian tidak hanya bermanfaat bagi ilmu pengetahuan tetapi juga dapat membantu dalam memberikan gambaran mengenai bahayanya limbah cair industri batik terhadap lingkungan.

1.2 Perumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini, yaitu:

1. Bagaimana tingkat toksisitas limbah cair Industri Batik pada proses pelorodan dan pewarnaan terhadap embrio ikan zebra?
2. Bagaimana kualitas parameter fisik dan kimia limbah cair Industri Batik pada proses pelorodan dan pewarnaan?
3. Bagaimana hubungan antara hasil uji toksisitas limbah Industri Batik dengan parameter fisik dan kimia limbah?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian dalam penelitian ini, yaitu:

1. Menganalisis tingkat toksisitas air limbah Industri Batik Kota Yogyakarta pada proses pelorodan dan pewarnaan terhadap embrio ikan zebra.
2. Menganalisis kualitas parameter fisik dan kimia air limbah Industri Batik Kota Yogyakarta pada proses pelorodan dan pewarnaan.
3. Menganalisis hubungan antara hasil uji toksisitas limbah cair Industri Batik dengan parameter fisika dan kimia limbah.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang dapat diperoleh dari penelitian ini, yaitu:

1. Manfaat bagi Penulis

   Manfaat penelitian bagi penulis adalah untuk menerapkan ilmu pengetahuan yang didapatkan peneliti selama mempelajari mata kuliah toksikologi lingkungan, khususnya dalam bidang pengujian toksisitas pada limbah cair.
2. Manfaat bagi Industri Batik

   Manfaat penelitian bagi industri batik adalah untuk memberikan informasi mengenai toksisitas pada limbah cair industri dan kualitas air limbah pada IPAL industri batik, serta dapat menjadi dasar evaluasi dalam pengelolaan limbah cair untuk meminimalisir dampak toksik terhadap lingkungan dan makhluk hidup.

3. Manfaat bagi Pemerintah

   Manfaat penelitian bagi pemerintah adalah untuk memberikan tambahan informasi dan bahan pertimbangan dalam penentuan kebijakan lingkungan dan pengawasan kualitas limbah cair berdasarkan standar baku mutu.

1.5 Ruang Lingkup

Ruang lingkup dalam penelitian ini, yaitu:

1. Sampel yang digunakan dalam pengujian adalah *influent* limbah nglorod dan limbah pewarnaan Batik X di Kota Yogyakarta.
2. Metode pengambilan sampel yang digunakan yaitu metode *grab sampling*.
3. Uji toksisitas akut menggunakan metode *Fish Embryo Toxicity* (FET) dengan parameter yang diukur adalah nilai LC_{50}.
4. Uji toksisitas menggunakan embrio ikan zebra yang diperoleh dari proses breeding induk ikan zebra (*Danio rerio*) yang dilakukan di laboratorium.
5. Parameter kimia yang diukur yaitu BOD_5, COD, TDS, TSS, fenol, krom total, amonia, sulfida, minyak dan lemak, suhu, dan pH.

.

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

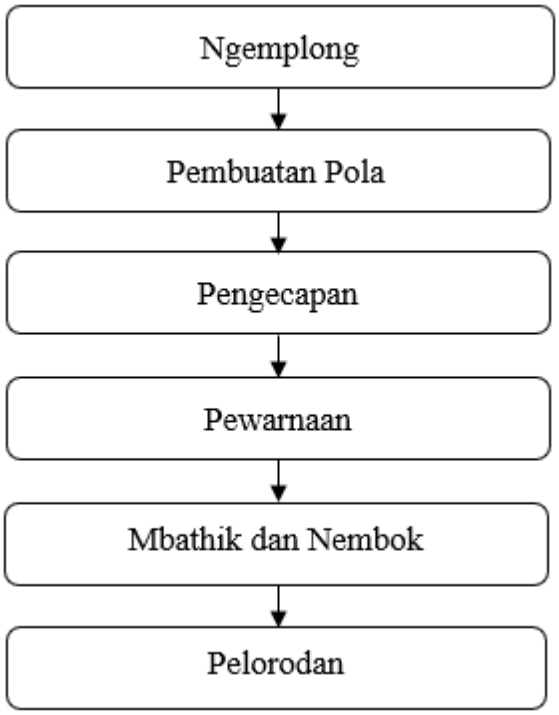
2.1 Limbah Industri Batik

Industri batik merupakan salah satu sektor ekonomi yang terus berkembang di Indonesia. Namun, industri ini menghasilkan limbah cair pada proses produksinya, yang dapat berdampak negatif terhadap lingkungan. Limbah cair ini mengandung senyawa berbahaya seperti logam berat, bahan organik terlarut, dan zat pewarna sintetik. Dalam proses produksi batik, digunakan beberapa bahan kimia, beserta air dengan jumlah yang tergolong tinggi. Pada proses pewarnaan atau pencelupan digunakan bahan kimia beserta air dalam jumlah yang besar. Hal ini dapat meningkatkan jumlah limbah cair di lingkungan. Limbah cair yang dibuang langsung ke badan air tanpa pengolahan berpotensi menurunkan kualitas lingkungan, mengganggu estetika perairan, serta mengancam kehidupan organisme akuatik. Masuknya bahan kimia berbahaya yang digunakan pada proses produksi batik dapat menyebabkan toksisitas akut atau kronis, serta mengakibatkan kerusakan pada organ dan jaringan biota air seperti ikan. Hal ini menunjukkan bahwa limbah cair yang masuk ke badan air dapat mempengaruhi kondisi badan air baik dari segi fisik, kimiawi, ataupun biologis (Andriani & Hartini, 2017).

Limbah cair industri batik merupakan limbah yang dihasilkan dari proses produksi batik, khususnya pada proses pewarnaan dan pembilasan. Proses pewarnaan batik melibatkan penggunaan pewarna tekstil, yang dapat mempengaruhi kualitas limbah cair apabila tidak diolah dan langsung dibuang ke badan air, sehingga dapat menyebabkan pencemaran lingkungan. Limbah dari industri batik umumnya terdiri dari residu kain mori, air sisa pewarnaan, sisa lilin, dan air pelorodan. Pada industri batik, jenis pewarna yang dapat digunakan yaitu pewarna alami ataupun pewarna sintetis. Pewarna alami pada proses pewarnaan batik merupakan pewarna yang berasal dari alam, seperti tanaman, hewan, maupun bahan metal. Pewarna sintetis yang dapat digunakan yaitu pewarna buatan dengan bahan dasar buatan seperti hidrokarbon, aromatik, dan naftalena. Namun, jenis pewarna yang sering digunakan yaitu pewarna sintetik, seperti

indigosol, naphtol, dan indanthrene. Hal ini dikarenakan pewarna sintetik mudah didapatkan dan memiliki aneka warna, penggunaannya mudah, dan biaya yang dikeluarkan relatif tidak tinggi. Selain limbah cair dari proses pewarnaan batik, proses seperti pelepasan lilin, pencucian dan perendaman kain, serta pembilasan yang menggunakan air dalam jumlah besar juga dapat menyebabkan adanya kandungan zat pewarna serta minyak pada air limbah. Proses yang menghasilkan limbah dengan kandungan zat pewarna dan minyak ini memerlukan pengelolaan yang tepat sebelum dilepaskan kelingkungan. Limbah cair yang dihasilkan dari proses seperti pengolahan dan pewarnaan kain berpotensi meningkatkan nilai *Chemical Oxygen Demand* (COD) dan warna pada air limbah. Sedangkan pada kegiatan pelorodan, limbah yang dihasilkan berpotensi meningkatkan *Biological Oxygen Demand* (BOD) (Apriyani, 2018).

Berikut merupakan alur proses pembuatan batik:



Gambar 2. 1 Proses Pembuatan Batik

Proses membatik dimulai dari proses ngemplong, yaitu proses pencucian kain mori atau proses pemurnian kain yang dilakukan dengan merebus atau merendam kain menggunakan air tawas/minyak kacang, dan dilakukan pembilasan berulang agar sisa bahan kimia pada kain dapat dihilangkan. Pemurnian kain ini dapat

membantu dalam proses pemberian malam, serta pada proses pewarnaan. Setelah proses ngemplong dilakukan, dilanjutkan dengan proses pembuatan pola, yaitu proses menggambar menggunakan pensil atau canting dengan mengikuti pola yang telah dibuat di atas kertas roti dengan teknik khusus atau pertimbangan pertemuan gambar pada kain. Proses selanjutnya yaitu pengecapan, yang merupakan proses penggunaan alat cap yang terbuat dari tembaga. Proses ini dilakukan dengan meletakkan kain mori diatas meja, kemudian memasukkan alat cap kedalam cairan malam/lilin yang dijaga dalam kondisi 60 sampai 70°C. Setelah itu, alat cap ditekan diatas kain mori hingga cairan lilin tembus pada kain sebaliknya.

Proses selanjutnya yaitu pewarnaan, dengan cara mencelupkan kain mori kedalam bak berisi pewarna. Proses pewarnaan dapat dilakukan dengan dengan dua metode pewarnaan, yaitu penggunaan napthol atau remasol. Pada proses pewarnaan, warna akan mengenai permukaan yang tidak terlapisi kain, sehingga kain yang terlapisi lilin akan menjadi putih/sesuai dengan warna kain. Proses selanjutnya yaitu mbathik dan nembok, dimana mbathik merupakan proses menorehkan malam ke kain mori, dimulai dari menggambar garis luar gambar atau nglowong dengan menggunakan canting klowong, yang kemudian dilanjutkan dengan ngiseni atau menggambar berbagai macam bentuk seperti goresan lebih kecil didalam garis luar pada pola yang sudah dibentuk pada proses nglowong menggunakan canting kecil. Proses nembok merupakan proses yang biasanya digunakan ketika menggunakan pewarna jenis napthol, dengan menutup sebagian motif pada kain menggunakan malam agar warna kedua muncul, dan tidak terkena warna berikutnya. Proses terakhir yaitu nglorod, yang merupakan proses perebusan kain untuk menghilangkan malam pada kain. Proses ini dapat dilakukan dengan menggunakan campuran air dengan soda abu atau tepung pati untuk menghilangkan malam dan dibilas hingga bersih, sehingga corak batik dapat terlihat. Setelah proses pelorodan, maka dilanjutkan dengan proses penjemuran kain hingga kering (Triatmanto et al., 2019). Dari proses tersebut, kegiatan pewarnaan, pencucian, dan pembilasan menghasilkan limbah cair yang harus dikelola dengan baik agar tidak berdampak ke lingkungan.

Baku mutu air limbah industri batik Yogyakarta diatur dalam Peraturan

Daerah Istimewa Yogyakarta Nomor 7 Tahun 2016 Tentang Baku Mutu Air Limbah. Berikut merupakan baku mutu air limbah untuk kegiatan industri batik yang dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2. 1 Baku Mutu Air Limbah Industri Batik

Parameter	**Proses Basah**		**Proses Kering**	
	Kadar Paling Banyak (mg/L)	**Beban Pencemaran Paling Banyak (Kg/Ton)**	**Kadar Paling Banyak (mg/L)**	**Beban Pencemaran Paling Banyak (Kg/Ton)**
BOD_5	85	5,1	85	1,275
COD	250	15	250	3,75
TDS	2.000	120	2.000	30
TSS	60	3,6	80	1,2
Fenol	0,5	0,03	1	0,015
Krom Total (Cr)	1	0,06	2	0,03
Amonia Total (NH_3 sebagai N)	3	0,18	3	0,045
Sulfida (sebagai S)	0,3	0,018	0,3	0,0045
Minyak dan Lemak Total	5	0,3	5	0,075
Suhu	± 3°C terhadap suhu udara			
pH	6,0 – 9,0			

Sumber: Peraturan Daerah Istimewa Yogyakarta Nomor 7 Tahun 2016

2.2 Uji Toksisitas

Uji toksisitas merupakan salah satu pengujian untuk mengetahui nilai dan dampak pada senyawa kimia, baik senyawa tunggal maupun kombinasi dengan bahan-bahan lainnya, seperti bahan pangan. Toksisitas diartikan sebagai studi mengenai sifat dan mekanisme dampak toksik dari berbagai zat terhadap makhluk hidup dan sistem biologisnya. Uji toksisitas memberikan informasi penting terkait dampak suatu senyawa terhadap organ tubuh, perubahan subseluler, serta sifat toksikan terhadap nukleus, mitokondria, lisosom, retikulum endoplasma, struktur subseluler lainnya, dan membran plasma. Menurut Hayes (2001), Loomis (1996), dan Lu (1995), Metode uji toksisitas terbagi dua. Metode uji pertama yaitu pengujian yang bertujuan untuk menilai efek umum suatu senyawa yang meliputi uji toksisitas akut, subkronis, dan kronis. Sedangkan metode uji kedua yaitu pengujian yang bertujuan untuk menganalisis secara rinci tipe toksisitas spesifik

yang meliputi teratogenitas, mutagenitas, dan karsinogenitas (Setiasih et al., 2016).

Menurut Priyanto (2009), *Lethal Concentration* 50 (LC_{50}) merupakan parameter yang digunakan untuk mengukur tingkat keaktifan dari suatu ekstrak atau senyawa. LC_{50} sering digunakan untuk pengujian toksisitas menggunakan hewan uji, dengan memperkirakan dosis yang mematikan apabila diaplikasikan pada manusia berdasarkan kematian hewan uji. LC_{50} merupakan parameter yang efektif untuk mengukur tingkat toksisitas pada embrio ikan zebra (*Danio rerio*). Pengukuran LC_{50} dapat dilakukan dengan cepat dan mudah pada embrio, larva, maupun ikan dewasa. Penggunaan embrio pada tahap awal kehidupan dapat memberikan prediksi toksisitas jangka panjang yang lebih akurat sekitar 80% bahan yang diuji (Wijaya, 2020). Nilai LC_{50} dapat diketahui berdasarkan konsentrasi yang menyebabkan 50% kematian pada hewan uji. Menurut OECD (2013), penentuan nilai LC_{50} dapat dilakukan menggambarkan hubungan antara log konsentrasi (sumbu x) dan nilai probit (sumbu y) dengan membuat kurva, yang kemudian dilakukan perhitungan analisis probit melalui regresi linear (Wiendarlina et al., 2022).

2.3 Fish Embryo Toxicity (FET)

Fish Embryo Toxicity (FET) berdasarkan pedoman OECD 236 (2013) merupakan uji toksisitas akut menggunakan embrio ikan zebra (*Danio rerio*). Metode FET dirancang untuk menentukan toksisitas akut bahan kimia terhadap embrio ikan. Uji toksisitas menggunakan metode FET didasarkan pada studi dan aktivitas validasi yang dilakukan pada ikan zebra. Uji FET ini telah berhasil diterapkan di berbagai macam zat yang menunjukkan cara kerja, kelarutan, volatilitas, dan sifat hidrofobik. Prinsip uji dari FET ini yaitu, telur ikan zebra yang baru dibuahi akan terpapar bahan kimia selama 96 jam, dengan setiap pengamatan yaitu 24 jam hingga empat kali pengamatan apikal dicatat sebagai indikator kematian. Uji toksisitas menggunakan metode OECD dianggap cukup ideal dikarenakan penggunaan hewan uji yang sedikit, serta mudah dalam aplikasinya (Sasmito et al., 2015).

Pengujian uji toksisitas menggunakan metode FET mengacu pada OECD

236. Embrio ikan zebra (*Danio rerio*) merupakan hewan uji yang dapat digunakan dalam studi toksikologi, khususnya untuk menilai toksisitas. Ikan zebra memiliki beberapa kelebihan untuk penelitian laboratorium, karena DNA ikan zebra homolog dengan manusia sekitar 70% sehingga dapat memperlihatkan efek senyawa toksik yang mungkin relevan dengan kesehatan manusia. Tahapan dan perkembangan organ ikan zebra berlangsung dengan cepat sehingga memungkinkan untuk penelitian dan pemantauan dalam jangka waktu yang singkat, serta memudahkan pengamatan terhadap perkembangan dan kelainan organ karena struktur tubuh yang transparan (Wiendarlina et al., 2022).

Ikan zebra merupakan ikan yang memiliki karakteristik yang spesial, dimana ikan zebra merupakan ikan air tawar tropis, anggota dari keluarga *Cyprinidae* dan tersebar di seluruh Asia Selatan dan Tenggara. Ikan zebra memiliki karakteristik berukuran kecil, semua organ utama ikan zebra muncul dalam lima hari setelah pembuahan, waktu generasi pendek, yaitu sekitar 3 sampai 4 bulan, menghasilkan 300 hingga 400 telur setiap dua minggu, telur mudah didapat dari pemijahan, serta embrio yang transparan. Embrio ikan digunakan sebagai alternatif pengganti ikan dewasa dalam studi toksikologi saat ini, untuk menentukan toksisitas polutan (Fasmina et al., 2021). Metode uji toksisitas menggunakan ikan zebra memiliki perbedaan dengan hewan uji seperti Daphnia magna, dimana pengamatan pada metode FET dilakukan selama 96 jam. Sedangkan pengamatan pada Daphnia magna dilakukan selama 48 jam paparan (Nugroho et al., 2018).

2.4 Penelitian Terdahulu

Berikut merupakan tabel mengenai penelitian terdahulu mengenai pengujian toksisitas pada industri batik, yang dapat dilihat pada Tabel 2.2.

Tabel 2. 2 Penelitian Terdahulu

Referensi	Judul	Hewan Uji	Hasil
(Mualifah, 2016)	Toksisitas Limbah Cair Pabrik Batik terhadap Kelangsungan Hidup, Struktur Histologik Ginjal, dan	Ikan Nila *(Oreochromis niloticus*)	Hasil penelitian parameter fisik kimia pada limbah cair pabrik dan limbah batik murni menunjukkan nilai suhu yaitu 29 °C, DO 0 mg/L, Kromium total 0,0442 mg/L, dan pH sebesar 9. Selain itu, hasil pengamatan pada struktur histologi ginjal menunjukkan bahwa pada konsentrasi 0,037%, terjadi piknosis, hipertrofi pada sel tubulus,

	Daging Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)		dan penyempitan lumen, serta sel yang terlepas dari glomerulus. Pada kadar 0,049%, teramati nekrosis dengan inti yang mengalami piknosis dan kariolisis, hipertrofi pada sel tubulus, dan sel yang terlepas dari glomerulus.
(Pratiwi et al., 2016)	Uji Toksisitas Limbah Cair Batik Sebelum dan Sesudah Diolah dengan Tawas dan Super Flok terhadap Bioindikator (*Cyprinus carpio L*)	Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)	Hasil penelitian menunjukkan kualitas limbah cair batik sebelum diolah yaitu pH 10, TDS 1610 mg/L, dan COD 344 mg/L, dan setelah diolah menggunakan tawas dan super flok yaitu pH 6,5, TDS 1490 mg/L, dan COD 108 mg/L. Pada uji toksisitas LC_{50} 0-96 jam, digunakan metode analisis probit dan regresi linier. LC_{50} limbah cair batik sebelum diolah yaitu sebesar 0% pada jam ke-0, 5,5% pada jam ke-24, 4,7% pada jam ke-48, 4,2% pada jam ke-72, dan 3,7% pada jam ke-96. Sedangkan LC_{50} limbah cair batik setelah diolah yaitu sebesar 0% pada jam ke-0, 15,7% pada jam ke-24, 14,9% pada jam ke-48, 13,6% pada jam ke-72, dan 10,6% pada jam ke-96.
(Andriani & Hartini, 2017)	Toksisitas Limbah Cair Industri Batik terhadap Morfologi Sisik Ikan Nila Gift (*Oreochromis niloticus*)	Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)	Hasil penelitian limbah cair dari industri batik menunjukkan kandungan COD sebesar 4951,75 mg/L, Kromium 7 mg/L, TSS 448 mg/L, dan pH yaitu 6,9. Hasil dari pengujian LC_{50} menggunakan metode probit selama 96 jam adalah 0,73%. yang menunjukkan bahwa limbah cair industri batik tergolong dalam kategori toksik tinggi. Selain itu, pengamatan morfologi pada sisik ikan hanya terlihat adanya penempelan zar asing yang berasal dari limbah cair batik, dan tidak terjadi perubahan bentuk dari perlakuan kontrol.
(Pangestuti et al., 2018)	Uji Toksisitas Akut Limbah Industri Batik Kampung Batik Giriloyo terhadap Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) dengan	Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)	Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai LC_{50} limbah influen Kampung Batik Giriloyo menggunakan metode probit yaitu sebesar 0,861, dan tergolong dalam kategori toksisitas akut sangat tinggi, dengan nilai TUa yaitu 116,114 pada waktu paparan selama 96 jam. Kadar BOD pada

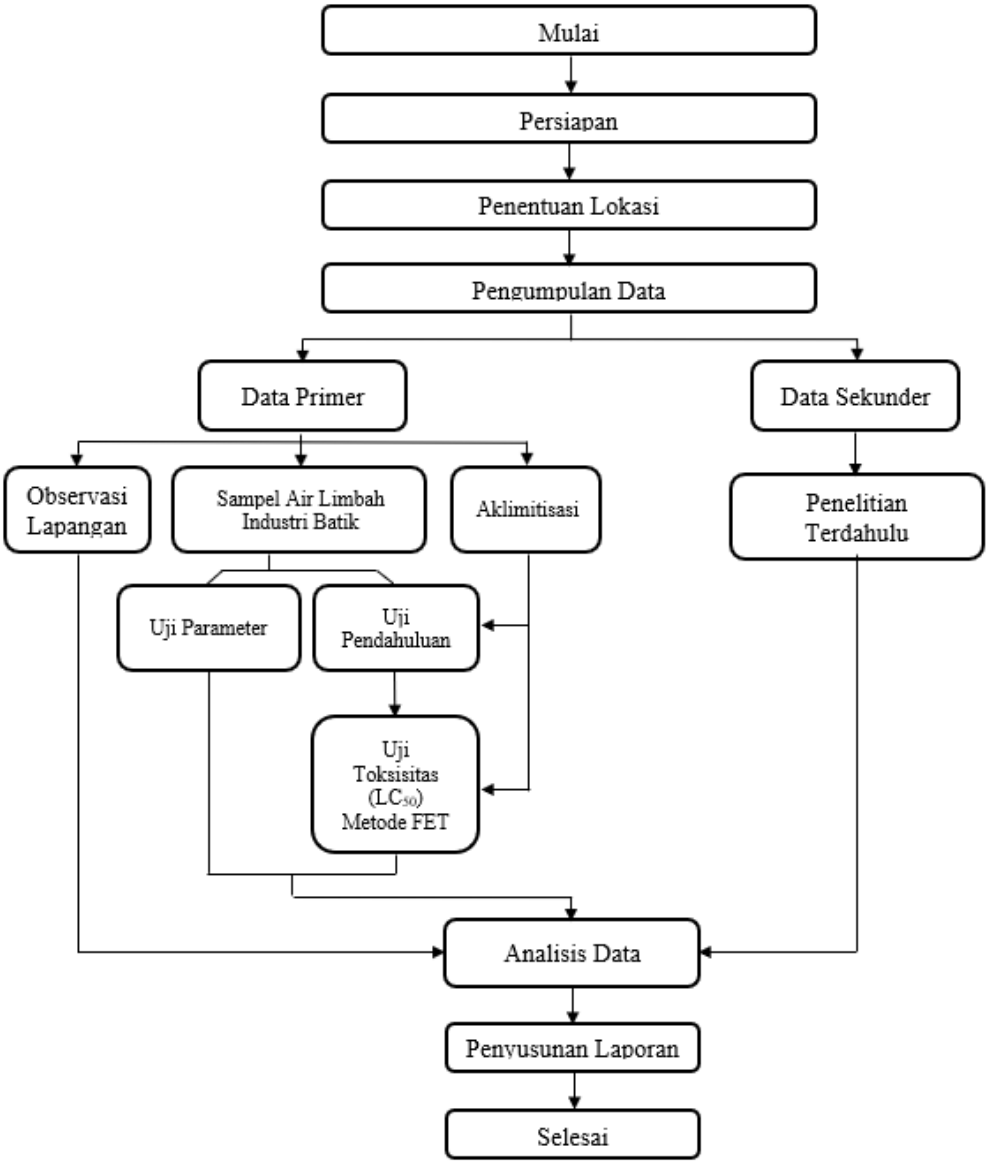
	menggunakan Reaktor Anaerob-Aerob		limbah influen yaitu sebesar 424,3 mg/L, COD sebesar 3637 mg/L, TSS sebesar 1106 mg/L, dan warna sebesar 1946,7. Sementara itu, nilai LC_{50} limbah effluent Kampung Batik Giriloyo menggunakan metode analisa grafik yaitu sebesar 90, dan termasuk dalam kategori toksisitas akut dengan nilai TUa sebesar 1,1 pada waktu paparan LC50 selama 96 jam. Kadar BOD pada limbah efluen yaitu sebesar 135 mg/L, COD sebesar 1037 mg/L, TSS sebesar 452 mg/L, dan warna sebesar 1015.
(Riskiyani, 2024)	Uji Toksisitas Limbah Cair Industri Batik menggunakan Metode *Whole Effluent Toxicity* (WET) menggunakan *Zebra Fish* (*Danio rerio*)	*Zebra Fish* (*Danio rerio*)	Hasil penelitian menunjukkan bahwa limbah influen IPAL Batik X menunjukkan nilai LC_{50} sebesar 85,25 dengan nilai Tua yaitu 1,17 dan temasuk kategori non toksik. Kadar BOD5 pada limbah influen sebesar 501,4 mg/L, COD 3937 mg/L, TSS 1462 mg/L, dan pH 10. Sementara pada limbah efluen IPAL, tidak terdapat nilai LC_{50} dan tidak memiliki kadar toksisitas karena tidak terjadi kematian pada hewan uji ikan zebra selama proses pengujian. Kadar BOD5 pada limbah efluen sebesar 7,97 mg/L, COD 66,6 mg/L, TDS 0,352 mg/L, TSS 0,344 mg/L, Fenol 1,329 mg/L, krom total 2,05 mg/L, amonia total 0,64 mg/L, sulfida 0,3 mg/L, minyak dan lemak 0,18 mg/L, suhu 27 °C, dan pH 7,5.

Berdasarkan data pada tabel 2.4 diatas, limbah cair industri batik memiliki tingkat toksisitas yang bervariasi terhadap organisme uji seperti ikan nila (*Oreochromis niloticus*), ikan mas (*Cyprinus carpio*), dan zebra fish (*Danio rerio*). Tingkat toksisitas ini bergantung pada kandungan polutan, serta metode pengolahan yang digunakan. LC50 dari limbah cair batik menunjukkan toksisitas akut dengan nilai yang mencerminkan tingkat kematian organisme dalam rentang waktu tertentu. Penelitian ini menegaskan pentingnya untuk melakukan uji toksisitas limbah cair terhadap ikan zebra untuk mengetahui kandungan dan toksisitas air limbah yang akan dibuang ke lingkungan.

BAB III
METODE PENELITIAN

3.1 Diagram Alir Penelitian

Berikut merupakan bagan alir prosedur penelitian yang akan dilakukan:



Gambar 3. 1 Diagram Alir Penelitian

3.2 Waktu dan Lokasi

Waktu dari penelitian ini dilakukan selama 5 bulan, dimulai dari bulan November 2024 hingga Maret 2025. Dalam rentang waktu tersebut dilakukan observasi lapangan, pengambilan sampel air limbah IPAL Industri Batik PT. X, yang berlokasi di Kota Yogyakarta, serta pengujian toksisitas dan uji parameter fisik dan kimia.

Lokasi penelitian akan dilakukan di dua laboratorium berbeda yaitu, Laboratorium Praklinik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia, untuk uji pendahuluan dan uji toksikologi, dan Laboratorium Kualitas Air Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan, Universitas Islam Indonesia, untuk uji parameter kimia.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

A. Uji Toksisitas
   - *Bluetip*
   - Botol penyimpanan air limbah
   - Cawan petri
   - Inkubator
   - Kain strimin
   - Kelereng
   - Labu volumetrik
   - Mikropipet
   - Stereo mikroskop (ZEISS)
   - Tangki ikan
   - TDS meter
   - Timbangan analitik
   - *Well plate*

B. Uji Kimia
   - Botol Penyimpanan air limbah
   - Botol Winkler
   - Cawan Porselin

- Corong
- Desikator
- Erlenmeyer
- Gelas beaker
- Gelas ukur
- Kertas Lakmus
- Oven
- Pipet volumetrik
- Spektrofotometer
- TDS meter
- Timbangan analitik
- *Thermometer*

3.3.2 Bahan

A. Uji Toksisitas
   - Air limbah nglorod dan pewarnaan
   - Aquabidest
   - Cacing Merah
   - Garam ikan
   - Ikan zebra (Danio rerio)
   - *Methylene blue*

B. Uji Kimia
   - Air limbah nglorod dan pewarnaan
   - Asam sulfat (H2SO4)
   - Kalium dikromat 0,25 N
   - Kertas saring
   - Larutan standar BOD
   - Larutan Buffer
   - Larutan standar sulfida
   - Natrium sulfat anhidrat
   - Pelarut heksana
   - Reagen biru metilen

3.4 Pengambilan Data

3.4.1 Sampling

Pengambilan sampel limbah cair dilakukan pada Industri Batik PT. X. Metode yang digunakan dalam proses pengambilan sampel yaitu mengacu pada SNI 6989.59.2008 tentang Air dan Air Limbah, Bagian 59: Metode Pengambilan Contoh Air Limbah. Pengambilan sampel air limbah dilakukan dengan metode *grab sample*. Kemudian sampel ini diuji tingkat toksisitasnya menggunakan uji toksisitas FET (*Fish Embryo Toxicity*) dan uji parameter fisik dan kimia di laboratorium.

3.4.2 Persiapan Pra Uji Toksisitas

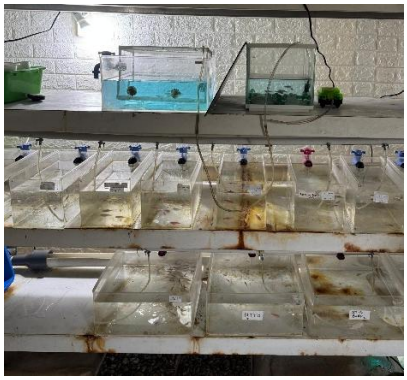
Persiapan pra uji toksisitas dilakukan untuk memastikan bahwa uji toksisitas yang akan dilakukan dapat memberikan hasil yang valid. Adapun beberapa tahapan persiapan pra uji toksisitas yang dilakukan, yaitu melakukan pengajuan kode etik (*Ethical Clearance*) penelitian, aklimatisasi ikan zebra, pemeliharaan ikan, dan produksi embrio ikan zebra.

3.4.2.1 Kode Etik (*Ethical Clearance*)

Kode etik (*Ethical Clearance*) bertujuan untuk memastikan penelitian uji toksisitas menggunakan hewan uji berupa ikan zebra ini layak dilaksanakan setelah memenuhi persyaratan. Pengajuan kode etik ini diajukan melalui Komite Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia.

3.4.2.2 Aklimatisasi Ikan Zebra

Proses aklimatisasi ikan zebra dilakukan dengan cara meletakkan ikan zebra yang baru diperoleh atau dibeli pada akuarium dengan kondisi masih berada di dalam plastik ikan untuk proses adaptasi sebelum masuk akuarium. Rata-rata untuk ukuran ikan zebra yang digunakan yaitu 2- 4 cm. Untuk proses peletakan didalam akuarium, ikan jantan dan betina diletakkan di akuarium berbeda dengan perlakuan aklimatisasi yang sama. Setelah itu, ikan dapat dikeluarkan dari plastik dan dimasukkan kedalam akuarium ikan tersebut. Proses aklimatisasi ikan zebra berlangsung selama minimal 7 hari hingga ikan dapat digunakan pada proses breeding. Berikut merupakan gambaran kondisi ruangan proses aklimatisasi ikan zebra.



Gambar 3. 2 Aklimatisasi Ikan Zebra
Sumber: Dokumentasi Tugas Akhir

3.4.2.3 Pemeliharaan Ikan Zebra

Pemeliharaan ikan zebra dapat dilakukan dengan menggunakan air dengan sistem sirkulasi yang berjalan secara terus-menerus. Suhu ruangan dan suhu tangki aquarium ikan umumnya dipertahankan antara 26-28,5°C, dan kondisi pencahayaan yaitu menggunakan perbandingan 14:10 (terang: gelap). Pengaturan pencahayaan dapat dilakukan secara otomatis dengan menggunakan saklar lampu otomatis pada laboratorium. Pada laboratorium Praklinik Farmasi, air yang digunakan dalam pemeliharaan ikan sudah menggunakan air RO (*Reverse Osmosis*). Selain itu, pengecekkan dan pergantian filter, pengecekkan parameter kualitas air melalui pengukuran pH, amonia, *hardness*, kadar oksigen, dan salinitas harus dimonitor secara rutin. Pemberian makan ikan dilakukan 2 kali sehari, dengan waktu di pagi hari dan sore hari. Pemberian ikan zebra dapat menggunakan *micro pellets*, larva ikan atau artemia, kutu air atau daphnia, dan juga cacing darah. Pembersihan akuarium juga harus dilakukan secara rutin. Pembersihan dapat dilakukan dengan menyedot kotoran yang terdapat pada dasar aquarium menggunakan selang yang tersedia di laboratorium secara hati-hati. Selain itu, kadar garam dalam air juga harus diperhatikan agar tidak meningkatkan kematian pada ikan.

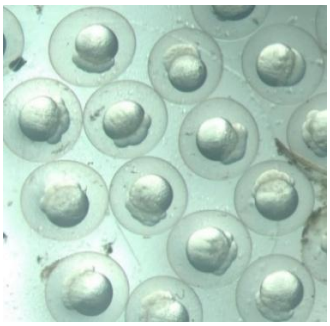
3.4.2.4 Produksi Embrio

Proses pemijahan ikan zebra dilakukan di sore hari dengan menggunakan perbandingan jumlah ikan jantan:betina yaitu 2:1. Pada siklus pencahayaan terang, ikan zebra diletakkan didalam yang berbeda, dan kemudian, pada siklus gelap ikan zebra jantan dan betina disatukan di dalam akuarium yang lebih luas selama 10 jam. Proses ovulasi dan pembuahan pada ikan zebra terjadi pada saat cahaya

muncul. Proses produksi embrio dapat dilakukan dengan menggunakan media kelereng di dalam akuarium, cawan petri yang dilapisi dengan kain strimin, atau menggunakan akuarium yang sudah dilengkapi dengan perangkap seperti jaring. Telur atau embrio ikan zebra diambil menggunakan teknik *spawn trap*, yang kemudian dikumpulkan didalam cawan petri untuk diseleksi untuk mendapatkan embrio yang fertil. Kualitas embrio yang dihasilkan dapat dikatakan baik jika embrio tersebut fertil sebanyak lebih dari 70%. Berikut merupakan gambaran dari kondisi proses *breeding* atau pemijahan, serta embrio yang dihasilkan dari kegiatan tersebut.



Gambar 3. 3 Proses Pemijahan (*Breeding*) Ikan Zebra
Sumber: Dokumentasi Tugas Akhir



Gambar 3. 4 Embrio Hasil Pemijahan (Breeeding) Ikan Zebra
Sumber: Dokumentasi Tugas Akhir

3.4.3 Pelaksanaan Uji Toksisitas

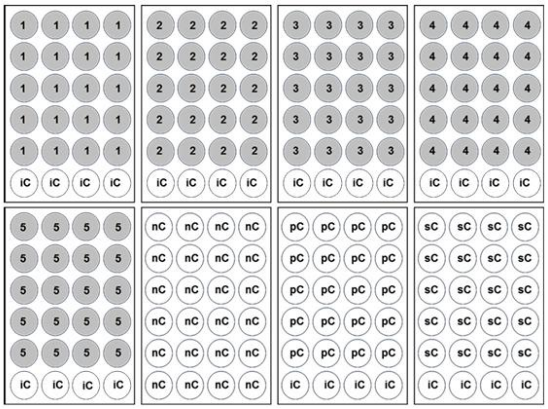
Adapun beberapa tahapan pelaksanaan uji toksisitas yang dilakukan, yaitu meliputi prosedur uji dan pengamatan.

3.4.3.1 Prosedur Uji

Dalam melakukan uji toksisitas, embrio fertil yang telah dilakukan seleksi menggunakan mikroskop dengan umur 2 – 6 jam dimasukkan kedalam *well plate*. Satu *well plate* berisikan 24 sumuran, dengan masing-masing *well plate* akan diisi dengan 1 embrio untuk 1 sumuran. Masing-masing *well plate* disisakan empat sumuran untuk kontrol internal menggunakan aquabides dengan tujuan mengetahui bahwa apakah toksisitas tersebut berasal dari air limbah yang diuji atau berasal dari *well plate* itu sendiri, dan dua puluh sumuran akan diisikan larutan uji sesuai konsentrasi (gambar 3.4). Pengujian toksisitas dimulai dengan melakukan uji pendahuluan, dengan menggunakan 5 konsentrasi berbeda untuk 1 sampel limbah. Dalam penelitian ini, digunakan sekitar 12 *well plate* untuk pengujian pada uji pendahuluan 2 sampel limbah pewarnaan dan pelorodan,

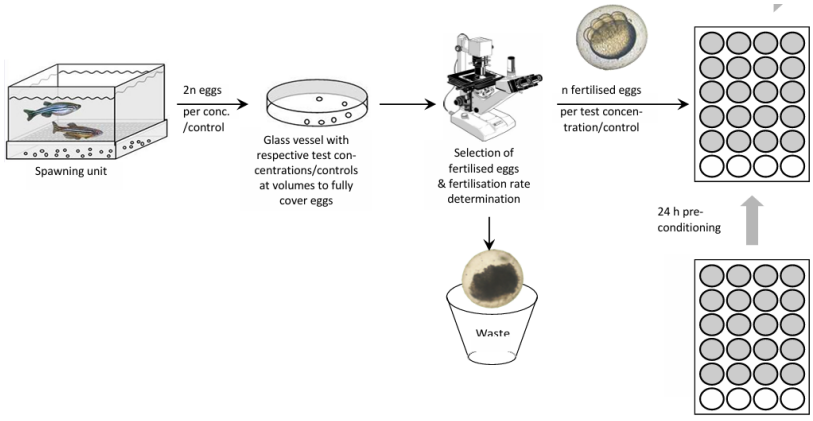
dengan konsentrasi limbah yang berbeda-beda. Konsentrasi limbah yang akan digunakan pada uji pendahuluan ini yaitu 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, dan 100%. Sebanyak 10 *well plate* digunakan untuk masing-masing konsentrasi pada tiap sampel, 1 *well plate* untuk kontrol positif, dan 1 *well plate* untuk kontrol negatif.

Well plate yang digunakan akan dilakukan *conditioning* terlebih dahulu dengan memasukkan larutan konsentrasi sebanyak 0,5 mL per sumuran, dan dimasukkan kedalam inkubator selama 24 jam. Keesokan harinya, tiap sumuran *well plate* dilakukan penyedotan air limbah, dan embrio yang telah didapatkan dari proses pemijahan akan diletakkan di *well plate* tersebut. *Well plate* yang telah ditambahkan embrio selanjutnya diberikan larutan pada tiap konsentrasi, dan diinkubasi kembali untuk persiapan pengamatan tiap 24 jam hingga jam ke-96 menggunakan mikroskop. Berikut merupakan gambaran penggunaan *well plate* dalam uji toksisitas:



Gambar 3. 5 Well Plate
Sumber: OECD 236, 2013

Berikut merupakan skema dari pelaksanaan prosedur uji toksisitas limbah:



Gambar 3. 6 Skema Prosedur Uji Toksisitas Limbah
Sumber: OECD 236, 2013

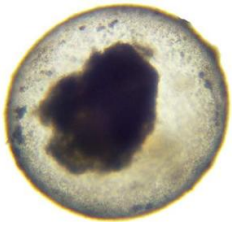
Skema prosedur pengujian (gambar 3.6) dimulai dari proses pemijahan (*breeding*), kemudian pada keesokan harinya, embrio akan dihasilkan dari proses tersebut. Setelah embrio dihasilkan, maka dilakukan seleksi antara embrio fertil dan koagulasi, kemudian embrio fertil dimasukkan kedalam *well plate* yang telah dikondisikan 24 jam sebelumnya dan dimasukkan kedalam inkubator untuk persiapan pengamatan mulai dari jam ke 24 hingga 96, dengan pengamatan setiap 24 jam. Dalam pengujian, terdapat uji validitas yang harus dilakukan agar pengujian dianggap valid. Adapun beberapa kriteria yang berlaku saat penelitian yaitu; jumlah embrio fertil harus ≥70% dari embrio yang diujikan. Selain itu, Suhu air harus dijaga pada 26 ± 1 °C. Pada kelompok kontrol negatif (nC) atau kontrol pelarut, embrio yang hidup harus >90% dari embrio yang digunakan, hingga akhir pengamatan di jam ke-96. Sedangkan pada kelompok kontrol positif (pC), tingkat mortalitas atau kematian yang harus dihasilkan dari jumlah embrio hidup pada akhir pengamatan ke-96 yaitu minimal 30%. Jumlah penetasan embrio (*hatching*) dari korion yang dihasilkan pada kontrol negatif atau kontrol pelarut harus ≥80% sampai akhir pengamatan jam ke-96. Tingkat konsentrasi O_2 yang larut pada kontrol negatif dan konsentrasi uji paling tinggi harus 80% lebih besar dari saturasi. Fungsi dari nC dan pC yaitu sebagai tes validasi. Penggunaan kontrol negatif dilakukan dengan menggunakan aquades juga bertujuan untuk membuktikan bahwa aquades yang digunakan layak. Sedangkan penggunaan kontrol positif dilakukan dengan menggunakan campuran DCA 3,4 sebanyak 4 mg/L per 1 liter.

Setelah melakukan uji validitas dan uji pendahuluan, maka dapat dilanjutkan dengan melakukan uji toksisitas dengan menggunakan konsentrasi yang telah ditentukan setelah melakukan uji pendahuluan. Perlakuan sampel terhadap uji toksisitas dilakukan sama dengan cara perlakuan pada uji pendahuluan, dengan pengamatan setiap jam ke-24, dan total pengamatan selama 96 jam.

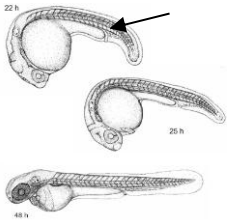
3.4.3.2 Pengamatan

Setelah melakukan prosedur uji dengan memasukkan *well plate* ke inkubator, selanjutnya adalah melakukan pengamatan mulai dari jam ke 24 hingga 96, dengan pengamatan setiap 24 jam. Pada setiap 24 jam, akan dilakukan

pengamatan menggunakan mikroskop. Pengamatan yang yaitu berupa koagulasi pada embrio, pembentukan tulang punggung atau somit pada embrio, pelepasan *tail-bud* atau ekor dari *yolk,* serta detak jantung embrio ikan zebra. Selain pengamatan tersebut, dilihat juga apakah terdapat cacat seperti lordosis, edema perikardium, dan juga malformasi somit. Berikut merupakan contoh tabel pengamatan dari embrio ikan zebra setiap 24 jam hingga jam ke 96. Berikut merupakan gambaran pengamatan pada tiap parameternya.



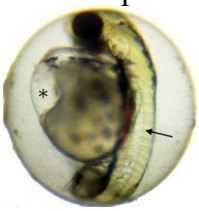
Gambar 3. 7 Koagulasi Embrio



Gambar 3. 8 Pelepasan Tailbud



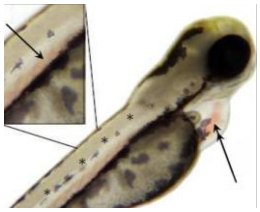
Gambar 3. 9 Pembentukan Somit



Gambar 3. 10 Pembentukan Somit



Gambar 3. 11 Kelainan Skoliosis



Gambar 3. 12 Detak Jantung

Sumber: OECD 236, 2013

Pengamatan dalam uji toksisitas dapat disajikan dalam bentuk tabel untuk mempermudah analisis pengamatan. Berikut merupakan tabel pengamatan uji toksisitas ikan zebra.

Tabel 3. 1 Tabel Pengamatan

	Waktu Paparan			
	24 jam	**48 jam**	**72 jam**	**96 jam**
Embrio yang terkoagulasi	+	+	+	+
Kurangnya pembentukan somite	+	+	+	+
Ekor tidak terlepas	+	+	+	+
Kurangnya detak jantung		+	+	+

Pada pengamatan uji toksisitas, embrio yang mengalami koagulasi dapat dilihat pada jam ke 24, 48, 72, dan 96. Embrio koagulasi dapat dilihat pada

embrio yang berwarna putih susu, serta berwarna gelap kehitaman apabila berada dibawah mikroskop. Pembentukan somit pada embrio ikan zebra secara normal terbentuk pada jam ke-24. Tidak terbentuknya somite pada embrio setelah 24 jam dapat disebabkan oleh gangguan pada perkembangan embrio, dan apabila pada jam ke-48 somit belum terbentuk, maka kemungkinan embrio mengalami kematian. Pengamatan pembentukan somit dilakukan pada setiap 24 jam, mulai dari jam ke 24, 24, 72, dan 96. Pelepasan *tail-bud* dari *yolk* secara normal terjadi pada jam ke-24. Apabila ekor belum terlepas pada jam ke-24, kemungkinan embrio mengalami keterlambatan atau penghambatan pada pelepasan *tail bud*. Pengamatan pelepasan *tail bud* dari *yolk* juga diamati pada jam ke 24, 48, 72, dan 96. Detak jantung pada embrio yang berkembang umumnya dapat diamati pada pengamatan kedua, yaitu pada jam ke-48. Apabila detak jantung tidak terlihat jelas, maka dilakukan perbesaran minimal 80x selama kurang lebih satu menit. Pengamatan detak jantung dicatat pada jam ke 48, 72, dan 96 pengamatan.

3.4.4 Analisis Parameter Fisik & Kimia Limbah

Parameter yang menjadi acuan dalam analisis parameter fisik dan kimia limbah pada penelitian ini yaitu berdasarkan Peraturan Daerah Istimewa Yogyakarta Nomor 7 Tahun 2016 Tentang Baku Mutu Air Limbah. Adapun parameter yang harus dipenuhi dalam standar baku mutu tersebut yaitu BOD5, COD, TDS, TSS, fenol, krom total, ammonia total, sulfida, minyak dan lemak total, suhu, dan pH. Pada analisis uji kimia, dilakukan pengukuran *in situ* di lokasi industri batik untuk parameter suhu dan pH. Sedangkan pada parameter fisik lainnya seperti TDS dan TSS, serta parameter BOD5, COD, minyak dan lemak, fenol, krom total, amonia total, dan sulfida dilakukan secara *ex situ* di laboratorium kualitas air dengan mengacu pada masing-masing SNI pengujian pada setiap parameter. Data yang diperoleh pada setiap parameter, baik untuk air limbah kegiatan nglorod atau pewarnaan akan dibandingkan dengan standar baku mutu yang berlaku dan digunakan, untuk mengidentifikasi dampak dari limbah yang dihasilkan ke lingkungan. Berikut merupakan metode dan acuan yang digunakan pada pengujian parameter kimia.

Tabel 3. 2 Metode Analisis Parameter Fisik & Kimia Limbah

Parameter	**Satuan**	**Metode**	**Acuan**
BOD_5	mg/L	Titrasi secara iodometri	SNI 6989.72-2009
COD	mg/L	Refluks tertutup secara spektrofotometri	SNI 6989.2-2019
TDS	mg/L	Gravimetri	SNI 6989.27:2019
TSS	mg/L	Gravimetri	SNI 6989.3:2019
Fenol	mg/L	Spektrofotometri	ASTM D1783-01
Krom Total (Cr)	mg/L	Spektrofotometri Serapan Atom (SSA)	SNI 6989-84-2019
Amonia Total (NH_3 sebagai N)	mg/L	Spektrofotmetri	SNI 6989.30-2005
Sulfida (sebagai S)	mg/L	Spektrofotometri	SNI 6989.70:2009
Minyak dan Lemak Total	mg/L	Gravimetri	SNI 6989.10-2011
Suhu	°C	Termometer	SNI 06-6989.23-2005
pH	-	Indikator Universal	-

3.4.5 Analisis Data Uji Toksisitas

Analisis data uji toksisitas dapat dilakukan secara kualitatif berdasarkan OECD 236 Tahun 2013. Namun, analisis data ini juga dapat disajikan secara kuantitatif dalam bentuk persentase dari hasil pengamatan. Persentase semua parameter pada keseluruhan konsentrasi maupun kontrol negatif dan kontrol positif dapat dihitung dengan membandingkan jumlah pertumbuhan dan jumlah embrio yang digunakan atau embrio yang layak atau hidup, dengan menggunakan persamaan berikut:

A. % Kematian Embrio

$$\frac{\text{Jumlah kematian pada embrio}}{\text{jumlah embrio pada awal pengamatan}} \text{ X } 100$$

B. % Koagulasi

$$\frac{\text{Jumlah embrio koagulasi}}{\text{jumlah embrio pada awal pengamatan}} \text{ x } 100$$

C. % Pembentukan Somit

$$\frac{\text{Jumlah pembentukan somit pada embrio}}{\text{jumlah embrio yang hidup}} \text{ x } 100$$

D. % Pelepasan *Tail-Bud* dari *yolk*

$$\frac{\text{Jumlah embrio dengan pelepasan tail-bud}}{\text{jumlah embrio yang atau hidup}} \times 100$$

E. % Detak Jantung

$$\frac{\text{Jumlah detak jantung terlihat pada embrio}}{\text{jumlah embrio yang hidup}} \times 100$$

F. % Embrio mengalami Hatching

$$\frac{\text{Jumlah embrio yang mengalami hatching}}{\text{jumlah embrio yang hidup}} \times 100$$

G. % Kelainan

$$\frac{\text{Jumlah embrio dengan kelainan}}{\text{jumlah total embrio pada awal pengamatan}} \times 100$$

Hasil uji toksisitas juga dapat disajikan dalam bentuk grafik dalam satuan jumlah embrio pada masing-masing konsentrasi, dengan membandingkan jumlah pembentukan atau perkembangan yang terjadi pada embrio dengan jumlah embrio yang hidup. Hasil pengamatan uji toksisitas selanjutnya digunakan untuk menghitung LC_{50} pada masing-masing limbah dengan menggunakan berbagai metode. Adapun metode yang dapat digunakan dalam analisis LC_{50}, yaitu:

A. Probit

   Metode ini digunakan ketika terdapat kematian parsial pada ≥ 2 konsentrasi uji dan signifikan

B. Spearman-Karber

   Metode ini digunakan ketika terdapat kematian parsial pada ≤ 2 konsentrasi uji, dan terdapat kematian pada konsentrasi paling rendah atau kematian total pada konsentrasi paling tinggi.

C. Trimmed Spearman-Karber

   Metode ini digunakan ketika terdapat kematian parsial pada ≤ 2 konsentrasi uji, tidak terdapat kematian pada konsentrasi terendah, dan kematian parsial pada konsentrasi tertinggi.

D. Grafik

   Metode ini digunakan ketika tidak terdapat kematian parsial pada konsentrasi uji.

Setelah menentukan nilai LC_{50}, dilakukan penentuan kategori toksisitas dengan berdasarkan tabel *Toxic Unit. Toxic Unit* (TU) merupakan ukuran toksisitas sebagai penentu satuan toksisitas akut (TUa). Berikut merupakan tabel kategori TUa.

Tabel 3. 3 Klasifikasi Toksisitas Akut

No	Kelas	Tingkat Toksisitas	*Toxic Unit*
1	*Class* I	*No Acute Toxicity*	<1
2	*Class* II	*Significant Acute Toxicity*	1-10
3	*Class* III	*High Acute Toxicity*	10-100
4	*Class* IV	*Very Acute Toxicity*	>100

Sumber: (Vaajasaari, 2005)

3.4.6 Keterkaitan Uji Toksisitas dan Uji Kimia

Keterkaitan antara uji toksisitas dan uji kimia yaitu hasil dari uji kimia digunakan untuk mengidentifikasi dan mengukur konsentrasi zat kimia berbahaya serta mengetahui konsentrasi atau karakteristik limbah sehingga dapat digunakan untuk memahami hasil dari uji toksisitas, termasuk penentuan nilai LC_{50} dan efek spesifik pada sistem biologis. Fungsi dari kedua uji sama-sama untuk mengevaluasi dampak suatu bahan terhadap organisme hidup. Dengan demikian, hasil dari uji kimia dapat memberikan gambaran untuk interpretasi hasil uji toksisitas dan dapat saling melengkapi dalam menilai dampak suatu limbah terhadap makhluk hidup dan ekosistem. Keterkaitan antara uji toksisitas dengan uji parameter fisik kimia dilihat berdasarkan hasil antara keduanya, serta dihubungkan dengan penelitian-penelitian terdahulu mengenai dampak kandungan limbah batik terhadap organisme akuatik.

BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Etika Penelitian

Kelayakan etik penelitian diajukan melalui Komite Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia pada bulan Januari 2025, dan sudah peneliti dapatkan pada tanggal 20 Februari 2025, dengan nomor surat yaitu 14/Ka.Kom.Et/70/KE/II/2025. Terbitnya surat keterangan lolos kaji etik ini merupakan keterangan bahwa penelitian yang menggunakan hewan penelitian berupa ikan zebra dan embrio ikan zebra ini layak dilakukan.

4.2 Sumber Limbah

Proses membatik pada PT X dimulai dari kegiatan ngemplong atau proses pencucian kain mori, dan kemudian di palu untuk dihaluskan, kemudian dilanjutkan dengan kegiatan pembuatan pola atau pengecapan, lalu pewarnaan, dan terakhir yaitu proses nglorod. Limbah yang diuji untuk mengetahui tingkat toksisitasnya pada penelitian ini yaitu limbah hasil kegiatan pelorodan, dan limbah hasil kegiatan pewarnaan. Limbah cair kegiatan pelorodan merupakan limbah perebusan kain batik yang telah diwarnai kedalam air mendidih yang telah dicampur dengan tepung pati dan soda abu untuk menghilangkan sisa lilin. Sedangkan limbah cair pewarnaan didapatkan dari proses pewarnaan menggunakan pewarna sintetis berupa naphtol dan juga remasol.

Soda abu/natrium karbonat yang digunakan pada proses pelorodan memiliki sifat dan karakteristik berwarna putih, dingin ketika diraba dengan tangan, dan bersifat basa ketika larut dalam air. Penggunaan soda abu pada proses pelorodan ini berfungsi untuk menghidrolisis lemak (R-COOH) pada lilin menjadi sabun yang larut dalam air (Haryanto & Suheryanto, 2008). Penggunaan soda abu juga berfungsi untuk mengatur pH dalam kondisi stabil, serta dapat mengurangi kekeruhan pada air limbah (Rahardja et al., 2020). Penggunaan tepung pati atau tepung tapioka dapat menyebabkan limbah berwarna kecoklatan, berbau, namun tidak berpengaruh pada pH. Perubahan warna akibat tepung tapioka ini dapat

mempengaruhi TSS pada air, dimana sinar matahari yang masuk kedalam perairan akan terhalang akibat pengaruh kejernihan air, hingga dapat menyebabkan pencemaran dan dapat mengakibatkan kematian pada ikan (Zulaifah et al., 2021).

Penggunaan zat warna naphtol pada proses pewarnaan dapat mengandung logam seng (Zn) dan krom (Cr) (Purwaningrum, 2024). Naphtol memiliki bentuk seperti serbuk dan tidak larut dalam air, sehingga memerlukan kostik soda sebagai pelarutnya. Rhemasol merupakan pewarna yang terbentuk dari reaksi berbagai bahan kimia aromatik. Rhemasol dapat mengandung unsur logam, memiliki bentuk seperti serbuk, mudah larut dalam air, tahan terhadap sinar matahari, serta hasil limbahnya cenderung susah diolah (Subagyo & Soelityowati, 2021). Pewarna sintetis pada limbah batik dapat mengandung bahan kimia yang bersifat karsinogenik. Limbah tersebut dapat berbahaya bagi manusia maupun organisme didalam air. Pewarna naftol dapat berpengaruh pada organisme dalam air, hingga dapat menyebabkan kematian, karena menyebabkan peningkatan kadar BOD dan COD dalam air, sehingga berpengaruh pada kebutuhan oksigen yang dibutuhkan organisme akuatik (Diyah et al., 2023).

Limbah hasil kegiatan pelorodan dan pewarnaan pada PT X akan masuk kedalam masing-masing IPAL. IPAL pelorodan menggunakan sistem penyaringan, yang dimana pada IPAL pelorodan terbagi menjadi 3 bak. Pada masing-masing bak terdapat sistem penyaringan, sehingga limbah akan tersaring pada bak pertama hingga bak ketiga, lalu kemudian akan keluar ke lingkungan melalui gorong-gorong. Pada IPAL pewarnaan, sistem yang digunakan yaitu sama dengan IPAL pelorodan yang menggunakan penyaringan pada tiap bak, sehingga limbah yang masuk kedalam IPAL akan masuk dan tersaring pada bak pertama, dan bak kedua, dan kemudian keluar ke lingkungan.

Perlakuan uji pendahuluan dan uji toksisitas pada limbah nglorod dan limbah pewarnaan dilakukan di beberapa hari yang berbeda. Persiapan uji pendahuluan pada kedua limbah mulai dilakukan pada tanggal 10 Maret 2025 dan dilanjutkan dengan uji toksisitas pada berbagai konsentrasi, hingga selesai pada tanggal 18 Maret 2025. Berikut merupakan tabel rangkuman kegiatan perlakuan pada kedua sampel pada uji pendahuluan dan toksisitas.

Tabel 4. 1 Rangkuman Kegiatan Uji Toksisitas Limbah

Tanggal	Kegiatan
10 Maret 2025	1. Pengambilan sampel 2. *Breeding* ikan zebra 3. *Conditioning well plate* uji pendahuluan kedua limbah konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25%
11 Maret 2025	1. Seleksi embrio 2. Memasukkan embrio kedalam *well plate* 3. Inkubasi uji pendahuluan jam ke-0
12 Maret 2025	1. Pengamatan uji pendahuluan jam ke-24 2. *Breeding* ikan zebra 3. *Conditioning well plate* uji toksisitas limbah nglorod konsentrasi 3,125%, 1,563%, 0,781%, 0,391%, dan 0,195%, serta limbah pewarnaan pada konsentrasi 3,125% dan 1,563%.
13 Maret 2025	1. Pengamatan uji pendahuluan jam ke-48 2. Seleksi embrio 3. Memasukkan embrio kedalam *well plate* uji toksisitas 4. Inkubasi uji toksisitas jam ke-0 5. *Breeding* ikan zebra 6. *Conditioning well plate* tambahan uji toksisitas limbah nglorod konsentrasi 0,098%, 0,049%, dan 0,024%,
14 Maret 2025	1. Pengamatan uji pendahuluan jam ke-72 2. Pengamatan uji toksisitas jam ke-24 3. Seleksi embrio 4. Memasukkan embrio kedalam *well plate* uji toksisitas tambahan 5. Inkubasi uji toksisitas tambahan jam ke-0
15 Maret 2025	1. Pengamatan uji pendahuluan jam ke-96 2. Pengamatan uji toksisitas jam ke-48 3. Pengamatan uji toksisitas tambahan jam ke-24
16 Maret 2025	1. Pengamatan uji toksisitas jam ke-72 2. Pengamatan uji toksisitas tambahan jam ke-48
17 Maret 2025	1. Pengamatan uji toksisitas jam ke-96 2. Pengamatan uji toksisitas tambahan jam ke-72
18 Maret 2025	1. Pengamatan uji toksisitas tambahan jam ke-96

4.3 Karakteristik Air Limbah

Berikut merupakan hasil pengujian laboratorium terhadap beberapa parameter kimia air limbah industri batik PT. X dari kegiatan pelorodan dan pewarnaan, serta perbandingan dengan Peraturan Daerah Istimewa Yogyakarta Nomor 7 Tahun 2016 Tentang Baku Mutu Air Limbah:

Tabel 4. 2 Hasil Uji Parameter Kimia Air Limbah Pelorodan dan Pewarnaan Industri Batik

Parameter	Satuan	Baku Mutu Perda DI Yogyakarta Nomor 7 Tahun 2016	Hasil Uji Limbah Pelorodan	Hasil Uji Limbah Pewarnaan
BOD5	mg/L	85	453*	128*
COD	mg/L	250	756*	123
TDS	mg/L	2000	1356	1192
TSS	mg/L	60	992*	832*
Fenol	mg/L	0.5	0.9*	0.49
Krom Total	mg/L	1	0.04	0.03
Amonia Total	mg/L	3	1.34	1.09
Sulfida	mg/L	0.3	9*	1.05*
Minyak dan Lemak Total	mg/L	5	24.4*	4.25
Suhu	°C	± 3°C terhadap suhu udara	28	26
pH	-	6,0 – 9,0	9	10*

Keterangan:
(*) : tidak memenuhi baku mutu
( ) : memenuhi baku mutu

Limbah batik memiliki karakteristik berupa keruh dan berbusa. Selain itu, limbah cair batik mengandung kadar BOD, COD, serta pH yang tinggi, serta mengandung minyak dan lemak, dan logam berat. Limbah batik memiliki perbedaan yang cukup jelas dibandingkan dengan limbah lainnya, yaitu pada tingginya kandungan senyawa pewarna pada limbah, yang memiliki karakteristik sulit terdegradasi di alam sehingga menghasilkan nilai COD yang tinggi pada limbah (Diyah et al., 2023). Karakteristik limbah batik yaitu berwarna keruh, mengandung minyak lemak, berbusa, bau, mengandung sulfur, pH tinggi, fenol, BOD tinggi, mengandung senyawa racun dan gas, serta krom, timbal, nikel, tembaga, dan mangan yang merupakan senyawa logam berat yang bersifat toksik (Natalina & Firdaus, 2017). Berdasarkan tabel 4.2 dapat diketahui bahwa hasil pengujian parameter kimia limbah nglorod terdapat enam parameter yang tidak memenuhi standar baku mutu, yaitu parameter BOD_5, COD, TSS, fenol, sulfida, dan minyak dan lemak total. Sedangkan pada limbah pewarnaan, terdapat empat parameter yang tidak memenuhi standar baku mutu, yaitu parameter BOD_5, TSS, sulfida, dan pH.

Nilai *Biochemical Oxygen Demand* (BOD) yang tinggi dapat disebabkan oleh adanya kegiatan pewarnaan kain batik menggunakan pewarna sintetis berupa

naphtol. Pewarna sintetis pada proses pewarnaan kain batik memiliki sifat yang stabil, sehingga sulit untuk terurai di lingkungan dan dapat mengganggu keseimbangan lingkungan perairan (Erlita et al., 2022). Berdasarkan tabel 4.2, diketahui hasil BOD5 pada limbah nglorod adalah 453 mg/L dan pada limbah pewarnaan yaitu 128 mg/L, yang dimana pada kedua limbah cair ini belum memenuhi standar baku mutu yaitu 85 mg/L.

Nilai *Chemical Oxygen Demand* (COD) menggambarkan total kebutuhan oksigen yang diperlukan untuk menguraikan senyawa organik dalam limbah oleh mikroorganime (Fidiastuti & Lathifah, 2018). Tingginya nilai COD dapat dipengaruhi oleh proses pewarnaan batik, yang menyebabkan tingginya kandungan senyawa organik yang harus dioksidasi secara kimiawi (Arohmah & Rachmanto, 2023). Tingginya nilai COD menunjukkan bahwa kualitas limbah semakin buruk. Berdasarkan tabel 4.2 diketahui nilai COD pada limbah nglorod yaitu 756 mg/L dan pada limbah pewarnaan yaitu 123 mg/L, yang dimana hasil pada limbah nglorod belum memenuhi standar baku mutu yaitu 250 mg/L.

Penggunaan bahan kimia pada proses pewarnaan batik yang berfungsi untuk menghasilkan warna pekat, seperti naftol dapat mempengaruhi tingginya *Total Dissolved Solid* (TDS) dan *Total Suspended Solid* (TSS) (Nilasari et al., 2020). Nilai TSS yang tinggi dapat disebabkan akibat proses pada perebusan atau pelorodan kain batik yang telah diberi lilin, sehingga dapat mempengaruhi nilai kekeruhan pada limbah cair (Fidiastuti & Lathifah, 2018). Berdasarkan tabel 4.2, diketahui nilai TDS pada limbah nglorod yaitu 1356 mg/L dan pada limbah pewarnaan yaitu 1192 mg/L. Hasil ini menunjukkan bahwa pada kedua limbah tersebut sudah memenuhi standar baku mutu yaitu 2000 mg/L. Sedangkan hasil pada pengujian TSS, diketahui hasil TSS pada limbah nglorod yaitu 992 mg/L, dan pada limbah pewarnaan yaitu 832 mg/L. Hasil ini menunjukkan bahwa kedua limbah tersebut belum memenuhi standar baku mutu yaitu 60 mg/L.

Nilai fenol pada limbah batik dapat disebabkan oleh kegiatan pewarnaan dan pelorodan, yang dimana fenol juga digunakan sebagai pelarut pewarna kain (Fidiastuti & Lathifah, 2018). Kandungan fenol pada air limbah batik disebabkan akibat adanya penggunaan lilin selama proses pembatikan (Ayuningtyas, 2020). Berdasarkan tabel 4.2, diketahui nilai fenol pada limbah nglorod yaitu 0,9 mg/L

dan pada limbah pewarnaan yaitu 0,49 mg/L. Hasil ini menunjukkan bahwa limbah nglorod belum memenuhi standar baku mutu yaitu 0,5 mg/L, sedangkan pada limbah pewarnaan diketahui sudah memenuhi standar baku mutu yang ditetapkan.

Industri batik menghasilkan limbah cair yang mengandung logam kromium dalam bentuk kromium heksavalen (Cr (VI)) dan kromium trivalen (Cr (III)) (Cahyanto et al., 2017). Penggunaan pewarna sintetis dalam proses pewarnaan batik dapat mengandung logam berat. Krom (Cr) merupakan salah satu senyawa logam yang diindikasikan terdapat pada limbah cair batik. Selain itu, tembaga (Cu), Timbal (Pb), Mangan (Mn), dan nikel (Ni) juga merupakan logam berat yang diindikasikan terdapat pada limbah cair industri batik (Erlita *et al.,* 2022). Berdasarkan tabel 4.2, diketahui nilai krom total pada limbah nglorod yaitu sebesar 0,04 mg/L dan pada limbah pewarnaan yaitu 0,03 mg/L. Hasil ini menunjukkan bahwa kedua limbah tersebut sudah memenuhi standar baku mutu yaitu 1 mg/L.

Kadar amonia dapat diindikasikan dengan adanya pencemaran yang disebabkan oleh bahan organik pada limbah cair (Widyastuti et al., 2019). Tingginya kadar amonia pada limbah batik dapat disebabkan oleh kandungan nitrogen yang terkandung pada bahan organik seperti penggunaan bahan pewarna ataupun residu dari proses pencucian kain. Berdasarkan tabel 4.2, diketahui nilai amonia total pada limbah nglorod yaitu 1,34 mg/L dan pada limbah pewarnaan yaitu 1,09 mg/L. Hasil ini menunjukkan bahwa kedua limbah tersebut sudah memenuhi standar baku mutu yaitu 3 mg/L.

Kandungan sulfida pada air limbah nglorod dan pewarnaan juga dapat disebabkan dari penggunaan zat warna ataupun bahan lainnya pada proses pembatikan. Sulfida digunakan dengan menambahkan natrium hidroksida (NaOh) dan natrium hidrosulfida (NaHS) kedalam larutan logam garam alkali untuk meningkatkan pewarnaan batik (Diyah et al., 2023). Berdasarkan tabel 4.2, diketahui nilai sulfida pada limbah nglorod yaitu 9 mg/L dan pada limbah pewarnaan yaitu 1,05 mg/L. Hasil ini menunjukkan bahwa kedua limbah tersebut belum memenuhi standar baku mutu yaitu 0,3 mg/L.

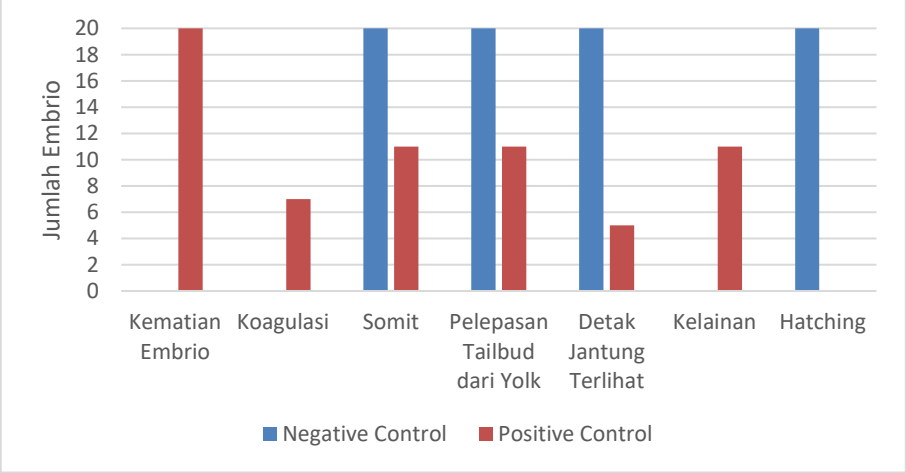
Minyak dan lemak pada air limbah batik dihasilkan dari proses pencucian dan

perebusan kain pada proses nglorod yang mengandung lilin. Berdasarkan tabel 4.2, diketahui kadar minyak dan lemak total pada limbah nglorod yaitu 24,4 mg/L dan pada limbah pewarnaan yaitu 4,25 mg/L. Hasil ini menunjukkan bahwa pada limbah nglorod, kadar minyak dan lemak belum memenuhi standar baku mutu yaitu 5 mg/L, sedangkan pada limbah pewarnaan sudah memenuhi standar baku mutu.

Pada analisis karakteristik air limbah, dilakukan juga pengujian suhu dan pH, yang dimana pH limbah batik cenderung tinggi akibat adanya penggunaan soda abu yang memiliki sifat basa ketika larut dalam air. limbah nglorod berada dalam suhu 28°C, dengan pH sebesar 9, sedangkan pada limbah pewarnaan berada dalam suhu 26°C, dengan pH yaitu 10. Hasil ini menunjukkan bahwa pH pada air limbah pewarnaan belum memenuhi standar baku mutu yaitu rentang 6 sampai 9. Hal ini juga menunjukkan bahwa pH limbah berada dalam kondisi sangat basa, yang dapat disebabkan akibat penggunaan pewarna sintetis untuk memperkuat warna batik.

4.4 Uji Validitas

Berikut merupakan gambar diagram pada uji validitas untuk *negative control* dan *positive control*.



Gambar 4. 1 Uji Validasi pada Kontrol Negatif dan Kontrol Positif

Uji validitas dilakukan pada *negative control* dan *positive* control. Uji validitas *negative control* dilakukan dengan menggunakan *dilution water* berupa aquades atau aquabides. Penggunaan *dilution water* berupa aquades bertujuan untuk meminimalisir efek antimikroba karena senyawa netral pada aquades tidak

berpengaruh pada pertumbuhan bakteri, sehingga hasil yang didapatkan dari pengujian *negative control* menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri yang didapatkan bukan berasal dari bahan pelarutnya, namun berasal dari senyawa pada air limbah (Sofyana et al., 2024). Penggunaan DCA (3,4 *Dichloroaniline*) pada embrio dapat menyebabkan efek toksik, dimana DCA sendiri merupakan bahan kimia yang memiliki efek toksik akibat sifatnya yang sangat beracun. Penggunaan DCA dapat menyebabkan kelainan pada embrio ikan zebra, yaitu kelainan pada ekor, tulang belakang, yolk dan edema, serta dapat menyebabkan kematian (Lestari et al., 2024).

Hasil dari uji validitas yang peneliti lakukan sudah memenuhi standar dan syarat pada OECD 236 Tahun 2013. Embrio yang dihasilkan pada proses pemijahan (*breeding*) untuk pengujian kontrol positif dan negatif ini menghasilkan ≥70% embrio fertil. Berdasarkan gambar 4.1, kelompok kontrol negatif tidak menghasilkan kematian pada embrio, sehingga seluruh embrio yang digunakan bertahan hidup hingga akhir pengamatan. Hal ini menunjukkan bahwa kelompok kontrol negatif sudah memenuhi persyaratan bertahan hidup >90% sampai dengan akhir pengamatan jam ke-96. Selain itu, pada pengujian kelompok kontrol positif menghasilkan kematian embrio sebanyak 20 embrio pada akhir pengamatan. Hal ini menunjukkan bahwa kelompok kontrol positif juga sudah memenuhi persyaratan, yaitu menghasilkan tingkat mortalitas minimal 30% sampai dengan akhir pengamatan jam ke-96.

Pada kelompok kontrol negatif, pembentukan somit dan pelepasan *tail-bud* dari *yolk* sudah dapat diamati pada pengamatan jam ke-24. Berdasarkan grafik pada gambar 4.1, terlihat bahwa 20 embrio atau keseluruhan embrio tidak mengalami keterlambatan pada pembentukan somit, maupun pelepasan *tail-bud* dari *yolk*. Pada kelompok kontrol positif, pembentukan somit dan pelepasan *tail-bud* dari *yolk* juga sudah teramati pada jam pengamatan ke-24. Kedua parameter ini teramati pada 11 embrio yang bertahan hidup pada jam pengamatan ke-24. Sedangkan 9 embrio lainnya mengalami kematian sejak awal pengamatan. Perkembangan embrio yang tidak normal hanya terjadi pada kelompok kontrol positif, yang ditandai dengan terdapatnya embrio yang tidak terbentuk somit (Gambar 4.2), skoliosis (Gambar 4.3), serta kalainan *edema pericardium* yang

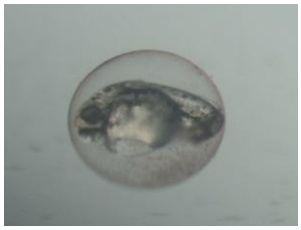
ditandai dengan adanya cairan diantara jantung (Gambar 4.4).



Gambar 4. 2 Tidak Terbentuknya Somit pada Kontrol Positif
Sumber: Dokumentasi Tugas Akhir



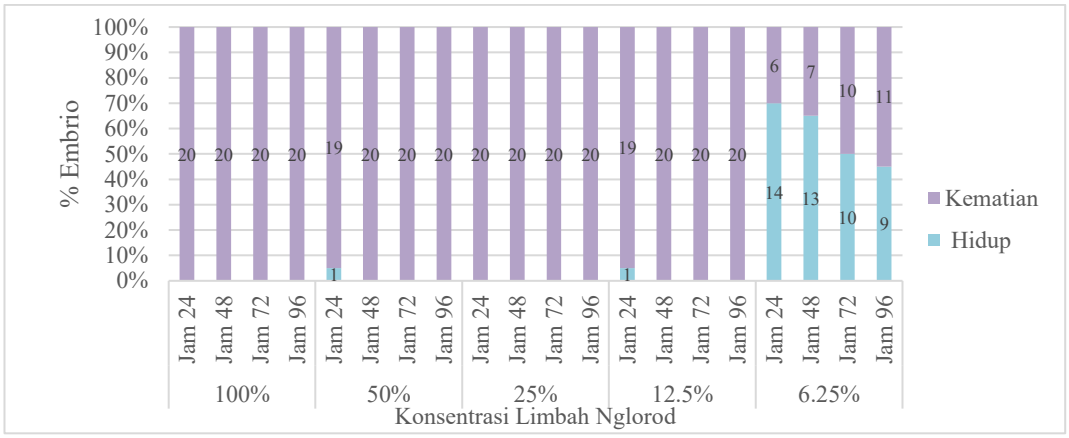
Gambar 4. 3 Kelainan Struktur Tulang Belakang (Skoliosis) pada Kontrol Positif jam ke-96
Sumber: Dokumentasi Tugas Akhir



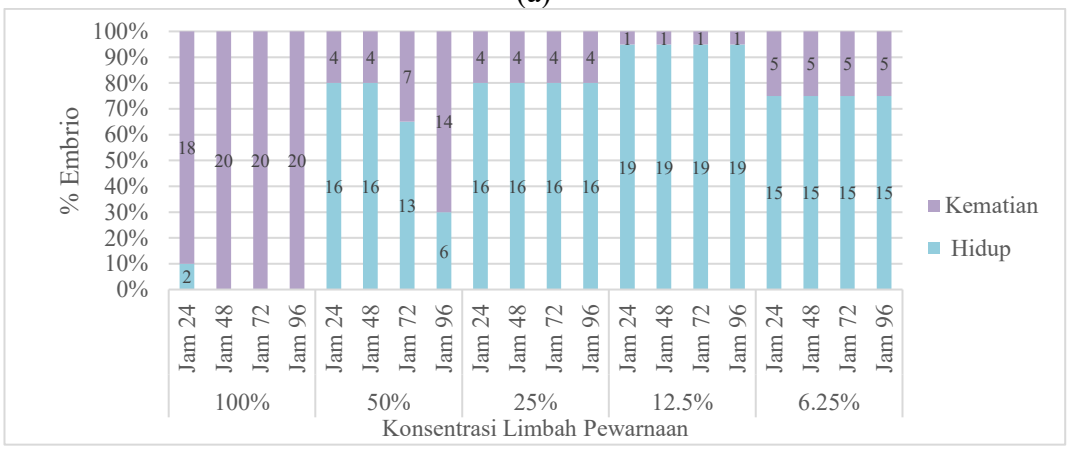
Gambar 4. 4 Edema pada Kontrol Positif Jam Ke-48
Sumber: Dokumentasi Tugas Akhir

4.5 Uji Pendahuluan

Uji pendahuluan merupakan uji yang dilakukan untuk menentukan konsentrasi air limbah yang akan digunakan dalam uji toksisitas. Berdasarkan standar US EPA tahun 2002, konsentrasi yang digunakan untuk pengujian LC_{50} selama 96 jam yaitu 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, dan 100% (Prahastuti et al., 2013). Pada uji pendahuluan ini, parameter yang diamati yaitu berupa mortalitas embrio, berupa koagulasi embrio dan kematian akibat faktor lainnya seperti tidak berkembangnya embrio, serta mengalami kelainan yang menyebabkan kematian pada embrio. Selain itu, dilakukan pengamatan terhadap pembentukan dan perkembangan parameter lainnya berupa somit, pelepasan *tail-bud* dari *yolk*, detak jantung, kelainan, dan *hatching*, serta kelainan pada embrio berupa keterlambatan pembentukan dan perkembangan embrio, dan kelainan lainnya pada embrio. Pengamatan ini dilakukan selama 96 jam, dengan waktu pengamatan setiap 24 jam. Konsentrasi yang mengalami kematian total akan dilanjutkan dengan konsentrasi lainnya pada uji toksisitas, dengan konsentrasi yang lebih rendah. Berikut merupakan hasil pengamatan untuk mortalitas embrio pada uji pendahuluan untuk limbah nglorod dan limbah pewarnaan batik.



(a)



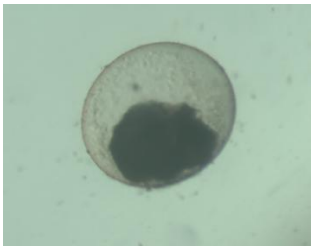
(b)

Gambar 4. 5 (a) Mortalitas Embrio pada Uji pendahuluan Limbah Nglorod (b) Mortalitas Embrio pada Uji Pendahuluan Limbah Pewarnaan

Mortalitas pada embrio ikan zebra dapat diamati pada jam ke 24, 48, 72, dan 96 pengamatan. Berdasarkan grafik pada Gambar 4.5 (a), diketahui bahwa paparan limbah nglorod pada empat konsentrasi tertinggi menghasilkan kematian embrio yang sangat tinggi. Dari keseluruhan 20 embrio yang digunakan, kematian embrio pada paparan limbah nglorod konsentrasi 100% dan 25% terjadi pada seluruh embrio akibat terjadinya koagulasi embrio pada pengamatan jam ke-24. Sedangkan pada konsentrasi tinggi lainnya yaitu 50% dan 12,5%, hanya terdapat 1 embrio yang bertahan hidup pada pengamatan jam ke-24, dan 19 embrio lainnya mengalami kematian. Namun pada pengamatan jam berikutnya, embrio tersebut mengalami kematian sehingga konsentrasi tersebut menghasilkan 100% kematian pada pengamatan jam ke-48. Pada konsentrasi terendah yaitu 6,25%, jumlah embrio yang bertahan hidup pada akhir pengamatan yaitu berjumlah 9 embrio, dengan 11 embrio lainnya mengalami kematian. Pada konsentrasi ini, kematian

akibat koagulasi terjadi pada 6 embrio pada pengamatan jam ke-24, dan peningkatan kematian lainnya terjadi pengamatan berikutnya, yang dapat disebabkan oleh adanya akumulasi zat berbahaya dari paparan limbah yang menyebabkan embrio tidak dapat berkembang dan mengalami kematian.

Berdasarkan grafik pada Gambar 4.5 (b), diketahui bahwa paparan limbah pewarnaan pada konsentrasi tertinggi menghasilkan kematian embrio yang sangat tinggi. Kematian embrio pada paparan limbah pewarnaan konsentrasi 100% terjadi pada 18 embrio akibat terjadinya koagulasi embrio pada pengamatan jam ke-24. Namun pada pengamatan jam berikutnya, 2 embrio lainnya mengalami kematian sehingga konsentrasi tersebut menghasilkan 100% kematian embrio pada pengamatan jam ke-48. Pada konsentrasi 50%, jumlah kematian pada embrio pada pengamatan jam ke-24 yaitu sebanyak 4 embrio, yang disebabkan oleh koagulasi embrio, namun, pada pengamatan jam berikutnya, terjadi peningkatan kematian akibat paparan air limbah yang menyebabkan tidak berkembangnya embrio, serta adanya kelainan yang menyebabkan kematian pada embrio. Pada tiga konsentrasi lainnya, yaitu 25%, 12,5%, dan 6,25%, jumlah kematian embrio dari awal pengamatan jam ke-24 hingga akhir pengamatan tetap stabil dan tidak terdapat peningkatan kematian. Kematian pada tiga konsentrasi ini disebabkan oleh adanya koagulasi embrio pada awal pengamatan, dengan jumlah koagulasi yaitu 4 embrio pada konsentrasi 25%, 1 embrio pada konsentrasi 12,5%, dan 5 embrio pada konsentrasi 6,25%. Berikut merupakan gambar embrio yang mengalami koagulasi, yang dapat diamati pada jam ke-24 hingga 96.



Gambar 4. 6 Koagulasi Embrio pada Pengamatan Jam Ke-24
Sumber: Dokumentasi Tugas Akhir

Jumlah kematian embrio pada uji pendahuluan limbah hasil nglorod dan pewarnaan menunjukkan bahwa limbah nglorod memiliki tingkat toksisitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan limbah pewarnaan. Hal ini dapat dilihat berdasarkan jumlah kematian pada setiap konsentrasi dan jam pengamatannya.

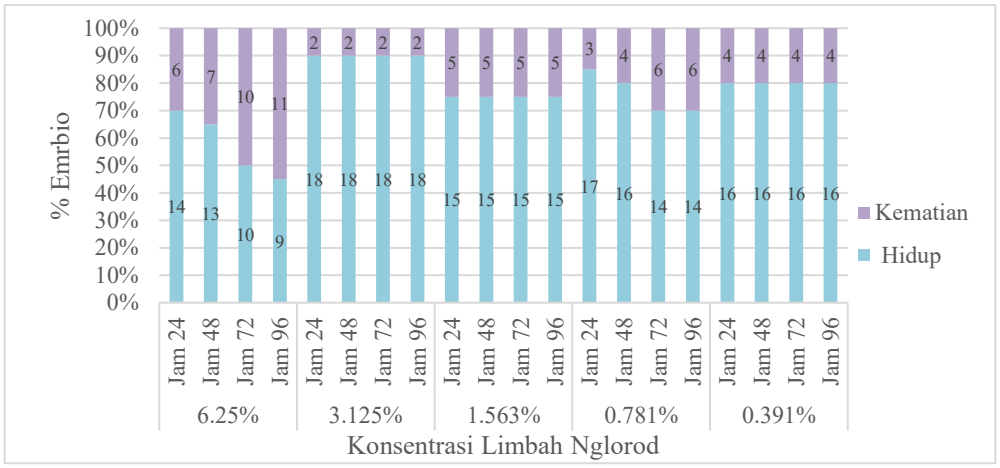
Pada limbah nglorod, kematian total 100% terjadi pada empat konsentrasi tertinggi, dan pada konsentrasi terendahnya juga menghasilkan kematian >50% dari embrio yang digunakan, sedangkan pada limbah pewarnaan, kematian total hanya terjadi pada konsentrasi tertinggi, dan kematian >50% hanya terjadi pada konsentrasi 50%. Kematian embrio ini dapat disebabkan oleh kandungan BOD, COD, TSS, fenol, krom dan amonia pada masing-masing limbah.

4.6 Uji Toksisitas

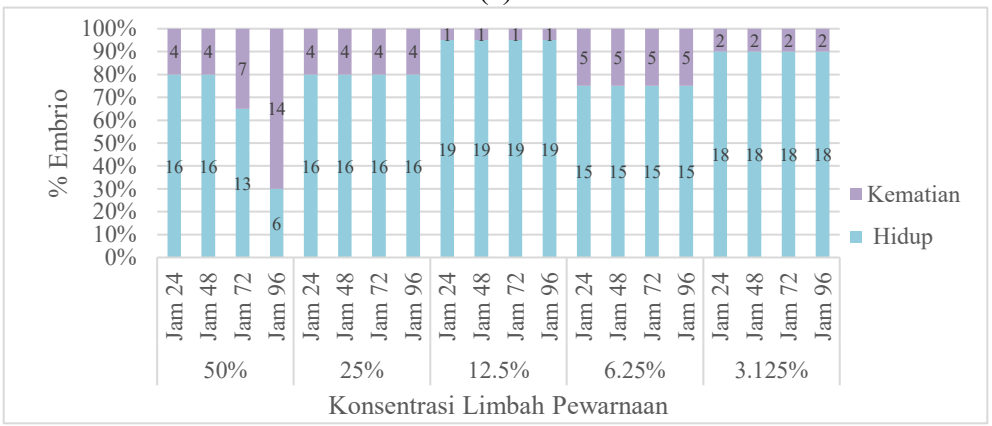
Uji toksisitas dilakukan berdasarkan konsentrasi yang telah ditentukan pada uji pendahuluan. Parameter yang diamati masih sama dengan uji pendahuluan, yaitu berupa mortalitas embrio, yang meliputi koagulasi embrio dan kematian akibat faktor lainnya. Selain itu, dilakukan pengamatan terhadap pembentukan dan perkembangan parameter lainnya berupa somit, pelepasan *tail-bud* dari *yolk*, detak jantung, kelainan, dan *hatching*, serta kelainan pada embrio berupa keterlambatan pembentukan dan perkembangan embrio, dan kelainan lainnya pada embrio, selama 96 jam, dengan pengamatan setiap 24 jam. Pada uji toksisitas ini, perlakuan pengamatan dilakukan pada beberapa hari yang berbeda (Tabel 4.1). Berikut merupakan hasil pengamatan untuk uji toksisitas untuk limbah nglorod dan limbah pewarnaan batik.

4.6.1 Kematian Embrio

Mortalitas pada embrio ikan zebra dapat diamati pada jam ke 24, 48, 72, dan 96 pengamatan. Kematian embrio ikan zebra dapat disebabkan oleh koagulasi embrio, tidak berkembangnya embrio pada jam pengamatan tertentu, serta kematian akibat adanya kelainan pada embrio ikan zebra yang terbentuk akibat adanya paparan limbah pada embrio. Berikut merupakan perbandingan grafik mortalitas embrio pada setiap konsentrasi 6,25%, 3,125%, 1,563%, 0,781%, dan 0,391% uji toksisitas limbah nglorod, dengan grafik mortalitas embrio pada setiap konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, dan 3,125% uji toksisitas limbah Pewarnaan.



(a)

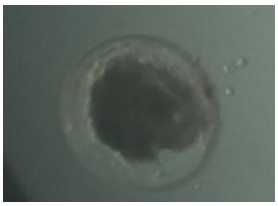


(b)

Gambar 4. 7 (a) Mortalitas Embrio pada Uji Toksisitas Limbah Nglorod (b) Mortalitas Embrio pada Uji Toksisitas Limbah Pewarnaan

Berdasarkan grafik pada Gambar 4.7 (a), diketahui bahwa paparan limbah nglorod pada uji nglorod menghasilkan kematian tertinggi pada konsentrasi tertinggi 6,25%. Jumlah embrio yang bertahan hidup pada akhir pengamatan yaitu 9 embrio, dengan 11 embrio lainnya mengalami kematian. Pada konsentrasi ini, kematian akibat koagulasi terjadi pada 6 embrio pada pengamatan jam ke-24, dan peningkatan kematian lainnya terjadi pengamatan berikutnya, yang dapat disebabkan oleh adanya akumulasi zat berbahaya dari paparan limbah yang menyebabkan embrio tidak dapat berkembang dan mengalami kematian. Selain itu, pada konsentrasi 3,125%, 1,563%, dan 0,391%, tidak terjadi peningkatan kematian setelah pengamatan jam ke-24. Kematian pada konsentrasi tersebut hanya disebabkan oleh embrio yang mengalami koagulasi pada awal pengamatan jam ke-24, dengan total 2 embrio koagulasi pada konsentrasi 3,125%, 5 embrio pada konsentrasi 1,563%, dan 4 embrio koagulasi pada konsentrasi 0,391%.

Sedangkan pada konsentrasi 0,781%, terdapat peningkatan kematian pada awal pengamatan hingga akhir pengamatan. Jumlah kematian embrio pada awal pengamatan yaitu berjumlah 3 embrio mengalami koagulasi, dan meningkat seiring waktu menjadi 6 kematian embrio pada akhir pengamatan jam ke-96. Hal ini dapat menunjukkan bahwa efek toksik menurun seiring penurunan konsentrasi. Konsentrasi tertinggi menghasilkan kematian >50% dari embrio yang digunakan. Sedangkan pada semua konsentrasi di bawah konsentrasi tertinggi, mengalami persen kematian <50%. Hal ini dapat menunjukkan bahwa efek toksik menurun seiring penurunan konsentrasi. Berikut merupakan gambaran embrio yang mengalami koagulasi pada uji toksisitas limbah nglorod.



Gambar 4. 8 Koagulasi pada Uji Toksisitas Limbah Nglorod
Sumber: Dokumentasi Tugas Akhir

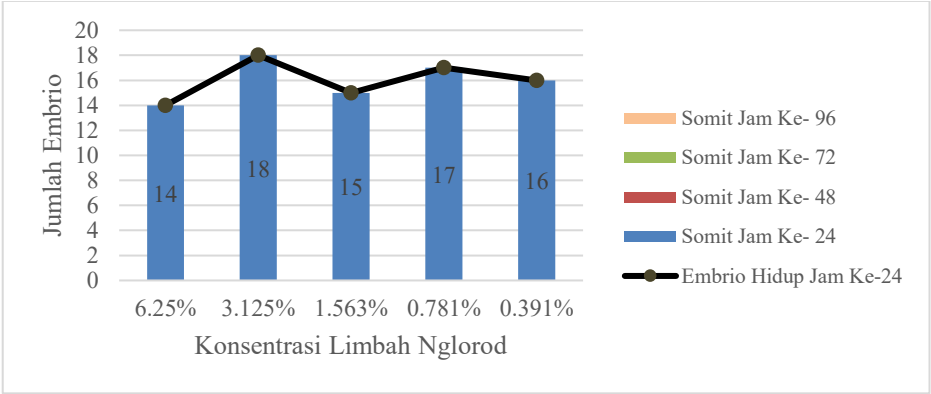
Pada uji toksisitas limbah pewarnaan, konsentrasi tambahan dilakukan pada konsentrasi 3,125%, yang dimana pada empat konsentrasi lainnya merupakan data dari perlakuan uji pendahuluan limbah pewarnaan. Berdasarkan grafik pada Gambar 4.7 (b), diketahui bahwa paparan limbah pewarnaan pada konsentrasi tertinggi 50% menghasilkan kematian embrio sebanyak 4 embrio pada pengamatan jam ke-24, yang disebabkan oleh koagulasi embrio, namun, pada pengamatan jam berikutnya, terjadi peningkatan kematian akibat paparan air limbah yang menyebabkan tidak berkembangnya embrio, serta adanya kelainan yang menyebabkan kematian pada embrio. Pada empat konsentrasi lainnya, yaitu 25%, 12,5%, 6,25%, dan 3,125%, jumlah kematian embrio dari awal pengamatan jam ke-24 hingga akhir pengamatan tetap stabil dan tidak terdapat peningkatan kematian. Kematian pada empat konsentrasi ini disebabkan oleh adanya koagulasi embrio pada awal pengamatan, dengan jumlah koagulasi yaitu 4 embrio pada konsentrasi 25%, 1 embrio pada konsentrasi 12,5%, 5 embrio pada konsentrasi 6,25%, dan 2 embrio pada konsentrasi 3,125%. Kematian ini dapat disebabkan oleh paparan limbah yang mengandung bahan organik, TSS, maupun logam berat berbahaya.

4.6.2 Pembentukan dan Perkembangan Parameter Pengamatan

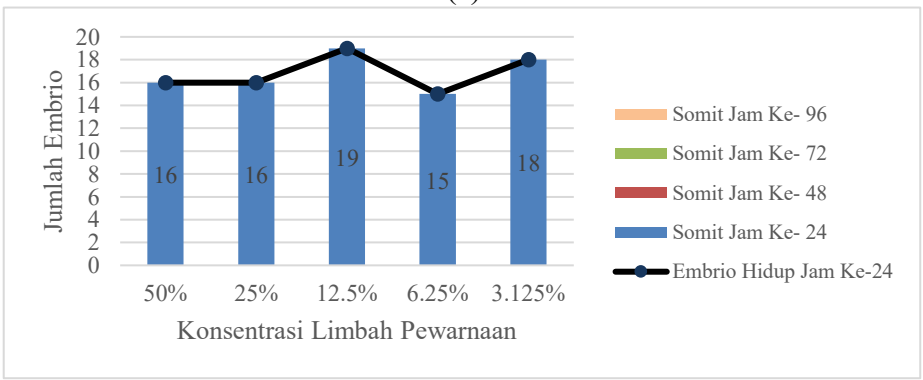
Parameter embrio yang diamati pada proses pembentukan dan perkembangan embrio yaitu berupa somit, pelepasan *tail-bud* dari *yolk*, detak jantung, serta *hatching* atau penetasan pada embrio.

4.6.2.1 Somit

Pengamatan somit pada embrio ikan zebra dapat diamati pada jam ke 24, 48, 72, dan 96 pengamatan. Terbentuknya somit pada embrio ikan zebra umumnya terjadi pada jam pengamatan ke-24. Apabila pada jam tersebut belum terjadi pembentukan somit, maka terdapat kemungkinan terjadinya keterlambatan pembentukan somit, ataupun kematian pada embrio. Berikut merupakan perbandingan grafik pembentukan somit pada setiap konsentrasi 6,25%, 3,125%, 1,563%, 0,781%, dan 0,391% uji toksisitas limbah nglorod, dengan grafik pembentukan somit pada setiap konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, dan 3,125% uji toksisitas limbah Pewarnaan.



(a)



(b)

Gambar 4. 9 (a) Pembentukan Somit pada Uji Toksisitas Limbah Nglorod (b) Pembentukan Somit pada Uji Toksisitas Limbah Pewarnaan

Berdasarkan grafik pada Gambar 4.9 (a), diketahui bahwa paparan limbah nglorod pada seluruh konsentrasi menghasilkan pembentukan somit pada seluruh embrio yang bertahan hidup pada pengamatan jam ke-24, tanpa adanya keterlambatan atau embrio yang tidak terbentuk somitnya. Berdasarkan grafik, dapat dilihat bahwa konsentrasi 6,25%, terjadi pembentukan somit pada 14 embrio, dari jumlah embrio yang hidup yaitu 14 embrio. Sedangkan pada 6 embrio lainnya tidak mengalami pembentukan somit akibat mengalami kematian sejak pengamatan awal. Sedangkan pada konsentrasi 3,125%, 1,56%, 0,781%, dan 0,391% menghasilkan pembentukan somit yaitu 18 embrio pada konsentrasi 3,125%, 15 embrio pada konsentrasi 1,563%, 17 embrio pada konsentrasi 0,781%, dan 16 embrio pada konsentrasi 0,391%. Dari keseluruhan embrio yang digunakan, yaitu 20 embrio, embrio yang tidak mengalami pembentukan somit disebabkan oleh adanya kematian embrio sejak awal pengamatan ke-24, yang dapat disebabkan oleh koagulasi embrio. Hal ini menandakan bahwa senyawa toksik pada air limbah dapat menghambat atau bahkan menghentikan proses awal perkembangan embrio. Berikut merupakan gambar perbandingan embrio berumur 1,5 jam dengan pembentukan somit pada embrio ikan zebra pengamatan pada jam ke-24.



Gambar 4. 10 Kondisi Embrio Umur 1,5 Jam
Sumber: Dokumentasi Tugas Akhir

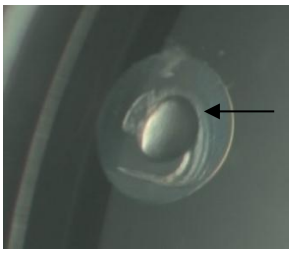


Gambar 4. 11 Somit pada Embrio Ikan Zebra jam Ke-24
Sumber: Dokumentasi Tugas Akhir

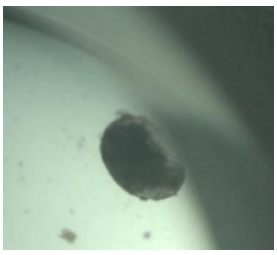
Berdasarkan grafik pada Gambar 4.9 (b), diketahui bahwa paparan limbah pewarnaan pada keseluruhan konsentrasi mengalami pembentukan somit pada semua embrio yang bertahan hidup pada pengamatan jam ke-24. Pada konsentrasi 50% dan 25%, pembentukan somit terjadi pada 16 embrio yang bertahan hidup pada jam ke-24. Sedangkan pada 4 embrio lainnya mengalami kematian sejak awal pengamatan jam ke-24. Pada konsentrasi 12,5%, 6,25%, dan 3,125%, pembentukan somit juga terjadi pada seluruh embrio yang bertahan hidup pada

jam ke-24, dengan total pembentukan somit pada konsentrasi 12,5% yaitu sebanyak 19 embrio, pada konsentrasi 6,25% sebanyak 15 embrio, serta 18 embrio pada konsentrasi 3,125%.

Pembentukan somit pada limbah nglorod dan pewarnaan sudah dapat diamati pada pengamatan jam ke-24. Hal ini juga dapat dilihat bahwa tidak terjadi keterlambatan dari pembentukan somit akibat paparan kedua limbah tersebut. Namun, embrio yang sudah mengalami pembentukan somit juga dapat mengalami pemberhentian perkembangan akibat adanya kematian pada embrio yang sebelumnya sudah berkembang. Hal ini dapat terjadi baik pada limbah nglorod maupun limbah pewarnaan. Berikut merupakan gambar perbandingan embrio yang mengalami pembentukan somit, namun pada jam berikutnya mengalami kematian.



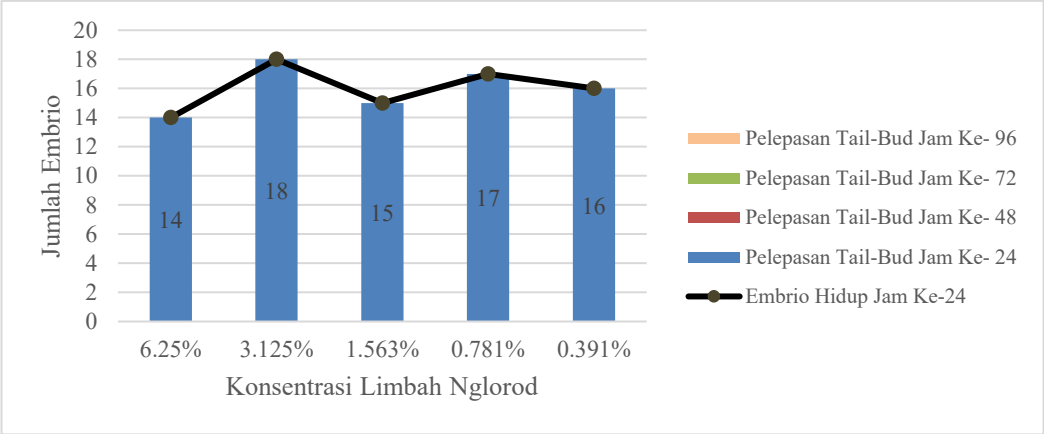
Gambar 4. 12 Pembentukan Somit pada Jam Ke-24
Sumber: Dokumentasi Tugas Akhir



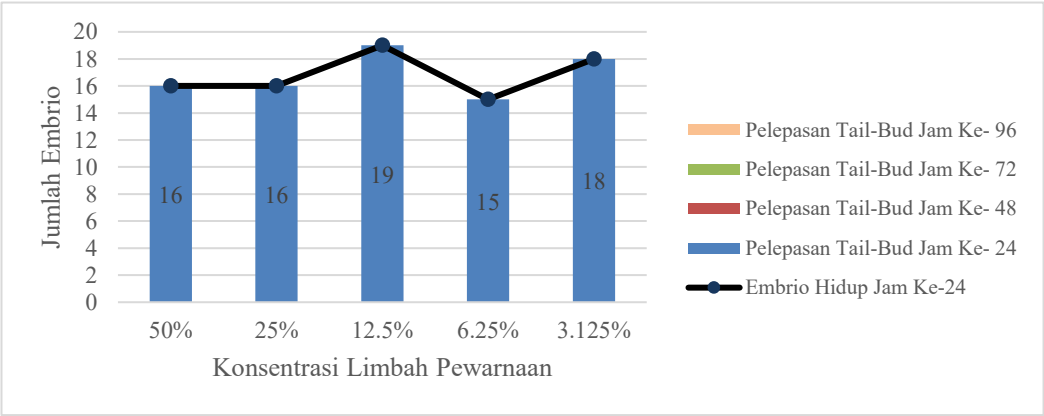
Gambar 4. 13 Kematian Embrio pada Jam Ke-72
Sumber: Dokumentasi Tugas Akhir

4.6.2.2 Pelepasan *Tail-Bud* dari Yolk

Pengamatan pelepasan *tail-bud* dari *yolk* pada embrio ikan zebra dapat diamati pada jam ke 24, 48, 72, dan 96 pengamatan. Pelepasan *tail-bud* pada embrio ikan zebra umumnya mulai terjadi pada jam pengamatan ke-24. *Tail-bud* umumnya akan tumbuh lurus memanjang pada tubuh ikan. Apabila pada jam ke-24 belum terjadi pelepasan *tail-bud*, maka terdapat kemungkinan terjadinya keterlambatan pelepasan *tail-bud*, ataupun kematian pada embrio. Berikut merupakan perbandingan grafik pelepasan *tail-bud* dari *yolk* pada setiap konsentrasi 6,25%, 3,125%, 1,563%, 0,781%, dan 0,391% uji toksisitas limbah nglorod, dengan grafik pelepasan *tail-bud* dari *yolk* pada setiap konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, dan 3,125% uji toksisitas limbah Pewarnaan.



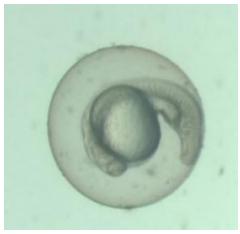
(a)



(b)

Gambar 4. 14 (a) Pelepasan *Tail-Bud* dari *Yolk* pada Uji Toksisitas Limbah Nglorod (b) Pelepasan *Tail-Bud* dari *Yolk* pada Uji Toksisitas Limbah Pewarnaan

Berdasarkan grafik pada Gambar 4.14 (a), diketahui bahwa paparan limbah nglorod pada seluruh konsentrasi menghasilkan pelepasan *tail-bud* dari *yolk* pada seluruh embrio yang bertahan hidup pada pengamatan jam ke-24, tanpa adanya keterlambatan atau embrio yang tidak mengalami pelepasan *tail-bud*. Berdasarkan grafik, dapat dilihat bahwa konsentrasi 6,25%, 3,125%, 1,56%, 0,781%, dan 0,391% mengalami pelepasan *tail-bud* dari *yolk* yaitu 14 embrio pada konsentrasi 6,25%, 18 embrio pada konsentrasi 3,125%, 15 embrio pada konsentrasi 1,563%, 17 embrio pada konsentrasi 0,781%, dan 16 embrio pada konsentrasi 0,391%. Dari keseluruhan embrio yang digunakan, yaitu 20 embrio, embrio yang tidak mengalami pembentukan somit disebabkan oleh adanya kematian embrio sejak awal pengamatan ke-24, yang dapat disebabkan oleh koagulasi embrio. Berikut merupakan gambar pelepasan *tail-bud* dari *yolk* yang terlihat pada pengamatan jam ke-24.



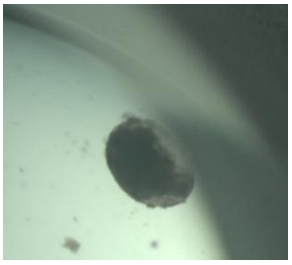
Gambar 4. 15 Pelepasan Tail-Bud pada Pengamatan Jam Ke-24
Sumber: Dokumentasi Tugas Akhir

Berdasarkan grafik pada Gambar 4.14 (b), diketahui bahwa paparan limbah pewarnaan pada keseluruhan konsentrasi mengalami pelepasan *tail-bud* dari *yolk* pada semua embrio yang bertahan hidup pada pengamatan jam ke-24. Pada konsentrasi 50% dan 25%, pelepasan *tail-bud* terjadi pada 16 embrio, sedangkan pada 4 embrio lainnya mengalami kematian sejak awal pengamatan jam ke-24. Pada konsentrasi 12,5%, 6,25%, dan 3,125%, pelepasan *tail-bud* terjadi pada seluruh embrio yang bertahan hidup pada jam ke-24, dengan total pelepasan *tail-bud* pada konsentrasi 12,5% yaitu sebanyak 19 embrio, konsentrasi 6,25% sebanyak 15 embrio, dan pada konsentrasi 3,125% sebanyak 18 embrio.

Pelepasan *tail-bud* dari *yolk* pada limbah nglorod dan pewarnaan sudah dapat diamati pada pengamatan jam ke-24. Hal ini juga dapat dilihat bahwa tidak terjadi keterlambatan dari pelepasan *tail-bud* dari *yolk* akibat paparan kedua limbah tersebut. Namun, proses pelepasan *tail-bud* dari *yolk* pada awal pengamatan dapat mengalami pemberhentian perkembangan akibat adanya embrio yang mengalami kematian setelah mengalami proses pelepasan *tail-bud*. Hal ini dapat terjadi baik pada limbah nglorod maupun limbah pewarnaan. Berikut merupakan gambar perbandingan embrio yang mengalami pelepasan *tail-bud,* namun pada jam berikutnya mengalami kematian.



Gambar 4. 16 Pelepasan Tail-Bud pada Jam Ke-24
Sumber: Dokumentasi Tugas Akhir

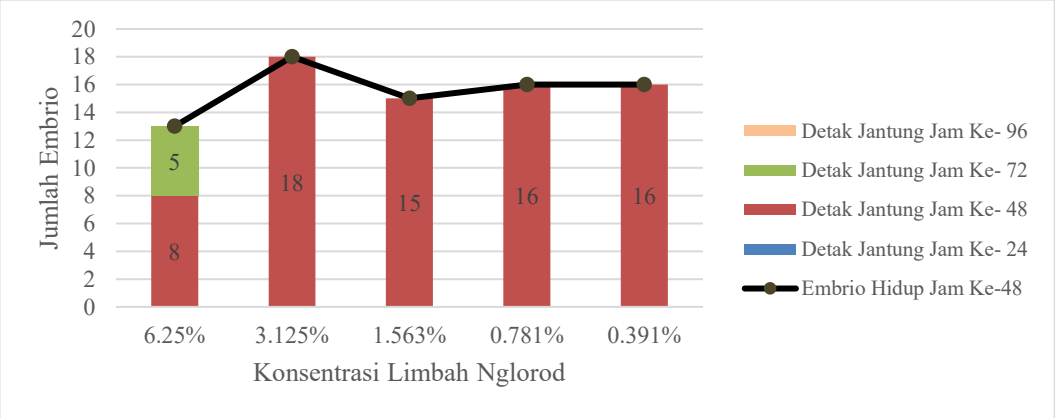


Gambar 4. 17 Kematian Embrio pada Jam Ke-72
Sumber: Dokumentasi Tugas Akhir

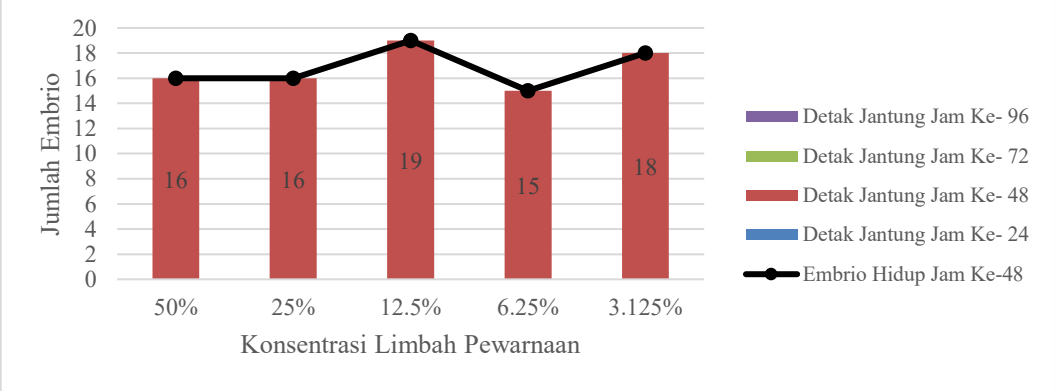
4.6.2.3 Detak Jantung

Pengamatan detak jantung pada embrio ikan zebra mulai dapat diamati

pada jam ke-48 pengamatan. Apabila detak jantung tidak terlihat, maka harus dilakukan perbesaran pengamatan menggunakan mikroskop selama ± 1 menit. Apabila pada jam ke-48 detak jantung belum terlihat, maka terdapat kemungkinan terjadinya keterlambatan ataupun kematian pada embrio. Berikut merupakan perbandingan grafik detak jantung terlihat pada setiap konsentrasi 6,25%, 3,125%, 1,563%, 0,781%, dan 0,391% uji toksisitas limbah nglorod, dengan grafik detak jantung terlihat pada setiap konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, dan 3,125% uji toksisitas limbah Pewarnaan.



(a)



(b)

Gambar 4. 18 (a) Detak Jantung Terlihat pada Uji Toksisitas Limbah Nglorod (b) Detak Jantung Terlihat pada Uji Toksisitas Limbah Pewarnaan

Berdasarkan grafik pada Gambar 4.18 (a), diketahui bahwa paparan keseluruhan konsentrasi pada embrio ikan zebra menghasilkan detak jantung terlihat pada seluruh embrio yang bertahan hidup pada masing-masing konsentrasi. Namun, pada konsentrasi tertinggi yaitu 6,25%, jumlah detak jantung yang terlihat pada pengamatan jam ke-24 adalah sebanyak 8 embrio, dari jumlah embrio yang hidup yaitu 13 embrio. Pada pengamatan berikutnya yaitu jam ke-72,

embrio hidup yang sebelumnya tidak terlihat detak jantungnya, sudah dapat diamati detak jantungnya, sehingga seluruh embrio yang hidup dapat teramati detak jantungnya. Embrio awal yang digunakan yaitu 20 embrio untuk masing-masing konsentrasi, untuk embrio lainnya yang tidak terlihat detak jantungnya disebabkan oleh kematian yang sudah terjadi pada saat embrio belum dapat teramati detak jantungnya.

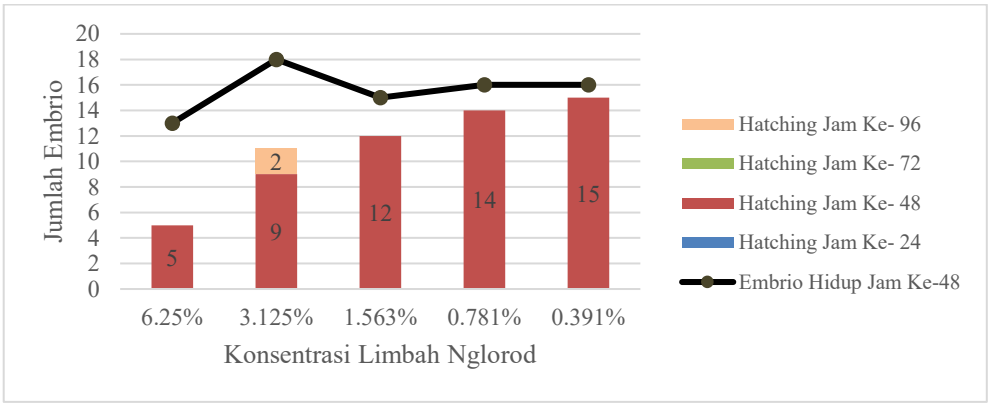
Berdasarkan grafik pada Gambar 4.18 (b), diketahui bahwa paparan limbah pewarnaan pada keseluruhan konsentrasi menunjukkan bahwa seluruh embrio yang bertahan hidup pada jam ke-48 menunjukkan adanya detak jantung terlihat dan tidak terdapat keterlambatan. Jumlah embrio yang terlihat detak jantungnya pada konsentrasi 50% dan 25% yaitu sebanyak 16 embrio, pada konsentrasi 12,5% yaitu 19 embrio, pada konsentrasi 6,25% yaitu 15 embrio, dan pada konsentrasi 3,125% yaitu 18 embrio. Untuk embrio lainnya dari total embrio yang digunakan yaitu 20 embrio pada awal pengamatan, embrio yang tidak terlihat detak jantungnya disebabkan oleh kematian sebelum embrio dapat teramati detak jantungnya.

Terlihatnya detak jantung pada limbah nglorod dan pewarnaan sudah dapat diamati pada pengamatan jam ke-48. Pada limbah nglorod, terlihat adanya keterlambatan detak jantung yang terlihat pada embrio pada jam pengamatan jam ke-48, namun pada pengamatan jam ke-72 keseluruhan detak jantung yang mengalami keterlambatan sudah terlihat. Namun, detak jantung yang sudah terlihat dapat mengalami pemberhentian detak jantung pada jam pengamatan selanjutnnya apabila embrio mengalami kematian. Frekuensi detak jantung dapat dipengaruhi oleh kadar senyawa toksik, kadar oksigen, *genetic defect* (kelainan), suhu, dan usia (Kusumawardani et al., 2021).

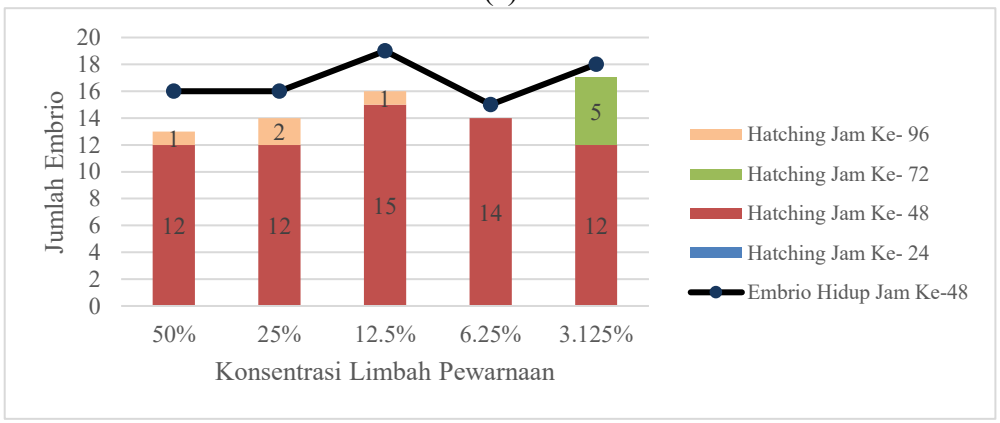
4.6.2.4 Hatching

Hatching merupakan proses penetasan atau keluarnya embrio dari lapisan pelindungnya atau korion. Pengamatan *hatching* atau penetasan pada embrio ikan zebra secara normal terjadi pada jam ke 48, dan berakhir pada jam ke 72. Apabila pada jam ke-48 embrio belum keluar dari korionnya, maka terdapat kemungkinan terjadinya keterlambatan ataupun kematian pada embrio. Berikut merupakan perbandingan grafik *hatching* pada setiap konsentrasi 6,25%, 3,125%, 1,563%,

0,781%, dan 0,391% uji toksisitas limbah nglorod, dengan grafik *hatching* pada setiap konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, dan 3,125% uji toksisitas limbah Pewarnaan.



(a)



(b)

Gambar 4. 19 (a) Hatching Embrio pada Uji Toksisitas Limbah Nglorod (b) Hatching Embrio pada Uji Toksisitas Limbah Pewarnaan

Berdasarkan grafik pada Gambar 4.19 (a), diketahui bahwa keseluruhan konsentrasi memiliki embrio hidup yang tidak mengalami penetasan hingga akhir pengamatan jam ke-96. Pada konsentrasi 6,25%, jumlah embrio hidup pada jam ke-48 yaitu 13 embrio. Namun, embrio yang mengalami *hatching* yaitu hanya berjumlah 5 embrio, dan 8 embrio lainnya tidak mengalami penetasan hingga akhir pengamatan. Pada konsentrasi 3,125%, jumlah embrio hidup pada jam ke-48 yaitu 18 embrio. Namun, hanya 11 embrio yang mengalami penetasan hingga akhir pengamatan, dengan jumlah 9 embrio mengalami penetasan pada pengamatan jam ke-48, dan 2 embrio pada pengamatan jam ke-96. Pada konsentrasi 1,563%, jumlah embrio yang mengalami hatching yaitu sebanyak 12 embrio pada pengamatan jam ke-48, dari jumlah awal embrio yang hidup pada

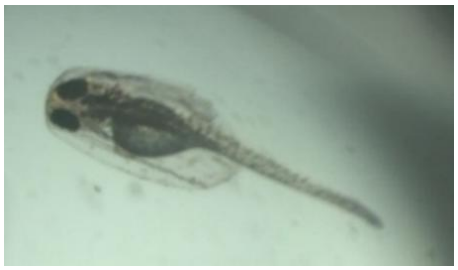
pengamatan jam ke-48 yaitu 15 embrio. Sedangkan pada 3 embrio lainnya, embrio tersebut tidak mengalami *hatching* hingga akhir pengamatan jam ke-96. Pada konsentrasi 0,781%, jumlah embrio yang mengalami hatching yaitu sebanyak 14 embrio pada pengamatan jam ke-48, dari jumlah awal embrio yang hidup pada pengamatan jam ke-48 yaitu 16 embrio. Sedangkan pada 2 embrio lainnya, embrio tersebut tidak mengalami *hatching* hingga akhir pengamatan jam ke-96. Pada konsentrasi 0,391%, jumlah embrio yang mengalami hatching yaitu sebanyak 15 embrio pada pengamatan jam ke-48, dari jumlah awal embrio yang hidup pada pengamatan jam ke-48 yaitu 16 embrio. Sedangkan pada 1 embrio lainnya, embrio tersebut tidak mengalami *hatching* hingga akhir pengamatan jam ke-96. Embrio yang tercatat tidak mengalami hatching dapat disebabkan oleh adanya keterlambatan proses penetasan, ataupun kematian sebelum mengalami masa penetasan. Berikut merupakan gambar embrio yang mengalami keterlambatan proses *hatching*, yang ditandai dengan belum keluarnya embrio dari korionnya.



Gambar 4. 20 Keterlambatan Hatching pada Embrio Pengamatan Jam Ke-96
Sumber: Dokumentasi Tugas Akhir

Berdasarkan grafik pada Gambar 4.19 (b), diketahui bahwa paparan limbah pewarnaan menyebabkan keseluruhan embrio tidak sepenuhnya mengalami penetasan atau *hatching.* Pada konsentrasi 50%, jumlah embrio yang mengalami hatching yaitu sebanyak 12 embrio pada pengamatan jam ke-48, dan bertambah pada 1 embrio pada pengamatan jam ke-96, dari jumlah awal embrio yang hidup pada pengamatan jam ke-48 yaitu 16 embrio. Sedangkan pada 3 embrio lainnya, embrio tersebut tidak mengalami *hatching* hingga akhir pengamatan jam ke-96. Pada konsentrasi 25%, jumlah embrio yang mengalami hatching yaitu sebanyak 12 embrio pada pengamatan jam ke-48, dan bertambah pada 2 embrio pada pengamatan jam ke-96, dari jumlah awal embrio yang hidup pada pengamatan jam ke-48 yaitu 16 embrio. Sedangkan pada 2 embrio lainnya,

embrio tersebut tidak mengalami *hatching* hingga akhir pengamatan jam ke-96. Pada konsentrasi 12,5%, jumlah embrio yang mengalami hatching yaitu sebanyak 15 embrio pada pengamatan jam ke-48, dan 1 embrio pada pengamatan jam ke-96, dari jumlah awal embrio yang hidup pada pengamatan jam ke-48 yaitu 19 embrio. Sedangkan pada 3 embrio lainnya, embrio tersebut tidak mengalami *hatching* hingga akhir pengamatan jam ke-96. Pada konsentrasi 6,25%, jumlah embrio yang mengalami hatching yaitu sebanyak 14 embrio pada pengamatan jam ke-48, dari jumlah awal embrio yang hidup pada pengamatan jam ke-48 yaitu 15 embrio. Sedangkan pada 1 embrio lainnya, embrio tersebut tidak mengalami *hatching* hingga akhir pengamatan jam ke-96. Pada konsentrasi 3,125%, jumlah embrio yang mengalami hatching yaitu sebanyak 12 embrio pada pengamatan jam ke-48, dan 5 embrio pada pengamatan jam ke-72, dari jumlah awal embrio yang hidup pada pengamatan jam ke-48 yaitu 18 embrio. Sedangkan pada 1 embrio lainnya, embrio tersebut tidak mengalami *hatching* hingga akhir pengamatan jam ke-96. Berikut merupakan gambar kelainan dalam proses *hatching*, dimana kepala embrio masih terjebak di dalam korion.



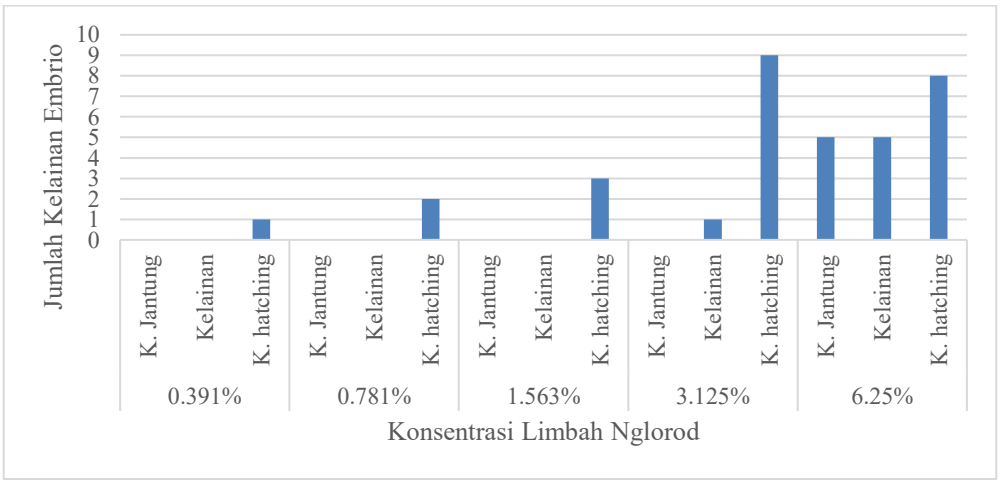
Gambar 4. 21 Kelainan pada Proses Hatching Pengamatan Jam Ke-96
Sumber: Dokumentasi Tugas Akhir

Terjadinya *hatching* embrio pada limbah nglorod dan pewarnaan sudah dapat diamati pada pengamatan jam ke-48. Pada limbah nglorod maupun limbah pewarnaan, terlihat adanya keterlambatan perkembangan embrio, serta tidak menetasnya beberapa embrio yang hidup hingga akhir pengamatan. Keterlambatan proses *hatching* dapat disebabkan oleh adanya gangguan perkembangan akibat terhambatnya kerja enzim korionase. Namun, embrio yang sudah mengalami *hatching* juga dapat mengalami kematian akibat terpapar oleh limbah nglorod maupun pewarnaan.

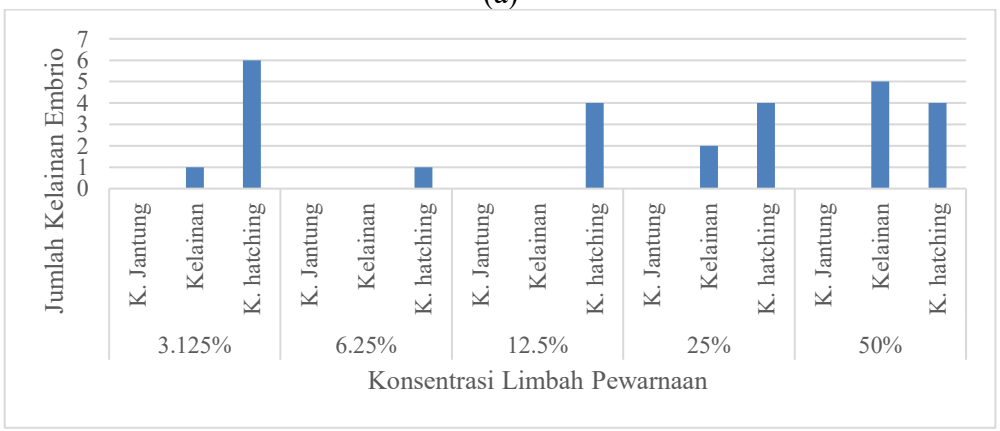
4.6.3 Kelainan

Kelainan yang dapat diamati pada embrio ikan zebra dapat berupa normal

atau tidaknya pertumbuhan ekor, bentuk kepala, mata, detak jantung, otak, notokorda, pigmentasi, darah, somit, maupun kantung kuning telur. Berdasarkan uji toksisitas yang dilakukan oleh Wiendarlina *et al.* (2022) yang melakukan uji toksisitas sediaan cair berbasis bawang putih menggunakan embrio ikan zebra terdapat abnormalitas berupa kelainan ekor, edema perikardium, edema kantong kuning telur, serta kelainan notokorda (Wiendarlina et al., 2022). Kelainan embrio yang teramati pada penelitian ini yaitu berupa keterlambatan pembentukan somit, keterlambatan pelepasan *tail-bud* dari *yolk*, keterlambatan terlihatnya detak jantung, dan keterlambatan proses *hatching*. Selain itu, kelainan lainnya seperti kelainan struktur tulang seperti soliosis, kelainan berupa edema perikardium dan edema yolk juga dapat diamati. Berikut merupakan perbandingan grafik kelainan pada uji toksisitas limbah nglorod dengan limbah Pewarnaan.



(a)



(b)

Gambar 4. 22 (a) Kelainan Embrio pada Uji Toksisitas Limbah Nglorod (b) Kelainan Embrio pada Uji Toksisitas Limbah Pewarnaan

Keterangan: K= Keterlambatan

Berdasarkan grafik pada gambar 4.22 (a), kelainan berupa keterlambatan pembentukan dan kelainan lainnya pada uji toksisitas limbah nglorod terdapat pada kelima konsentrasi. Pada konsentrasi 0,391%, 0,781%, dan konsentrasi 1,563%, terdapat keterlambatan pada proses penetasan atau *hatching* pada 1 embrio yang hidup pada konsentrasi 0,391%, 2 embrio pada konsentrasi 0,781%, dam 3 embrio pada konsentrasi 1,563%, dimana embrio tersebut tidak mengalami penetasan hingga akhir pengamatan jam ke-96. Pada konsentrasi 3,125%, terdapat kelainan berupa keterlambatan *hatching* pada 9 embrio, yang dimana embrio tersebut tidak mengalami penetasan hingga akhir pengamatan jam ke-96. Selain itu, terdapat kelainan berupa kelainan struktur tulang yaitu skoliosis pada 1 embrio. Pada konsentrasi 6,25%, terdapat keterlambatan detak jantung pada 5 embrio, yang dimana pada pengamatan jam ke-72, detak jantung tersebut sudah terlihat. Selain itu, terdapat 5 kelainan pada embrio yang berupa kelainan struktur tulang skoliosis, pembengkakan pada *yolk* embrio ikan, dan edema perikardium. Sedangkan pada keterlambatan hatching, terdapat 8 embrio hidup yang tidak mengalami penetasan hingga akhir pengamatan jam ke-96. Berikut merupakan gambar kelainan pembengkakan *yolk* pada embrio ikan zebra.



Gambar 4. 23 Skoliosis
Sumber: Dokumentasi Tugas Akhir



Gambar 4. 24 Edema Perikardium
Sumber: Dokumentasi Tugas Akhir



Gambar 4. 25 Edema Yolk pada Uji Toksisitas Limbah Nglorod
Sumber: Dokumentasi Tugas Akhir

Berdasarkan grafik pada gambar 4.22 (b), kelainan pada uji pendahuluan limbah pewarnaan juga terdapat pada kelima konsentrasi. Pada konsentrasi 3,125%, terdapat kelainan pada 1 embrio yang mengalami pertumbuhan tulang

belakang menjadi skoliosis. Selain itu, terdapat keterlambatan hatching pada 6 embrio, yang dimana embrio hidup tersebut tidak mengalami penetasan hingga akhir pengamatan. Pada konsentrasi 6,25%, terdapat keterlambatan penetasan pada 1 embrio, yang dimana embrio yang hidup tersebut tidak mengalami penetasan hingga akhir pengamatan jam ke-96. serta 4 embrio pada konsentrasi 12,5%. Pada konsentrasi 25%, terdapat 2 kelainan dimana kepala embrio masih terjebak didalam korion. Selain itu, terdapat keterlambatan *hatching* pada 4 embrio dimana pada 2 embrio baru mengalami penetasan pada jam ke-96, dan 2 embrio lainnya tidak mengalami penetasan hingga akhir pengamatan. Pada konsentrasi 50%, terdapat 5 kelainan berupa edema atau pembengkakan pada yolk, kelainan struktur tulang berupa skoliosis, dan edema perikardium, serta keterlambatan *hatching* pada 4 embrio, yang dimana 1 embrio baru menetas pada pengamatan jam ke-96, dan 3 embrio lainnya tidak mengalami penetasan hingga akhir pengamatan.

Kelainan pada pertumbuhan embrio ikan zebra dapat berupa kelainan struktur tulang, edema perikardial atau pembengkakan pada daerah jantung, ataupun edema pada kantong kuning telur (*yolk*), dan malformasi rahang. Kelainan ini dapat disebabkan oleh terpaparnya embrio ikan zebra oleh limbah yang mengandung senyawa aktif, yang terdifusi melalui *yolk* atau kantong kuning telur, sehingga dapat menghambat kerja enzim korionase. Penghambatan kerja enzim korionase ini dapat menyebabkan gangguan pada proses penetasan embrio, seperti gagalnya embrio keluar dari korion (kegagalan penetasan) atau terjadinya abnormalitas pada embrio yang berhasil keluar dari korion akibat adanya akumulasi senyawa aktif pada embrio (Paramita et al., 2021). Kelainan pada pertumbuhan embrio ikan zebra pada uji toksisitas limbah nglorod dan limbah pewarnaan yang terlihat yaitu berupa kelainan pada struktur tulang seperti skoliosis, edema perikardial, serta edema pada kantong kuning telur (*yolk*). Hal ini disebabkan oleh adanya efek dari paparan limbah, yang menyebabkan gangguan morfologis pada embrio ikan.

4.7 Perhitungan Toksisitas

Perhitungan toksisitas untuk menentukan nilai LC_{50} dilakukan dengan menggunakan metode *spearman-karber*. Metode ini dipilih karena pada uji pendahuluan dan toksisitas terdapat kematian pada konsentrasi paling rendah dan kematian total pada konsentrasi tertinggi. Setelah melakukan perhitungan menggunakan *spearman-karber*, maka dapat dilanjutkan dengan menghitung nilai *Toxic Unit Acute* (TUa). Semakin rendah nilai LC_{50} yang dihasilkan, maka nilai TUa akan semakin tinggi atau semakin akut.

4.7.1 LC_{50}

Berikut merupakan hasil perhitungan LC_{50} menggunakan metode *spearman-karber* pada limbah nglorod dan pewarnaan.

Tabel 4. 3 Hasil Nilai Perhitungan LC50

No	Limbah	LC_{50}	Rentang Bawah LC_{50}	Rentang Atas LC_{50}
1	Nglorod	3,79	2,61	5,49
2	Pewarnaan	23,73	17,95	31,37

Pada Tabel 4.3 diketahui bahwa nilai LC_{50} pada limbah nglorod yaitu sebesar 3,79, dan nilai LC_{50} pada limbah pewarnaan adalah 23,73. Pada perhitungan menggunakan metode *spearman-karber*, terdapat perhitungan estimasi variasi (V(m)) untuk menghitung rentang atas dan bawah LC_{50} dengan menggunakan rumus $m \pm 2\sqrt{V(m)}$. m merupakan nilai dari log 10 dari estimasi kematian untuk LC_{50}. Pada limbah nglorod, diketahui nilai m yaitu 0,579 dan nilai V(m) yaitu 0,006, sehingga didapatkan batas bawah LC_{50} yaitu 2,61 dan batas atas LC_{50} yaitu 5,49. Pada limbah pewarnaan, diketahui nilai m yaitu 1,3175 dan nilai V(m) yaitu 0,004, sehingga didapatkan batas bawah LC_{50} yaitu 17,95 dan batas atas LC_{50} yaitu 31,37.

4.7.2 Toxic Unit Acute (TUa)

Berikut merupakan hasil nilai perhitungan LC_{50} dan TUa yang telah dilihat berdasarkan tabel 3.3 klasifikasi toksisitas akut.

Tabel 4. 4 Hasil Nilai Perhitungan TUa

No	Limbah	LC_{50}	TUa	Kelas	Tingkat Toksisitas
1	Nglorod	3,79	26,38	*Class* III	*High Acute Toxicity*
2	Pewarnaan	23,73	4,21	*Class* II	*Significant Acute Toxicity*

Berdasarkan Tabel 4.4, diketahui bahwa limbah nglorod Industri Batik X

berkategori toksisitas akut tinggi dengan nilai LC_{50} sebesar 3,79. Sedangkan pada limbah pewarnaan Industri Batik X berkategori toksisitas akut yang signifikan dengan nilai LC_{50} sebesar 23,73.

4.8 Keterkaitan Parameter Fisik dan Kimia Limbah dengan Uji Toksisitas

Parameter fisik dan kimia air limbah memiliki peran penting dalam menentukan tingkat toksisitas air limbah terhadap embrio ikan zebra (*Danio rerio*). Pada penelitian ini, paparan limbah batik, baik limbah nglorod maupun pewarnaan memiliki pengaruh yang nyata terhadap respon biologis embrio ikan. Pada pengujian limbah nglorod, terdapat enam parameter yang tidak memenuhi standar baku mutu Peraturan Daerah DI Yogyakarta Nomor 7 Tahun 2016, yaitu BOD_5, COD, TSS, fenol, sulfida, dan minyak dan lemak. Sedangkan pada pengujian limbah pewarnaan, terdapat empat parameter yang tidak memenuhi standar baku mutu, yaitu BOD_5, TSS, sulfida, dan pH. Hasil pengujian LC_{50} pada limbah nglorod menunjukkan nilai 3,79 dengan TUa sebesar 26,38 dan termasuk pada toksisitas akut tinggi, serta pengujian LC_{50} pada limbah pewarnaan menunjukkan nilai 23,73 dengan TUa sebesar 4,21 dan termasuk pada toksisitas akut signifikan.

Nilai BOD yang tinggi pada limbah, mengindikasikan adanya kandungan bahan organik berbahaya yang tidak terurai dengan baik, sehingga dapat berpengaruh pada kematian organisme yang tidak tahan terhadap rendahnya kadar oksigen (Rizal et al., 2025). Nilai COD yang tinggi mengindikasikan banyaknya oksigen yang dibutuhkan untuk mengoksidasi bahan organik melalui proses kimia. Kadar TSS yang tinggi juga dapat menyebabkan kekeruhan pada air, sehingga dapat mempengaruhi proses fotosintesis dan pertumbuhan organisme air seperti ikan dan plankton.

Fenol pada air limbah bersifat racun dan korosif, sehingga dapat menyebabkan berkurangnya kadar oksigen terlarut. Hal ini dapat menyebabkan efek serius pada mikroorganisme, meskipun pada konsentrasi rendah (Ayuningtyas, 2020). Kandungan kromium pada air limbah dapat menurunkan kualitas air, sehingga berbahaya bagi lingkungan serta organisme akuatik. Kandungan kromium pada air dapat menghalangi kerja enzim dalam proses

fisiologis, sehingga menyebabkan gangguan pada metabolisme tubuh. Selain itu, kromium dapat menyebabkan penumpukan pada tubuh sehingga bersifat kronis, dan dapat menyebabkan kematian (Cahyanto et al., 2017). Kromium pada limbah bersifat kronis dan dapat menumpuk dalam tubuh, sehingga menyebabkan kematian pada organisme akuatik akibat keracunan akut maupun kronis (Setiyono & Gustaman, 2017). Berdasarkan penelitian Andriani & Hartini, 2017, pada uji toksisitas limbah cair industri batik terhadap morfologi sisik ikan nila *gift* (*Oreochomis nilotocus*), diketahui krom dapat menyebabkan gangguan hemoglobin pada sistem transportasi hewan, yang menyebabkan gangguan pada respirasi dalam tubuh ikan dan dapat menyebabkan kematian apabila berlangsung secara terus menerus.

Amonia pada limbah dapat mempengaruhi peningkatan kebutuhan oksigen di jaringan ikan. Selain itu, amonia dapat merusak insang, dan mengurangi kapabilitas darah dalam mengangkut oksigen (Nurdin et al., 2022). Amonia pada air limbah berpengaruh pada berkurangnya oksigen dalam perairan, sehingga dapat menyebabkan kematian pada organisme (Widyayanti et al., 2023). Sulfida pada air limbah dapat menyebabkan terjadinya pengurangan oksigen dalam air, sehingga dapat menjadi racun bagi ikan. Selain itu, sulfida dapat menaikkan pH pada air (Suryaningsih, 1993).

Minyak dan lemak pada air limbah dapat menutupi badan air, yang dapat mengganggu masuknya penetrasi sinar matahari dan oksigen sehingga dapat mengganggu aktivitas biologis (Faradillah & Pujiastuti, 2022). Nilai rentang pH yang baik bagi organisme akuatik umumnya berkisar 7 – 8,5. Aktivitas mikroorganisme yang sangat baik terjadi pada pH dalam rentang 6,5 – 8,3. Pada pH yang sangat tinggi ataupun sangat rendah dapat menyebabkan tidak aktifnya aktivitas mikroorganisme, bahkan dapat menyebabkan kematian (Pamungkas, 2016).

BAB V
PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil uji toksisitas dan parameter toksik kimia pada limbah industri batik proses pelorodan dan pewarnaan, diperoleh kesimpulan:

1. Nilai LC_{50} pada limbah nglorod sebesar 3,79 dengan nilai TUa sebesar 26,38 dengan kategori toksisitas akut tinggi. Sedangkan pada limbah pewarnaan, Nilai LC_{50} pada limbah pewarnaan sebesar 23,72 dengan nilai TUa sebesar 4,21 dengan kategori toksisitas akut signifikan.
2. Hasil pengujian sampel air limbah nglorod menunjukkan kadar BOD_5, COD, TSS, fenol, sulfida, dan minyak dan lemak tidak memenuhi baku mutu yang ditetapkan. Kadar BOD_5 sebesar 453 mg/L, COD sebesar 756 mg/L, TSS sebesar 992 mg/L, fenol sebesar 0,9 mg/L, sulfida sebesar 9 mg/L, dan minyak dan lemak sebesar 24,4 mg/L. Sedangkan pada sampel air limbah pewarnaan, hasil pengujian menunjukkan kadar BOD_5, TSS, sulfida, dan pH tidak memenuhi baku mutu yang ditetapkan. Kadar BOD_5 sebesar 128 mg/L, TSS sebesar 832 mg/L, sulfida sebesar 1,05 mg/L, dan pH sebesar 10.
3. Hasil penelitian pada karakteristik air limbah parameter fisik dan kimia dengan hasil uji toksisitas memiliki hubungan yang kuat, dimana parameter seperti BOD, COD, TSS, fenol, sulfida, pH, dan logam berat seperti kromium berkontribusi terhadap peningkatan toksisitas yang ditunjukkan oleh respon biologis embrio ikan zebra (*Danio rerio*) melalui kematian, kelainan, dan gangguan perkembangan embrio.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil uji toksisitas pada limbah industri batik proses nglorod dan pewarnaan, maka saran dan rekomendasi yang perlu dipertimbangkan untuk penelitian selanjutnya yaitu sebagai berikut:

1. Melakukan pengujian limbah nglorod dan pewarnaan dalam waktu yang sama untuk semua konsentrasi.

2. Melakukan pengujian pada semua batch aquabides yang akan digunakan untuk pengenceran.

DAFTAR PUSTAKA

Andriani, R., & Hartini. (2017). Toksisitas Limbah Cair Industri Batik terhadap Morfologi Sisik Ikan Nila GIFT (Oreochomis nilotocus). *Jurnal SainHealth*, *1*(2), 32–40.

Apriyani, N. (2018). Industri Batik: Kandungan Limbah Cair dan Metode Pengolahannya. *Media Ilmiah Teknik Lingkungan*, *3*(1), 21–29.

Arohmah, N. E., & Rachmanto, T. A. (2023). *Penurunan Konsentrasi COD Limbah Cair Industri Batik Jetis Pada Proses Aklimatisasi Menggunakan Mikroorganisme Bacillus sp. 2*, 82–87.

Ayuningtyas, E. (2020). Penurunan Kadar Warna dan Fenol Air Limbah Batik menggunakan Metode Advanced Oxidation Processes (AOPs) berbasis Ozon-GAC. *Jurnal Rekayasa Lingkungan*, *20*(2), 31–37.

Cahyanto, T., Sudjarwo, T., Widayanti, R., & Shalikha, M. (2017). Pengaruh Air Limbah Celupan Batik di Parakannyasag Tasikmalaya terhadap Pertumbuhan Ki Apu (Pistia stratiotes L.). *Biota*, *3*(2), 76–82. https://doi.org/10.19109/biota.v3i2.1318

Diyah, N., Ratuannisa, T., Ekawati, E., Yulia, E., Purwasasmita, B. S., & Nugraha, A. B. (2023). Studi Pengolahan Air Limbah Batik pada Skala Industri Rumah Tangga dan Usaha Kecil Menengah di Cirebon, Indonesia. *Jurnal Dampak*, *20*(1), 8–15. https://doi.org/10.25077/dampak.20.1.8-15.2023

Erlita, D., Darmanijati, M., & Munandar, S. (2022). Reduksi Kandungan COD dan BOD pada Limbah Cair Batik menggunakan Metode Fitoremidiasi. *Jurnal Pendidikan Sains Dan Komputer*, *2*(1), 2809–476. https://doi.org/10.47709/jpsk.v2i1.1340

Faradillah, V. N. K., & Pujiastuti, P. (2022). Potensi Pencemaran Minyak Lemak dari Air Limbah Rumah Makan. *Jurnal Kimia Dan Rekayasa*, *3*(1), 11–20. http://kireka.setiabudi,ac.id

Fasmina, M. F. A., Jayamanne, S. C., Liyanage, N. P. P., Perera, J. L. C. S., & De Silva, D. P. N. (2021). Dermination of the Toxicity Gause by Trace Metals on Zebrafish (Danio rerio) Embryo. *Journal of Aquaculture and Fish Health*, *10*(2). https://doi.org/10.20473/jafh.v10i2.21496

Fidiastuti, H. R., & Lathifah, A. S. (2018). *Uji Karakteristik Limbah Cair Industri Batik Talungagung: Penelitian Pendahuluan*. 296–300.

Haryanto, T., & Suheryanto, D. (2008). Analisa Pengaruh Soda Abu terhadap Pelorodan Lilin Batik dan Kekuatan Tarik Kain Batik Sutera. *Dinamika Kerajinan Dan Batik*, *25*, 17–26.

Indrayani, L. (2018). Pengolahan Limbah Cair Industri Batik sebagai Salah Satu Percontohan IPAL Batik di Yogyakarta. *Ecotrophic*, *12*(2), 173–184.

Juliardi, N. R., Andini, N., & As, Y. (2020). Analisis Toksisitas Limbah Cair Batik Tulis dan Bioconcentration Factor Ikan Sepat (Trichogaster tricopterus). *JURNAL ENVIROTEK*, *12*, 19–26.

Kusumawardani, A. K., Martino, Y. A., & Aini, N. (2021). *Efek Teratogenik Kadmium Klorida (CdCl2)terhadap Frekuensi Denyut Jantung dan Struktur Perikardium pada Embrio Ikan Zebra (Danio rerio)*.

Lestari, K. S., Istiqomah, A. N., Susilawati, E., & Khasanah, N. (2024). Nidaul Khasanah Nama Penulis Pertama, Penulis Kedua. *Dst Kurniasih Jurnal Farmagazine*, *XI*(1), 1–8. https://doi.org/10.47653/farm.v11i1.736

Mualifah, A. (2016). Toksisitas Limbah Cair Pabrik Batik Terhadap Kelangsungan Hidup, Struktur Histologik Ginjal, dan Daging Ikan Nila (Oreochromis niloticus). *Jurnal Biologi*, *5*(4).

Mulyani, T., Julianti, C. I., & Sihombing, R. (2020). Tinjauan Pustaka : Teknik Pengujian Toksisitas Teratogenik Pada Obat Herbal. *Jurnal Farmasi Udayana*, *9*(1), 31–36. https://doi.org/10.24843/jfu.2020.v09.i01.p05

Natalina, & Firdaus, H. (2017). *Penurunan Kadar Kromium Heksavalen (Cr 6+) Dalam Limbah Batik Menggunakan Limbah Udang (Kitosan)*. *38*, 99–102. https://doi.org/10.14710/teknik.v38n2.13403

Nilasari, N. I., Wulandari, S. N., & Susilowati. (2020). *Penurunan COD, TDS, TSS, Warna pada Limbah Batik dengan Berbagai Jenis Koagulan*.

Nugroho, H., Pasaribu, M., & Ismail, S. (2018). Toksisitas Akut Ekstrak Albertisia papuana Becc. pada Daphnia magna dan Danio rerio Acute toxicity extract of Albertisia papuana Becc. on Daphnia magna and Danio rerio. *Biota*, *3*(3), 96–103.

Nurdin, M. I., Yasser, M., Sukasri, A., & Damayanti, J. D. (2022). *Efisiensi Penggunaan Bioball dalam Proses Adsorpsi Amonia pada Air Limbah*.

Pamungkas, O. A. (2016). Studi Pencemaan Limbah Cair dengan Parameter BOD5 dan pH di Pasar Ikan Tradisional dan Pasar Modern di Kota Semarang. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, *4*, 166–175. http://ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/jkm

Pangestuti, A. D., Juliani, A., & Wulandari, D. (2018). *Uji Toksisitas Akut Limbah Cair Kampung Batik Giriloyo Terhadap Ikan Mas (Cyprinus carpio) dengan menggunakan Reaktor Kombinasi Anaerob-Aerob*.

Paramita, A., Wibowo, I., & Insanu, M. (2021). penyebab kelainan pada embriosisitas Akut Lima Rimpang Suku Zingiberaceae menggunakan Embrio Ikan Zebra. *Acta Pharmaceutica Indonesia*, *4*(2), 1–8. https://journals.itb.ac.id/index.php/acta/article/view/16093/5593

Prahastuti, M. S., Ain, C., & Sulardiono, B. (2013). Dampak Surfaktan Berbahan Aktif Na-ABS terhadap Daya Tetas Telur Ikan Karper (Cyprinus carpio) dalam Skala Laboratorium. *DIPONEGORO JOURNAL OF MAQUARES*, *2*(4), 11–17. http://ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/maquares

Pratiwi, Y., Hastutiningrum, S., & Suyadi, K. D. (2016). *Uji Toksisitas Limbah Cair Batik Sebelum dan Sesudah Diolah dengan Tawas dan Super Flok Terhadap Bioindikator (Cyprinus carpio L)*. 571–579.

Purwaningrum, S. I. (2024). Analisis Pengelolaan Air Batik sebagai Upaya Penerapan Produksi Bersih Kota Jambi. *Jurnal Pembangunan Berkelanjutan*, *7*(1), 45–55. https://doi.org/10.22437/jpb.v7i2.38203

Rahardja, I. B., Siregar, A. L., & Sihotang, A. W. L. B. (2020). Pengaruh Penggunaan Soda Ash terhadap Parameter pH dan Turbidity pada External Water Treatment (Studi Kasus di Pabrik Minyak Kelapa Sawit (PMKS) XYZ, Kalimantan Utara). *Jurnal Teknologi*, *1*, 9–20. https://doi.org/10.24853/jurtek.12.1.9-20

Riskiyani, D. (2024). *Uji Toksisitas Limbah Cair Industri Batik menggunakan Metode Whole Effluent Toxicity (WET) menggunakan Zebra Fish (Danio rerio)*.

Rizal, Z., Abida, I. W., & Putri, R. R. (2025). Kandungan Biological Oxygen Demand (BOD) dan Total Suspended Solid (TSS) pada Aliran Sungai Desa Klampar Kecamatan Proppo Kabupaten Pemekasan. *Prosiding Seminar Nasional Sains Dan Teknologi Seri III Fakultas Sains Dan Teknologi*, *2*(1).

Sasmito, W. A., Wijayanti, A. D., Fitriana, I., & Sari, P. W. (2015). Pengujian Toksisitas Akut Obat Herbal Pada Mencit Berdasarkan Organization for Economic Co-operation and Development (OECD). *Jurnal Sain Veteriner*, *233*, 234–239.

Setiasih, I. S., Hanidah, I.-I., Wira, D. W., Rialita, T., & Sumanti, D. M. (2016). Uji Toksisitas Kubis Bunga Diolah Minimal (KBDM) Hasil Ozonasi. *Jurnal Penelitian Pangan (Indonesian Journal of Food Research)*, *1*(1), 22–26. https://doi.org/10.24198/jp2.2016.vol1.1.04

Setiyono, A., & Gustaman, R. A. (2017). Pengendalian Kromium (Cr) yang Terdapat di Limbah Batik dengan Metode Fitoremediasi. *Unnes Journal of Public Health*, *6*(3). http://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/ujph

Sofyana, N. R., Herlinawati, Musyarrafah, & Adnyana, I. G. A. (2024). Uji Aktivitas Antibakteri Eksrak Etanol Daun Manggis (Garcinia mangostana L.) terhadap Bakteri Staphylococcus aureus dan Escherichia coli. *Jurnal Ilmu Kedokteran Dan Kesehatan*, *11*(4), 668–678. http://ejurnalmalahayati.ac.id/index.php/kesehatan

Subagyo, P. K., & Soelityowati. (2021). Pengaruh Zat Pewarna Sintetis terhadap Pewarnaan Kain Batik. *Folio*, *2*(2), 40–48.

Suryaningsih, P. E. (1993). Penerapan Dasar Perhitungan Kebutuhan Katalisator untuk Oksidasi Sulfida. *Majalah Barang Kulit, Karet Dan Platik*, *9*(17), 25–33.

Triatmanto, B., Sanusi, A., & Siswati, A. (2019). Pemberdayaan UKM Batik Seng Desa Sengguruh Kabupaten Malang. *PEDULI: Jurnal Ilmiah Pengabdian Pada Masyarakat*, *3*(1). http://peduli.wisnuwardhana.ac.id/index.php/peduli/index

Vaajasaari, K. (2005). *Leaching and Ecotoxicity Tests as Methods for Classification and Assessment of Environmental Hazard of Solid Wastes Tampere 2005*.

Widyastuti, D., Mukhlison, Kamulyan, B., Mayani, M., Rofi'i, I., Rachman, N. F., & Albihad, D. (2019). Kajian Limbah Kerajinan Batik Kayu di Desa Wisata Krebet Daerah Istimewa Yogyakarta. *JURNAL KESEHATAN LINGKUNGAN INDONESIA*, *18*(1), 50–56. https://doi.org/10.14710/jkli.18.1.50-56

Widyayanti, O. A., Inayah, M. N., Marwati, E., & Pratiwi, M. I. N. (2023). Deteksi Kadar Amonia (NH3) pada Air Limbah Domestik di Rumah Makan Ajibarang Purwokerto. *Corona: Jurnal Ilmu Kesehatan Umum, Psikolog, Keperawatan Dan Kebidanan*, *1*(2), 01–09. https://doi.org/10.61132/corona.v1i2.662

Wiendarlina, I. Y., Herlina, N., & Mareta, E. (2022). Toksisitas Akut Sediaan Cair berbasis Bawang Putih dengan Metode Zebrafish Embryo Toxicity (ZFET).

FITOFARMAKA: Jurnal Ilmiah Farmasi, *12*(1), 78–88. https://doi.org/10.33751/jf.v12i1.3883

Wijaya, R. C. (2020). Lethal Concentration 50% of Pathchouli Oil (Pogostemon cablin) Towards Zebrafish Embryo (Danio rerio). *Herb-Medicine Journal*, *3*, 1–6.

Zulaifah, N., Rosyidah, U., & Andriani, R. (2021). Dampak Pembuangan Limbah Tapioka terhadap Kualitas Air Sungai di Desa Ngemplak Kidul Pati. *Prosiding Seminar Nasional Penelitian Dan Pengabdian Masayarakat*, *6*(1), 331–334. http://prosiding.unirow.ac.id/index.php/SNasPPM

LAMPIRAN I
ETHICAL CLEARANCE

Lampiran I. 1 Ethical Clearance

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA

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 / *Principal Investigator* : **Any Juliani**

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

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 tengan 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 II
UJI FISH EMBRYO TOXICITY (FET)

1. **Uji Validitas**

   Barikut merupakan data jumlah mortalitas embrio pada uji validitas:

Lampiran II. 1 Data Jumlah Kematian Embrio pada Uji Validitas

Parameter	EMBRIO HIDUP				KEMATIAN			
	Jam Ke-				Jam Ke-			
	24	48	72	96	24	48	72	96
Negative Control	20	20	20	20	0	0	0	0
Positive Control	11	5	1	0	9	15	19	20

Berikut merupakan data jumlah perkembangan embrio pada uji validitas:

Lampiran II. 2 Data Jumlah Perkembangan Embrio pada Uji Validitas

Parameter	Somit				Pelepasan Tail-Bud				Detak Jantung				Hatching			
	Jam Ke-				Jam Ke-				Jam Ke-				Jam Ke-			
	24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96
6.25%	20	0	0	0	20	0	0	0	0	20	0	0	0	12	8	0
3.125%	11	0	0	0	11	0	0	0	0	5	0	0	0	0	1	0

2. **Limbah Nglorod**

   Berikut merupakan data jumlah kematian embrio pada uji toksisitas limbah nglorod

Lampiran II. 3 Data Jumlah Kematian Embrio pada Limbah Nglorod

KONSENTRASI	EMBRIO HIDUP				KEMATIAN			
	Jam Ke-				Jam Ke-			
	24	48	72	96	24	48	72	96
6.25%	14	13	10	9	6	7	10	11
3.125%	18	18	18	18	2	2	2	2
1.563%	15	15	15	15	5	5	5	5
0.781%	17	16	14	14	3	4	6	6
0.391%	16	16	16	16	4	4	4	4
0.195%	16	16	15	15	4	4	5	5
0.098%	18	18	18	18	2	2	2	2
0.049%	16	16	16	16	4	4	4	4
0.024%	17	17	17	17	3	3	3	3

Berikut merupakan data jumlah perkembangan embrio pada uji toksisitas limbah nglorod

Lampiran II. 4 Data Jumlah Perkembangan Embrio pada Limbah Nglorod

Total Embrio	Konsentrasi	Somit				Pelepasan Tail-Bud				Detak Jantung				Hatching			
		Jam Ke-				Jam Ke-				Jam Ke-				Jam Ke-			
		24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96
20	6.25%	14	0	0	0	14	0	0	0	0	8	5	0	0	5	0	0
	3.125%	18	0	0	0	18	0	0	0	0	18	0	0	0	9	0	2
	1.563%	15	0	0	0	15	0	0	0	0	15	0	0	0	12	0	0
	0.781%	17	0	0	0	17	0	0	0	0	16	0	0	0	14	0	0
	0.391%	16	0	0	0	16	0	0	0	0	16	0	0	0	15	0	0
	0.195%	16	0	0	0	16	0	0	0	0	16	0	0	0	15	0	0
	0.098%	18	0	0	0	18	0	0	0	0	18	0	0	0	17	0	0
	0.049%	16	0	0	0	16	0	0	0	0	16	0	0	0	16	0	0
	0.024%	17	0	0	0	17	0	0	0	0	17	0	0	0	17	0	0

Berikut merupakan data jumlah perkembangan embrio pada uji toksisitas limbah nglorod

Lampiran II. 5 Data Jumlah Kelainan Embrio pada Limbah Nglorod

Konsentrasi	Parameter	Kelainan
0.024%	K. Jantung	0
	Kelainan	0
	K. hatching	0
0.049%	K. Jantung	0
	Kelainan	0
	K. hatching	0
0.098%	K. Jantung	0
	Kelainan	0
	K. hatching	1
0.195%	K. Jantung	0
	Kelainan	1
	K. hatching	1
0.391%	K. Jantung	0
	Kelainan	0
	K. hatching	1
0.781%	K. Jantung	0
	Kelainan	0
	K. hatching	2
1.563%	K. Jantung	0
	Kelainan	0
	K. hatching	3
3.125%	K. Jantung	0
	Kelainan	1
	K. hatching	9
6.25%	K. Jantung	5
	Kelainan	5
	K. hatching	8

3. **Limbah Pewarnaan**
   Berikut merupakan data jumlah kematian embrio pada uji toksisitas limbah pewarnaan

Lampiran II. 6 Data Jumlah Kematian Embrio pada Limbah Pewarnaan

KONSENTRASI	EMBRIO HIDUP				KEMATIAN			
	Jam Ke-				Jam Ke-			
	24	48	72	96	24	48	72	96
50%	16	16	13	6	4	4	7	14
25%	16	16	16	16	4	4	4	4
12.5%	19	19	19	19	1	1	1	1
6.25%	15	15	15	15	5	5	5	5
3.13%	18	18	18	18	2	2	2	2
1.56%	15	15	15	15	5	5	5	5

Berikut merupakan data jumlah perkembangan embrio pada uji toksisitas limbah Pewarnaan

Lampiran II. 7 Data Jumlah Perkembangan Embrio pada Limbah Pewarnaan

Total Embrio	Konsentrasi	Somit				Pelepasan Tail-Bud				Detak Jantung				Hatching			
		Jam Ke-				Jam Ke-				Jam Ke-				Jam Ke-			
		24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96
20	50%	16	0	0	0	16	0	0	0	0	16	0	0	0	12	0	1
	25%	16	0	0	0	16	0	0	0	0	16	0	0	0	12	0	2
	12.5%	19	0	0	0	19	0	0	0	0	19	0	0	0	15	0	1
	6.25%	15	0	0	0	15	0	0	0	0	15	0	0	0	14	0	0
	3.125%	18	0	0	0	18	0	0	0	0	18	0	0	0	12	5	0
	1.563%	15	0	0	0	15	0	0	0	0	15	0	0	0	15	0	0

Berikut merupakan data jumlah perkembangan embrio pada uji toksisitas limbah nglorod

Lampiran II. 8 Data Jumlah Kelainan Embrio pada Limbah Pewarnaan

Konsentrasi	Parameter	% Kelainan
1.563%	K. Jantung	0
	Kelainan	0
	K. hatching	0
3.125%	K. Jantung	0
	Kelainan	1
	K. hatching	6
6.25%	K. Jantung	0
	Kelainan	0
	K. hatching	1
12.5%	K. Jantung	0
	Kelainan	0
	K. hatching	4
25%	K. Jantung	0
	Kelainan	2
	K. hatching	4
50%	K. Jantung	0
	Kelainan	5
	K. hatching	4

4. **Perhitungan LC_{50} Limbah Nglorod**

Lampiran II. 9 Perhitungan LC50 Limbah Nglorod

Kode	Konsentrasi (x)	Jumlah Hewan Uji	Jumlah Organisme Mati	Proporsi Kematian (P i)	Rata-Rata Proporsi Kematian (Ps i)	Penyesuaian Rata-Rata Proporsi kematian (Pa i)	log 10 (x)	m	m total	estimasi variance (V(m))	Estimasi Variance (V(m)) total
P0	Kontrol	20	0	0	0	0.000			0.579		0.006
P1	0.024		3	0.15	0.15	0.150	-1.62	0.000			
P2	0.049		4	0.2	0.15	0.150	-1.31	0.000		0.000626326	
P3	0.098		2	0.1	0.15	0.150	-1.01	-0.064		0.000603622	
P4	0.195		5	0.25	0.2250	0.225	-0.71	0.000		0.000828606	
P5	0.391		4	0.2	0.2250	0.225	-0.41	0.002		0.000833206	
P6	0.781		6	0.3	0.2167	0.217	-0.11	0.000		0.000808731	
P7	1.563		5	0.25	0.2167	0.217	0.19	0.000		0.000809851	
P8	3.125		2	0.1	0.2167	0.217	0.49	0.215		0.000809104	
P9	6.25		11	0.55	0.55	0.550	0.80	0.426		0.001180432	
P10	12.5		20	1	1	1.000	1.10	0.000		0	
P11	25		20	1	1	1.000	1.40	0.000		0	
P12	50		20	1	1	1.000	1.70	0.000		0	
P13	100		20	1	1	1.000	2.00				

Proporsi kematian (P_i) = $\frac{\text{Jumlah orgsnisme mati}}{\text{Jumlah hewan uji}}$

Jika $P_0 \leq P_1 \leq \ldots\ldots \leq P_k$ maka penyelesaian adalah dengan merata-ratakan nilai menggunakan rumus

$$P_{i-1}^{S} = \frac{(P_i + P_{i+1})}{2}$$

Dimana P_i^S = penyesuaian (smooth-s) proporsi kematian pada konsentrasi i

Contoh pada kasus ini, P_2 tidak lebih kecil dari P_3, dan diketahui bahwa proporsi kematian pada P2 dan P3 adalah 0,2 dan 0,1 maka:

$P_2^S = P_3^S = \frac{(P_i + P_{i+1})}{2} = \frac{(0{,}2 + 0{,}1)}{2} = 0{,}15$

Langkah selanjutnya yaitu menghitung penyesuaian rata-rata proporsi kematian pada konsentrasi i, menggunakan rumus:

$$P_i^a = \frac{(P_i^S + P_0^S)}{1 - P_0^S}$$

Dimana:

P_i^S = rata-rata proporsi kematian pada konsentrasi i

P_0^S = rata-rata proporsi kematian pada kontrol

P_i^a = penyesuaian rata rata proporsi kematian pada konsentrasi i

Sehingga contoh perhitungan penyesuaian rata rata pada P_1^a adalah sebagai berikut:

$P_1^a = \frac{(0{,}15 + 0)}{1-0} = 0{,}15$

Menghitung log10 dari estimasi kematian untuk LC50, menggunakan rumus:

$$m = \frac{(P_{i+1}^a - P_i^a)(X_i + X_{i+1})}{2}$$

Dimana:

X_i = LOG 10 konsentrasi (misalnya log 100)

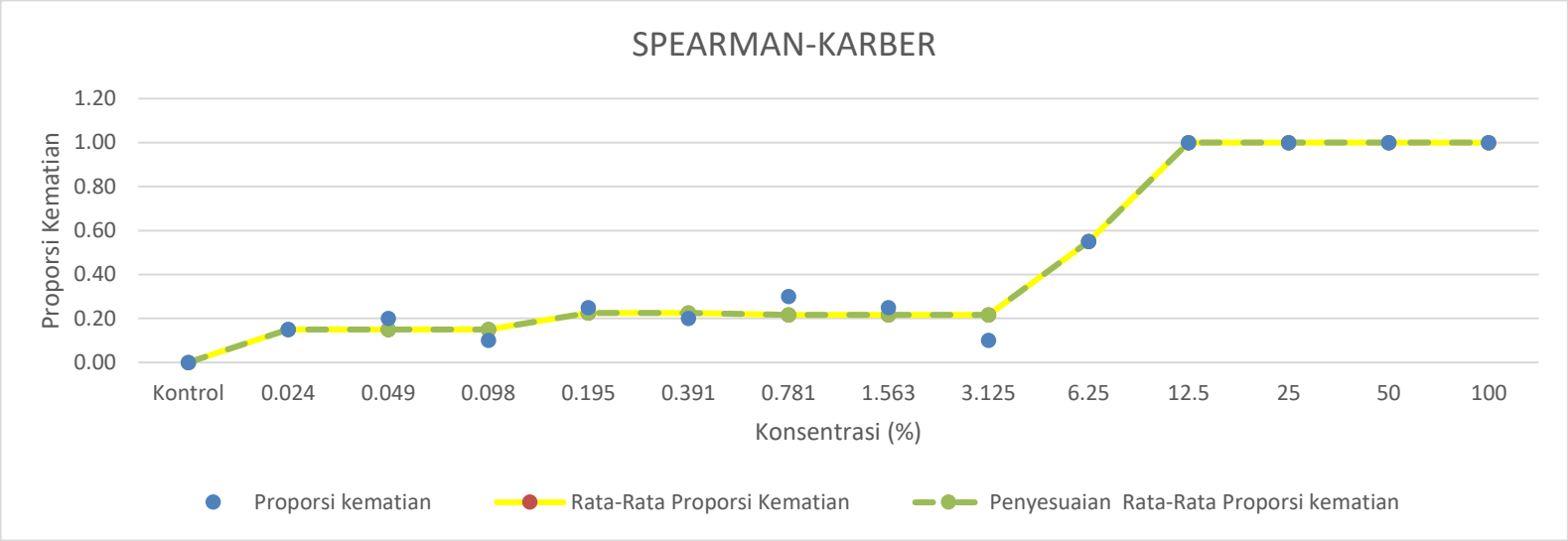
Maka perhitungan m pada P2 adalah sebagai berikut:

$m = \frac{(P_{i+1}^a - P_i^a)(X_i + X_{i+1})}{2} = \frac{(0{,}15 - 0{,}15)(-1{,}31 + 1{,}62)}{2} = 0$

Perhitungan dilakukan hingga p12, sehingga didapatkan jumlah m yaitu 0,579.

Berikut merupakan grafik perbandingan proporsi kematian pada data rill, setelah dilakukan rata-rata dan penyesuaian rata-rata

Lampiran II. 10 Grafik Spearman Karber LC50 Limbah Nglorod



Selanjutnya menghitung estimasi variance dengan persamaan:

$$V(m) = \frac{P_{i+1}^{a}\,(1 - P_{i+1}^{a})(X_{i+1} - X_i - 1)\text{^}2}{5\,(n_i - 1)}$$

Dimana:

ni = jumlah hewan uji

maka perhitungan V(m) pada P2 yaitu:

$$V(m) = \frac{P_{i+1}^{a}\,(1 - P_{i+1}^{a})(X_{i+1} - X_i - 1)\text{^}2}{5\,(n_i - 1)} = \frac{0{,}15(1-0{,}15)(-1{,}01 \pm 1{,}62)\text{^}2}{5\,(20-1)} = 0{,}0006$$

Perhitungan dilakukan hingga p12, sehingga didapatkan jumlah V(m) yaitu 0,006.

Selanjutnya tingkat kepercayaan 95% untuk varians dihitung menggunakan rumus

$$m \pm 2\sqrt{V(m)} = 0{,}579 \pm 2\sqrt{0{,}006}$$

Dan didapatkan data pada tabel dibawah ini, dengan perhitunga TUa yaitu 100 dibagi LC_{50}

Lampiran II. 11 LC50 Limbah Nglorod

Keterangan	**LC50**	**TUa**
LC50 Batas Bawah	2.61	38.243
LC50 Tengah	3.79	26.382
LC50 Batas Atas	5.49	18.200

5. **Perhitungan LC_{50} Limbah Pewarnaan**

Lampiran II. 12 Perhitungan LC50 Limbah Pewarnaan

Kode	Konsentrasi (x)	Jumlah Hewan Uji	Jumlah Organisme Mati	Proporsi Kematian (P i)	Rata-Rata Proporsi Kematian (Ps i)	Penyesuaian Rata-Rata Proporsi kematian (Pa i)	log 10 (x)	m	m total	estimasi variance (V(m))	estimasi variance (V(m)) total
P0	Kontrol	20	0	0.00	0.000	0.000			1.375		0.004
P1	1.563		5	0.25	0.175	0.175	0.193820026	0			
P2	3.125		2	0.10	0.175	0.175	0.494850022	-0.016134125		0.000689	
P3	6.25		5	0.25	0.150	0.150	0.795880017	0		0.000608	
P4	13		1	0.05	0.150	0.150	1.096910013	0.062371251		0.000608	
P5	25		4	0.20	0.200	0.200	1.397940009	0.774227503		0.000763	
P6	50		14	0.70	0.700	0.700	1.698970004	0.554845501		0.001002	
P7	100		20	1.00	1.000	1.000	2				

Proporsi kematian (P_i) = $\frac{\text{Jumlah orgsnisme mati}}{\text{Jumlah hewan uji}}$

Jika $P_0 \leq P_1 \leq ..... \leq P_k$ maka penyelesaian adalah dengan merata-ratakan nilai menggunakan rumus

$$P_{i-1}^{S} = \frac{(P_i + P_{i+1})}{2}$$

Dimana P_i^S = penyesuaian (smooth-s) proporsi kematian pada konsentrasi i

Contoh pada kasus ini, P_1 tidak lebih kecil dari P_2, dan diketahui bahwa proporsi kematian pada P1 dan P2 adalah 0,25 dan 0,1 maka:

$P_1^S = P_2^S = \frac{(P_i + P_{i+1})}{2} = \frac{(0{,}25 + 0{,}1)}{2} = 0{,}175$

Langkah selanjutnya yaitu menghitung penyesuaian rata-rata proporsi kematian pada konsentrasi i, menggunakan rumus:

$$P_i^a = \frac{(P_i^S + P_0^S)}{1 - P_0^S}$$

Dimana:

P_i^S = rata-rata proporsi kematian pada konsentrasi i

P_0^S = rata-rata proporsi kematian pada kontrol

P_i^a = penyesuaian rata rata proporsi kematian pada konsentrasi i

Sehingga contoh perhitungan penyesuaian rata rata pada P_1^a adalah sebagai berikut:

$P_1^a = \frac{(0{,}175 + 0)}{1-0} = 0{,}175$

Menghitung log10 dari estimasi kematian untuk LC50, menggunakan rumus:

$$m = \frac{(P_{i+1}^a - P_i^a)(X_i + X_{i+1})}{2}$$

Dimana:

X_i = LOG 10 konsentrasi (misalnya log 100)

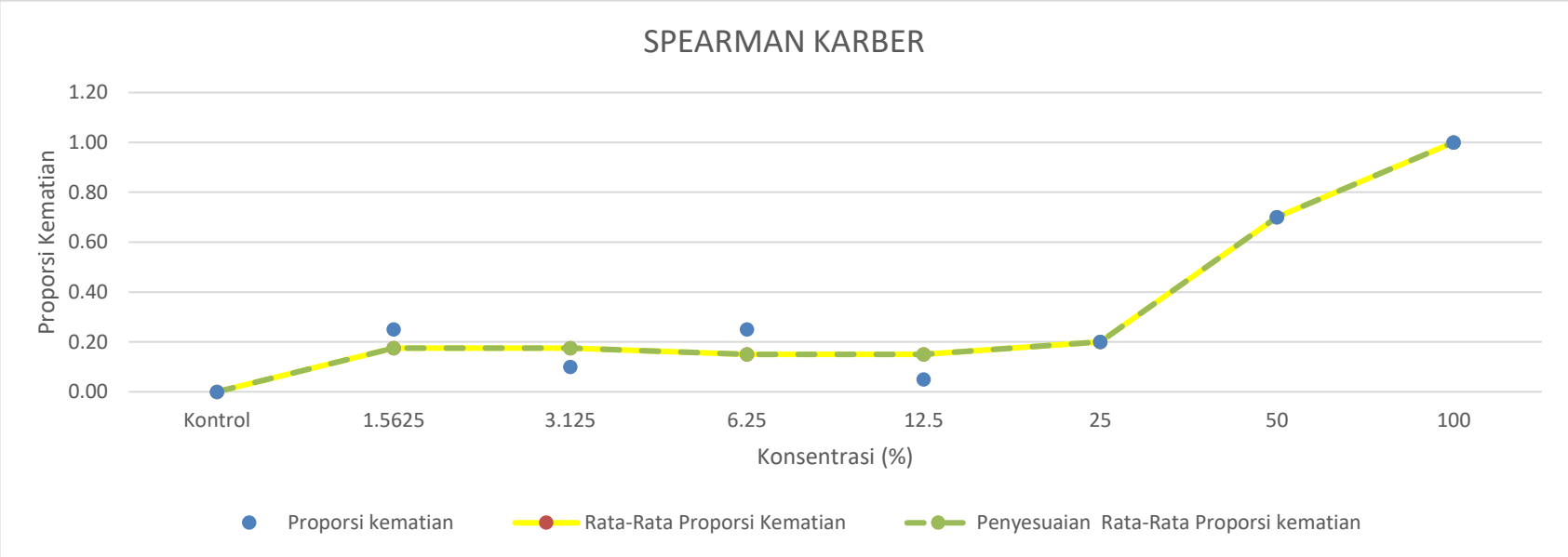
Maka perhitungan m pada P2 adalah sebagai berikut:

$m = \frac{(P_{i+1}^a - P_i^a)(X_i + X_{i+1})}{2} = \frac{(0{,}175 - 0{,}175)(0{,}19 + 0{,}49)}{2} = 0$

Perhitungan dilakukan hingga p7, sehingga didapatkan jumlah m yaitu 1,375.

Berikut merupakan grafik perbandingan proporsi kematian pada data rill, setelah dilakukan rata-rata dan penyesuaian rata-rata

Lampiran II. 13 Grafik Spearman Karber LC50 Limbah Pewarnaan



Selanjutnya menghitung estimasi variance dengan persamaan:

$$V(m) = \frac{P_{i+1}^{a}\left(1 - P_{i+1}^{a}\right)(X_{i+1} - X_i - 1)\text{^}2}{5\,(n_i - 1)}$$

Dimana:

ni = jumlah hewan uji

maka perhitungan V(m) pada P2 yaitu:

$$V(m) = \frac{P_{i+1}^{a}\left(1 - P_{i+1}^{a}\right)(X_{i+1} - X_i - 1)\text{^}2}{5\,(n_i - 1)} = \frac{0{,}15(1-0{,}15)(0{,}79-0{,}19)\text{^}2}{5\,(20-1)} = 0{,}0006$$

Perhitungan dilakukan hingga P7, sehingga didapatkan jumlah V(m) yaitu 0,006.

Selanjutnya tingkat kepercayaan 95% untuk varians dihitung menggunakan rumus

$$m \pm 2\sqrt{V(m)} = 1{,}375 \pm 2\sqrt{0{,}0006}$$

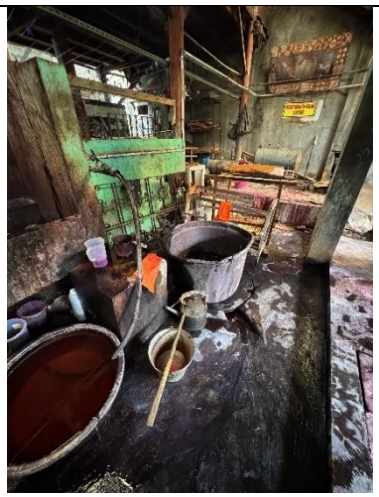
Dan didapatkan data pada tabel dibawah ini, dengan perhitunga TUa yaitu 100 dibagi L C_{50}

Lampiran II. 14 LC50 Limbah Pewarnaan

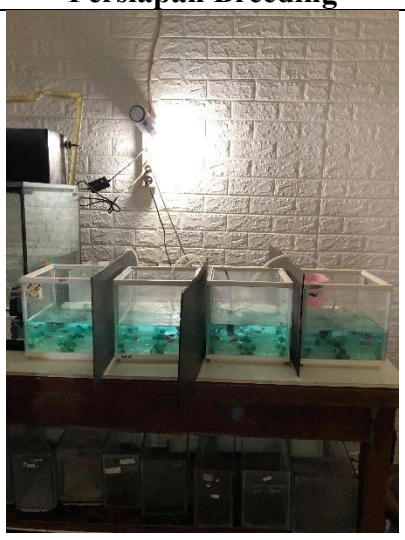
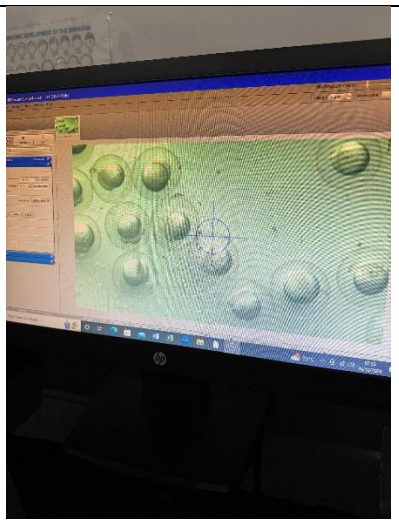
Keterangan	LC50	TUa
LC50 Batas Bawah	17.95	5.569834
LC50 Tengah	23.73	4.213955
LC50 Batas Atas	31.37	3.188141

LAMPIRAN III
DOKUMENTASI

Lampiran II. 15 Dokumentasi Kegiatan Sampling

 **IPAL Limbah Pewarnaan**	 **IPAL Limbah Nglorod**
 **Pengambilan Sampel**	 **Pengambilan Sampel**

Lampiran II. 16 Dokumentasi Kegiatan Laboratorium

 **Persiapan Breeding**	 **Pembuatan Air Proses Breeding**
 **Proses Breeding**	 **Seleksi Embrio**
 **Sterilisasi Alat**	 **Uji Toksisitas**

RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama Hana Fadiyah Dwi Ningrum, lahir pada tanggal 20 Oktober 2025, di Pekanbaru, Provinsi Riau. Penulis merupakan anak kedua dari empat bersaudara. Ayah penulis bernama Suwarno, dan Ibu penulis bernama Mirna Liza. Penulis menempuh pendidikan Sekolah Dasar di SDS 3 Terawan (2008-2010), dan SDN 01 Air Molek (2010-2014), lalu Sekolah Menengah Pertama di SMP Islam Asshofa Pekanbaru (2014-2017), dan Sekolah Menengah Atas di SMAN 9 Pekanbaru (2017-2020). Kemudian penulis melanjutkan studi pada jenjang S1 di Program Studi Teknik Lingkungan Universitas Islam Indonesia (2021-2025).

Selama menjadi mahasiswa, penulis melibatkan diri pada beberapa kegiatan di jurusan. Kegiatan yang diikuti yaitu menjadi anggota divisi acara pada Kegiatan Olahraga Jurusan Tahun 2022, menjadi anggota divisi kesehatan pada Kegiatan Malam Keakraban Jurusan Tahun 2022, dan menjadi Steering Comite divisi acara pada Kegiatan Olahraga Jurusan Tahun 2023.