

TESIS

**EVALUASI KINERJA *CONSTRUCTED WETLAND* DENGAN  
INOKULASI *Bacillus sp.* DAN *Stenotrophomonas sp.* DALAM  
MENGOLAH AIR LIMBAH TENUN DITINJAU DARI KUALITAS  
EFLUEN DAN TINGKAT TOKSISITAS**

**Diajukan kepada Universitas Islam Indonesia untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Derajat Magister (S2) Teknik Lingkungan**



**NURUN NAILIS SA'ADAH  
22927018**

**PROGRAM STUDI MAGISTER TEKNIK LINGKUNGAN  
FAKULTAS TEKNIK SIPIL DAN PERENCANAAN  
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA  
2025**

TESIS


**EVALUASI KINERJA *CONSTRUCTED WETLAND* DENGAN  
INOKULASI *Bacillus sp.* DAN *Stenotrophomonas sp.* DALAM  
MENGOLAH AIR LIMBAH TENUN DITINJAU DARI KUALITAS  
EFLUEN DAN TINGKAT TOKSISITAS**


**Diajukan kepada Universitas Islam Indonesia untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Derajat Magister (S2) Teknik Lingkungan**



**NURUN NAILIS SA' ADAH  
22927018**


Disetujui,  
Dosen Pembimbing:

  
**Dr. Joni Aldilla Fajri, S.T., M.Eng.**  
NIK. 165131306  
Tanggal: 26/5/2025

  
**Dr. Suphia Rahmawati, S.T., M.T.**  
NIK. 155131313  
Tanggal: 27/5/2025

Mengetahui,

Ketua Prodi Magister Teknik Lingkungan FTSP UII

  
**Dr. Ir. Andik Yulianto, S.T., M.T., I.P.M.**  
NIK. 025100407  
Tanggal: 27/5/2025

## HALAMAN PENGESAHAN

# EVALUASI KINERJA *CONSTRUCTED WETLAND* DENGAN INOKULASI *Bacillus sp.* DAN *Stenotrophomonas sp.* DALAM MENGOLAH AIR LIMBAH TENUN DITINJAU DARI KUALITAS EFLUEN DAN TINGKAT TOKSISITAS

Telah diterima dan disahkan oleh Tim Penguji

Hari : Senin  
Tanggal : 26 Mei 2025

Disusun oleh:

NURUN NAILIS SA'ADAH  
22927018

Tim Penguji:

Dr. Joni Aldilla Fajri, S.T., M.Eng.

NIK: 165131306

(  ) 26/5'25

Dr. Suphia Rahmawati, S.T., M.T.

NIK: 155131313

(  ) 27/5'25

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

NIK: 045130401

(  ) 27/5'25

## PERNYATAAN

Dengan ini saya 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 adalah merupakan gagasan, rumusan dan penelitian 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. Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila di kemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik dengan pencabutan gelar yang sudah diperoleh, serta sanksi lainnya sesuai dengan norma yang berlaku di perguruan tinggi.

Yogyakarta, 26 Mei 2025

Yang membuat pernyataan,



**Nurun Nailis Sa'adah**

NIM: 22927018

## KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul **“Evaluasi Kinerja *Constructed Wetland* dengan Inokulasi *Bacillus sp.* Dan *Stenotrophomonas sp.* dalam Mengolah Air Limbah Tenun Ditinjau dari Kualitas Efluen dan Tingkat Toksisitas”** sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister (S2) di Program Studi Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan, Universitas Islam Indonesia.

Penyusunan tesis ini tidak lepas dari dukungan, arahan, dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan apresiasi dan ucapan terima kasih kepada:

1. Bapak Dr. Joni Aldilla Fajri, S.T., M.Eng. dan Ibu Dr. Suphia Rahmawati, S.T., M.T. selaku dosen pembimbing tesis, serta Ibu Any Juliani, S.T., M.Sc.(Res.Eng.), Ph.D. selaku dosen penguji, atas kesediannya membimbing, memberikan masukan, dan mengarahkan penulis selama proses penelitian hingga penyusunan tesis ini.
2. Seluruh dosen dan staf jurusan Teknik Lingkungan, yang telah memberikan ilmu dan pengalaman berharga serta pelayanan akademik selama masa studi.
3. Laboran di Laboratorium Kualitas Lingkungan UII, atas bantuan dan dukungan teknis selama penelitian di laboratoium.
4. Kedua orang tua dan adik-adik tercinta, atas do'a, dukungan moril dan materiil, serta sebagai sumber kekuatan dalam menyelesaikan studi ini.
5. Rekan-rekan penelitian, Daru, Nafis, Raikhan, dan Maul, atas bantuan dan kerja samanya selama proses penelitian.
6. Rekan-rekan Magister Teknik Lingkungan (khususnya Erdina dan Indah), yang selalu memberikan semangat, menjadi tempat berbagi cerita, berdiskusi, dan saling menguatkan selama proses studi.
7. Semua pihak yang turut membantu baik secara langsung maupun tidak langsung dalam proses penelitian dan masa studi ini.

Semoga penelitian ini dapat memberikan manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan, khususnya di bidang pengelolaan dan pengolahan air limbah.

Yogyakarta, 26 Mei 2025

**Nurun Nailis Sa'adah**

## ABSTRAK

Air limbah tenun umumnya mengandung tinggi polutan seperti logam berat, warna, dan senyawa organik yang berkontribusi secara signifikan terhadap pencemaran lingkungan. Kombinasi teknologi *constructed wetland* (CW) dan inokulasi bakteri sebagai alternatif teknologi yang *cost-effective* dan berkelanjutan diaplikasikan untuk memperbaiki kualitas air limbah tersebut. Meskipun begitu, efluen air limbah yang dihasilkan tidak menjamin keamanan bagi organisme akuatik jika dibuang ke lingkungan. Oleh karena itu, pengujian toksisitas efluen diperlukan untuk memvalidasi tingkat keamanan tersebut. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengevaluasi kinerja sistem CW dengan tanaman *Vetiveria zizanioides* yang diinokulasi dengan bakteri *Bacillus cereus*, *Bacillus spizizenii*, dan *Stenotrophomonas maltophilia* dalam mengolah air limbah tenun dan menguji tingkat toksisitas akut dari efluen yang dihasilkan. Terdapat 3 jenis perlakuan, kontrol air limbah/ tanpa pengolahan (K), CW tanpa bakteri (C1), dan CW yang diinokulasi dengan bakteri (C2). Reaktor CW dioperasikan selama 56 hari secara *batch* dengan variasi beban konsentrasi air limbah 25%, 50%, dan 100%. Setiap beban konsentrasi air limbah, efluen yang dihasilkan dari pengolahan diuji tingkat toksisitasnya dengan metode *Whole Effluent Toxicity* (WET) menggunakan *Daphnia magna* sebagai organisme uji dan didapatkan nilai  $LC_{50}$  dan TUa. Hasil penelitian menunjukkan bahwa air limbah tanpa pengolahan mengalami penurunan konsentrasi parameter COD (10,19 – 88,45%), warna (84,33 – 90,55%), dan amonia (53,06 – 67,82%), tetapi efluen yang dihasilkan masih bersifat toksik akut ( $LC_{50}$  1,52 – 200% dan TUa 0,50 – 65,62) dengan kategori *slight acute toxicity* hingga *high acute toxicity*. Sedangkan, sistem CW baik dengan ataupun tanpa inokulasi bakteri dapat menurunkan konsentrasi parameter COD (64,27 – 96,35%), warna (97,12 – 99,18%), dan amonia (60,81 – 89,14%) serta menghasilkan efluen yang bersifat tidak toksik akut ( $LC_{50} > 100\%$  dan TUa  $< 1$ ) pada semua beban konsentrasi air limbah. Analisis fisiologi pada *D. magna* yang dipaparkan pada efluen tanpa pengolahan menghasilkan dampak yang signifikan, dengan nilai laju detak jantung dan gerak *thoracic limb* yang lebih rendah dibandingkan dengan organisme kontrol (*unexposed control*). Sedangkan organisme yang dipaparkan pada efluen dari CW baik dengan maupun tanpa bakteri tidak berdampak signifikan pada nilai laju detak jantung dan *thoracic limb*. Dengan demikian, sistem *constructed wetland*, baik dengan maupun tanpa inokulasi bakteri, terbukti efektif dalam menurunkan konsentrasi polutan utama serta mengurangi tingkat toksisitas akut efluen, sehingga aman bagi organisme akuatik seperti *D. magna*.

Kata kunci: toksisitas akut, *Daphnia magna*, *whole effluent toxicity*, air limbah tenun, *constructed wetland*, bakteri endofit, fitoremediasi.

## ABSTRACT

*Textile wastewater generally contains high levels of pollutants such as heavy metals, dyes, and organic compounds that significantly contribute to environmental pollution. The combination of constructed wetland (CW) technology and bacterial inoculation is applied as a cost-effective and sustainable alternative to improve the wastewater quality. However, the effluent does not guarantee safety for aquatic organisms when discharged into the environment. Therefore, effluent toxicity testing is required to validate its safety level. This study aims to evaluate the performance of a CW system planted with *Vetiveria zizanioides* inoculated with *Bacillus cereus*, *Bacillus spizizenii*, and *Stenotrophomonas maltophilia* in treating weaving wastewater and to assess the acute toxicity of the effluent. Three treatments were tested: untreated wastewater/control (K), CW without bacteria (C1), and CW with bacterial inoculation (C2). CW reactors were operated in batch system for 56 days under three different wastewater loading concentrations: 25%, 50%, and 100%. For each concentration, effluent toxicity was assessed using the Whole Effluent Toxicity (WET) method with *Daphnia magna* as the test organism, resulting in LC50 and TUa values. The results showed that untreated wastewater reduced concentrations of COD (10.19–88.45%), color (84.33–90.55%), and ammonia (53.06–67.82%), but the effluent remained acutely toxic (LC50: 1.52–200%; TUa: 0.50–65.62), classified as slight to high acute toxicity. In contrast, CW systems with or without bacterial inoculation effectively reduced COD (64.27–96.35%), color (97.12–99.18%), and ammonia (60.81–89.14%), producing effluent with no acute toxicity (LC50 > 100%; TUa < 1) across all loading levels. Physiological analysis of *D. magna* exposed to untreated effluent revealed significant effects, with lower heart rate and thoracic limb movement compared to the unexposed control group. Meanwhile, exposure to effluent from both CW systems did not significantly affect these physiological parameters. Thus, constructed wetland systems, with or without bacterial inoculation, proved effective in reducing major pollutant concentrations and mitigating acute effluent toxicity, ensuring safety for aquatic organisms such as *D. magna*.*

*Keywords: acute toxicity, *Daphnia magna*, whole effluent toxicity, textile wastewater, constructed wetland, endophytic bacteria, phytoremediation.*

# DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
1.5 Kerangka Berpikir Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Pewarna Tekstil.....	5
2.2 <i>Constructed Wetlands</i> (CWs).....	6
2.3 Uji Toksisitas.....	8
2.4 Hewan Uji <i>Daphnia Magna</i> .....	9
2.5 Penelitian Terdahulu.....	11
BAB III METODE PENELITIAN.....	13
3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian.....	13
3.2 Pembuatan Reaktor <i>Constructed Wetland</i> dan Aklimatisasi Tanaman.....	14
3.3 Kultivasi Bakteri Terpilih.....	15
3.4 Persiapan dan Pembuatan Air Limbah Tenun.....	16
3.5 Pengoperasian Reaktor CW dan Analisis Parameter Fisika-Kimia.....	17
3.5.1 Analisis Parameter Fisika-Kimia Air Limbah Tenun.....	17
3.5.2 Analisis Serapan Logam Berat pada Tanaman Vetiver.....	18
3.6 Analisis <i>Microbial Community</i> dalam Air Limbah.....	18
3.7 Uji Toksisitas Akut.....	19
3.7.1 Proses Pembiakan Hewan Uji <i>Daphnia magna</i> .....	19
3.7.2 Metode <i>Whole Effluent Toxicity</i> (WET).....	20
3.7.3 Analisis Morfologi dan Fisiologi <i>Daphnia magna</i> .....	21
3.8 Analisis Statistik.....	22
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	23

4.1	Karakteristik Air Limbah Tenun.....	23
4.2	Evaluasi Parameter Fisika-Kimia dari Reaktor CW dalam Mengolah Air Limbah.....	24
4.2.1	Efisiensi Penyisihan COD, Warna, dan Amonia .....	24
4.2.2	Karakteristik Parameter Harian (Suhu, pH, EC, TDS, dan ORP).....	27
4.2.3	Penurunan Konsentrasi Logam Pb dan Cd dan Translokasi pada Tanaman .....	29
4.3	<i>Microbial Community</i> dalam Air Limbah Tenun.....	32
4.4	Karakteristik Efluen Air Limbah Tenun pasca Pengolahan untuk Uji Toksisitas .....	35
4.5	Evaluasi Nilai Toksisitas Efluen terhadap <i>Daphnia magna</i> .....	38
4.6	Hubungan antara Parameter Kualitas Efluen dengan Nilai Toksisitas .....	42
4.7	Evaluasi Morfologi dan Fisiologi <i>Daphnia magna</i> .....	44
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....		47
5.1	Kesimpulan .....	47
5.2	Saran .....	47
DAFTAR PUSTAKA .....		48

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Peran makrofit dalam sistem <i>constructed wetlands</i> .....	6
Tabel 2.2 Penelitian terdahulu .....	11
Tabel 3.1 Variasi reaktor.....	14
Tabel 3.2 Acuan pengujian parameter fisika-kimia .....	17
Tabel 3.3 Sampel uji skuensing 16SrRNA .....	18
Tabel 3.4 Nilai transfromasi probit.....	21
Tabel 3.5 Klasifikasi tingkat toksisitas efluen untuk lingkungan akuatik.....	21
Tabel 4.1 Karakteristik air limbah tenun .....	23
Tabel 4.2 Karakteristik parameter harian (suhu, pH, EC, TDS, dan ORP).....	28
Tabel 4.3 Konsentrasi logam Pb dan Cd pada air limbah selama pengolahan.....	30
Tabel 4.4 Konsentrasi logam Pb dan Cd pada tanaman <i>V. zizanioides</i> dan <i>Translocation Factor</i> (TF) pada akhir pengolahan .....	31
Tabel 4.5 Indeks Keberagaman Bakteri .....	34
Tabel 4.6 Karakteristik efluen air limbah tenun untuk pengujian toksisitas .....	35
Tabel 4.7 Karakteristik pH, suhu, dan DO selama uji toksisitas.....	36
Tabel 4.8 Nilai LC <sub>50</sub> -96 jam dan kategori toksisitas akut .....	40
Tabel 4.9 Analisis fisiologi <i>D. magna</i> setelah terpapar efluen dari pengolahan CW .....	46

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.1 Kerangka berpikir penelitian.....	4
Gambar 2.1 Anatomi <i>Daphnia magna</i> .....	10
Gambar 3.1 Diagram alir penelitian.....	13
Gambar 3.2 Desain reaktor <i>constructed wetland</i> .....	14
Gambar 3.3 Proses aklimatisasi tanaman vetiver dalam reaktor <i>wetland</i> .....	15
Gambar 3.4 Tahapan kulturisasi bakteri .....	16
Gambar 3.5 Tahapan pembuatan air limbah artifisial.....	16
Gambar 3.6 Proses pembiakan hewan uji <i>D. magna</i> .....	19
Gambar 3.7 Uji WET dengan variasi konsentrasi efluen dari pengolahan CW.....	20
Gambar 3.8 Analisis morfologi dan fisiologi <i>D. magna</i> setelah paparan efluen .....	22
Gambar 4.1 Efisiensi penyisihan COD (A), warna (B), dan amonia (C).....	25
Gambar 4.2 Hasil analisis kelimpahan pada strata genus .....	33
Gambar 4.3 Hasil analisis kelimpahan pada strata spesies .....	33
Gambar 4.4 Laju kematian <i>D. magna</i> selama 96 jam.....	39
Gambar 4.5 Morfologi <i>D. magna</i> setelah terpapar efluen dari pengolahan CW .....	44
Gambar 4.6 Kerusakan organ <i>D. magna</i> setelah terpapar efluen dari air limbah tanpa pengolahan ....	45

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Industri kain tenun ikat merupakan salah satu Usaha Mikro, Kecil, dan Menengah (UMKM) yang berkembang di Indonesia. Berdasarkan data dari Kementerian Perindustrian, terdapat 14.618 unit usaha kain tenun dengan jumlah tenaga kerja sebanyak 57.972 orang (Kementerian Perindustrian RI, 2019). Persebaran UMKM kain tenun hampir menyeluruh di setiap provinsi di Indonesia, dengan jumlah produsen terbanyak terletak di Pulau Jawa (Luthfi, 2021). Desa Troso, yang terletak di Kabupaten Jepara, Jawa Tengah, merupakan salah satu desa yang aktif dalam produksi kain tenun. Kegiatan ini sudah dimulai sejak abad ke-19, yaitu pada tahun 1943, dengan menggunakan alat tenun tradisional (Indra, 2023). Data dari BPS Kabupaten Jepara menunjukkan bahwa terdapat 631 sentra industri tenun di daerah ini (BPS Kabupaten Jepara, 2020).

Seiring dengan pertumbuhan industri tenun yang mendukung ekonomi masyarakat, industri ini juga menghadapi masalah lingkungan yang signifikan. Banyak industri tenun di Indonesia yang dijalankan oleh UMKM belum memiliki kesadaran, pengetahuan, atau sumber daya finansial yang cukup untuk mengolah air limbah sebelum dibuang ke selokan atau badan air. Proses pewarnaan benang merupakan proses utama yang menghasilkan air limbah. Sebagian besar pengrajin menggunakan pewarna sintesis seperti naphthol, remazol, dan indanthrene (Ramadhani & Subandi, 2015). Kehadiran zat pewarna kimia dalam air limbah dapat menimbulkan ancaman bagi lingkungan, organisme, dan manusia.

Air limbah dari industri tekstil biasanya mengandung konsentrasi polutan yang tinggi, seperti *Biological Oxygen Demand* (BOD), *Chemical Oxygen Demand* (COD), *Total Dissolved Solid* (TDS), *Total Suspended Solid* (TSS), dan warna (Fajri et al., 2024; Kiswanto et al., 2019). Kandungan zat pewarna dalam badan air dapat mengganggu fotosintesis kehidupan akuatik dan mengurangi oksigen terlarut dengan menghalangi masuknya sinar matahari, selain itu zat pewarna juga bersifat karsinogenik, mutagenik, atau teratogenik bagi hewan dan manusia (Samsami et al., 2020; Zhou et al., 2019). Penelitian menunjukkan bahwa pewarna sintesis seperti azo dan antrakuinone memiliki dampak negatif terhadap beberapa organisme, seperti mengurangi jumlah reproduksi dan merusak DNA *Daphnia magna* (Abe et al., 2019; Oliveira et al., 2018), mengurangi pertumbuhan gandum (*Triticum aestivum*) hingga 29% pada batang dan 48% pada akarnya (Chaudhari et al., 2017), serta menyebabkan

morfologi abnormal seperti pembengkakan kantung telur, ekor melengkung, dan kelainan struktur tulang larva ikan *Danio rerio* (Hernández-Zamora & Martínez-Jerónimo, 2019).

Beberapa teknologi pengolahan air limbah tekstil secara fisik, kimia, dan biologis telah banyak diuji, di antaranya yaitu teknologi adsorpsi, ozonisasi, dan membran bioreaktor (Fabryanty et al., 2017; Javed et al., 2025; K. Li et al., 2020). Teknologi-teknologi tersebut mampu mengolah air limbah tekstil secara efektif, namun memerlukan biaya operasional yang tinggi, kebutuhan bahan kimia yang tinggi, dan menghasilkan lumpur B3 yang sulit dikelola (Ardila-Leal et al., 2021). Salah satu pilihan alternatif teknologi dengan pendekatan *sustainable* dan hemat biaya adalah menggunakan sistem fitoremediasi dengan teknologi *constructed wetland* (CW). Teknologi CW ini telah diuji mampu menurunkan konsentrasi polutan dalam air limbah tekstil seperti COD, warna, amonia, dan TSS (Faisal & Nasif, 2023; Rohaningsih et al., 2023). Untuk meningkatkan kinerja sistem wetland, penambahan bakteri mampu membantu tanaman bertahan hidup sehingga meningkatkan efisiensi removal polutan (Tara, Arslan, et al., 2019). Teknologi *wetland* dapat menurunkan konsentrasi polutan, tetapi residu zat toksik masih dapat bertahan di efluen, meskipun dalam konsentrasi yang rendah, hal ini berpotensi membahayakan organisme akuatik (Berradi et al., 2019; Choudhury, 2014). Hal ini menunjukkan pentingnya melakukan uji toksisitas pada efluen pasca pengolahan.

Penelitian sebelumnya telah melaporkan tingkat toksisitas akut pada berbagai efluen tekstil yang telah diolah, yang berdampak signifikan terhadap organisme akuatik (Alderete et al., 2021; Lach et al., 2022). Air limbah yang telah terolah tersebut menyebabkan penurunan kapasitas berenang, pergerakan abnormal, kelesuan, penurunan tingkat kelangsungan hidup, dan hilangnya fungsi otot pada organisme akuatik (Carney Almroth et al., 2021; Parmar & Shah, 2021). Studi ini menekankan pentingnya melakukan uji toksisitas, termasuk uji *lethal concentration 50* (LC<sub>50</sub>) untuk menilai dampak air limbah tekstil yang telah diolah terhadap organisme akuatik. Pada penelitian ini, evaluasi kinerja reaktor CW menggunakan tanaman vetiver yang diinokulasi bakteri endofit dilakukan untuk menurunkan konsentrasi polutan, dan mengukur tingkat toksisitas dengan organisme *Daphnia magna* pada efluen air limbah yang telah diolah.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini yaitu:

1. Bagaimana kualitas air limbah tenun setelah diolah menggunakan sistem CW dengan *Vetiveria zizanioides* dan inokulasi *Bacillus cereus*, *Bacillus spizizenii*, dan *Stenotrophomonas malthophilia*, dengan variasi beban konsentrasi yang berbeda?
2. Bagaimana tingkat toksisitas akut efluen air limbah yang telah diolah berdasarkan nilai  $LC_{50}$ , serta bagaimana pengaruhnya terhadap morfologi dan fisiologi *Daphnia magna*?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu:

1. Menganalisis kinerja sistem CW yang menggunakan tanaman *Vetiveria zizanioides* dan inokulasi *Bacillus cereus*, *Bacillus spizizenii*, dan *Stenotrophomonas malthophilia* dalam menurunkan konsentrasi COD, warna, amonia, serta logam berat Pb dan Cd dengan variasi beban konsentrasi air limbah yang berbeda.
2. Mengukur tingkat toksisitas akut efluen air limbah yang telah diolah dengan menentukan nilai  $LC_{50}$  menggunakan metode *Whole Effluent Toxicity* (WET), serta mengobservasi morfologi dan fisiologi *Daphnia magna*.

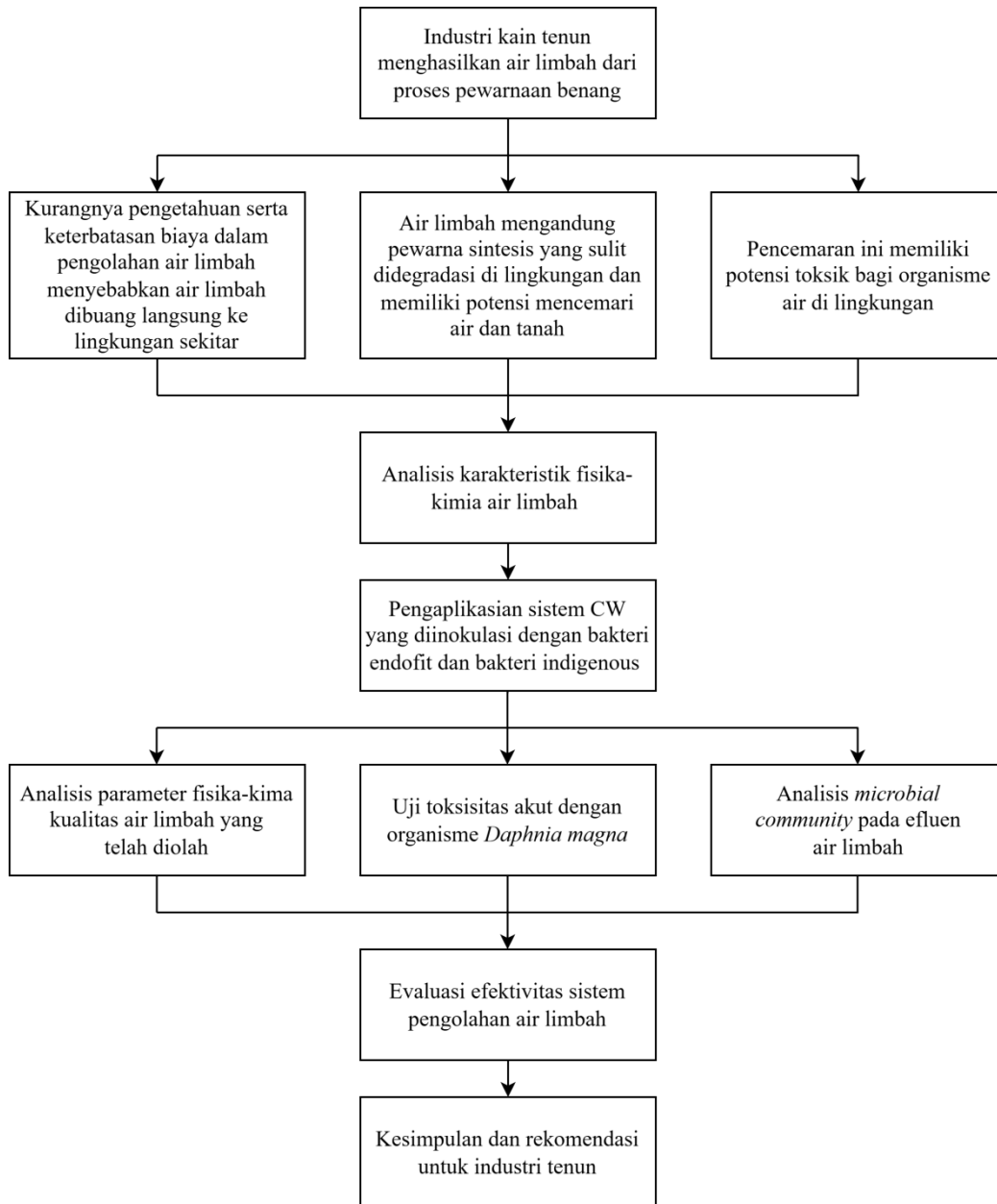
## 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini yaitu:

1. Memberikan informasi tentang efektivitas sistem CW dengan kombinasi tanaman vetiver dan bakteri dalam mengolah air limbah yang dapat dijadikan sebagai dasar pengembangan teknologi pengolahan limbah yang ramah lingkungan.
2. Hasil penelitian ini menyediakan data mengenai tingkat toksisitas akut efluen setelah pengolahan yang dapat digunakan untuk menilai keamanan pembuangan limbah ke lingkungan perairan.
3. Menjadi referensi bagi penelitian lanjutan terkait bioremediasi dan toksisitas air limbah tekstil untuk mendukung upaya pengendalian pencemaran lingkungan.
4. Menyediakan rekomendasi untuk pengelolaan limbah yang berkelanjutan bagi industri kain tenun dan sektor lainnya.
5. Penelitian ini diharapkan menjadi rekomendasi daerah sebagai acuan untuk membuat kebijakan terhadap penanganan masalah air limbah tenun di Jepara.

## 1.5 Kerangka Berpikir Penelitian

Berikut ini merupakan kerangka berpikir dalam penelitian ini:



Gambar 1.1 Kerangka berpikir penelitian

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Pewarna Tekstil**

Perkembangan dan penerapan pewarna sintetis telah merevolusi proses pewarnaan dengan menawarkan berbagai pilihan warna serta ketahanan yang lebih baik dibandingkan dengan pewarna alami. Pewarna sintetis dapat dikategorikan berdasarkan struktur kimia dan kelarutannya. Pewarna azo, yang mengandung satu atau lebih gugus azo ( $-N=N-$ ), merupakan jenis yang paling banyak digunakan, mencakup sekitar 66% dari total produksi pewarna sintetis (Umbuzeiro et al., 2019). Kategori lainnya mencakup pewarna antrakuinon, trifenilmetana, dan indigoid, masing-masing dengan sifat kimia dan aplikasi yang berbeda (Pargai, 2021). Klasifikasi pewarna sintetis juga didasarkan pada kelarutannya dalam air, yang membedakan antara pewarna langsung, reaktif, asam, dan basa (Liugè & Paliulis, 2023).

Pewarna yang digunakan pada penelitian ini yaitu naphthol. Pewarna naftol dapat dikategorikan ke dalam dua jenis utama, yaitu 1-naftol dan 2-naftol. Senyawa ini ditandai dengan adanya gugus hidroksil ( $-OH$ ) yang terikat pada cincin naftalena, yang meningkatkan reaktivitasnya serta kemampuannya dalam membentuk pewarna azo melalui reaksi diazotasi (Xu et al., 2021). Pewarna naftol sering digunakan bersama dengan agen kimia lain untuk memperoleh warna dan sifat yang diinginkan. Sebagai contoh, 1-naftol banyak digunakan dalam produksi pewarna azo dan dikenal sebagai salah satu komponen dalam formulasi pewarna rambut (Maphoru et al., 2013). Pewarna naftol banyak digunakan dalam industri tekstil karena warna yang cerah dan sifat ketahanan luntur yang sangat baik. Pewarna ini sering digunakan untuk mewarnai kain katun dan wol, karena mampu memberikan warna yang dalam serta daya tahan yang tinggi (Xiao et al., 2024).

Dampak lingkungan dari pewarna sintetis sangat luas dan kompleks. Produksi dan pembuangan pewarna sintetis berkontribusi terhadap pencemaran air yang signifikan, karena efluen pewarna sering kali mengandung senyawa toksik yang dapat membahayakan ekosistem perairan (Liugè & Paliulis, 2023). Penelitian menunjukkan bahwa banyak pewarna sintetis memiliki sifat teratogenik, mutagenik, dan karsinogenik, sehingga berisiko bagi kesehatan manusia dan satwa liar (Lin et al., 2022; Liugè & Paliulis, 2023). Misalnya, paparan terhadap pewarna sintetis telah terbukti menyebabkan stres oksidatif dan efek

neurotoksik pada organisme perairan seperti ikan zebra (*Danio rerio*) (Francisco et al., 2023; Kamali et al., 2023).

## 2.2 Constructed Wetlands (CWs)

*Constructed wetlands* (CWs) merupakan sistem rekayasa yang dirancang dan dibangun untuk memanfaatkan proses alami yang melibatkan vegetasi lahan basah, tanah, dan komunitas mikroba dalam membantu pengolahan air limbah dengan lingkungan yang lebih terkontrol (Vymazal, 2010). Sistem ini dikenal efisien dan membutuhkan biaya yang rendah (Qasaimeh et al., 2015). Salah satu komponen penting dalam sistem ini adalah tanaman yang biasa disebut makrofit, yang memiliki pengaruh besar terhadap proses pengolahan. Beberapa peran makrofit dalam sistem CWs telah dirangkum oleh Brix (1997) dan disajikan pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Peran makrofit dalam sistem *constructed wetlands*

<b>Bagian Makrofit</b>	<b>Peran dalam Proses Pengolahan</b>
Jaringan tanaman di atas permukaan	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Mengurangi cahaya masuk sehingga pertumbuhan fitoplankton berkurang</li> <li>- Memengaruhi iklim mikro</li> <li>- Mengurangi kecepatan angin untuk mengurangi risiko resuspensi</li> <li>- Penyimpanan nutrisi</li> <li>- Memberikan visual estetika</li> </ul>
Jaringan tanaman di dalam air	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Terjadi proses penyaringan</li> <li>- Mengurangi kecepatan arus</li> <li>- Meningkatkan laju sedimentasi dan mengurangi risiko resuspensi</li> <li>- Menyediakan area permukaan untuk melekatnya biofilm</li> <li>- Pelepasan oksigen dari proses fotosintesis untuk meningkatkan degradasi secara aerobik</li> <li>- Penyerapan nutrisi</li> </ul>
Akar dan rizoma di dalam sedimen	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Menstabilkan permukaan sedimen dan mengurangi erosi</li> <li>- Mencegah penyumbatan media dalam sistem aliran <i>wetland</i></li> <li>- Melepaskan oksigen untuk meningkatkan degradasi dan nitrifikasi</li> <li>- Penyerapan nutrisi</li> <li>- Pelepasan antibiotik</li> </ul>

Mekanisme pengolahan CWs melibatkan kombinasi proses fisika, kimia, dan biologi. Proses fisika meliputi sedimentasi yang berperan menghilangkan padatan tersuspensi dan materi partikulat (Qasaimeh et al., 2015). Proses kimia melibatkan reaksi-reaksi yang terjadi antara kontaminan dan komponen kimia dalam media tanah serta air. Salah satu mekanisme utama adalah nitrifikasi, di mana amonia diubah menjadi nitrat oleh bakteri nitrifikasi (Pillai

& Vijayan, 2012). Sedangkan proses biologi adalah inti dari pengolahan air limbah dalam CWs. Mikroorganisme seperti bakteri dan jamur berperan dalam dekomposisi bahan organik dan penguraian senyawa berbahaya (Stombock et al., 2016). Interaksi antara tanaman, tanah dan mikroorganisme menciptakan lingkungan sinergis yang meningkatkan efisiensi penghilangan polutan, terutama untuk nutrisi seperti nitrogen dan fosfor (Vishwakarma & Dharmendra, 2022; Vymazal, 2010).

Berdasarkan Vymazal (2010), terdapat beberapa jenis CWs, di antaranya yaitu *Free Water Surface* (FWS), *Horizontal Subsurface Flow* (HF), *Vertical Subsurface Flow* (VF), dan *Hybrid Constructed Wetlands*.

#### 1. *Free Water Surface* (FWS)

Sistem ini memiliki permukaan air bebas dengan vegetasi air. Biasanya berupa cekungan dangkal yang terdiri dari tanah perakaran setebal 20 – 30 cm dengan kedalaman air 20 – 40 cm. FWS efektif dalam menghilangkan bahan organik melalui degradasi mikroba dan pengendapan partikel koloidal. Kandungan nitrogen dihilangkan melalui nitrifikasi dan denitrifikasi. Beberapa tipe air limbah dapat diolah menggunakan sistem ini seperti air limbah dari kotoran hewan, drainase pertanian, drainase pertambangan, lindi TPA, dan berbagai sumber lainnya.

#### 2. *Horizontal Subsurface Flow* (HF)

Sistem HF ini mengalir secara horizontal melalui media filtrasi yang ditanami vegetasi. Media ini biasanya terdiri dari kerikil atau bahan lain yang mendukung pertumbuhan akar tanaman. Proses pengolahan untuk penghilangan bahan organik yang tinggi mengandalkan proses anaerobi dan anoksik dalam media filtrasi. Secara umum sistem ini digunakan untuk pengolahan air limbah primer atau sekunder.

#### 3. *Vertical Subsurface Flow* (VF)

Sistem VF ini mengalirkan air secara vertikal melalui media filtrasi yang ditanami vegetasi. Sistem ini biasanya memiliki siklus pengolahan yang lebih cepat dibandingkan dengan HF. Proses pengolahan yang mendominasi adalah proses aerobik, dan efisiensi penghilangan bahan organik biasanya lebih tinggi dibandingkan dengan FWS dan HF. Penggunaan sistem ini sering digunakan untuk mengolah air limbah domestik.

#### 4. *Hybrid Constructed Wetlands*

Sistem *hybrid* diaplikasikan untuk mencapai efisiensi pengolahan yang lebih tinggi, terutama dalam penghilangan nitrogen. Sistem *hybrid* yang paling banyak digunakan yaitu kombinasi VF dan HF. Penggunaan sistem ini dapat diterapkan pada berbagai jenis air limbah, termasuk limbah dari industri dan pertanian.

### 2.3 Uji Toksisitas

Uji toksisitas akut merupakan metode penting dalam penilaian dampak lingkungan dari limbah, terutama dalam konteks pengelolaan air limbah industri. Salah satu pendekatan yang umum digunakan adalah *Whole Effluent Toxicity* (WET), yang mengevaluasi efek toksik dari limbah secara keseluruhan terhadap organisme akuatik (US EPA, 2000). Metode ini memberikan gambaran yang lebih komprehensif mengenai potensi bahaya limbah secara langsung terhadap organisme akuatik dibandingkan dengan pengujian zat-zat kimia tertentu (Jin & Kusui, 2019).

Metode WET biasanya menghasilkan nilai  $LC_{50}$ , yaitu konsentrasi limbah yang menyebabkan kematian 50% dari populasi organisme uji dalam rentang waktu 24 – 96 jam (Tiarina et al., 2024). Penentuan nilai  $LC_{50}$  tidak terlepas dari beberapa variabilitas, seperti komposisi kimia air, usia organisme, dan kondisi paparan yang dapat memengaruhi hasil pengukuran. Misalnya, Mebane et al. (2021) mencatat variabilitas yang signifikan dalam nilai  $LC_{50}$  untuk *Ceriodaphnia dubia* ketika terpapar logam Zn, menyoroti pengaruh kondisi lingkungan terhadap hasil toksisitas. Pengukuran  $LC_{50}$  memberikan informasi yang penting mengenai tingkat toksisitas limbah dan membantu dalam pengambilan keputusan mengenai pengelolaan dan pembuangan limbah.

Beberapa studi telah dilakukan untuk mengevaluasi toksisitas air limbah tekstil terhadap *Daphnia magna*. Misalnya, penelitian oleh Tiarina et al. (2024) menunjukkan bahwa penggunaan *D. magna* sebagai bioindikator efektif dalam menilai toksisitas air limbah yang mengandung bahan aktif farmasi. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa nilai  $LC_{50}$  dapat digunakan untuk menilai dampak toksik dari limbah terhadap organisme akuatik. Studi lain oleh Shafiee et al. (2021) mengevaluasi efek toksisitas dari limbah minyak sawit yang diolah menggunakan *D. magna*. Penelitian ini menemukan bahwa nilai  $LC_{50}$  untuk limbah tersebut adalah 9,02% (v/v), menunjukkan bahwa limbah tersebut memiliki potensi toksik yang signifikan terhadap organisme akuatik. Dengan demikian, uji toksisitas akut, terutama melalui pendekatan *Whole Effluent Toxicity* (WET), sangat penting dalam menilai dampak limbah industri terhadap organisme akuatik. Metode ini memberikan pemahaman yang lebih baik tentang risiko lingkungan, sehingga dapat mendukung pengelolaan air limbah yang lebih efektif dan berkelanjutan.

## 2.4 Hewan Uji *Daphnia Magna*

*Daphnia magna* merupakan organisme zooplankton dengan ukuran panjang antara 3 – 5 mm yang tersebar luas di daerah ekosistem air tawar (Deng et al., 2018; Mergeay et al., 2006). Tubuhnya ditutupi oleh karapas transparan yang melindungi organ dalamnya, memungkinkan pengamatan langsung terhadap proses fisiologis. Transparansi ini tidak hanya merupakan karakteristik fisik tetapi juga berfungsi sebagai mekanisme pertahanan terhadap predator, dengan membantu *D. magna* berkamuflase dalam air sekitarnya (Cooper et al., 2021).

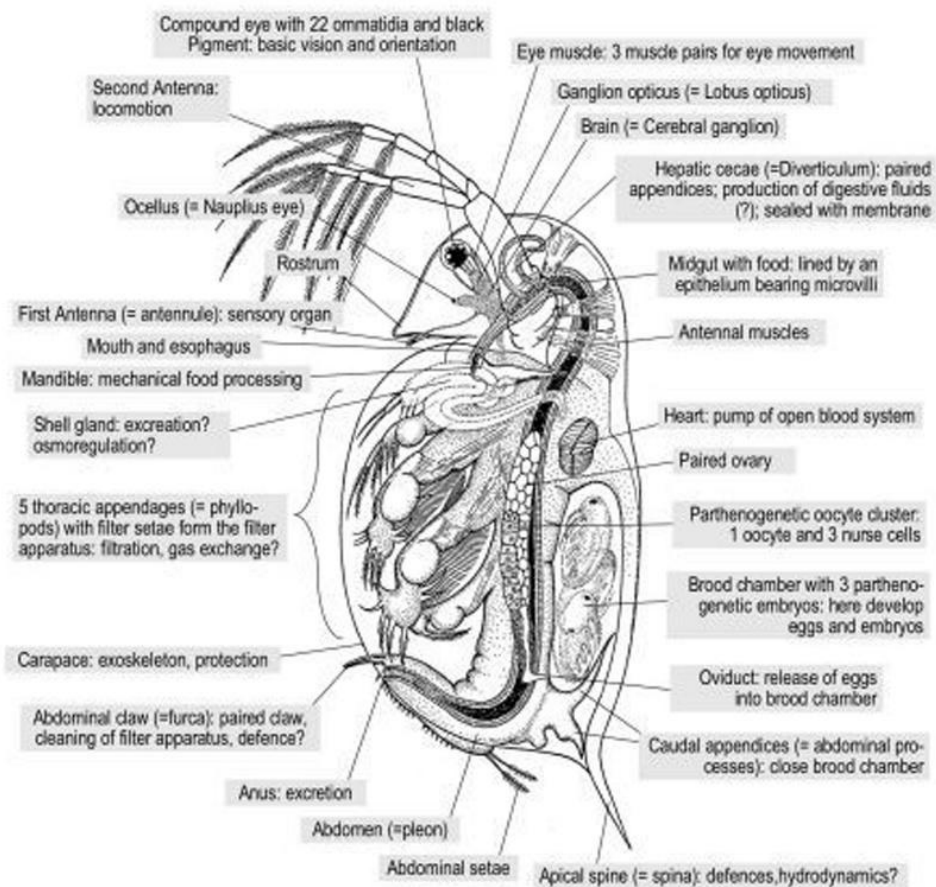
Struktur tubuh *D. magna* beradaptasi untuk mendukung efisiensi dalam berenang dan memperoleh makanan. Spesies ini memiliki kepala yang besar dan pipih dengan mata majemuk yang memberikan bidang penglihatan luas, yang sangat penting untuk mendeteksi keberadaan predator (Frankel-Bricker et al., 2019). Antena *D. magna* sangat memanjang dan berfungsi sebagai alat gerak, memungkinkan pergerakan renang yang khas dengan pola tersentak-sentak. Selain itu, antena juga berperan dalam proses makan dengan menciptakan arus air yang membantu menarik partikel makanan (Macke et al., 2017).

*Daphnia magna* memiliki adaptasi reproduksi unik yang ditandai dengan partenogenesis siklik, di mana betina dapat menghasilkan telur yang berkembang menjadi keturunan tanpa fertilisasi dalam kondisi yang menguntungkan. Strategi reproduksi ini memungkinkan pertumbuhan populasi yang cepat, terutama di lingkungan yang kaya akan nutrisi (Ivan et al., 2022). Ciri fisik yang terkait dengan reproduksi mencakup keberadaan struktur khusus untuk membawa telur, yang dapat diamati secara eksternal sebagai kantung penetasan (*brood pouch*) (Park & Choi, 2008).

*Daphnia magna* berperan penting dalam ekosistem perairan sebagai sumber makanan bagi ikan dan predator lainnya. Kehadiran dan kelimpahannya dapat berdampak signifikan terhadap dinamika jaring makanan di lingkungan air tawar (Ebert, 2005). Organisme ini sensitif terhadap berbagai macam zat tetapi mudah dikembangbiakkan dalam skala laboratorium, oleh karena itu organisme ini sering digunakan untuk pengujian ekotoksikologi (Bownik, 2017). Organisme ini berfungsi sebagai model untuk menilai toksisitas berbagai bahan kimia, termasuk logam berat dan farmasi (Pan et al., 2017; Traudt et al., 2016). Studi menunjukkan bahwa usia dan tahap perkembangan secara signifikan memengaruhi sensitivitas *Daphnia* terhadap zat toksik, sehingga menekankan perlunya protokol pengujian yang terstandarisasi guna mempertimbangkan variabel-variabel ini (Campos et al., 2021; Traudt et al., 2016). Selain itu, spesies ini juga digunakan untuk menguji pengaruh mikrobiota terhadap pertumbuhan dan reproduksi, di mana penelitian mengungkapkan bahwa

mikrobiota usus memainkan peran penting dalam kesehatan dan kebugaran *Daphnia* secara keseluruhan (El-Shehawy et al., 2023; Sison-Mangus et al., 2014).

Sebagai kesimpulan, *Daphnia magna* merupakan organisme model yang serbaguna dan memiliki peran penting dalam penelitian ekologi serta pemantauan lingkungan. Kemampuannya dalam merespons perubahan lingkungan, ditambah dengan kemudahannya untuk dimanipulasi secara genetik, menjadikannya aset yang sangat berharga dalam studi dinamika ekologi, proses evolusi, dan dampak polutan terhadap ekosistem perairan.



Gambar 2.1 Anatomi *Daphnia magna*

## 2.5 Penelitian Terdahulu

Berikut ini merupakan beberapa penelitian terdahulu yang dapat mendukung penelitian ini sebagai referensi dan pembanding:

Tabel 2.2 Penelitian terdahulu

No.	Referensi	Teknologi Pengolahan/ Metode Pengujian	Hewan Uji Toksisitas	Hasil Penelitian
1.	(Croce et al., 2017)	Pengujian toksisitas dilakukan terhadap 42 jenis pewarna tekstil dengan batas maksimum konsentrasi 100 mg/L.	<i>Daphnia magna</i>	Hasil penelitian menunjukkan sebanyak 9 jenis pewarna memiliki sifat toksik akut dengan nilai $LC_{50} < 100$ mg/L terhadap <i>D. magna</i> .
2.	(Castro et al., 2019)	Pengolahan air limbah tekstil dengan Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL)	<i>Daphnia magna</i>	- Air limbah tanpa pengolahan menunjukkan toksisitas akut dengan nilai TUa 4,14. - Efluen air limbah yang diolah pada IPAL tidak bersifat toksik dengan nilai TUa < 1.
3.	(Chandanshive et al., 2020)	Pengolahan air limbah tekstil dengan CW menggabungkan <i>high rate transpiration system</i> (HRTS) yang ditanami <i>Vetiveria zizanioides</i> dan <i>Ipomoea aquatica</i>	-	- Efisiensi penyisihan parameter warna ADMI 76%, COD 79%, BOD 84%, TDS 83%, dan TSS 51%. - Terdapat peningkatan aktivitas enzim pengurai warna seperti laccase dan lignin peroksidase.
4.	(de Alkimin et al., 2020)	Fitoremediasi air limbah domestik dan air limbah tekstil oleh <i>L. minor</i>	<i>Daphnia magna</i>	Proses fitoremediasi menunjukkan nilai tidak toksik pada efluen air limbah domestik dan air limbah tekstil.
5.	(Garcia et al., 2021)	Pengujian toksisitas dilakukan terhadap efluen limbah tekstil yang tidak diolah	- <i>Daphnia similis</i> - <i>Vibrio fischeri</i> - <i>Biomphalaria glabrata</i>	Hasil penelitian menunjukkan toksisitas akut terhadap organisme setelah terpapar air limbah tekstil dengan nilai $LC_{50} < 15\%$ .
6.	(Rohaningsih et al., 2023)	Pengolahan air limbah tekstil dengan CW yang ditanami <i>V. zizanioides</i> dengan berbagai macam media (kerikil kasar,	-	Efisiensi penyisihan konsentrasi amonia hingga 80%.

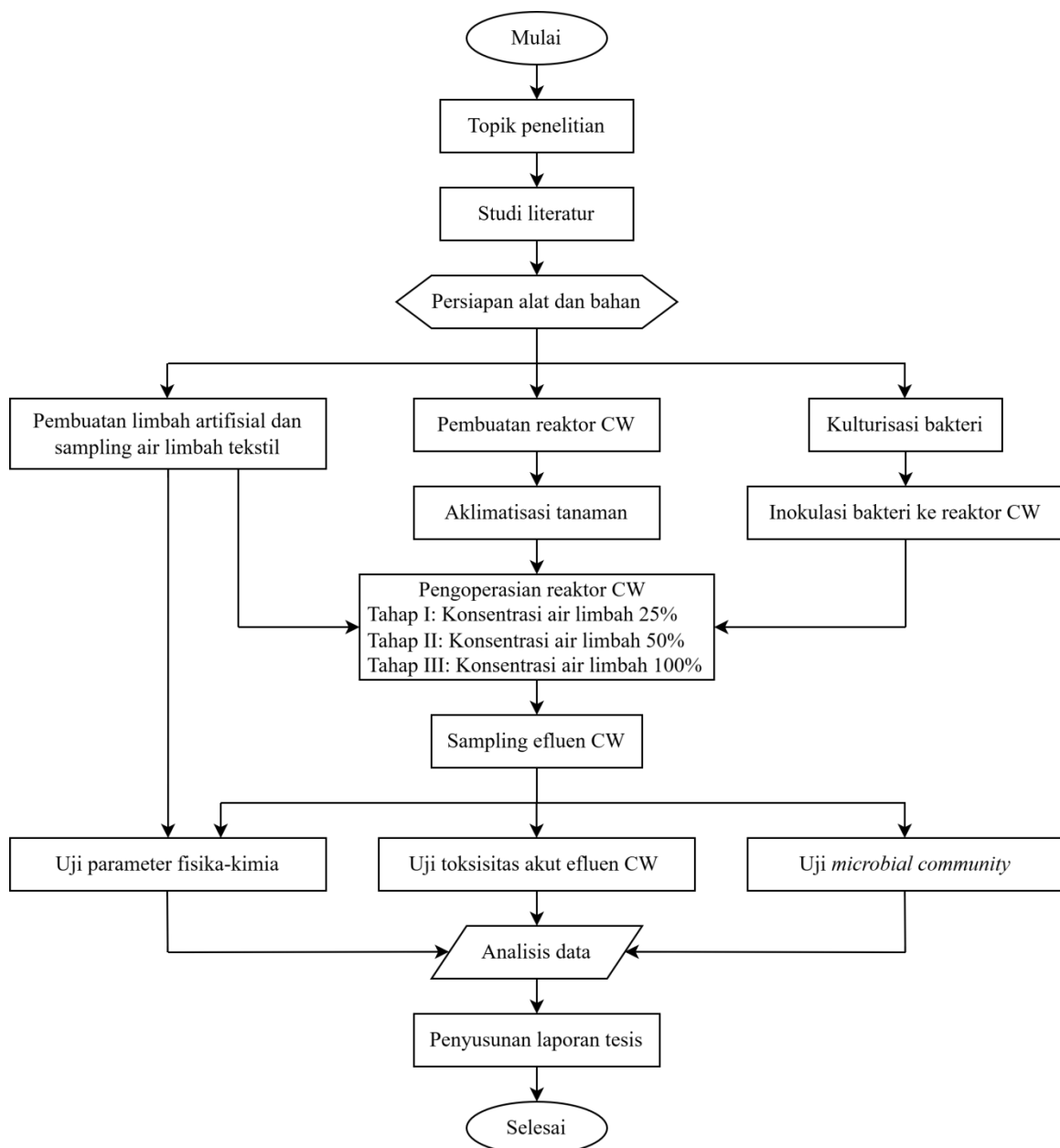
No.	Referensi	Teknologi Pengolahan/ Metode Pengujian	Hewan Uji Toksisitas	Hasil Penelitian
		kerikil halus, dan pasir)		
7.	(Fajri et al., 2024)	Pengolahan air limbah tekstil dengan reaktor FTW yang ditanami <i>V. zizanioides</i> dan diinokulasi dengan bakteri endofit dan indigenous.	-	- Reaktor FTW yang diinokulasi dengan bakteri <i>Bacillus cereus</i> dan <i>Stenotrophomonas malthophilia</i> menunjukkan penurunan COD (86,7%) dan warna (65,3%) yang signifikan. - Reaktor FTW yang diinokulasi bakteri <i>Stenotrophomonas malthophilia</i> dan <i>Bacillus spizizenii</i> paling efektif dalam menurunkan konsentrasi logam Pb dan Cu.
8.	(Vistanty et al., 2025)	Pengolahan air limbah batik dengan <i>Upflow Anaerobic Reactor</i> (UAR) dan <i>Horizontal Flow Subsurface Constructed Wetlands</i> (HFSCW)	-	Sistem yang terintegrasi antara UAR dan HFSCW memiliki efisiensi penurunan COD 94,3%, BOD 94,5%, TSS 89,3%, amonia 53,3%, Cr 96,83%, fenol 30,2%, dan sulfida 52,8%.

# BAB III

## METODE PENELITIAN

### 3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam skala laboratorium pada rentang waktu dari Januari – Oktober 2024. Reaktor ditempatkan di *green house*, sedangkan pengujian parameter fisika-kimia, kulturisasi bakteri, dan uji toksisitas dilaksanakan di Laboratorium Kualitas Lingkungan, Program Studi Teknik Lingkungan, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta. Secara umum, alur tahapan penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Diagram alir penelitian

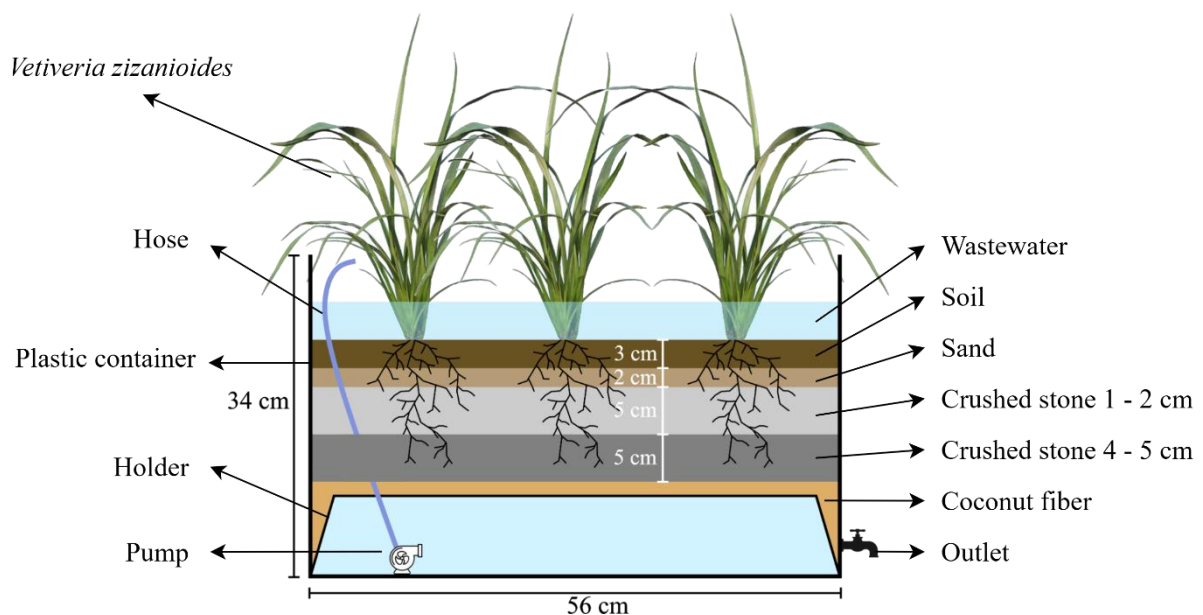
### 3.2 Pembuatan Reaktor *Constructed Wetland* dan Aklimatisasi Tanaman

Pengolahan air limbah dalam penelitian ini menggunakan kombinasi sistem *constructed wetland* (CW) dan konsorsium bakteri endofit serta bakteri indigenous terpilih, dengan beberapa variasi perlakuan yang disajikan dalam Tabel 3.1. Setiap jenis reaktor dibuat dengan pengulangan secara triplo, dan reaktor CW dibuat menggunakan kontainer plastik yang diisi dengan campuran beberapa media tanam, serta menggunakan tanaman *Vetiveria zizanioides* sebagai vegetasinya. Kapasitas air limbah yang dapat diolah oleh reaktor CW tersebut adalah 15 L.

Tabel 3.1 Variasi reaktor

No.	Kode Reaktor	Jenis Perlakuan
1	K	Kontrol air limbah (tanpa pengolahan)
2	KT	<i>Constructed wetland</i> + air bersih
3	C1	<i>Constructed wetland</i> + air limbah
4	C2	<i>Constructed wetland</i> + air limbah + konsorsium bakteri terpilih

Semua reaktor wetland dibuat seragam, masing-masing ditanami 9 rumpun tanaman, di mana setiap rumpun berisi 3 – 4 batang. Tanaman yang digunakan berusia  $\pm 3$  bulan dan daunnya dipotong hingga menyisakan panjang 15 cm. Media tanam disusun dalam reaktor dengan mengatur ketinggian setiap jenis lapisan dari bawah hingga ke atas, dengan komposisi sebagai berikut: serabut kelapa (1 cm), batu split berdiameter 4 – 5 cm (5 cm), batu split berdiameter 1 – 2 cm (5 cm), pasir (2 cm), dan tanah steril (3 cm). Detail desain reaktor CW tersebut dapat dilihat pada Gambar 3.2.



Gambar 3.2 Desain reaktor *constructed wetland*

Proses aklimatisasi tanaman di dalam reaktor berlangsung selama  $\pm 4$  bulan, dengan pemberian pupuk hidroponik secara rutin satu kali setiap minggu selama dua bulan pertama. Aklimatisasi ini dilakukan agar tanaman dapat menyesuaikan diri dengan media tumbuh yang baru serta memaksimalkan pertumbuhan akar dan batang hingga siap dioperasikan untuk pengolahan air limbah tenun. Pada akhir proses aklimatisasi, tinggi maksimum rata-rata tanaman dalam reaktor mencapai  $106,06 \pm 5,44$  cm. Meskipun tinggi tersebut belum dikategorikan dewasa ( $>1,5$  m), tetapi sudah menunjukkan pertumbuhan batang dan akar yang baik dan sedang menuju fase matang.

(a) Kondisi awal aklimatisasi



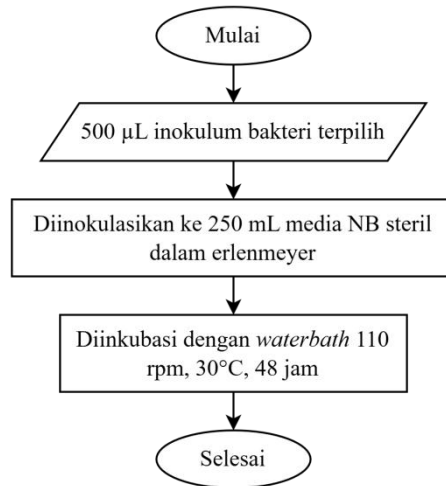
(b) Kondisi akhir aklimatisasi



Gambar 3.3 Proses aklimatisasi tanaman vetiver dalam reaktor *wetland*

### 3.3 Kulturasasi Bakteri Terpilih

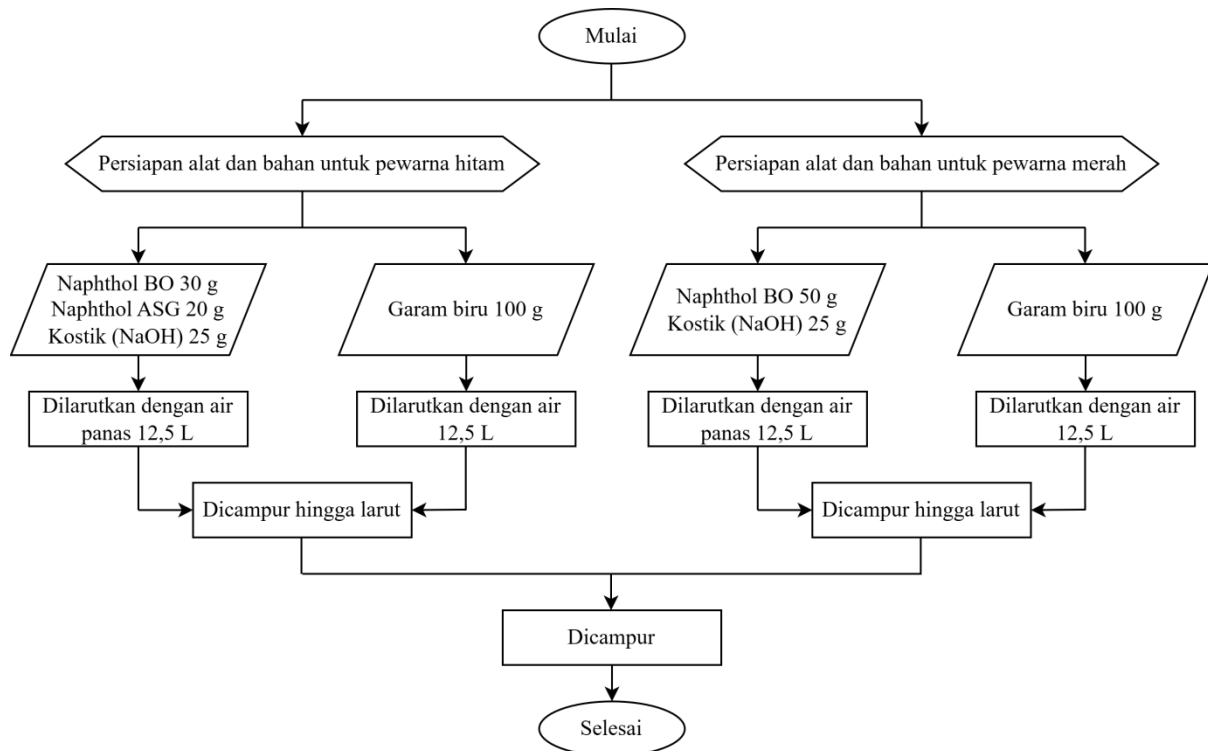
Penelitian ini menggunakan bakteri yang diisolasi dari tanah dan tanaman yang terkontaminasi air limbah tenun, yang telah dilakukan pada penelitian sebelumnya (Fajri et al., 2024). Spesies bakteri yang terpilih adalah *Bacillus cereus*, *Bacillus spizizenii*, dan *Stenotrophomonas malthophilia*, dengan pemilihan yang didasarkan pada kemampuannya dalam menurunkan konsentrasi COD, warna, dan logam berat (Pb dan Cu). Bakteri diperbanyak pada media *nutrient broth* (NB) dengan volume media yang dimasukkan ke dalam reaktor adalah 250 mL untuk setiap jenis bakteri. Tahapan kulturasasi bakteri terpilih dapat dilihat pada Gambar 3.4. Tahapan tersebut merupakan proses untuk memperbanyak satu jenis bakteri dalam satu reaktor.



Gambar 3.4 Tahapan kulturisasi bakteri

### 3.4 Persiapan dan Pembuatan Air Limbah Tenun

Air limbah tenun yang diolah terdiri dari tiga variasi beban konsentrasi, yaitu 25%, 50%, dan 100%. Air limbah 25% dan 50% merupakan air limbah artifisial yang dibuat menggunakan bahan pewarna dengan takaran yang disesuaikan dengan proses pewarnaan di industri kain tenun di Desa Troso, Jepara. Limbah artifisial ini menggunakan pewarna hitam dan merah dari jenis pewarna naphthol, yang dipilih karena umum digunakan dalam industri tersebut. Sementara itu, air limbah 100% merupakan air limbah asli yang diperoleh langsung dari tempat proses pewarnaan di Jepara dengan metode *grab sampling*.



Gambar 3.5 Tahapan pembuatan air limbah artifisial

Pewarna naphthol berbentuk bubuk dan memerlukan air panas untuk proses pelarutan, dengan air keran digunakan sebagai pelarut. Setelah larut, pewarna ini dicampur dengan larutan garam sesuai dengan warna yang diinginkan. Tahapan pembuatan limbah artifisial dapat dilihat pada Gambar 3.5. Air limbah artifisial yang telah dibuat kemudian diencerkan dengan air bersih atau air keran hingga mencapai konsentrasi yang dibutuhkan.

### 3.5 Pengoperasian Reaktor CW dan Analisis Parameter Fisika-Kimia

Pengolahan air limbah tenun dilakukan dengan sistem *batch*, yang terdiri dari tiga variasi beban konsentrasi air limbah. Variasi tersebut meliputi periode hari ke 0 – 14 dengan beban konsentrasi 25%, periode hari ke 14 – 28 dengan beban konsentrasi 50%, dan periode hari ke 28 – 56 dengan beban konsentrasi 100%.

#### 3.5.1 Analisis Parameter Fisika-Kimia Air Limbah Tenun

Sebelum pengoperasian reaktor, parameter fisika-kimia air limbah tenun diuji untuk mengetahui karakteristik awalnya. Selama proses pengolahan, pengujian dilakukan secara berkala untuk mengevaluasi kemampuan reaktor CW dalam memperbaiki kualitas air limbah. Parameter yang dianalisis meliputi *chemical oxygen demand* (COD), warna, amonia, logam berat seperti Pb dan Cd, *total dissolved solids* (TDS), *oxidation reduction potential* (ORP), *electrical conductivity* (EC), pH, dan suhu. Analisis parameter tersebut mengacu pada Standar Nasional Indonesia yang berlaku, sebagaimana disajikan pada Tabel 3.2. Pengujian parameter utama dilakukan setiap seminggu sekali, parameter logam berat dilakukan pada awal dan akhir pengolahan, serta pemantauan harian terhadap parameter pendukung.

Tabel 3.2 Acuan pengujian parameter fisika-kimia

Parameter	Satuan	Metode	SNI
<b>Parameter utama</b>			
COD	mg/L	Refluks tertutup secara spektrofotometri	SNI 6989.2:2009
Warna	Pt-Co	Spektrofotometri	SNI 6989.80:2011
Amonia	mg/L	Spektrofotometer secara fenat	SNI 06-6989.30:2005
<b>Logam berat</b>			
Pb	mg/L	Spektrometri serapan atom (SSA)	SNI 6989-84:2019
Cd	mg/L	Spektrometri serapan atom (SSA)	SNI 6989-84:2019
<b>Parameter harian</b>			
TDS	mg/L	<i>Water quality meter</i>	
ORP	mV	<i>Water quality meter</i>	
EC	μS/cm	<i>Water quality meter</i>	
pH		<i>Water quality meter</i>	
Suhu	°C	<i>Water quality meter</i>	

### 3.5.2 Analisis Serapan Logam Berat pada Tanaman Vetiver

Setelah proses pengolahan selesai, tanaman dalam reaktor dipanen untuk dianalisis kandungan logam Pb dan Cd pada bagian akar dan batang. Pengujian dilakukan menggunakan metode spektrometri serapan atom (SSA) yang mengacu pada petunjuk teknis dari Eviati et al. (2023). Konsentrasi logam berat yang diperoleh kemudian dianalisis untuk menilai kemampuan translokasi logam berat dengan menghitung nilai *translocation factor* (TF) menggunakan rumus berikut (Ramírez et al., 2021):

$$TF = \frac{C_{shoot}}{C_{root}} \quad (1)$$

Keterangan:

TF : nilai faktor translokasi

$C_{shoot}$  : konsentrasi logam berat pada batang tanaman (mg/kg)

$C_{root}$  : konsentrasi logam berat pada akar tanaman (mg/kg).

Nilai  $TF > 1$  menunjukkan bahwa logam berat lebih banyak terakumulasi di bagian atas tanaman dari pada di akar, sehingga tanaman tersebut berpotensi digunakan dalam mekanisme fitoekstraksi. Sedangkan jika nilai  $TF < 1$ , logam berat cenderung tertahan di akar, sehingga tanaman lebih berperan sebagai fitostabilisator.

### 3.6 Analisis *Microbial Community* dalam Air Limbah

Setelah pengoperasian reaktor CW selama 8 minggu, keanekaragaman jenis bakteri dalam air limbah dan tanah dari reaktor CW dianalisis dengan *sequencing of 16S ribosomal RNA* (16S rRNA) menggunakan *Nanopore sequencing*. Jenis sampel yang diuji dapat dilihat pada Tabel 3.3.

Tabel 3.3 Sampel uji skuensing 16SrRNA

Reaktor	Keterangan
KT	Sampel tanah dari CW yang berisi air bersih
K	Sampel air limbah tenun
C1	Sampel efluen dari CW
C2	Sampel efluen dari CW + bakteri

Ekstraksi DNA sampel dan amplifikasi gen 16S rRNA dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dilakukan mengikuti prosedur dari Fajri et al. (2024). Sampel diekstraksi menggunakan *Quick-DNA Miniprep Kit* (ZYMO RESEARCH). Amplifikasi gen 16S rRNA menggunakan primer universal, yaitu 27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') dan 1492R (5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3') (*Integrated DNA Technologies, IDT*). Reaksi PCR dilakukan dalam total volume 50  $\mu$ L menggunakan *Q5 Hot Start High-Fidelity*

*DNA Polymerase* (New England Biolabs, NEB) dengan pengaturan sesuai protokol manufaktur. Kemudian hasil produk PCR divisualisasasi dengan elektroforesis dan sampel siap dikirim ke PT Genetika Science untuk analisis skuensing.

*Nanopore squencing* dioperasikan dengan software MinKNOW versi 24.02.16. Proses penentuan urutan basa DNA (*basecalling*) dilakukan menggunakan Dorado versi 7.3.11 dengan model akurasi tinggi, diikuti dengan visualisasi dan penyaringan kualitas file FASTQ dengan NanoPlot dan NanoFit. Reads yang telah diseleksi kemudian diklasifikasikan menggunakan *Centrifuge classifier*. Indeks untuk bakteri dan archaea dibuat berdasarkan database dari NCBI 16S RefSeq (<https://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/refseq/TargetedLoci/>).

### 3.7 Uji Toksisitas Akut

#### 3.7.1 Proses Pembiakan Hewan Uji *Daphnia magna*

Hewan uji yang digunakan adalah *Daphnia magna* (kutu air) yang diperoleh dari peternak lokal. Metode pembiakan organisme air ini mengikuti pedoman dari US EPA (2002). Proses kultur *D. magna* dilakukan menggunakan akuarium kaca yang memiliki volume 22,5 L dengan sekat pemisah di dalamnya. Akuarium tersebut diisi air keran yang diaerasi selama minimal 48 jam untuk mencapai kondisi optimal bagi pertumbuhan *D. magna*, yaitu DO minimal 3 mg/L, pH 7 (cenderung netral), dan suhu dalam rentang 20 – 25°C. Proses pembiakan *D. magna* dilakukan hingga kelahiran selama 3 generasi. Selama pembiakan, hewan uji diberi pakan ragi (fermipan) yang dilarutkan dalam air dengan konsentrasi 5 g/L, diberikan 1 kali sehari. Hewan uji yang menunjukkan tanda-tanda kehamilan dipindahkan ke reaktor baru berisi air yang telah diaerasi, sehingga menghasilkan larva-larva baru (< 24 jam) yang siap digunakan untuk uji toksisitas LC<sub>50</sub>.

(a) Proses aerasi



(b) Proses *breeding D. magna*



Gambar 3.6 Proses pembiakan hewan uji *D. magna*

### 3.7.2 Metode *Whole Effluent Toxicity* (WET)

*Whole Effluent Toxicity* (WET) adalah metode untuk mengukur efek toksik akut secara keseluruhan dari air limbah cair atau efluen terhadap organisme akuatik, yang dilakukan berdasarkan pedoman dari US EPA (2000). Toksisitas akut dinyatakan sebagai nilai  $LC_{50}$ , di mana konsentrasi efluen dapat menyebabkan kematian sebanyak 50% dari total populasi. Pengujian dilakukan secara *static non renewal* menggunakan gelas kaca 200 mL, dengan 100 mL sampel air limbah dan 10 ekor *D. magna* per gelas.

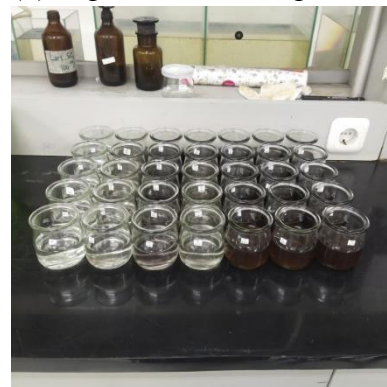
Tahapan pengujian ini meliputi uji pendahuluan atau *range finding test* (RFT) dan uji definitif. Uji RFT dilakukan dengan set dilusi efluen 0%; 6,25%; 12,5%; 25%; 50%; dan 100%. Dilusi menggunakan campuran aquades dan air keran dengan perbandingan 2:1 yang telah diaerasi. Percobaan dilakukan selama 96 jam, di mana pengukuran nilai pH, *dissolved oxygen* (DO), dan suhu diuji menggunakan Horiba LAQUAact PH110 *water quality meter* dan dilakukan pada awal dan akhir percobaan. Sedangkan observasi kematian hewan uji dilakukan setiap hari. Hasil uji dapat diterima jika hewan uji yang hidup di gelas kontrol  $\geq 90\%$ . Jika persentase kematian yang diperoleh melebihi 50% pada semua konsentrasi efluen uji RFT, maka dilakukan pengujian ulang dengan rentang konsentrasi baru atau disebut uji definitif. Rentang konsentrasi baru tersebut ditentukan dengan mengalikan nilai R dengan konsentrasi terendah. Adapun nilai R dihitung dengan rumus berikut:

$$R = \left(\frac{a}{b}\right)^{\frac{1}{n-1}} \quad (2)$$

Keterangan:

- R : konstanta
- a : konsentrasi tertinggi dengan kematian hewan uji mendekati 50%
- b : konsentrasi terendah dengan kematian hewan uji mendekati 50%
- n : jumlah variasi konsentrasi

(a) Larva *D. magna* yang siap diuji (b) *Experimental set up*



Gambar 3.7 Uji WET dengan variasi konsentrasi efluen dari pengolahan CW

Setelah hasil persentase kematian hewan uji diperoleh, kemudian dilakukan penghitungan nilai  $LC_{50}$  menggunakan metode probit. Analisis ini mengubah persentase kematian menjadi nilai probit yang dapat dilihat pada Tabel 3.4, kemudian mengubah konsentrasi efluen menjadi  $\log_{10}$ , dan menghitung hasil  $LC_{50}$  dari persamaan regresi linier dari kurva dosis-respon (US EPA, 2002). Nilai *toxic unit-acute* (TUa) juga dihitung menggunakan persamaan sebagai berikut (EPA, 2000):

$$TUa = \frac{100}{LC_{50}} \quad (3)$$

Tingkat toksitas efluen dapat dikategorikan berdasarkan nilai TUa yang disajikan pada Tabel 3.5. Klasifikasi ini terdiri dari beberapa kategori toksisitas akut yang mengacu pada Persoone et al. (2003).

Tabel 3.4 Nilai transformasi probit

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	—	2.67	2.95	3.12	3.25	3.30	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
—	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.46	7.51	7.58	7.65	7.75	7.88	8.09

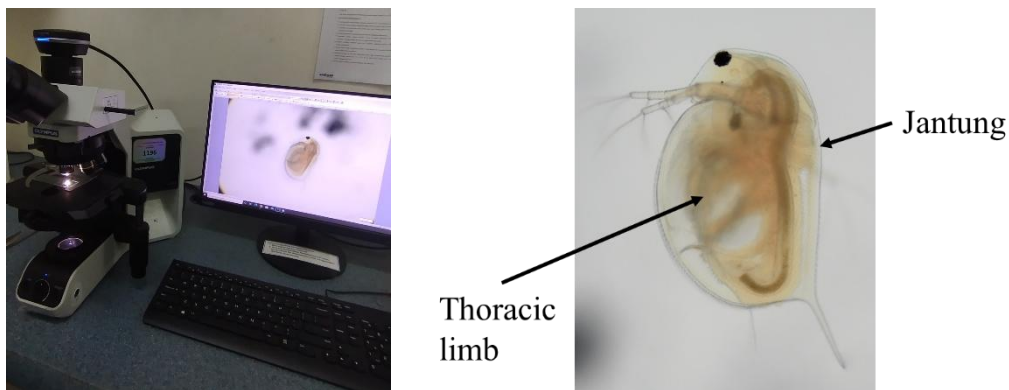
Tabel 3.5 Klasifikasi tingkat toksisitas efluen untuk lingkungan akuatik

Toxicity Unit (TU)	Klasifikasi	Kategori
$TU < 0.4$	<i>Class I</i>	<i>No acute toxicity</i>
$0.4 \leq TU < 1$	<i>Class II</i>	<i>Slight acute toxicity</i>
$1 \leq TU < 10$	<i>Class III</i>	<i>Acute toxicity</i>
$10 \leq TU < 100$	<i>Class IV</i>	<i>High acute toxicity</i>
$TU \geq 100$	<i>Class V</i>	<i>Very high acute toxicity</i>

### 3.7.3 Analisis Morfologi dan Fisiologi *Daphnia magna*

Analisis morfologi dan fisiologi *D. magna* mengacu pada metode dari Bownik et al. (2015) dan Li et al. (2023) dengan beberapa modifikasi. Pengujian dilakukan menggunakan 10 ekor hewan uji dalam 100 mL sampel efluen, yang diobservasi selama 96 jam. Sampel yang diuji merupakan konsentrasi tertinggi dari hasil uji definitif pada masing-masing variasi beban konsentrasi air limbah, serta sampel kontrol.

Parameter fisiologis yang diamati meliputi laju detak jantung dan pergerakan *thoracic limb* (Gambar 3.8), serta parameter morfologis berupa kerusakan fisik akibat penyerapan zat warna pada jaringan tubuh *D. magna*. Observasi dilakukan dengan mikroskop Olympus BX53 dengan perbesaran 40x. Setiap pengamatan dilakukan sebanyak tiga kali ulangan dan direkam selama 1 menit. Video hasil pengamatan dianalisis menggunakan perangkat lunak *media player*. Jumlah detak jantung dan pergerakan *thoracic limb* dihitung secara manual selama 10 detik, kemudian dikalikan 6 untuk memperoleh estimasi jumlah denyut atau *beats per minute* (BPM) dan gerakan per menit.



Gambar 3.8 Analisis morfologi dan fisiologi *D. magna* setelah paparan efluen

### 3.8 Analisis Statistik

Data kualitas air limbah dan efluen dianalisis menggunakan uji ANOVA (*Analysis of Variance*) dan *Tukey post hoc* melalui *software IBM SPSS 25* untuk mengetahui perbedaan signifikan antar jenis pengolahan dan variasi beban konsentrasi air limbah pada tingkat signifikansi 5%. Selain itu, analisis statistik juga dilakukan pada data fisiologis, meliputi laju detak jantung dan pergerakan *thoracic limb* *D. magna*, untuk mengevaluasi pengaruh paparan antar sampel efluen.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Karakteristik Air Limbah Tenun

Karakteristik fisika-kimia air limbah tenun diuji terlebih dahulu sebelum pengolahan dilakukan. Penelitian ini memiliki tiga tahap pengoperasian reaktor dengan variasi beban konsentrasi air limbah yaitu 25%, 50%, dan 100%, di mana pengujian awal parameter fisika-kimia dilakukan pada setiap konsentrasi. Hasil uji parameter fisika-kimia tersebut dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Karakteristik air limbah tenun

Parameter	Limbah 25%	Limbah 50%	Limbah 100%	Baku Mutu*
COD (mg/L)	5.781,20 <sup>b</sup> ± 878,93	5.364,01 <sup>b</sup> ± 94,9	29.851,14 <sup>a</sup> ± 4.539,29	150
Warna (Pt-Co)	10.162,43 <sup>a</sup> ± 4138,17	19.405,00 <sup>a</sup> ± 580,8	19.212,40 <sup>a</sup> ± 806,01	200
Amonia (mg/L)	11,70 <sup>b</sup> ± 1,59	18,03 <sup>a</sup> ± 0,62	21,55 <sup>a</sup> ± 2,83	8
Suhu (°C)	26,20 <sup>a</sup> ± 00	24,70 <sup>b</sup> ± 00	25,97 <sup>a</sup> ± 0,27	NG
pH	7,96 <sup>b</sup> ± 0,01	9,36 <sup>a</sup> ± 0,03	6,82 <sup>c</sup> ± 0,07	6 – 9
TDS (mg/L)	885,33 <sup>b</sup> ± 5,24	1.953,33 <sup>a</sup> ± 20,28	2.020,00 <sup>a</sup> ± 45,83	NG
ORP (mV)	69,00 <sup>a</sup> ± 0,58	-179,33 <sup>b</sup> ± 3,48	-208,67 <sup>c</sup> ± 4,48	NG
EC (µS/cm)	1.794,67 <sup>b</sup> ± 10,73	3.933,33 <sup>a</sup> ± 63,33	4.086,67 <sup>a</sup> ± 97,01	NG
Pb (mg/L)	1,20 <sup>a</sup> ± 0,39	0,61 <sup>a</sup> ± 0,98	3,07 <sup>a</sup> ± 1,08	NG
Cd (mg/L)	0,39 <sup>a</sup> ± 0,02	0,14 <sup>a</sup> ± 0,07	0,32 <sup>a</sup> ± 0,18	NG

Setiap nilai merupakan rata-rata dari tiga ulangan, dengan ± menunjukkan standar error. Nilai pada setiap parameter yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak adanya perbedaan signifikan pada tingkat signifikansi 5%. Data dianalisis dengan ANOVA dan uji *post-hoc Tukey*.

\*Baku mutu air limbah tekstil merujuk pada Peraturan Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan Republik Indonesia Nomor P.16/MENLHK/SETJEN/KUM.1/4/2019.

Berdasarkan variasi beban konsentrasi, air limbah dengan konsentrasi 100% menunjukkan nilai yang signifikan lebih tinggi ( $p < 0,05$ ) dibandingkan dengan konsentrasi 25% dan 50%. Namun, beberapa parameter seperti pada parameter warna, amonia, TDS, dan EC tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p > 0,05$ ) antara limbah artifisial 50% dan limbah asli 100%, yang menunjukkan kemiripan karakteristik. Hal ini dapat disebabkan oleh proses pembuatan limbah artifisial yang tidak sepenuhnya mereplikasi kondisi aktual proses pewarnaan pada industri tenun. Selain itu, pada limbah asli, sebagian zat warna kemungkinan terserap oleh benang selama proses pewarnaan, sehingga konsentrasi zat warna yang tertinggal dalam air lebih rendah dibandingkan dengan limbah artifisial yang seluruh zat warnanya masih terkandung dalam air.

Hasil pengujian menunjukkan bahwa kualitas air limbah tenun memiliki kandungan polutan yang tinggi, terutama untuk parameter COD dengan nilai 5.781,20 – 29.851,14 mg/L dan warna sebesar 10.162,43 – 19.405 Pt-Co. Tingginya konsentrasi ini juga ditemukan pada penelitian sebelumnya pada air limbah batik, yang sebagian besar menggunakan jenis zat pewarna yang sama dengan industri kain tenun, dengan nilai COD 9.124,25 – 12.063,33 mg/L dan warna 29.721,7 Pt-Co (Indrayani, 2018; Kiswanto et al., 2019).

Konsentrasi parameter meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi air limbah, di mana hampir semua parameter melebihi baku mutu yang berlaku, kecuali nilai pH yang masih berada dalam rentang yang aman. Dengan tingginya konsentrasi polutan tersebut, terdapat potensi terjadinya pencemaran di lingkungan yang dapat membahayakan organisme hidup di sekitarnya. Pencemaran ini sudah terjadi di beberapa lokasi terkait pencemaran limbah tenun maupun batik yang langsung dibuang ke lingkungan, mencemari air tanah di sekitar lokasi industri. Rahmadanti et al. (2024) melaporkan bahwa terjadi pencemaran air tanah padah 8 sumur di sekitar lokasi industri batik di Wukirsari, Bantul, Yogyakarta, dengan indeks pencemaran yang tergolong tercemar berat. Studi lain juga menemukan pencemaran di sekitar industri batik di Kebon, Bayat, Klaten, dengan indeks pencemaran dari tercemar ringan hingga tercemar sedang (Wicaksono & Wardani, 2025). Pencemaran ini menunjukkan pentingnya pengolahan air limbah untuk menurunkan konsentrasi polutan agar aman untuk dibuang ke lingkungan.

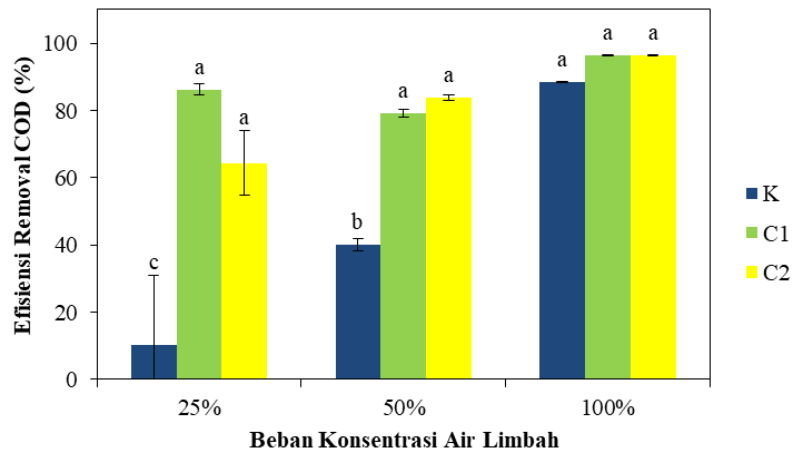
## **4.2 Evaluasi Parameter Fisika-Kimia dari Reaktor CW dalam Mengolah Air Limbah**

Efektivitas pengolahan air limbah tenun dengan CW dan bakteri dievaluasi berdasarkan kemampuannya dalam mendegradasi atau menurunkan beberapa parameter kimia seperti COD, amonia, logam Pb, logam Cd, dan pH, serta parameter fisik seperti warna, TDS, suhu, EC, dan ORP.

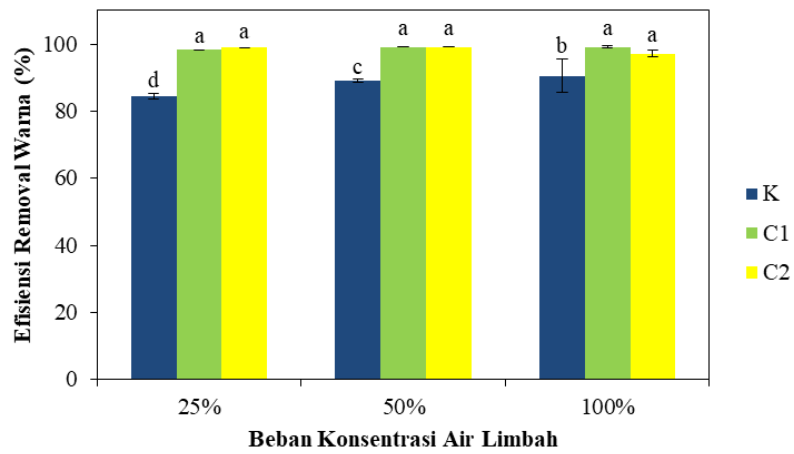
### **4.2.1 Efisiensi Penyisihan COD, Warna, dan Amonia**

Kinerja reaktor dalam mendegradasi parameter COD, warna, dan amonia dinilai berdasarkan persentase penyisihannya. Secara keseluruhan, semua jenis reaktor, baik tanpa pengolahan (K) maupun dengan pengolahan (C1 dan C2), menunjukkan penyisihan konsentrasi COD, warna, dan amonia (Gambar 4.1).

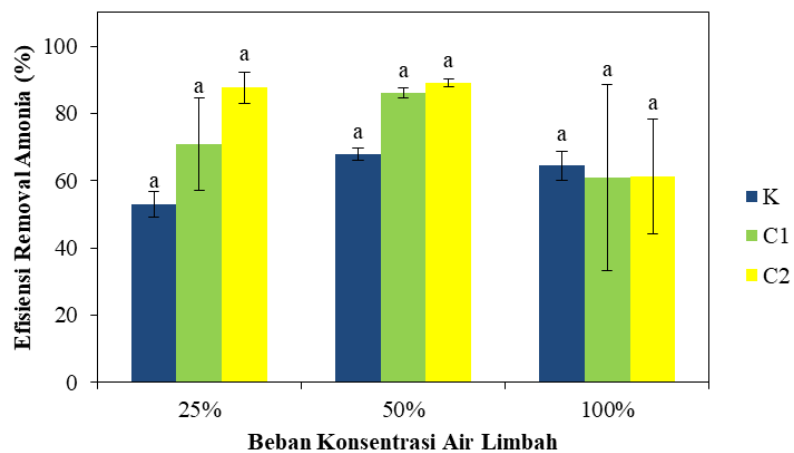
(A)



(B)



(C)



Gambar 4.1 Efisiensi penyisihan COD (A), warna (B), dan amonia (C). Setiap nilai merupakan rata-rata dari tiga ulangan, dengan error bar menunjukkan standar error. Huruf yang sama pada setiap nilai menunjukkan tidak adanya perbedaan signifikan pada tingkat signifikansi 5% (ANOVA dan uji post-hoc Tukey).

Pada parameter COD, reaktor K menunjukkan penyisihan sebesar 10,19 – 88,45%, reaktor C1 79,21 – 96,35%, dan reaktor C2 64,27 – 96,33%. Untuk parameter warna, penyisihan pada reaktor K mencapai 84,33 – 90,55%, reaktor C1 98,28 – 99,18%, dan reaktor C2 97,12 – 99,13%. Sementara itu, untuk parameter amonia, reaktor K menyisihkan 53,06 – 67,82%, reaktor C1 60,81 – 86,06%, dan reaktor C2 61,31 – 89,14%.

Pada konsentrasi 25%, reaktor C2 paling optimal dalam menurunkan warna (98,95%) dan amonia (87,65%), sedangkan C1 paling optimal dalam menurunkan COD (86,27%). Pada konsentrasi 50%, reaktor C2 paling optimal dalam menurunkan COD (83,70%) dan amonia (89,10%), sedangkan C1 paling efektif menurunkan warna (99,18%). Pada konsentrasi 100%, C1 paling optimal untuk menurunkan COD (96,35%) dan warna (99,15%), sedangkan penyisihan amonia tertinggi ditemukan pada reaktor K (64,51%).

Berdasarkan parameter COD dan warna, terdapat perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ) antara reaktor tanpa pengolahan (K) dan reaktor terolah (C1 dan C2). Namun, di antara kedua reaktor CW, baik dengan bakteri (C2) maupun tanpa bakteri (C1), tidak terdapat perbedaan yang signifikan ( $p > 0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa pengolahan dengan sistem wetland efektif dalam menurunkan COD dan warna dibandingkan dengan reaktor tanpa pengolahan, tetapi penambahan bakteri pada CW tidak memberikan dampak yang signifikan. Sebaliknya, untuk parameter amonia, tidak ditemukan perbedaan yang signifikan ( $p > 0,05$ ) di antara semua perlakuan pada berbagai beban konsentrasi. Hal ini menunjukkan bahwa amonia cenderung lebih mudah mengalami penurunan secara alami, yang dapat dikaitkan dengan sifatnya yang tidak stabil dan mudah menguap ke udara (Corruchaga & Casal, 2015).

Reaktor kontrol menunjukkan penyisihan parameter COD dan warna dapat dikaitkan dengan proses pengendapan zat padatan di dasar reaktor, yang berkontribusi terhadap penurunan kandungan zat organik dalam air limbah. Pewarna naphthol adalah jenis pewarna azo yang tidak larut dalam air kecuali setelah dikombinasikan dengan garam diazonium. Jika tidak seluruhnya bereaksi dalam proses pewarnaan, sisa pewarna dapat membentuk partikel padatan dalam limbah. Proses sedimentasi ini membantu mengurangi kekeruhan dan warna air limbah, serta menurunkan beban COD.

Berdasarkan variasi beban konsentrasi 25%, 50%, dan 100%, tidak ada perbedaan yang signifikan ( $p > 0,05$ ) antara reaktor C1 dan C2 pada penyisihan parameter COD, warna, dan amonia. Hal ini menunjukkan bahwa sistem CW mampu mengolah air limbah tenun asli dengan konsentrasi 100%, tetapi membutuhkan waktu yang lebih lama (28 hari) dibandingkan dengan pengolahan pada konsentrasi 25% dan 50% (14 hari). Hasil ini sejalan dengan penelitian Susanti et al. (2023), yang menunjukkan bahwa pengolahan air limbah

tekstil dengan CW pada konsentrasi 20% memiliki efisiensi penyisihan COD yang lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrasi 50%. Perbedaan efisiensi ini menunjukkan bahwa variasi beban organik dapat memengaruhi kinerja sistem pengolahan limbah. Analisis variasi beban konsentrasi dalam air limbah penting untuk memahami efisiensi dan efektivitas sistem pengolahan, karena beban konsentrasi yang berbeda dapat mempengaruhi performa dalam reduksi kontaminan maupun konsumsi energi (Przydatek et al., 2024; Rahmani & Handajani, 2014). Seiring meningkatnya beban organik, sistem harus bekerja lebih optimal untuk menguraikan senyawa, yang mengakibatkan pada peningkatan penggunaan energi.

Reaktor CW baik yang ditambahkan dengan bakteri (C2) maupun yang tidak (C1) menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan di antara keduanya ( $p > 0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa penambahan bakteri tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap performa CW dalam menurunkan konsentrasi COD, warna, dan amonia. Penelitian terdahulu telah melaporkan bahwa CW mampu menurunkan konsentrasi COD 60%, warna 70%, dan amonia 80% (Susanti et al., 2023). Namun, beberapa penelitian juga melaporkan bahwa dengan penambahan bakteri mampu meningkatkan efisiensi penyisihan polutan pada limbah tekstil (Tara, Iqbal, et al., 2019). Degradasi senyawa organik oleh mikroorganisme dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor biologis. Hambatan dapat terjadi akibat persaingan antar mikroorganisme dalam memanfaatkan sumber karbon yang terbatas, serta interaksi antagonistik yang menghambat pertumbuhan mikroba tertentu. Faktor-faktor ini dapat menurunkan efisiensi degradasi mikroba dalam lingkungan tertentu (Singh et al., 2021).

#### **4.2.2 Karakteristik Parameter Harian (Suhu, pH, EC, TDS, dan ORP)**

Pengolahan air limbah menggunakan sistem CW dan kombinasi dengan bakteri menghasilkan perubahan pada berbagai parameter fisika-kimia. Parameter suhu, pH, TDS, ORP, dan EC mengalami variasi yang mencerminkan efektivitas proses yang diterapkan. Karakteristik parameter tersebut disajikan pada Tabel 4.2 yang merupakan rata-rata konsentrasi selama proses pengolahan.

Suhu air limbah relatif stabil pada semua reaktor dan variasi beban, berkisar antara 25,02 – 25,69°C. Tidak adanya perbedaan yang signifikan ( $p > 0,05$ ) menunjukkan bahwa proses pengolahan yang diterapkan tidak menyebabkan perubahan suhu yang drastis. Kondisi ini menguntungkan mikroorganisme dalam sistem biologis karena masih dalam rentang suhu yang optimal bagi pertumbuhan bakteri yaitu 24 - 35°C (Indrayani & Triwiswara, 2018).

Tabel 4.2 Karakteristik parameter harian (suhu, pH, EC, TDS, dan ORP)

Reaktor	Suhu (°C)	pH	TDS (mg/L)	EC (µS/cm)	ORP (mV)
<b>Air Limbah 25%</b>					
K	25,42 <sup>a</sup> ± 0,19	8,38 <sup>a</sup> ± 0,06	937,82 <sup>d</sup> ± 29,70	1.829,85 <sup>d</sup> ± 6,87	-41,67 <sup>a</sup> ± 30,26
C1	25,69 <sup>a</sup> ± 0,18	7,95 <sup>a</sup> ± 0,06	665,83 <sup>c</sup> ± 9,04	1.334,89 <sup>c</sup> ± 18,61	-49,73 <sup>a</sup> ± 30,72
C2	25,61 <sup>a</sup> ± 0,18	7,86 <sup>b</sup> ± 0,04	658,03 <sup>c</sup> ± 1,74	1.322,15 <sup>e</sup> ± 2,96	-45,55 <sup>a</sup> ± 31,13
<b>Air Limbah 50%</b>					
K	25,05 <sup>a</sup> ± 0,15	8,55 <sup>a</sup> ± 0,36	1.991,27 <sup>b</sup> ± 12,93	4.000,33 <sup>b</sup> ± 20,33	-189,50 <sup>b</sup> ± 10,86
C1	25,14 <sup>a</sup> ± 0,12	7,88 <sup>a</sup> ± 0,24	1.288,33 <sup>c</sup> ± 43,88	2.417,00 <sup>c</sup> ± 50,59	-192,40 <sup>b</sup> ± 11,26
C2	25,22 <sup>a</sup> ± 0,12	7,76 <sup>b</sup> ± 0,23	1.282,00 <sup>c</sup> ± 7,39	2.526,33 <sup>c</sup> ± 33,44	-195,57 <sup>b</sup> ± 11,73
<b>Air Limbah 100%</b>					
K	25,02 <sup>a</sup> ± 0,20	6,57 <sup>c</sup> ± 0,04	2.330,51 <sup>a</sup> ± 35,54	4.631,54 <sup>a</sup> ± 67,40	-260,08 <sup>b</sup> ± 27,41
C1	25,10 <sup>a</sup> ± 0,19	6,54 <sup>c</sup> ± 0,04	1.846,92 <sup>b</sup> ± 65,99	3.671,79 <sup>b</sup> ± 128,88	-250,05 <sup>b</sup> ± 29,37
C2	25,15 <sup>a</sup> ± 0,20	6,54 <sup>c</sup> ± 0,05	1.836,92 <sup>b</sup> ± 60,91	3.665,90 <sup>b</sup> ± 119,01	-259,36 <sup>b</sup> ± 27,23

Nilai setiap parameter adalah rata-rata ± standar error, dengan tiga kali pengulangan. Pengujian dilakukan selama 14 hari untuk beban konsentrasi 25% dan 50%, dan 28 hari untuk beban 100%. Nilai pada setiap parameter yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak adanya perbedaan signifikan pada tingkat signifikansi 5%. Data dianalisis dengan ANOVA dan uji *post-hoc Tukey*.

Parameter pH relatif stabil berada pada rentang rata-rata 6,54 – 8,55, dengan nilai pada reaktor K cenderung lebih tinggi dibandingkan reaktor C1 dan C2. Namun, pada beban 50%, nilai pH cenderung mengalami penurunan dari kisaran 8 ke kisaran 6 pada semua reaktor, sebagaimana dengan hasil penelitian Loretha et al. (2014). Sistem *wetland* dapat membantu menstabilkan pH air limbah menjadi netral. Penurunan pH dapat disebabkan oleh produksi CO<sub>2</sub> melalui aktivitas biologis akar tanaman dan mikroorganisme, yang kemudian larut dalam air dan membentuk asam lemah seperti asam karbonat. Asam ini memicu presipitasi kalsium karbonat yang mengonsumsi alkalinitas, sehingga menurunkan pH (Mayes et al., 2009). Nilai pH yang dihasilkan dalam penelitian ini masih berada dalam rentang aman untuk pertumbuhan mikroorganisme, yaitu 6,5 – 8,3 (Salim, 2021). Kondisi pH netral umumnya ideal untuk proses biologis oleh mikroorganisme dalam menurunkan bahan organik, hal ini ditunjukkan dengan adanya penurunan konsentrasi COD.

Konsentrasi TDS dan EC menunjukkan tren peningkatan seiring bertambahnya beban konsentrasi air limbah. Hasil penelitian menunjukkan reaktor tanpa pengolahan (K) cenderung memiliki nilai yang lebih tinggi ( $p < 0,05$ ) dibandingkan dengan reaktor terolah (C1 dan C2) pada parameter TDS dan EC. Pada beban 25%, nilai TDS pada reaktor K 937,82 mg/L secara signifikan lebih tinggi dari reaktor C1 665,83 mg/L, dan reaktor C2 658,03 mg/L. Sedangkan untuk parameter EC, reaktor K mencapai 1.829,85 µS/cm, reaktor C1 1.334,89 µS/cm, dan C2 1.322,15 µS/cm. Pola serupa juga terlihat pada beban konsentrasi

50% dan 100%. Penurunan TDS menunjukkan bahwa sistem pengolahan efektif mengurangi jumlah zat terlarut dalam air limbah melalui proses adsorpsi oleh *wetland* serta mikroba yang memanfaatkan zat organik terlarut sebagai sumber energi (Kustiyaningsih & Irawanto, 2020; Samad et al., 2024). Penurunan EC mencerminkan berkurangnya jumlah ion-ion terlarut, hal ini sejalan dengan penurunan TDS yang mengindikasikan adanya proses pelepasan ion-ion dalam sistem pengolahan.

Nilai ORP dalam air limbah berkisar antara -41,67 mV (beban 25%) hingga -260,08 mV (beban 100%), dengan tren penurunan seiring meningkatnya beban konsentrasi. Di antara semua jenis perlakuan, tidak ada perbedaan yang signifikan ( $p > 0,05$ ). ORP negatif menunjukkan bahwa kondisi lingkungan dalam air limbah masih bersifat reduktif, yang dapat dikaitkan dengan tingginya kandungan bahan organik dan rendahnya ketersediaan oksigen (kondisi anaerobik) dalam sistem (Putri et al., 2016; Singh et al., 2021). Rendahnya nilai ORP menunjukkan bahwa proses oksidasi belum berlangsung secara maksimal atau reaksi reduktif seperti denitrifikasi lebih dominan.

Secara keseluruhan, sistem CW dengan dan tanpa bakteri mampu menurunkan nilai pH, TDS, dan EC. Namun, kondisi dalam reaktor masih dominan reduktif. Optimasi lebih lanjut diperlukan untuk meningkatkan proses oksidasi dan mengurangi beban organik yang masih tersisa dalam air limbah.

#### **4.2.3 Penurunan Konsentrasi Logam Pb dan Cd dan Translokasi pada Tanaman**

Hasil analisis konsentrasi logam Pb dan Cd dalam air limbah setelah pengolahan dengan berbagai reaktor disajikan pada Tabel 4.3. Secara umum, terjadi penurunan kadar Pb dan Cd selama proses pengolahan, terutama pada reaktor CW tanpa bakteri (C1) dan kombinasi CW dengan bakteri (C2).

Pada beban konsentrasi 25%, reaktor K mengalami penurunan Pb dari 1,202 mg/L menjadi 1,173 mg/L dan Cd dari 0,391 mg/L menjadi 0,205 mg/L. Sebaliknya, pada reaktor C1 dan C2, konsentrasi Pb dan Cd tetap stabil, menunjukkan bahwa sistem CW pada tahap awal belum efektif menurunkan kedua logam tersebut. Penurunan Pb dan Cd pada reaktor K dapat dikaitkan dengan adanya presipitasi atau pengendapan padatan di dasar reaktor. Logam berat memiliki kemampuan untuk berikatan dengan senyawa organik dan mengendap, sehingga menyebabkan konsentrasi logam lebih banyak terakumulasi dalam sedimen daripada di air (Alisa et al., 2020). Selain itu, nilai pH pada reaktor K cenderung lebih tinggi ( $> 8$ ) dibandingkan reaktor lainnya, yang dapat membantu presipitasi logam dalam bentuk hidroksida, seperti  $Pb(OH)_2$  dan  $Cd(OH)_2$  (Emilia et al., 2013). Selain presipitasi, oksidasi

alami juga dapat berperan dalam penurunan logam pada air limbah. Jamali et al. (2023) melaporkan bahwa air limbah yang tidak diolah dan dibiarkan selama 3 hari dapat menurunkan konsentrasi logam berat seperti Zn, Fe, dan Mn masing-masing sebesar 30%, 46%, dan 25% akibat oksidasi alami.

Tabel 4.3 Konsentrasi logam Pb dan Cd pada air limbah selama pengolahan

Reaktor	Air Limbah 25%		Air Limbah 50%		Air Limbah 100%	
	D-0	D-14	D-0	D14	D-0	D-28
<b>Pb (mg/L)</b>						
K	1,202 <sup>a</sup> ± 0,39	1,173 <sup>a</sup> ± 0,65	0,610 <sup>a</sup> ± 0,98	1,254 <sup>a</sup> ± 1,48	3,073 <sup>a</sup> ± 1,08	0,451 <sup>a</sup> ± 0,03
C1	1,144 <sup>a</sup> ± 0,56	1,202 <sup>a</sup> ± 0,30	1,533 <sup>a</sup> ± 0,31	1,206 <sup>a</sup> ± 0,10	3,500 <sup>a</sup> ± 1,10	0,393 <sup>a</sup> ± 0,05
C2	1,226 <sup>a</sup> ± 0,08	1,504 <sup>a</sup> ± 0,15	1,081 <sup>a</sup> ± 0,08	0,908 <sup>a</sup> ± 1,14	3,514 <sup>a</sup> ± 1,35	0,361 <sup>a</sup> ± 0,003
<b>Cd (mg/L)</b>						
K	0,391 <sup>a</sup> ± 0,02	0,205 <sup>a</sup> ± 0,02	0,136 <sup>a</sup> ± 0,07	0,097 <sup>a</sup> ± 0,06	0,322 <sup>a</sup> ± 0,18	0,062 <sup>a</sup> ± 0,004
C1	0,120 <sup>a</sup> ± 0,003	0,154 <sup>a</sup> ± 0,05	0,142 <sup>a</sup> ± 0,04	0,078 <sup>a</sup> ± 0,03	0,405 <sup>a</sup> ± 0,20	0,060 <sup>a</sup> ± 0,0003
C2	0,142 <sup>a</sup> ± 0,03	0,189 <sup>a</sup> ± 0,04	0,169 <sup>a</sup> ± 0,10	0,128 <sup>a</sup> ± 0,04	0,347 <sup>a</sup> ± 0,24	0,058 <sup>a</sup> ± 0,002

Setiap nilai merupakan rata-rata dari tiga ulangan, dengan ± menunjukkan standar error. Nilai pada setiap parameter yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak adanya perbedaan signifikan pada tingkat signifikansi 5%. Data dianalisis dengan ANOVA dan uji *post-hoc Tukey*.

Pada beban 50%, semua reaktor mengalami penurunan konsentrasi logam dengan rentang efisiensi 16 – 44,95%. Efisiensi terbesar ditunjukkan oleh reaktor C1, dengan penyisihan Pb sebesar 21,32% dan Cd sebesar 44,95%. Pada beban 100%, konsentrasi akhir Pb berkisar antara 0,361 – 0,451 mg/L, sedangkan Cd berkisar 0,058 – 0,062 mg/L. Reaktor C1 dan C2 menunjukkan penurunan konsentrasi Pb dan Cd yang lebih baik dibandingkan reaktor K. Efisiensi penyisihan Pb tertinggi dicapai oleh C2 (89,74%), sedangkan penyisihan Cd terbesar diperoleh pada reaktor C1 (85,27%). Efisiensi pada beban 100% lebih tinggi karena durasi pengolahan yang lebih lama, yaitu 28 hari, dibandingkan dengan beban 25% dan 50% yang hanya diolah selama 14 hari.

Hasil ini menunjukkan bahwa sistem CW dapat menurunkan konsentrasi Pb dan Cd, sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa CW dapat menurunkan logam hingga 97% (Jia et al., 2020), dan penambahan bakteri terbukti meningkatkan kemampuan tanaman dalam menyerap logam berat (Shehzadi et al., 2014). Secara statistik, perbedaan antarperlakuan tidak signifikan ( $p > 0,05$ ). Namun, berdasarkan kecenderungan yang diamati, reaktor C1 dan C2 memiliki tingkat efisiensi penghilangan logam yang lebih tinggi

dibandingkan K. Hal ini mengindikasikan bahwa kombinasi tanaman vetiver dan bakteri dapat meningkatkan efektivitas penyerapan logam berat dalam air limbah tenun.

Tabel 4.4 Konsentrasi logam Pb dan Cd pada tanaman *V. zizanioides* dan *Translocation Factor* (TF) pada akhir pengolahan

Reaktor	Pb (mg/kg)		TF Pb	Cd (mg/kg)		TF Cd
	Akar	Batang		Akar	Batang	
KT	45,56 <sup>a</sup> ± 7,99	34,78 <sup>a</sup> ± 7,26	0,76	4,59 <sup>a</sup> ± 0,02	4,08 <sup>a</sup> ± 0,95	0,89
C1	37,44 <sup>a</sup> ± 2,21	44,47 <sup>a</sup> ± 8,60	1,19	4,66 <sup>a</sup> ± 0,83	4,74 <sup>a</sup> ± 0,91	1,02
C2	40,70 <sup>a</sup> ± 2,66	39,73 <sup>a</sup> ± 3,29	0,98	3,33 <sup>a</sup> ± 1,03	3,50 <sup>a</sup> ± 0,86	1,05

Setiap nilai merupakan rata-rata dari dua ulangan, dengan ± menunjukkan standar error. Nilai pada setiap kolom yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak adanya perbedaan signifikan pada tingkat signifikansi 5%. Data dianalisis dengan ANOVA dan uji *post-hoc Tukey*.

Unsur hara di lingkungan tidak dapat langsung diurai oleh tanaman sehingga perlu bantuan enzim yang dihasilkan oleh mikroba. Mikroorganisme di rizosfer seperti bakteri berperan dalam meningkatkan kelarutan logam berat dan mengubahnya menjadi ion bebas sehingga mudah diserap oleh tanaman (Batool & Saleh, 2020). Logam berat dalam air umumnya berbentuk ion positif yang akan berikatan dengan bagian bermuatan negatif pada dinding sel akar tanaman. Ikatan ini dapat bersifat kuat atau lemah tergantung afinitas logam, dan mendorong ion logam masuk ke dalam sel melalui membran plasma (Permana & Andhikawati, 2022). Akar tanaman mengeluarkan eksudat seperti *phytochelatins* (PCs) dan *metallothionein* (MTs) yang berperan dalam meningkatkan mobilitas logam, baik dalam mempertahankan logam di akar maupun dalam mentranslokasikannya ke jaringan atas (batang dan daun) melalui xilem atau floem (Priantoro et al., 2025). Akumulasi logam dalam jaringan tanaman cenderung menurun setelah mencapai titik jenuh, dan paparan logam yang tinggi dapat menyebabkan stres oksidatif (Permana & Andhikawati, 2022). Oleh karena itu, diperlukan kajian mengenai mobilitas logam dalam tanaman melalui analisis nilai faktor translokasi (TF) untuk memahami karakteristik penyerapan logam saat terjadi kejenuhan serta merumuskan strategi pemeliharaan reaktor dalam jangka panjang.

Nilai faktor translokasi logam dalam tanaman vetiver disajikan dalam Tabel 4.4. Parameter ini mencerminkan kemampuan tanaman dalam memindahkan logam dari akar ke batang. Untuk Pb, TF pada reaktor KT, C1, dan C2 masing-masing adalah 0,76; 1,19; dan 0,98. Nilai TF > 1 yang ditemukan pada reaktor C1 menunjukkan bahwa Pb lebih banyak terakumulasi di batang dibandingkan akar, mengindikasikan kemampuan vetiver dalam

mentranslokasikan Pb ke bagian atas tanaman. Sebaliknya, pada KT dan C2, Pb lebih banyak tertahan di akar, yang dapat mengindikasikan mekanisme fitostabilisasi pada kondisi ini.

Pada Cd, nilai TF pada KT, C1, dan C2 berturut-turut adalah 0,89; 1,02; dan 1,05. TF > 1 pada reaktor C1 dan C2 menunjukkan bahwa Cd ditranslokasikan lebih banyak ke batang dibandingkan akar. Kemampuan translokasi Cd yang lebih tinggi ini dapat menunjukkan bahwa Cd lebih mudah bergerak dalam jaringan tanaman dibandingkan Pb.

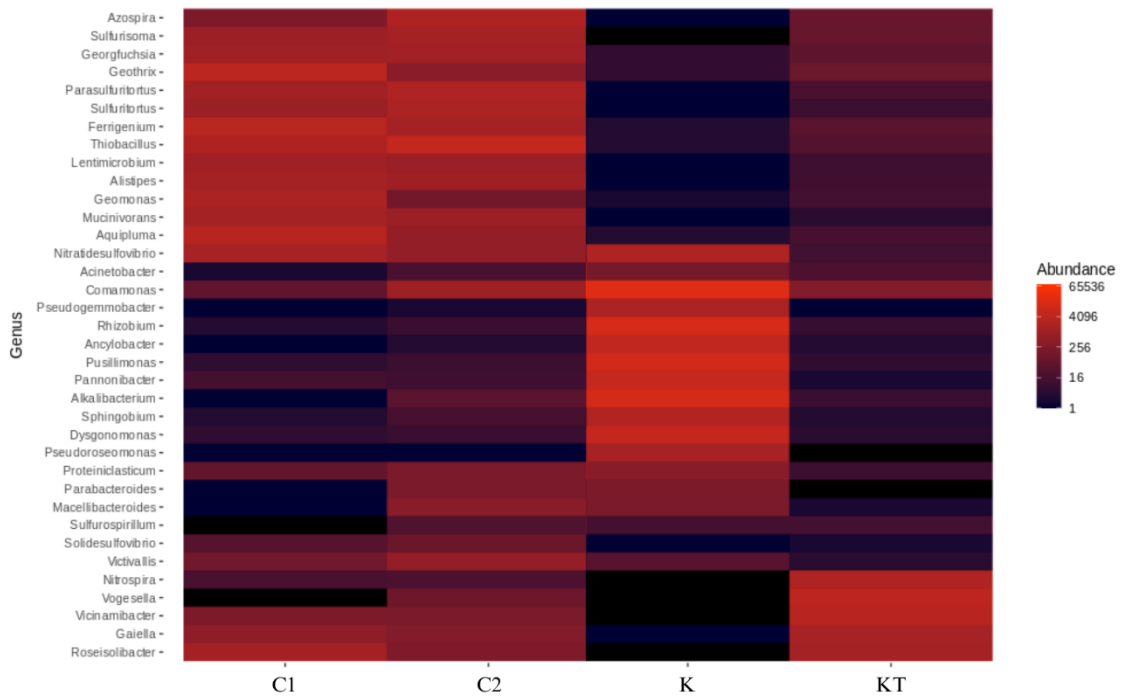
Secara keseluruhan, tanaman vetiver dalam reaktor C1 dan C2 menunjukkan efisiensi tinggi dalam menyerap dan mentranslokasikan logam berat, dengan kecenderungan translokasi yang lebih besar pada Cd dibandingkan Pb. Hal serupa juga dilaporkan oleh Ng et al. (2020), yang meneliti penyerapan campuran beberapa logam oleh tanaman vetiver dan menemukan bahwa konsentrasi Pb dan Cd cenderung lebih tinggi di bagian akar, namun pada beberapa kasus ditemukan lebih tinggi di batang. Hasil ini mengindikasikan bahwa vetiver memiliki potensi sebagai tanaman fitoremediasi, baik untuk fitostabilisasi (menahan logam di akar) maupun fitoremediasi ekstraktif (mentranslokasikan logam ke bagian atas tanaman untuk panen dan pembuangan lebih lanjut). Meskipun demikian, beberapa penelitian menunjukkan bahwa vetiver lebih dominan berperan sebagai fitostabilisator dengan nilai TF < 1 (Kumar et al., 2018; Yohannes et al., 2024).

#### **4.3 Microbial Community dalam Air Limbah Tenun**

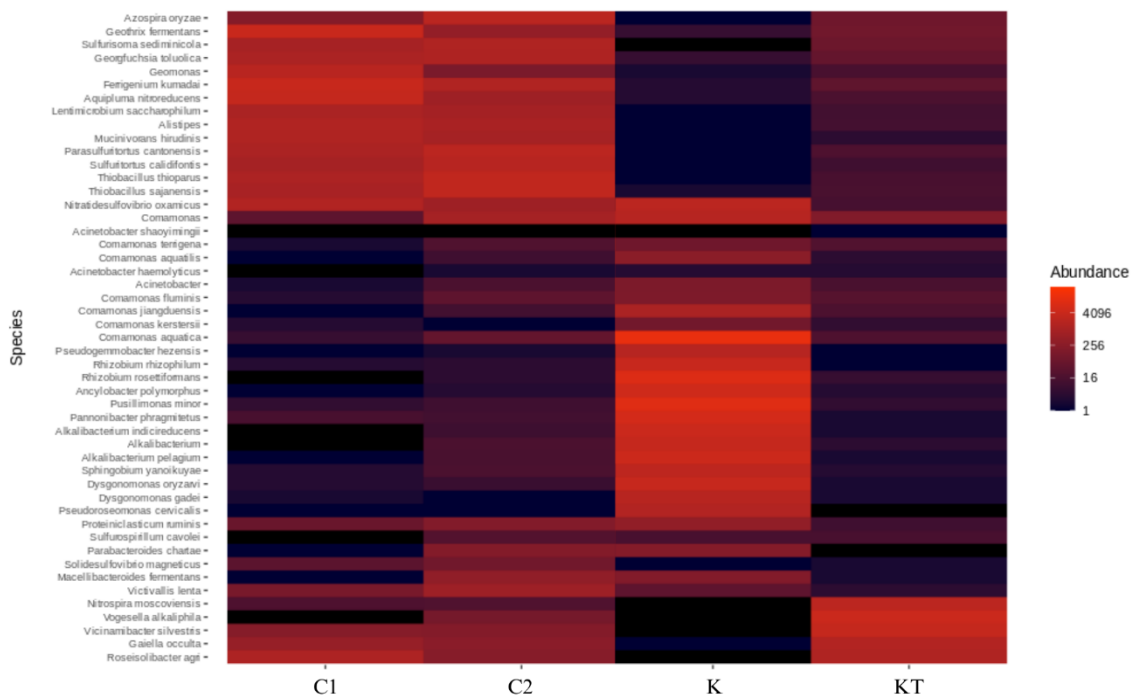
Analisis metagenomik menunjukkan bahwa komunitas mikroba yang terbentuk setelah 56 hari pengoperasian reaktor memiliki variasi yang signifikan antar sampel, baik pada tingkat genus maupun spesies. Mikroorganisme memainkan peranan yang cukup signifikan dalam fitoremediasi. Umumnya air limbah memiliki sedikit kandungan nutrisi dan bersifat toksik sehingga tidak semua tanaman dapat bertahan hidup, meskipun demikian keberadaan mikroba dapat membantu pertumbuhan tanaman. Secara umum peran mikroba dalam pertumbuhan tanaman melalui tiga cara, yaitu mensintesa senyawa yang diperlukan oleh tanaman, memfasilitasi penyerapan nutrisi dari lingkungan dan mengurangi atau mencegah penyakit pada tanaman (Priantoro et al., 2025).

Pada tingkat genus, beberapa kelompok yang dominan yaitu *Thiobacillus*, *Ferrigenium*, *Comamonas*, *Dysgonomonas*. Keberadaan *Bacillus* dan *Stenotrophomonas* pada reaktor C2 menjadi perhatian khusus karena keduanya merupakan bagian dari inokulum yang ditambahkan. Meskipun demikian, *Bacillus* juga ditemukan dalam kelimpahan relatif pada C1 (1,3%) dan KT (1,21%), menunjukkan bahwa genus ini memang merupakan bagian dari

komunitas alami CW dan lingkungan tanah. Sebaliknya, *Stenotrophomonas* memiliki kelimpahan yang relatif lebih rendah, dengan nilai tertinggi di C2 sebesar 0,08%.



Gambar 4.2 Hasil analisis kelimpahan pada strata genus



Gambar 4.3 Hasil analisis kelimpahan pada strata spesies

Pada tingkat spesies, *Bacillus cereus* dan *Stenotrophomonas maltophilia* terdeteksi di reaktor C2, masing-masing dengan kelimpahan 0,01% dan 0,03%. Hal ini mengindikasikan bahwa kedua spesies masih mampu bertahan dalam sistem setelah periode operasi, meskipun tidak mendominasi komunitas. *Bacillus spizizenii* tidak terdeteksi secara eksplisit dalam hasil analisis, hal ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti kelimpahan yang sangat rendah, kegagalan adaptasi di lingkungan, atau kompetisi antar mikroba. Data ini menunjukkan bahwa meskipun inokulasi dapat meningkatkan kehadiran bakteri target dalam sistem, hal tersebut tidak selalu menghasilkan dominansi komunitas, terutama pada sistem terbuka atau semi-alami seperti CW yang memiliki komunitas mikroba asli yang beragam dan kompetitif. Selain itu, pada tahap inokulasi, tidak dilakukan proses aklimatisasi bakteri dalam wetland, sehingga menyebabkan kegagalan bakteri yang diinokulasi untuk bertahan hidup di ekosistem *wetland*.

Analisis indeks keanekaragaman Shannon dan Simpson (Tabel 4.5) mengungkapkan bahwa sampel dari kontrol tanah (KT), reaktor C1, dan C2 memiliki tingkat keanekaragaman tertinggi. Hal ini mencerminkan komunitas yang lebih stabil dan beragam secara ekologis. Sebaliknya, sampel dari air limbah tenun (K) memiliki nilai keanekaragaman terendah, kemungkinan besar disebabkan oleh tekanan lingkungan yang tinggi dari kontaminan kimia yang bersifat toksik terhadap mikroba.

Perbedaan signifikan diamati antara sampel air limbah (K), tanah kontrol (KT), dan reaktor (C1 dan C2). K memiliki kelimpahan mikroba yang rendah dan didominasi oleh genus yang tahan terhadap lingkungan yang ekstrem seperti *Comamonas* dan *Dysgonomonas* yang menunjukkan kemampuan adaptasi terhadap beban organik yang tinggi dan dekolonisasi zat warna pada sistem pengolahan air limbah tekstil (Forss et al., 2017; Hem et al., 2022). Hal inilah yang mendorong adanya penurunan konsentrasi polutan pada reaktor K (tanpa pengolahan). Sedangkan KT menampilkan komunitas mikroba alami yang kompleks dan beragam. C1 dan C2, yang merupakan hasil dari sistem CW, menunjukkan bahwa sistem CW mampu mengelola dan membentuk komunitas mikroba yang relatif stabil dari air limbah industri.

Tabel 4.5 Indeks Keberagaman Bakteri

Sampel	Observed	Shannon	Simpson
K	1301	4.09	0.96
KT	6089	6.77	0.99
C1	4844	6.21	0.99
C2	4565	6.21	0.99

Keberhasilan inokulasi mikroba dalam skala laboratorium sering kali tidak langsung tercermin pada sistem semi-alami seperti CW. Dominansi mikroorganisme lokal, adaptasi terhadap kondisi lingkungan, dan kompetisi biologis menjadi faktor-faktor penting yang memengaruhi keberhasilan bioaugmentasi. Meskipun tiga spesies bakteri yang diinokulasikan ke C2 masih terdeteksi, kelimpahannya yang rendah menunjukkan bahwa inokulasi perlu diiringi dengan strategi lain seperti modifikasi lingkungan (pH, substrat, kondisi anaerobik) untuk menunjang kolonisasi dan aktivitas mikroba target.

#### 4.4 Karakteristik Efluen Air Limbah Tenun pasca Pengolahan untuk Uji Toksisitas

Karakteristik fisika-kimia efluen air limbah tenun yang telah diolah oleh beberapa variasi perlakuan dengan sistem CW dan kombinasi bakteri endofit dan bakteri indigenous disajikan pada Tabel 4.6. Secara umum, air limbah yang diolah (C1 dan C2) menunjukkan kualitas efluen yang lebih baik dibandingkan air limbah yang tidak diolah (K).

Konsentrasi COD pada efluen berada pada rentang 1.082,10 – 3.588,14 mg/L. Pada beban konsentrasi 25%, konsentrasi COD efluen secara signifikan lebih tinggi dibandingkan dengan beban 50% dan 100% ( $p < 0,05$ ). Namun, tidak terdapat perbedaan yang signifikan dalam konsentrasi COD antar jenis reaktor ( $p > 0,05$ ).

Tabel 4.6 Karakteristik efluen air limbah tenun untuk pengujian toksisitas

Reaktor	Parameter				
	COD (mg/L)	Amonia (mg/L)	Warna (Pt-Co)	Pb (mg/L)	Cd (mg/L)
<b>Air Limbah 25%</b>					
K	2.563,18 <sup>a</sup> ± 284,71	5,86 <sup>a</sup> ± 0,29	1.592,17 <sup>b</sup> ± 83,03	0,95 <sup>a</sup> ± 0,44	0,21 <sup>a</sup> ± 0,02
C1	3.588,14 <sup>a</sup> ± 512,48	2,04 <sup>a</sup> ± 0,02	117,27 <sup>d</sup> ± 1,29	1,49 <sup>a</sup> ± 0,34	0,25 <sup>a</sup> ± 0,10
C2	2.406,40 <sup>a</sup> ± 783,15	4,20 <sup>a</sup> ± 0,17	114,68 <sup>d</sup> ± 0,00	1,50 <sup>a</sup> ± 0,15	0,23 <sup>a</sup> ± 0,05
<b>Air Limbah 50%</b>					
K	1.366,91 <sup>b</sup> ± 227,87	2,74 <sup>a</sup> ± 0,02	2.114,84 <sup>b</sup> ± 80,60	2,21 <sup>a</sup> ± 1,95	0,10 <sup>a</sup> ± 0,06
C1	1.117,78 <sup>b</sup> ± 533,93	1,64 <sup>a</sup> ± 0,19	115,98 <sup>d</sup> ± 12,91	1,21 <sup>a</sup> ± 0,10	0,06 <sup>a</sup> ± 0,02
C2	1.509,36 <sup>b</sup> ± 113,88	2,89 <sup>a</sup> ± 0,02	118,56 <sup>d</sup> ± 2,24	1,91 <sup>a</sup> ± 0,95	0,13 <sup>a</sup> ± 0,04
<b>Air Limbah 100%</b>					
K	1.447,48 <sup>b</sup> ± 90,53	7,65 <sup>a</sup> ± 0,93	7.283,03 <sup>a</sup> ± 806,01	0,45 <sup>a</sup> ± 0,03	0,06 <sup>a</sup> ± 0,01
C1	1.082,10 <sup>b</sup> ± 80,95	3,82 <sup>a</sup> ± 2,70	119,85 <sup>d</sup> ± 32,96	0,39 <sup>a</sup> ± 0,05	0,06 <sup>a</sup> ± 0,00
C2	1.124,80 <sup>b</sup> ± 73,97	4,69 <sup>a</sup> ± 2,07	530,40 <sup>c</sup> ± 192,79	0,36 <sup>a</sup> ± 0,00	0,05 <sup>a</sup> ± 0,01
Baku Mutu	150	8	200	NG	NG

Setiap nilai merupakan rata-rata dari tiga ulangan, dengan ± menunjukkan standar error. Nilai pada setiap parameter yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak adanya perbedaan signifikan pada tingkat signifikansi 5%. Data dianalisis dengan ANOVA dan uji *post-hoc Tukey*.

\*Baku mutu air limbah tekstil merujuk pada Peraturan Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan Republik Indonesia Nomor P.16/MENLHK/SETJEN/KUM.1/4/2019.

Parameter warna menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ), di mana reaktor K secara signifikan lebih tinggi dibandingkan dengan C1 dan C2. Reaktor CW, baik dengan bakteri (C2) maupun tanpa bakteri (C1), mampu menurunkan konsentrasi beberapa parameter fisika-kimia. Namun, beberapa parameter masih belum memenuhi baku mutu, seperti parameter COD pada semua reaktor, serta parameter warna untuk reaktor K (beban 50% dan 100%) dan reaktor C2 (beban 100%). Tingginya konsentrasi COD dan warna ini merupakan karakteristik umum pada air limbah tekstil (Yaseen & Scholz, 2019).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan pada konsentrasi logam Pb dan Cd di antara semua jenis reaktor dan variasi beban air limbah ( $p > 0,05$ ). Konsentrasi logam Pb berkisar antara 0,36 – 2,21 mg/L, sementara logam Cd berkisar 0,05 – 0,25 mg/L. Secara umum, konsentrasi Pb cenderung lebih tinggi pada reaktor K, kecuali pada beban konsentrasi 25%. Sementara itu, konsentrasi Cd menunjukkan nilai yang berfluktuasi di semua jenis reaktor. Logam berat memiliki massa atom dan densitas yang tinggi, serta bersifat toksik meskipun dalam konsentrasi rendah (Akif et al., 2002; Ali et al., 2019). Hal ini menunjukkan bahwa meskipun air limbah telah melalui proses pengolahan, risiko toksisitas akut terhadap organisme air masih dapat terjadi akibat keberadaan logam berat dan kandungan polutan lainnya yang berpotensi membahayakan.

Tabel 4.7 Karakteristik pH, suhu, dan DO selama uji toksisitas

Dilusi	pH		Suhu (°C)		DO (mg/L)	
	0 jam	96 jam	0 jam	96 jam	0 jam	96 jam
<b>Efluen K 25%</b>						
0%	8,79 ± 0,00	7,81 ± 0,12	24,30 ± 0,00	25,47 ± 0,03	5,54 ± 0,00	5,50 ± 0,11
6,25%	8,55 ± 0,00	7,65 ± 0,05	24,40 ± 0,00	25,00 ± 0,06	4,60 ± 0,00	5,27 ± 0,09
12,5%	8,41 ± 0,00	7,78 ± 0,02	24,70 ± 0,00	24,93 ± 0,03	5,12 ± 0,00	4,91 ± 0,05
25%	8,21 ± 0,00	7,81 ± 0,03	24,60 ± 0,00	24,93 ± 0,03	6,28 ± 0,00	4,71 ± 0,04
50%	6,67 ± 0,00	7,82 ± 0,04	24,60 ± 0,00	24,97 ± 0,07	5,52 ± 0,00	4,52 ± 0,04
100%	5,39 ± 0,00	7,92 ± 0,06	24,10 ± 0,00	25,13 ± 0,03	7,41 ± 0,00	4,08 ± 0,12
<b>Efluen C1 25%</b>						
0%	8,80 ± 0,00	7,81 ± 0,12	26,20 ± 0,00	25,47 ± 0,03	5,26 ± 0,00	5,50 ± 0,11
6,25%	9,00 ± 0,00	7,87 ± 0,02	26,30 ± 0,00	25,10 ± 0,00	6,61 ± 0,00	5,46 ± 0,09
12,5%	8,66 ± 0,00	7,89 ± 0,01	26,30 ± 0,00	25,00 ± 0,00	6,05 ± 0,00	5,26 ± 0,05
25%	8,30 ± 0,00	7,88 ± 0,01	26,30 ± 0,00	25,00 ± 0,00	6,36 ± 0,00	5,07 ± 0,06
50%	8,23 ± 0,00	7,88 ± 0,02	26,40 ± 0,00	25,03 ± 0,03	6,41 ± 0,00	4,84 ± 0,05
100%	8,01 ± 0,00	7,87 ± 0,04	25,90 ± 0,00	25,20 ± 0,00	7,14 ± 0,00	4,58 ± 0,06
<b>Efluen C2 25%</b>						
0%	8,37 ± 0,00	8,23 ± 0,07	25,20 ± 0,00	26,37 ± 0,07	5,50 ± 0,00	5,00 ± 0,19
6,25%	8,46 ± 0,18	7,94 ± 0,16	25,97 ± 0,23	25,67 ± 0,34	5,42 ± 0,15	4,91 ± 0,19
12,5%	8,22 ± 0,00	8,16 ± 0,01	26,10 ± 0,00	25,87 ± 0,07	5,31 ± 0,00	4,66 ± 0,05

Dilusi	pH		Suhu (°C)		DO (mg/L)	
	0 jam	96 jam	0 jam	96 jam	0 jam	96 jam
25%	8,06 ± 0,06	7,89 ± 0,16	26,07 ± 0,07	25,67 ± 0,34	5,16 ± 0,03	4,77 ± 0,24
50%	7,84 ± 0,00	8,09 ± 0,03	25,70 ± 0,00	26,00 ± 0,00	5,28 ± 0,00	4,29 ± 0,06
100%	7,67 ± 0,10	7,95 ± 0,18	24,70 ± 0,30	25,93 ± 0,42	5,77 ± 0,07	4,23 ± 0,23
<b>Efluen K 50%</b>						
0%	9,24 ± 0,00	8,74 ± 0,02	24,70 ± 0,00	24,97 ± 0,07	5,81 ± 0,00	5,15 ± 0,04
6,25%	8,79 ± 0,00	8,37 ± 0,04	24,30 ± 0,00	24,65 ± 0,15	4,74 ± 0,00	5,35 ± 0,00
12,5%	8,53 ± 0,00	8,38 ± 0,04	24,40 ± 0,00	24,60 ± 0,06	5,25 ± 0,00	5,13 ± 0,12
25%	8,33 ± 0,00	8,42 ± 0,02	24,40 ± 0,00	24,60 ± 0,00	5,40 ± 0,00	5,02 ± 0,17
50%	8,17 ± 0,00	8,39 ± 0,06	24,30 ± 0,00	24,10 ± 0,06	5,48 ± 0,00	4,82 ± 0,13
100%	8,17 ± 0,00	8,56 ± 0,06	24,50 ± 0,00	24,83 ± 0,03	5,64 ± 0,00	4,50 ± 0,09
<b>Efluen C1 50%</b>						
0%	8,63 ± 0,00	8,52 ± 0,06	26,60 ± 0,00	26,80 ± 0,00	5,01 ± 0,00	5,16 ± 0,12
6,25%	8,30 ± 0,00	8,31 ± 0,01	26,50 ± 0,00	26,53 ± 0,03	5,15 ± 0,00	4,60 ± 0,03
12,5%	8,22 ± 0,00	8,20 ± 0,02	26,40 ± 0,00	26,30 ± 0,06	4,99 ± 0,00	4,50 ± 0,07
25%	8,04 ± 0,00	8,22 ± 0,05	26,40 ± 0,00	26,47 ± 0,03	5,16 ± 0,00	4,39 ± 0,05
50%	7,90 ± 0,00	8,16 ± 0,05	26,20 ± 0,00	26,63 ± 0,03	5,12 ± 0,00	4,29 ± 0,05
100%	7,82 ± 0,00	8,11 ± 0,04	26,30 ± 0,00	26,90 ± 0,00	5,04 ± 0,00	4,37 ± 0,04
<b>Efluen C2 50%</b>						
0%	8,63 ± 0,00	8,52 ± 0,06	26,60 ± 0,00	26,8 ± 0,00	5,01 ± 0,00	5,16 ± 0,12
6,25%	8,86 ± 0,00	8,29 ± 0,01	26,60 ± 0,00	26,57 ± 0,03	4,88 ± 0,00	4,46 ± 0,07
12,5%	8,20 ± 0,00	8,21 ± 0,02	26,50 ± 0,00	26,53 ± 0,03	5,07 ± 0,00	4,36 ± 0,05
25%	8,08 ± 0,00	8,23 ± 0,03	26,50 ± 0,00	26,60 ± 0,06	4,71 ± 0,00	4,31 ± 0,06
50%	8,00 ± 0,00	8,25 ± 0,04	26,50 ± 0,00	26,63 ± 0,03	4,60 ± 0,00	4,29 ± 0,06
100%	7,77 ± 0,00	8,28 ± 0,06	26,50 ± 0,00	26,87 ± 0,03	4,91 ± 0,00	4,34 ± 0,05
<b>Efluen K 100%</b>						
0%	8,60 ± 0,00	8,50 ± 0,05	24,00 ± 0,00	25,93 ± 0,03	3,29 ± 0,00	4,13 ± 0,05
0,78%	8,49 ± 0,02	8,36 ± 0,02	25,27 ± 0,07	25,97 ± 0,07	3,98 ± 0,01	4,25 ± 0,03
1,56%	8,40 ± 0,01	8,25 ± 0,03	25,07 ± 0,03	25,83 ± 0,03	3,83 ± 0,02	4,30 ± 0,03
3,13%	8,29 ± 0,02	8,32 ± 0,02	25,03 ± 0,03	25,80 ± 0,06	3,81 ± 0,03	4,18 ± 0,00
6,25%	8,28 ± 0,03	8,32 ± 0,04	25,00 ± 0,00	25,83 ± 0,03	3,87 ± 0,02	4,07 ± 0,01
12,50%	8,30 ± 0,03	8,34 ± 0,05	25,10 ± 0,00	26,00 ± 0,00	3,72 ± 0,05	3,71 ± 0,08
<b>Efluen C1 100%</b>						
0%	8,37 ± 0,06	8,65 ± 0,03	25,73 ± 0,03	24,53 ± 0,12	4,05 ± 0,05	5,27 ± 0,03
6,25%	8,43 ± 0,04	8,44 ± 0,16	25,65 ± 0,05	24,35 ± 0,05	3,91 ± 0,07	5,80 ± 0,03
12,5%	8,29 ± 0,06	8,26 ± 0,03	25,45 ± 0,05	24,40 ± 0,00	4,06 ± 0,02	5,44 ± 0,02
25%	8,32 ± 0,13	8,82 ± 0,10	25,20 ± 0,10	24,80 ± 0,00	4,10 ± 0,02	5,21 ± 0,01
50%	8,28 ± 0,05	8,76 ± 0,07	25,15 ± 0,15	24,70 ± 0,00	3,94 ± 0,22	5,05 ± 0,00
100%	8,27 ± 0,01	8,83 ± 0,11	25,20 ± 0,00	24,85 ± 0,05	3,87 ± 0,03	4,73 ± 0,06
<b>Efluen C2 100%</b>						
0%	8,63 ± 0,00	8,44 ± 0,02	24,60 ± 0,00	25,07 ± 0,07	3,32 ± 0,00	4,62 ± 0,07
6,25%	8,56 ± 0,10	8,52 ± 0,00	25,47 ± 0,03	25,13 ± 0,03	4,62 ± 0,17	4,43 ± 0,04
12,5%	8,33 ± 0,07	8,50 ± 0,06	25,37 ± 0,03	25,03 ± 0,03	4,60 ± 0,03	4,30 ± 0,04

Dilusi	pH		Suhu (°C)		DO (mg/L)	
	0 jam	96 jam	0 jam	96 jam	0 jam	96 jam
25%	8,39 ± 0,03	8,63 ± 0,10	25,30 ± 0,06	25,03 ± 0,03	4,20 ± 0,18	4,21 ± 0,02
50%	8,35 ± 0,02	8,88 ± 0,08	24,73 ± 0,09	25,00 ± 0,00	4,19 ± 0,03	4,24 ± 0,09
100%	8,29 ± 0,04	9,12 ± 0,07	24,37 ± 0,15	25,23 ± 0,03	4,17 ± 0,04	4,17 ± 0,04

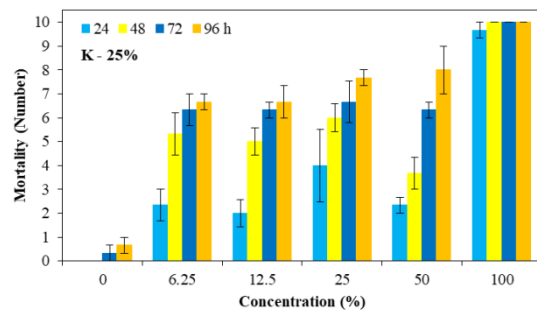
Tabel 4.7 merupakan karakteristik parameter DO, suhu, dan pH selama pengujian toksisitas berlangsung. Konsentrasi DO secara keseluruhan masih dalam rentang yang aman untuk kelangsungan hidup *D. magna* yaitu > 3 mg/L. Sedangkan nilai pH cenderung netral dengan rentang 7,87 – 9,12. Parameter suhu cenderung stabil di antara 24,67 – 26,90°C dengan nilai deviasi tidak lebih dari ±3°C sesuai rekomendasi EPA, nilai ini masih berada dalam rentang yang aman bagi kelangsungan hidup *D. magna* (Müller et al., 2018). Dari nilai yang diperoleh tersebut menunjukkan bahwa parameter DO, suhu, dan pH tidak menunjukkan indikasi yang dapat menyebabkan toksik pada organisme.

#### 4.5 Evaluasi Nilai Toksisitas Efluen terhadap *Daphnia magna*

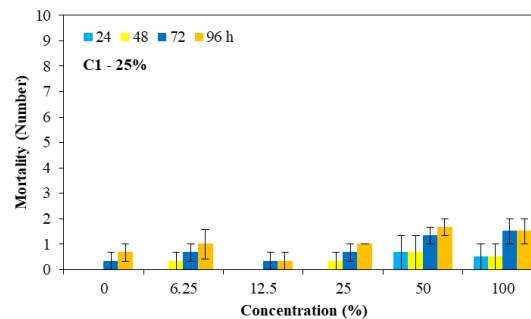
Masalah utama yang ditimbulkan industri kain tenun merupakan penggunaan zat warna sintesis, yang diketahui dapat memicu efek toksik, mutagenik, dan karsinogenik pada berbagai organisme (Alderete et al., 2021; Karabulut & Gürkan, 2023). Studi menunjukkan bahwa meskipun air limbah tekstil telah diolah dengan berbagai teknologi, beberapa efluen masih menunjukkan toksisitas akut yang berpotensi membahayakan populasi organisme akuatik dalam jangka panjang (Castro et al., 2019). Kondisi ini menekankan pentingnya uji toksisitas pada efluen terolah untuk memastikan keamanannya sebelum dibuang ke lingkungan. Keterbatasan analisis kimia yang komprehensif tentang kualitas air limbah mendorong penggunaan uji toksisitas biologis untuk menilai potensi dampak pembuangan air limbah terhadap organisme akuatik (Hashiguchi et al., 2020; Sarakinos et al., 2000). Salah satu metode yang dapat digunakan adalah *Whole Effluent Toxicity* (WET), yang mengukur toksisitas efluen melalui parameter LC<sub>50</sub> dan TUa untuk mengkategorikan tingkat toksisitasnya.

Pengujian toksisitas dimulai dengan uji pendahuluan menggunakan variasi konsentrasi 6,25%; 12,5%; 25%; 50%; dan 100% pada semua sampel, dan didapatkan nilai LC<sub>50</sub>. Namun, pada efluen dari reaktor K dengan beban 100%, seluruh konsentrasi pada uji pendahuluan menunjukkan tingkat kematian ≥ 90%. Oleh karena itu, dilakukan uji lanjutan (uji definitif) dengan variasi konsentrasi yang lebih rendah, yaitu 0,78%; 1,56%; 3,13%; 6,25%; dan 12,5%.

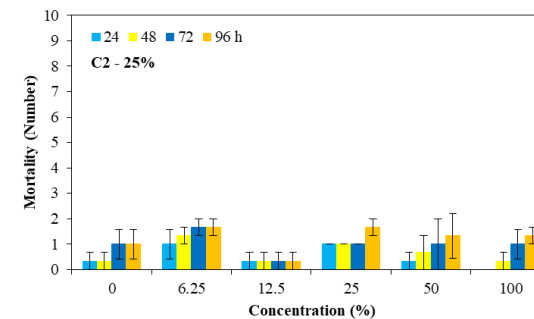
(a) Efluen 25% dari reaktor kontrol (*untreated*)



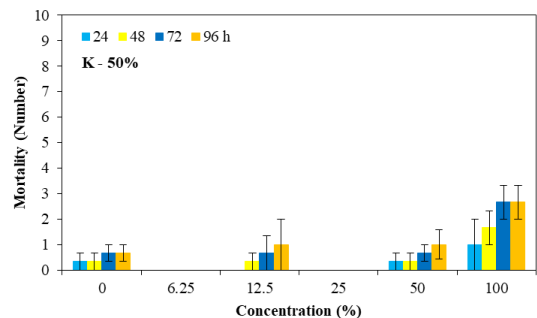
(b) Efluen 25% dari reaktor CW



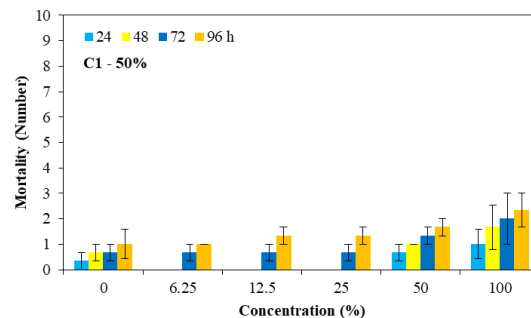
(c) Efluen 25% dari reaktor CW + bakteri



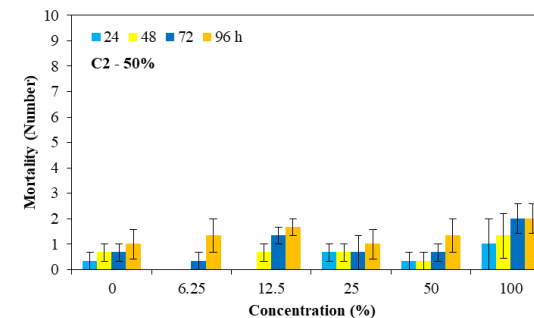
(d) Efluen 50% dari reaktor kontrol (*untreated*)



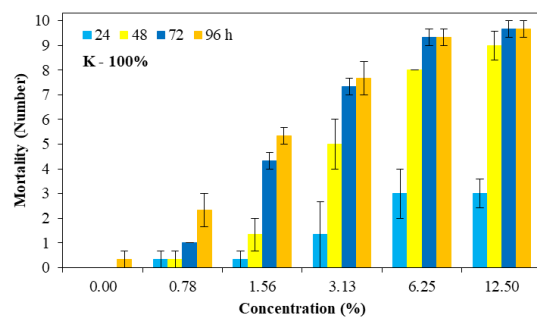
(e) Efluen 50% dari reaktor CW



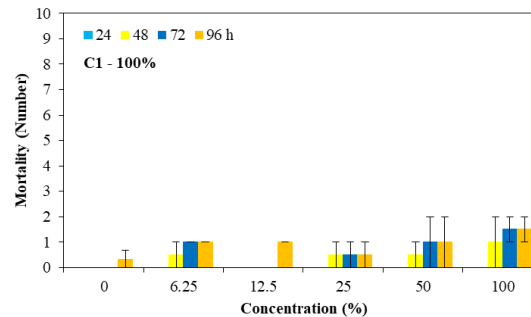
(f) Efluen 50% dari reaktor CW + bakteri



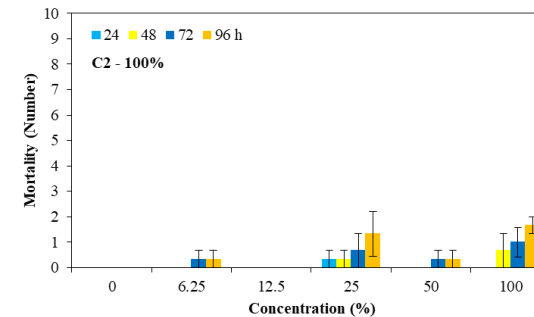
(g) Efluen 100% dari reaktor kontrol (*untreated*)



(h) Efluen 100% dari reaktor CW



(i) Efluen 100% dari reaktor CW + bakteri



Gambar 4.4 Laju kematian *D. magna* selama 96 jam. Setiap nilai merupakan rata-rata dari tiga ulangan dan error bar menunjukkan standar error.

Gambar 4.4 menunjukkan bahwa laju kematian *D. magna* selama 96 jam meningkat seiring dengan durasi paparan dan peningkatan konsentrasi efluen. Secara keseluruhan, reaktor K menunjukkan tingkat kematian yang lebih tinggi dibandingkan dengan reaktor C1 dan C2 pada semua variasi beban konsentrasi air limbah. Pada beban konsentrasi 25%, efluen dari reaktor K menyebabkan kematian *D. magna* sebesar 66,67 – 100% pada berbagai variasi konsentrasi setelah 96 jam. Sedangkan untuk reaktor C1 dan C2 memiliki rentang persentase kematian yang sama, yaitu 3,33 – 16,67%. Pada beban konsentrasi 50%, efluen dari reaktor K menunjukkan tingkat kematian sebesar 0 – 26,67%, sedangkan C1 sebesar 10 – 23,33% dan C2 sebesar 10 – 20%. Pada beban konsentrasi 100%, efluen dari reaktor K menyebabkan kematian sebesar 23,33 – 96,67%, C1 sebesar 5 – 15%, dan C2 0 – 16,67%. Hasil ini mengindikasikan bahwa sistem CW, baik dengan maupun tanpa bakteri, efektif dalam menurunkan tingkat kematian *D. magna* akibat paparan efluen.

Tabel 4.8 Nilai LC<sub>50</sub>-96 jam dan kategori toksisitas akut

Reaktor	LC <sub>50</sub> (%)	TUa	Kategori
<b>Air Limbah 25%</b>			
K	6,48	15,43	<i>high acute toxicity</i>
C1	13.915,68	0,01	<i>no acute toxicity</i>
C2	5,27×10 <sup>10</sup>	1,90×10 <sup>-9</sup>	<i>no acute toxicity</i>
<b>Air Limbah 50%</b>			
K	200,00	0,50	<i>slight acute toxicity</i>
C1	7.888,00	0,01	<i>no acute toxicity</i>
C2	2,63×10 <sup>9</sup>	3,80×10 <sup>-8</sup>	<i>no acute toxicity</i>
<b>Air Limbah 100%</b>			
K	1,52	65,62	<i>high acute toxicity</i>
C1	3,77×10 <sup>9</sup>	2,66×10 <sup>-8</sup>	<i>no acute toxicity</i>
C2	511,03	0,20	<i>no acute toxicity</i>

Hasil analisis probit LC<sub>50</sub>-96 jam pada efluen dari beberapa jenis perlakuan dapat dilihat pada Tabel 4.8. Analisis probit menunjukkan bahwa *D. magna* yang terpapar efluen tanpa pengolahan (K) pada beban konsentrasi 25% dan 100% memiliki sensitivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan yang terpapar efluen terolah (C1 dan C2), sehingga menghasilkan nilai LC<sub>50</sub> pada reaktor K lebih rendah yaitu antara 6,48% dan 1,52% secara berturut-turut. Selain itu, nilai TUa yang diperoleh masing-masing sebesar 15,43 dan 65,62, yang dikategorikan sebagai *high acute toxicity*, bahkan pada beban konsentrasi terendah (25%). Hasil ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa beberapa efluen industri tekstil yang belum diolah menunjukkan toksisitas akut pada *D. magna* maupun organisme lainnya dengan nilai TU > 1 (Methneni et al., 2021). Sedangkan pada

beban konsentrasi 50%, efluen dari reaktor K menghasilkan nilai TUa sebesar 0,50 yang dikategorikan sebagai *slight acute toxicity*. Hal ini dapat dilihat pada konsentrasi COD dan amonia yang lebih rendah dibandingkan pada beban konsentrasi 25% dan 100%.

Sebaliknya, setelah proses fitoremediasi dan inokulasi bakteri (masing-masing pada sampel C1 dan C2), tidak terdeteksi toksisitas akut dalam sampel efluen, dengan hasil  $LC_{50} > 100\%$  dan  $TUa < 1$ . Temuan ini menunjukkan bahwa kombinasi fitoremediasi dengan perlakuan bakteri efektif dalam mengolah air limbah tekstil pada semua tingkat konsentrasi beban. Hasil serupa juga diamati dalam penelitian yang dilakukan oleh de Alkimin et al. (2020) menggunakan uji bioasai *D. magna*, yang menunjukkan tidak adanya toksisitas akut pada efluen tekstil yang telah diolah dengan sistem fitoremediasi. Demikian pula, Hussain et al. (2018) melaporkan bahwa sistem *constructed wetland* dengan vegetasi saja maupun dalam kombinasi dengan bakteri efektif dalam menurunkan tingkat toksisitas efluen bagi *Labeo rohita*, di mana efluen yang tidak diolah menunjukkan toksisitas tinggi, sementara perlakuan kombinasi menghasilkan efluen yang tidak toksik. Temuan ini menunjukkan bahwa peningkatan efektivitas pengolahan berkontribusi secara signifikan terhadap perbaikan kualitas efluen, yang dapat dikaitkan dengan kemampuan *wetland* dan bakteri dalam menyerap serta menurunkan konsentrasi senyawa kimia yang berkontribusi terhadap tingginya nilai COD dalam efluen.

Sebaliknya, penelitian yang dilakukan oleh Verma, (2011) menemukan bahwa efluen tekstil yang telah diolah menunjukkan klasifikasi *Toxic Units acute* (TUa) yang bervariasi dari tidak toksik hingga sangat toksik berdasarkan uji bioasai *Daphnia magna*, dengan mayoritas masih tergolong toksik. Temuan serupa mengenai toksisitas akut efluen tekstil yang telah diolah juga diamati pada beberapa industri tekstil di Indonesia yang terdaftar dalam *PROPER* (Program Penilaian Peringkat Kinerja Industri) oleh Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan Republik Indonesia. Industri-industri tekstil tersebut melaporkan nilai  $LC_{50}$  yang berkisar antara 2,72 hingga 88,40%, serta nilai  $TUa$  antara 1,13 hingga 36,78 (Rohmah et al., 2018). Hal ini menekankan pentingnya uji toksisitas pada efluen pengolahan limbah tekstil untuk memastikan keamanan ekologis dan menilai risiko terhadap lingkungan perairan, serta meningkatkan efektivitas pengolahan.

#### 4.6 Hubungan antara Parameter Kualitas Efluen dengan Nilai Toksisitas

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pengolahan air limbah tenun menggunakan teknologi *constructed wetland* (CW), terutama yang dikombinasikan dengan konsorsium bakteri (C2), mampu menurunkan berbagai parameter fisika-kimia secara signifikan serta berdampak langsung terhadap penurunan tingkat toksisitas akut. Parameter kimia seperti *Chemical Oxygen Demand* (COD), amonia, warna, logam berat (Pb dan Cd), serta parameter fisik seperti pH dan suhu memainkan peran penting dalam menentukan tingkat keamanan efluen terhadap organisme akuatik.

COD yang tinggi mencerminkan keberadaan senyawa organik dalam jumlah besar yang membutuhkan oksigen tinggi untuk degradasi, sehingga dapat mengurangi ketersediaan oksigen terlarut (DO) di perairan dan menyebabkan organisme akuatik tidak dapat bertahan hidup (Adeogun & Chukwuka, 2011; Durotoye et al., 2018). Setelah dilakukan pengolahan dengan CW dan konsorsium bakteri, COD memang belum sepenuhnya memenuhi baku mutu, namun penurunan yang terjadi cukup signifikan dan turut menurunkan beban organik yang memicu toksisitas. DO juga meningkat secara konsisten pada CW setelah pengolahan, mencerminkan kondisi perairan yang lebih mendukung bagi kehidupan biota. Hal ini turut memperkuat hasil uji toksisitas yang menunjukkan bahwa efluen hasil pengolahan tidak menunjukkan toksisitas akut.

Amonia dalam bentuk tak terionisasi ( $\text{NH}_3$ ) bersifat sangat toksik bagi kehidupan akuatik dan mudah berdifusi menembus membran sel (Wahyuningsih & Gitarama, 2020). Amonia dapat memberikan efek toksik terhadap *D. magna* melalui jalur metabolisme biologis, salah satunya dengan meningkatkan tingkat stres oksidatif seperti *reactive oxygen species* (ROS) dan memicu peradangan. ROS merupakan molekul reaktif yang mengandung oksigen dan terbentuk sebagai produk samping dari proses metabolisme normal. Peningkatan konsentrasi amonia yang dipaparkan kepada *D. magna* secara signifikan meningkatkan kadar ROS dan menurunkan aktivitas antioksidan. Akumulasi ROS yang berlebihan dapat merusak komponen seluler organisme, seperti menyebabkan mutasi DNA, kebocoran membran (peroksidasi lipid), kerusakan protein, dan disfungsi mitokondria (Ma et al., 2024).

Ketika total amonia  $\geq 5$  mg/L, ada kemungkinan bisa menyebabkan efek toksik (US EPA, 2002), hal ini sesuai hasil penelitian yang diperoleh ketika nilai amonia pada reaktor K  $\geq 5$  mg/L menghasilkan tingkat toksisitas yang tinggi. Pengolahan dengan CW berhasil menurunkan konsentrasi amonia, dan didukung oleh pH efluen yang berada dalam kisaran netral, hal ini turut mengurangi konversi  $\text{NH}_4^+$  menjadi bentuk  $\text{NH}_3$  yang lebih toksik, sehingga berdampak positif terhadap peningkatan nilai  $\text{LC}_{50}$ .

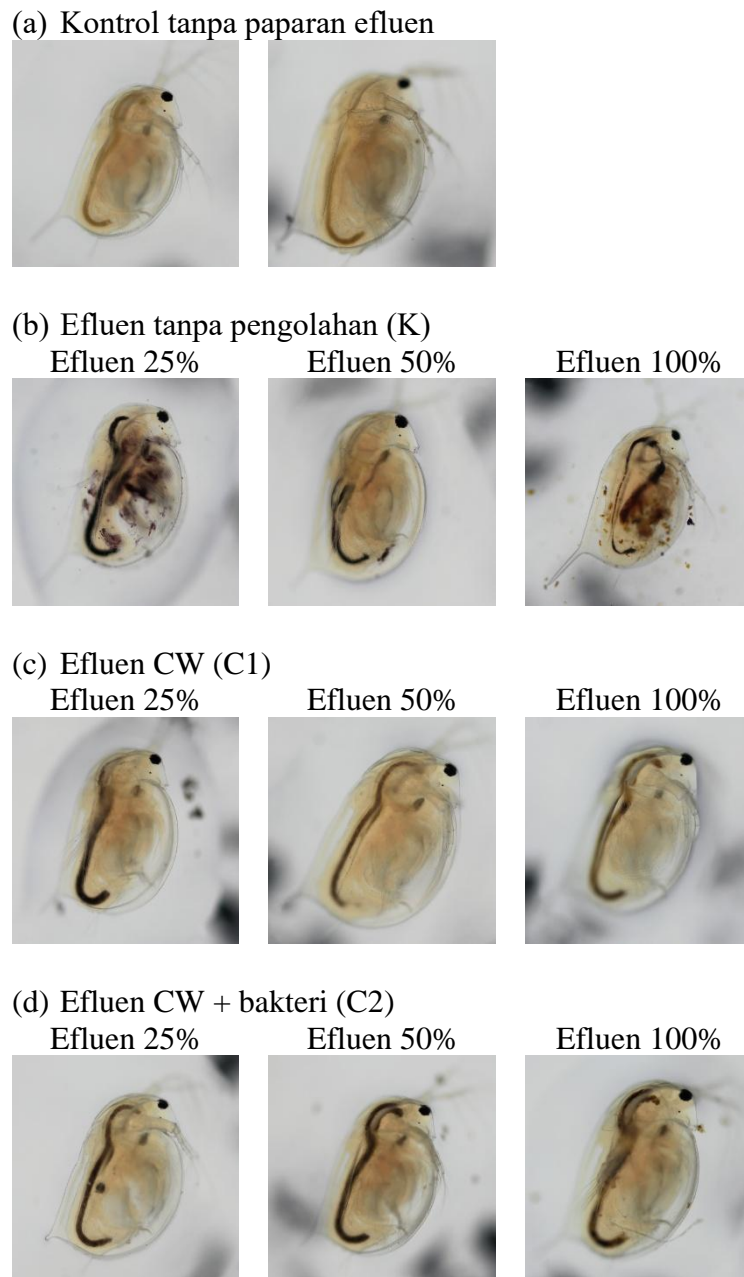
Zat warna naphthol merupakan senyawa aromatik turunan naftalena yang umum digunakan dalam pembuatan pewarna sintetis, seperti pewarna azo, yang dikenal sukar terurai serta memiliki sifat toksik dan karsinogenik. Organisme akuatik seperti *Daphnia similis* yang terpapar zat warna sintetis azo menunjukkan peningkatan aktivitas detoksifikasi, yang mengindikasikan adanya respon terhadap efek toksik (Yu et al., 2015). Selain itu, zat warna azo juga dapat menyebabkan gangguan reproduksi dan memicu perubahan pada sistem pernapasan meskipun pada konsentrasi rendah (Abe et al., 2019). Penurunan konsentrasi warna yang signifikan pada reaktor C1 dan C2 mencerminkan berkurangnya senyawa toksik tersebut, yang menjadi salah satu faktor utama yang mendorong penurunan nilai TUa secara signifikan. Penurunan konsentrasi warna dari ribuan Pt-Co pada reaktor kontrol menjadi hanya ratusan pada reaktor C1 dan C2 selaras dengan peningkatan nilai LC<sub>50</sub> yang sangat tinggi, menunjukkan bahwa efluen yang dihasilkan jauh lebih aman bagi organisme akuatik.

Logam berat seperti Pb dan Cd juga diketahui dapat menimbulkan efek toksik pada organisme meskipun dalam konsentrasi yang rendah. Namun, dalam penelitian ini, konsentrasi logam pada semua jenis efluen tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan, dan efluen hasil pengolahan pada reaktor C1 dan C2 tidak menunjukkan sifat toksik akut. Meskipun demikian, mengingat sifat bioakumulatif dari logam berat, hal ini masih berpotensi memberikan efek subletal dalam jangka panjang. *D. magna* diketahui mampu mengakumulasi logam berat pada lingkungan yang tercemar dalam waktu yang lama. Araujo et al. (2019) melaporkan bahwa paparan Pb pada konsentrasi 50 µg/L selama sembilan generasi terhadap *D. magna*, di mana nilainya lebih rendah dibandingkan dengan konsentrasi pada efluen penelitian ini dapat menyebabkan beberapa efek, seperti akumulasi Pb dalam tubuh *D. magna*, deformasi karapas, peningkatan produksi individu jantan, terbentuknya telur dorman (ephippia), serta kegagalan perkembangan telur.

Perlu dipertimbangkan bahwa penurunan toksisitas juga dapat dipengaruhi oleh faktor-faktor di luar parameter utama yang dianalisis. Hal ini bisa menjadi faktor pada tidak konsistennya antara parameter yang diuji dan hasil nilai toksisitas karena keterbatasan tersebut, misalnya pada reaktor tanpa pengolahan K 50% menghasilkan konsentrasi warna 2.114,84 Pt-Co yang lebih tinggi dari pada K 25% sebesar 1.592,17 Pt-Co dan K 25% bersifat lebih toksik dari pada K 50%. Hal ini dikarenakan adanya potensi interaksi antar polutan, termasuk senyawa yang tidak diketahui (selain parameter utama yang dianalisis) yang dapat memberikan dampak pada tingkat toksisitas pada organisme akuatik. Oleh karena itu, uji toksisitas secara keseluruhan dengan metode WET menjadi penting untuk melengkapi data parameter fisika-kimia dalam mengevaluasi keamanan efluen secara ekologis.

#### 4.7 Evaluasi Morfologi dan Fisiologi *Daphnia magna*

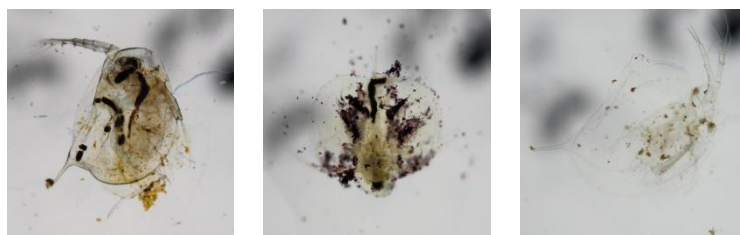
Evaluasi terhadap morfologi dan fisiologi *D. magna* dilakukan untuk melengkapi keterbatasan analisis parameter fisika-kimia, mengingat masih banyak parameter yang belum dianalisis namun berpotensi memberikan efek toksik terhadap organisme. Morfologi *D. magna* setelah terpapar berbagai konsentrasi efluen dari berbagai perlakuan ditampilkan pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5 Morfologi *D. magna* setelah terpapar efluen dari pengolahan CW

Perbedaan yang signifikan diamati antara kontrol tanpa paparan, efluen tanpa pengolahan, dan efluen hasil pengolahan. Kontrol tanpa paparan menunjukkan morfologi

normal tanpa kelainan yang terlihat, dan tubuhnya tidak menunjukkan adanya massa hitam yang menandakan penyerapan zat warna dari limbah tekstil. Sebaliknya, *D. magna* yang terpapar limbah tanpa pengolahan (reaktor K) mengalami perubahan morfologi yang signifikan, termasuk deformitas tubuh dan munculnya massa hitam yang meluas di saluran pencernaan serta alat gerak toraks, yang mengindikasikan adanya asupan zat warna. Organisme yang terpapar limbah tidak terolah (K) juga menunjukkan kerusakan fisik seperti deformitas karapas dan kehilangan alat gerak toraks (Gambar 4.6). Gangguan morfologi serupa pada *D. magna* juga dilaporkan oleh Li et al. (2023), di mana paparan terhadap senyawa pewarna menyebabkan kerusakan tubuh.



Gambar 4.6 Kerusakan organ *D. magna* setelah terpapar efluen dari air limbah tanpa pengolahan

Kerusakan pada tubuh *D. magna* dapat disebabkan oleh paparan logam ke dalam jaringannya. Logam Pb dapat mengganggu penyerapan ion kalsium dan natrium, sehingga keseimbangan ion di dalam sel terganggu dan fungsi tubuh menjadi tidak stabil. Karena cangkang luar (karapas) mengandung kalsium, gangguan pada saluran kalsium akibat Pb bisa menyebabkan masalah serius pada proses ganti kulit (*moulting*) *D. magna*. Penelitian menunjukkan bahwa kekurangan kalsium membuat *D. magna* cenderung berukuran kecil atau memiliki karapas yang lemah, serta mengalami deformasi karapas (Araujo et al., 2019).

Paparan terhadap efluen hasil pengolahan juga menyebabkan munculnya massa hitam di sistem pencernaan, tetapi tidak berdampak pada kematian. Hal ini menunjukkan bahwa air limbah tekstil yang telah diolah dengan sistem *wetland* dapat mengurangi dampak kematian dalam paparan jangka pendek. Oleh karena itu, diperlukan penelitian lanjutan terkait toksisitas subletal, seperti pengujian malformasi, keterlambatan penetasan, perubahan detak jantung melalui uji *fish embryo toxicity* (FET), serta uji kronis seperti pengujian reproduksi organisme air selama beberapa generasi. Penelitian ini penting untuk memperoleh pemahaman yang lebih mendalam mengenai dampak air limbah tenun yang telah diolah terhadap lingkungan.

Tabel 4.9 Analisis fisiologi *D. magna* setelah terpapar efluen dari pengolahan CW

Sampel	Laju Detak Jantung (BPM)			Pergerakan Thoracic Limb (kali/menit)		
	25%	50%	100%	25%	50%	100%
Kontrol aquades	624 <sup>a</sup> ± 3.5	624 <sup>a</sup> ± 3.5	624 <sup>a</sup> ± 3.5	342 <sup>a</sup> ± 40.8	342 <sup>a</sup> ± 40.8	342 <sup>a</sup> ± 40.8
K	No live	352 <sup>b</sup> ± 64.1	156.7 <sup>c</sup> ± 21.7	No live	42 <sup>b</sup> ± 39	48 <sup>b</sup> ± 12.5
C1	594 <sup>a</sup> ± 6.9	606 <sup>a</sup> ± 18	618 <sup>a</sup> ± 35.2	352 <sup>a</sup> ± 31.4	362 <sup>a</sup> ± 20.3	304 <sup>a</sup> ± 17.1
C2	622 <sup>a</sup> ± 10.6	614 <sup>a</sup> ± 25.5	594 <sup>a</sup> ± 31.7	282 <sup>a</sup> ± 13.9	354 <sup>a</sup> ± 21.6	276 <sup>a</sup> ± 81.9

Tabel 4.9 menunjukkan bahwa efluen tekstil tanpa pengolahan secara signifikan memengaruhi kondisi fisiologis *D. magna*, ditunjukkan oleh penurunan denyut jantung dan gangguan gerakan alat gerak toraks. Pengolahan menggunakan *constructed wetland* (C1) maupun yang dikombinasikan dengan bakteri (C2), mampu menurunkan tingkat toksisitas, yang ditandai dengan nilai denyut jantung dan gerakan toraks yang mendekati kontrol tanpa paparan. Hal ini mengindikasikan bahwa pengolahan biologis dengan *wetland* dan penambahan bakteri dapat mengurangi dampak toksik terhadap organisme akuatik seperti *D. magna*.

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini meliputi:

1. Penelitian ini menunjukkan bahwa sistem *constructed wetland* (CW) yang ditanami *Vetiveria zizanioides* baik tanpa maupun dengan inokulasi bakteri *Bacillus cereus*, *Bacillus spizizenii*, dan *Stenotrophomonas maltophilia* dapat menurunkan konsentrasi polutan utama dalam air limbah tenun, yaitu COD, warna, dan amonia. Ketiga jenis reaktor yang diuji menunjukkan perbedaan performa, di mana reaktor CW baik dengan maupun tanpa bakteri mampu menurunkan konsentrasi COD hingga 96,35%, warna hingga 99,18%, dan amonia hingga 89,14%.
2. Pengujian toksisitas menggunakan metode Whole Effluent Toxicity (WET) dengan *Daphnia magna* menunjukkan bahwa efluen dari reaktor CW tidak bersifat toksik akut ( $LC_{50} > 100\%$ ;  $TU_a < 1$ ), sementara efluen tanpa pengolahan masih menunjukkan toksisitas akut sedang hingga tinggi ( $LC_{50} 1,52 - 200\%$ ;  $TU_a 0,50 - 65,62$ ). Analisis fisiologis menunjukkan bahwa paparan terhadap efluen yang tidak diolah berdampak negatif terhadap *D. magna*, sedangkan efluen dari CW tidak memberikan pengaruh signifikan.

Dengan demikian, sistem CW terbukti tidak hanya efektif dalam menurunkan polutan, tetapi juga menghasilkan efluen yang aman bagi organisme akuatik. Namun, penelitian ini masih terbatas pada pengujian efek letal, sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengevaluasi dampak subletal terhadap organisme air.

#### 5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan pada penelitian selanjutnya yaitu dilakukan evaluasi jangka panjang terhadap kestabilan sistem CW, serta perluasan uji toksisitas terhadap organisme lain dan analisis parameter toksik subletal guna mendukung implementasi sistem ini dalam skala lapangan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abe, F. R., Machado, A. L., Soares, A. M. V. M., Oliveira, D. P. d., & Pestana, J. L. T. (2019). Life history and behavior effects of synthetic and natural dyes on *Daphnia magna*. *Chemosphere*, 236. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124390>
- Adeogun, A. O., & Chukwuka, A. V. (2011). Effect of textile factory effluent on otolith and somatic growth parameters in *Clarias gariepinus*. *The Zoologist*, 9, 70–77. <https://www.ajol.info/index.php/tzool/article/view/73130>
- Akif, M., Khan, A. R., Sok, K., Min, Hussain, Z., Abrar, M., Khan, M., & Muhammad, A. (2002). Textile effluents and their contribution towards aquatic pollution in the Kabul River (Pakistan). *Journal of the Chemical Society of Pakistan*, 24(2), 106–111.
- Alderete, B. L., da Silva, J., Godoi, R., da Silva, F. R., Taffarel, S. R., da Silva, L. P., Garcia, A. L. H., Júnior, H. M., de Amorim, H. L. N., & Picada, J. N. (2021). Evaluation of toxicity and mutagenicity of a synthetic effluent containing azo dye after Advanced Oxidation Process treatment. *Chemosphere*, 263. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128291>
- Ali, H., Khan, E., & Ilahi, I. (2019). Environmental chemistry and ecotoxicology of hazardous heavy metals: Environmental persistence, toxicity, and bioaccumulation. *Journal of Chemistry*, 2019(Cd). <https://doi.org/10.1155/2019/6730305>
- Alisa, C. A. G., P, M. S. A., & Faizal, I. (2020). Kandungan timbal dan cadmium pada air dan sedimen di perairan Pulau Untung Jawa, Jakarta. *Jurnal Akuatika Indonesia*, 5(1), 21–26.
- Araujo, G. S., Pavlaki, M. D., Soares, A. M. V. M., Abessa, D. M. S., & Loureiro, S. (2019). Bioaccumulation and morphological traits in a multi-generaion test with two *Daphnia* species exposed to Lead. *ECSN*. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.12.049>
- Ardila-Leal, L. D., Poutou-Piñales, R. A., Pedroza-Rodríguez, A. M., & Quevedo-Hidalgo, B. E. (2021). A brief history of colour, the environmental impact of synthetic dyes and removal by using laccases. *Molecules*, 26(13). <https://doi.org/10.3390/molecules26133813>
- Batool, A., & Saleh, T. A. (2020). Removal of toxic metals from wastewater in constructed wetlands as a green technology; catalyst role of substrates and chelators. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 189(November), 109924. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109924>

- Berradi, M., Hsissou, R., Khudhair, M., Assouag, M., Cherkaoui, O., El Bachiri, A., & El Harfi, A. (2019). Textile finishing dyes and their impact on aquatic environs. *Heliyon*, 5(11). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02711>
- Bownik, A. (2017). Daphnia swimming behaviour as a biomarker in toxicity assessment: A review. *Science of the Total Environment*, 601–602, 194–205. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.05.199>
- Bownik, A., Stepniewska, Z., & Skowroński, T. (2015). Effects of ectoine on behavioural, physiological and biochemical parameters of *Daphnia magna*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part - C: Toxicology and Pharmacology*, 168, 2–10. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2014.11.001>
- BPS Kabupaten Jepara. (2020). *Banyaknya Sentra Industri Kecil di Kabupaten Jepara, 2018*. <https://jeparakab.bps.go.id/id/statistics-table/1/Njg2IzE=/banyaknya-sentra-industri-kecil-di-kabupaten-jepara--2018.html>
- Brix, H. (1997). Do macrophytes play a role in constructed treatment wetlands? *Water Science and Technology*, 35(5), 11–17. [https://doi.org/10.1016/S0273-1223\(97\)00047-4](https://doi.org/10.1016/S0273-1223(97)00047-4)
- Campos, B., Piña, B., & Barata, C. (2021). *Daphnia Magna* Gut-Specific Transcriptomic Responses to Feeding Inhibiting Chemicals and Food Limitation. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 40(9), 2510–2520. <https://doi.org/10.1002/etc.5134>
- Carney Almroth, B., Cartine, J., Jönander, C., Karlsson, M., Langlois, J., Lindström, M., Lundin, J., Melander, N., Pesqueda, A., Rahmqvist, I., Renaux, J., Roos, J., Spilsbury, F., Svalin, J., Vestlund, H., Zhao, L., Asker, N., Ašmonaitė, G., Birgersson, L., ... Sturve, J. (2021). Assessing the effects of textile leachates in fish using multiple testing methods: From gene expression to behavior. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 207(July 2020). <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111523>
- Castro, A. M., Nogueira, V., Lopes, I., Rocha-santos, T., & Pereira, R. (2019). Evaluation of the Potential Toxicity of Effluents from the Textile Industry before and after Treatment. *Applied Sciences*. <https://www.mdpi.com/2076-3417/9/18/3804>
- Chandanshive, V., Kadam, S., Rane, N., Jeon, B. H., Jadhav, J., & Govindwar, S. (2020). In situ textile wastewater treatment in high rate transpiration system furrows planted with aquatic macrophytes and floating phytobeds. *Chemosphere*, 252, 126513. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126513>
- Chaudhari, A. U., Paul, D., Dhotre, D., & Kodam, K. M. (2017). Effective biotransformation and detoxification of anthraquinone dye reactive blue 4 by using aerobic bacterial

- granules. *Water Research*, 122, 603–613. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.06.005>
- Choudhury, A. K. R. (2014). *Environmental Impacts of the Textile Industry and Its Assessment Through Life Cycle Assessment*. [https://doi.org/10.1007/978-981-287-110-7\\_1](https://doi.org/10.1007/978-981-287-110-7_1)
- Cooper, R. O., Tjards, S., Rischling, J., Nguyen, D., & Cressler, C. E. (2021). *Multiple Generations of Antibiotic Exposure and Isolation Influence Host Fitness and the Microbiome in a Model Zooplankton Species*. <https://doi.org/10.1101/2021.04.27.441490>
- Corruchaga, A., & Casal, J. (2015). Evaporation of Ammonia From Aqueous Solution Spills. *Proceedings of the 14th International Conference on Environmental Science and Technology*.
- Croce, R., Cinà, F., Lombardo, A., Crispeyn, G., Cappelli, C. I., Vian, M., Maiorana, S., Benfenati, E., & Baderna, D. (2017). Aquatic toxicity of several textile dye formulations: Acute and chronic assays with *Daphnia magna* and *Raphidocelis subcapitata*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 144(January), 79–87. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.05.046>
- de Alkimin, G. D., Paisio, C., Agostini, E., & Nunes, B. (2020). Phytoremediation processes of domestic and textile effluents: evaluation of the efficacy and toxicological effects in *Lemna minor* and *Daphnia magna*. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(4), 4423–4441. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-07098-3>
- Deng, J., Li, W., Yang, Q., Liu, Y., Fang, L., Guo, Y., Guo, P., Li, L., Yang, Y., & Luan, T. (2018). Biocompatible Surface-Coated Probe for *in Vivo*, *in Situ*, and Microscale Lipidomics of Small Biological Organisms and Cells Using Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*, 90(11), 6936–6944. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b01218>
- Durotoye, T. O., Adeyemi, A. A., Omole, D. O., & Onakunle, O. (2018). Impact assessment of wastewater discharge from a textile industry in Lagos, Nigeria. *Cogent Engineering*, 5(1), 1–11. <https://doi.org/10.1080/23311916.2018.1531687>
- El-Shehawey, R., Luecke-Johansson, S., Brindefalk, B., Breitholtz, M., & Gorokhova, E. (2023). *Microbiome Transplant and Host Genetic Background Shape *Daphnia* Tolerance: Implications for Ecological and Ecotoxicological Effect Assessment*. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-3248646/v1>
- Emilia, I., Suheryanto, & Hanafiah, Z. (2013). Distribusi Logam Kadmium dalam Air dan Sedimen di Sungai Musi Kota Palembang. *Jurnal Penelitian Sains*, 16(2), 59–64.

- EPA. (2000). Understanding and Accounting for Method Variability in Whole Effluent Toxicity Applications Under the National Pollutant Discharge Elimination System Understanding and Accounting for Method Variability in Whole Effluent Toxicity Applications Under the Nat. *Text, June*.
- Eviati, Sulaeman, Herawaty, L., Anggria, L., Usman, Tantika, H. E., Prihatini, R., & Wuningrum, P. (2023). *Petunjuk teknis analisis kimia tanah, tanaman, air, dan pupuk* (3rd ed.). Kementerian Pertanian Republik Indonesia. <https://tanahpupuk.bsip.pertanian.go.id>
- Fabryanty, R., Valencia, C., Soetaredjo, F. E., Putro, J. N., Santoso, S. P., Kurniawan, A., Ju, Y. H., & Ismadji, S. (2017). Removal of crystal violet dye by adsorption using bentonite – alginate composite. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 5(6), 5677–5687. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2017.10.057>
- Faisal, A. A. H., & Nasif, S. A. (2023). Removal of methylene blue from wastewater using constructed wetland: performance and operation. *Desalination and Water Treatment*, 285, 274–288. <https://doi.org/10.5004/dwt.2023.29318>
- Fajri, J. A., Nurmiyanto, A., Sa'adah, N. N., Sagita, N. D., Nuryana, I., Rahayu, A., & Lathifah, A. N. (2024). Selection of endophyte and indigenous bacteria degrading textile wastewater in floating treatment wetland. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 0123456789. <https://doi.org/10.1007/s13762-024-05654-0>
- Fajri, J. A., Nurmiyanto, A., Sa'adah, N. N., Nuryana, I., Anfaresi, S. L. N., & Lathifah, A. N. (2024). Effectiveness of Endophytes Bacteria in Enhancing Floating Treatment Wetland to Treat Textile Wastewater. *Journal of Ecological Engineering*, 25(3), 12–24. <https://doi.org/10.12911/22998993/177593>
- Forss, J., Lindh, M. V., Pinhassi, J., & Welander, U. (2017). Microbial biotreatment of actual textile wastewater in a continuous sequential rice husk biofilter and the microbial community involved. *PLoS ONE*, 12(1), 1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170562>
- Francisco, R. F., Moreira, S. C., & Albuquerque, F. P. d. (2023). Toxic Effects of Synthetic and Natural Indigo Dyes on Danio Rerio Reproduction. *Studies in Environmental and Animal Sciences*, 4(1), 128–145. <https://doi.org/10.54020/seasv4n1-010>
- Frankel-Bricker, J., Song, M. J., Benner, M. J., & Schaack, S. (2019). Variation in the Microbiota Associated With *Daphnia Magna* Across Genotypes, Populations, and Temperature. *Microbial Ecology*, 79(3), 731–742. <https://doi.org/10.1007/s00248-019-01412-9>

- Garcia, V. S. G., de Freitas Tallarico, L., Rosa, J. M., Suzuki, C. F., Roubicek, D. A., Nakano, E., & Borrely, S. I. (2021). Multiple adverse effects of textile effluents and reactive Red 239 dye to aquatic organisms. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(44), 63202–63214. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-15115-7>
- Hashiguchi, Y., Zakaria, M. R., Maeda, T., Yusoff, M. Z. M., Hassan, M. A., & Shirai, Y. (2020). Toxicity identification and evaluation of palm oil mill effluent and its effects on the planktonic crustacean *Daphnia magna*. *Science of the Total Environment*, 710, 136277. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136277>
- Hem, S., Wyrsh, E. R., Drigo, B., Baker, D. J., Charles, I. G., Donner, E., Jarocki, V. M., & Djordjevic, S. P. (2022). Genomic Analysis of Carbapenem-Resistant *Comamonas* in Water Matrices: Implications for Public Health and Wastewater Treatments. *Applied and Environmental Microbiology*, 88(13), 1–17. <https://doi.org/10.1128/aem.00646-22>
- Hernández-Zamora, M., & Martínez-Jerónimo, F. (2019). Exposure to the azo dye Direct blue 15 produces toxic effects on microalgae, cladocerans, and zebrafish embryos. *Ecotoxicology*, 28(8), 890–902. <https://doi.org/10.1007/s10646-019-02087-1>
- Hussain, Z., Arslan, M., Malik, M. H., Mohsin, M., Iqbal, S., & Afzal, M. (2018). Integrated perspectives on the use of bacterial endophytes in horizontal flow constructed wetlands for the treatment of liquid textile effluent: Phytoremediation advances in the field. *Journal of Environmental Management*, 224(May), 387–395. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.07.057>
- Indra, M. F. (2023). Analisis rancangan promosi kain tenun Troso sebagai warisan budaya Jepara. *Jurnal Pustaka Desain Dan Budaya*, 2, 19–23.
- Indrayani, L. (2018). Pengolahan limbah cair industri batik sebagai salah satu percontohan IPAL batik di Yogyakarta. *Ecotrophic*, 12(2), 173–184.
- Indrayani, L., & Triwiswara, M. (2018). Efektivitas pengolahan limbah cair industri batik dengan teknologi lahan basah buatan. *Jurnal Dinamika Kerajinan Dan Batik*, 35(1), 53–66.
- Ivan, B.-C., Bărbuceanu, Ștefania-Felicia, Hotnog, C. M., Anghel, A. I., Ancuceanu, R., Mihăilă, M., Brașoveanu, L. I., Shova, S., Drăghici, C., Olaru, O. T., Nițulescu, G. M., Dinu, M., & Dumitrașcu, F. (2022). New Pyrrole Derivatives as Promising Biological Agents: Design, Synthesis, Characterization, in Silico, and Cytotoxicity Evaluation. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(16), 8854. <https://doi.org/10.3390/ijms23168854>
- Jamali, G. A., Kandhar, I. A., Memon, S. A., & Saeed, S. (2023). Decomposition of

- Wastewater Pollutants through Natural Oxidation and Air Induced Oxidation Process. *J Pollut Eff Cont*, 11(1), 1000358. <https://doi.org/10.35248/2375-4397.23.11.358>. Citation
- Javed, F., Tariq, M. F., Ikhtlaq, A., Munir, H. M. S., & Altaee, A. (2025). Remediation of textile wastewater by hybrid technique using ZIF-67 catalyzed ozonation coupled with electrocoagulation. *Journal of Water Process Engineering*, 69(October 2024), 106604. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2024.106604>
- Jin, J., & Kusui, T. (2019). Sewage effluent toxicity assessment: Comparison between whole effluent toxicity (WET) and the Japanese pollutant release and transfer register (PRTR) data. *Journal of Water and Environment Technology*, 17(4), 218–230. <https://doi.org/10.2965/jwet.18-028>
- Kamali, M., Fazlpour, F., Karimi, F., Rezaee, A., Sadri, F., & Hosseini, S. F. (2023). A Review of Cytotoxic Effects of Azo Dyes on Brain-Subregion. *Middle East Journal of Rehabilitation and Health Studies*, 10(2). <https://doi.org/10.5812/mejrh-130751>
- Karabulut, Y. K., & Gürkan, Y. Y. (2023). Investigation of some azo dyes by QSAR method and acute toxicity test with *Daphnia magna*. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 13(2), 1110–1119. <https://doi.org/10.21597/jist.1214772>
- Kementerian Perindustrian RI. (2019). *Berkontribusi Hingga USD53 Juta, Kemenperin Pacu IKM Tenun dan Batik*. <https://kemenperin.go.id/artikel/20424/Berkontribusi-Hingga-USD53-Juta,-Kemenperin-Pacu-IKM-Tenun-dan-Batik>
- Kiswanto, K., Rahayu, L. N., & Wintah, W. (2019). Pengolahan Limbah Cair Batik Menggunakan Teknologi Membran Nanofiltrasi Di Kota Pekalongan. *Jurnal Litbang Kota Pekalongan*, 17, 72–82. <https://doi.org/10.54911/litbang.v17i0.109>
- Kumar, D., Bharti, S. K., Anand, S., & Kumar, N. (2018). Bioaccumulation and biochemical responses of *Vetiveria zizanioides* grown under Cadmium and Copper stresses. *Environmental Sustainability*, 1(2), 133–139. <https://doi.org/10.1007/s42398-018-0009-z>
- Kustiyaningsih, E., & Irawanto, R. (2020). Pengukuran total dissolved solid (TDS) dalam fitoremediasi deterjen dengan tumbuhan *Sagittaria lancifolia*. *Jurnal Tanah Dan Sumberdaya Lahan*, 7(1), 143–148. <https://doi.org/10.21776/ub.jtsl.2020.007.1.18>
- Lach, C. E., Pauli, C. S., Coan, A. S., Simionatto, E. L., & Koslowski, L. A. D. (2022). Investigating the process of electrocoagulation in the removal of azo dye from synthetic textile effluents and the effects of acute toxicity on *Daphnia magna* test organisms. *Journal of Water Process Engineering*, 45(December 2021). <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2021.102485>

- Li, K., Liu, Q., Fang, F., Wu, X., Xin, J., Sun, S., Wei, Y., Ruan, R., Chen, P., Wang, Y., & Addy, M. (2020). Influence of nanofiltration concentrate recirculation on performance and economic feasibility of a pilot-scale membrane bioreactor-nanofiltration hybrid process for textile wastewater treatment with high water recovery. In *Journal of Cleaner Production* (Vol. 261). <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.121067>
- Li, S., Cui, Y., Wen, M., & Ji, G. (2023). Toxic Effects of Methylene Blue on the Growth, Reproduction and Physiology of *Daphnia magna*. *Toxics*, 11(7). <https://doi.org/10.3390/toxics11070594>
- Lin, L., Xiao, L., Li, L., Zhang, C., Pervez, M. N., Naddeo, V., Zhang, Y.-Q., Islam, M. S., Cai, Y., & Hassan, M. M. (2022). Sustainable and Eco-Friendly Dyeing of Traditional Grass Cloth With a Reactive Dye in Palm Oil Medium. *RSC Advances*, 12(46), 29767–29776. <https://doi.org/10.1039/d2ra05736k>
- Liugè, M., & Paliulis, D. (2023). Treatment of Water Containing Dyes Using Cellulose Aerogels. *Environmental and Climate Technologies*, 27(1), 314–322. <https://doi.org/10.2478/rtuect-2023-0024>
- Loretha, O., Darmayanti, L., & Handayani, Y. L. (2014). *Kemampuan constructed wetland jenis aliran bawah permukaan (SSF-wetland) dalam mengolah air limbah kawasan komersial*. Universitas Riau.
- Luthfi, W. (2021). *Peta Sebaran Wilayah dengan UMK Kain dan Tenun Terbanyak di Indonesia*. Good News From Indonesia. <https://www.goodnewsfromindonesia.id/2021/09/21/peta-sebaran-wilayah-dengan-pengrajin-kain-dan-tenun-terbanyak-di-indonesia>
- Ma, Y., Liu, Y., Sun, J., Min, P., Liu, W., Li, L., Yi, P., Guo, R., & Chen, J. (2024). Science of the Total Environment Ecological risks of high-ammonia environment with inhibited growth of *Daphnia magna*: Disturbed energy metabolism and oxidative stress. *Science of the Total Environment*, 948(May), 174959. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.174959>
- Macke, E., Callens, M., Meester, L. D., & Decaestecker, E. (2017). Host-Genotype Dependent Gut Microbiota Drives Zooplankton Tolerance to Toxic Cyanobacteria. *Nature Communications*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-017-01714-x>
- Maphoru, M. V, Heveling, J., & Pillai, S. K. (2013). Oxidative Coupling of 1-Naphthols Over Noble and Base Metal Catalysts. *Chempluschem*, 79(1), 99–106. <https://doi.org/10.1002/cplu.201300307>
- Mayes, W. M., Batty, L. C., Younger, P. L., Jarvis, A. P., Kõiv, M., Vohla, C., & Mander, U.

- (2009). Wetland treatment at extremes of pH: A review. *Science of the Total Environment*, 407(13), 3944–3957. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.06.045>
- Mebane, C. A., Ivey, C. D., Wang, N., Steevens, J. A., Cleveland, D., Elias, M. C., Justice, J. R., Gallagher, K., & Brent, R. N. (2021). Direct and Delayed Mortality of *Ceriodaphnia dubia* and Rainbow Trout Following Time-Varying Acute Exposures to Zinc. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 40(9), 2484–2498. <https://doi.org/10.1002/etc.5131>
- Mergeay, J., Declerck, S., Verschuren, D., & Meester, L. De. (2006). Daphnia community analysis in shallow Kenyan lakes and ponds using dormant eggs in surface sediments. *Freshwater Biology*, 51(3), 399–411. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2005.01494.x>
- Methneni, N., Morales-González, J. A., Jaziri, A., Mansour, H. Ben, & Fernandez-Serrano, M. (2021). Persistent organic and inorganic pollutants in the effluents from the textile dyeing industries: Ecotoxicology appraisal via a battery of biotests. *Environmental Research*, 196(February). <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.110956>
- Müller, M. F., Colomer, J., & Serra, T. (2018). Temperature-driven response reversibility and short-term quasi-acclimation of *Daphnia magna*. *PLoS ONE*, 13(12), 1–14. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209705>
- Ng, C. C., Boyce, A. N., Abas, M. R., Mahmood, N. Z., & Han, F. (2020). Evaluation of Vetiver Grass Uptake Efficiency in Single and Mixed Heavy Metal Contaminated Soil. *Environmental Processes*, 7(1), 207–226. <https://doi.org/10.1007/s40710-019-00418-2>
- Oliveira, G. A. R. de, Leme, D. M., de Lapuente, J., Brito, L. B., Porredón, C., Rodrigues, L. de B., Brull, N., Serret, J. T., Borràs, M., Disner, G. R., Cestari, M. M., & Oliveira, D. P. de. (2018). A test battery for assessing the ecotoxic effects of textile dyes. *Chemico-Biological Interactions*, 291(February), 171–179. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2018.06.026>
- Pan, Y., Yan, S., Li, R., Hu, Y., & Chang, X. (2017). Lethal/Sublethal Responses of *Daphnia Magna* to Acute Norfloxacin Contamination and Changes in Phytoplankton-Zooplankton Interactions Induced by This Antibiotic. *Scientific Reports*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/srep40385>
- Pargai, D. (2021). *Application of Smart and Functional Dyes in Textiles*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.96045>
- Park, S., & Choi, K. (2008). Hazard Assessment of Commonly Used Agricultural Antibiotics on Aquatic Ecosystems. *Ecotoxicology*, 17(6), 526–538. <https://doi.org/10.1007/s10646-008-0209-x>

- Parmar, A. I., & Shah, A. I. (2021). <strong>Acute toxicity, behavioural response and haematological alterations of <em>Catla catla</em> exposed to Reactive Red 120 textile dye</strong>. *Indian Journal of Experimental Biology*, 59(April), 275–279. <https://doi.org/10.56042/ijeb.v59i04.48236>
- Permana, R., & Andhikawati, A. (2022). Metallotionein pada tanaman akuatik dan perannya dalam akumulasi logam berat: Review. *Jurnal Akuatek*, 3(1), 1–8.
- Persoone, G., Marsalek, B., Blinova, I., Törökne, A., Zarina, D., Manusadzianas, L., Nalecz-Jawecki, G., Tofan, L., Stepanova, N., Tothova, L., & Kolar, B. (2003). A practical and user-friendly toxicity classification system with microbiotests for natural waters and wastewaters. *Environmental Toxicology*, 18(6), 395–402. <https://doi.org/10.1002/tox.10141>
- Pillai, J. S., & Vijayan, N. (2012). Decentralized greywater treatment for nonpotable reuse in a vertical flow constructed wetland. *2012 International Conference on Green Technologies, ICGT 2012*, 58–63. <https://doi.org/10.1109/ICGT.2012.6477948>
- Priantoro, E. A., Suryaatmana, P., Sumiarsa, D., Widyarani, Butar, E. S. B., & Sembiring, T. (2025). Fitoremediasi logam berat sistem lahan basah terapung menggunakan tanaman akar wangi (*Chryzophogon zizanioides* ( L .) Roberty) sebagai hiperakumulator. *Jurnal Teknologi Lingkungan*, 26(1), 114–127.
- Przydatek, G., Golonka, M., Barsan, N., Mosnegutu, E., Chitimus, A. D., & Irimia, O. (2024). Environmental and energy efficiency of a selected municipal wastewater treatment plant - a case study. *Engineering Research Express*, 6(3). <https://doi.org/10.1088/2631-8695/ad6232>
- Putri, M. R. A., Hartati, S. T., & Satria, F. (2016). Kematian massal ikan dan sebaran parameter kualitas air di Teluk Jakarta. *BAWAL Widya Riset Perikanan Tangkap*, 8(2), 77–90. <https://doi.org/10.15578/bawal.8.2.2016.77-90>
- Qasaimeh, A., AlSharie, H., & Masoud, T. (2015). A Review on Constructed Wetlands Components and Heavy Metal Removal from Wastewater. *Journal of Environmental Protection*, 06(07), 710–718. <https://doi.org/10.4236/jep.2015.67064>
- Rahmadanti, T., Utami, A., Algary, M. G., Muryani, E., & Algary, T. A. (2024). Evaluasi tingkat pencemaran air tanah akibat limbah cair industri batik menggunakan metode indeks pencemaran di Kalurahan Wukirsari, Kapanewon Imogiri, Kabupaten Bantul, Daerah Istimewa Yogyakarta. *Prosiding Seminar Nasional Teknik Lingkungan Kebumihan Satu Bumi*, 5(1), 24–30.
- Rahmani, A. F., & Handajani, M. (2014). Efisiensi penyisihan organik limbah cair industri

- tahu dengan aliran horizontal subsurface pada constructed wetland menggunakan *Typha angustifolia*. *Jurnal Teknik Lingkungan*, 20(1), 78–87. <https://doi.org/10.5614/jtl.2014.20.1.9>
- Ramadhani, R. D., & Subandi, S. (2015). Keberadaan Dan Perkembangan Tenun Trosro Jepara. *Ornamen Jurnal Kriya Seni ISI Surakarta*, 12(1), 117–130. <https://jurnal.isi-ska.ac.id/index.php/ornamen/article/view/1623>
- Ramírez, A., García, G., Werner, O., Navarro-pedreño, J., & Ros, R. M. (2021). *Implications of the Phytoremediation of Heavy Metal Contamination of Soils and Wild Plants in the Industrial Area of Haina , Dominican Republic*.
- Rohaningsih, D., Henny, C., Susanti, E., Sudiyono, B. T., Febrianti, D., Waluyo, A., Sugiarti, & Lestari, F. S. (2023). The efficacy of *Vetiveria zizanioides* in horizontal subsurface flow constructed wetland for treating textile wastewater. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1201(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1201/1/012073>
- Salim, Y. A. (2021). Efektivitas sistem constructed wetland sebagai pengolahan limbah batik ecoprint menggunakan tanaman kangkung air. *Jurnal Syntax Fusion*, 1(8), 299–311.
- Samad, A. S., Adzillah, W. N., Amethysia, N. R., & Bayu, M. G. (2024). *Analisis constructed wetlands sebagai teknologi pemulihan pencemaran air permukaan menggunakan tanaman Hydrilla verticillata dan kangkung air*. IX(4), 10707–10713.
- Samsami, S., Mohamadi, M., Sarrafzadeh, M. H., Rene, E. R., & Firoozbahr, M. (2020). Recent advances in the treatment of dye-containing wastewater from textile industries: Overview and perspectives. *Process Safety and Environmental Protection*, 143, 138–163. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2020.05.034>
- Sarakinos, H. C., Bermingham, N., White, P. A., & Rasmussen, J. B. (2000). Correspondence between whole effluent toxicity and the presence of priority substances in complex industrial effluents. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19(1), 63–71. <https://doi.org/10.1002/etc.5620190107>
- Shafiee, F. A., Wasoh, H., Halim, M., Mohd Sobri, M. Z., & Hashim, A. M. (2021). Evaluation of Toxicity Effect of Palm Oil Mill Effluent Final Discharge by using *Daphnia magna*. *Journal of Biochemistry, Microbiology and Biotechnology*, 9(2), 53–59. <https://doi.org/10.54987/jobimb.v9i2.652>
- Shehzadi, M., Afzal, M., Khan, M. U., Islam, E., Mobin, A., Anwar, S., & Khan, Q. M. (2014). Enhanced degradation of textile effluent in constructed wetland system using *Typha domingensis* and textile effluent-degrading endophytic bacteria. *Water Research*, 58(April), 152–159. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.03.064>

- Singh, G., Singh, A., Singh, P., Shukla, R., Tripathi, S., & Mishra, V. K. (2021). The Fate of Organic Pollutants and Their Microbial Degradation in Water Bodies. *Pollutants and Water Management: Resources, Strategies and Scarcity*, 210–240. <https://doi.org/10.1002/9781119693635.ch9>
- Sison-Mangus, M. P., Mushegian, A. A., & Ebert, D. (2014). Water Fleas Require Microbiota for Survival, Growth and Reproduction. *The Isme Journal*, 9(1), 59–67. <https://doi.org/10.1038/ismej.2014.116>
- Stombock, L. B., Jeremic-Nikolic, D., Baldwin, B., Borazjani, H., & Diehl, S. V. (2016). Bioremediation of Oriented Strand Board (OSB) Process Wastewater. *BioResources*, 11(4), 10002–10013. <https://doi.org/10.15376/BIORES.11.4.10002-10013>
- Susanti, E., Wibowo, H., Henny, C., Rohaningsih, D., Prihatinningtyas, E., Fakhurroja, H., Febrianti, D., Zulti, F., Kurniawan, R., Waluyo, A., Lestari, F. S., & Sudiyono, B. T. (2023). Evaluation of ecotechnology performance in treating textile wastewater: Constructed treatment wetlands and natural adsorbents. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1260(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1260/1/012048>
- Tara, N., Arslan, M., Hussain, Z., Iqbal, M., Khan, Q. M., & Afzal, M. (2019). On-site performance of floating treatment wetland macrocosms augmented with dye-degrading bacteria for the remediation of textile industry wastewater. *Journal of Cleaner Production*, 217, 541–548. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.01.258>
- Tara, N., Iqbal, M., Mahmood Khan, Q., & Afzal, M. (2019). Bioaugmentation of floating treatment wetlands for the remediation of textile effluent. *Water and Environment Journal*, 33(1), 124–134. <https://doi.org/10.1111/wej.12383>
- Tiarina, A. M., Ariesyady, H. D., & Nastiti, A. (2024). The application of bioassay using *Daphnia magna* for the evaluation of hospital and pharmaceutical industry wastewater containing Active Pharmaceutical Ingredients (APIs) toxicity. *E3S Web of Conferences*, 485. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202448507007>
- Traudt, E. M., Ranville, J. F., & Meyer, J. S. (2016). Effect of Age on Acute Toxicity of Cadmium, Copper, Nickel, and Zinc in Individual-Metal Exposures to *Daphnia Magna* Neonates. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 36(1), 113–119. <https://doi.org/10.1002/etc.3507>
- Umbuzeiro, G. d. A., Albuquerque, A. F. d., Vacchi, F. I., Szymczyk, M., Sui, X., Aalizadeh, R., Ohe, P. C. von der, Thomaidis, N. S., Vinueza, N. R., & Freeman, H. S. (2019). Towards a Reliable Prediction of the Aquatic Toxicity of Dyes. *Environmental Sciences Europe*, 31(1). <https://doi.org/10.1186/s12302-019-0258-1>

- US EPA. (2000). Method Guidance and Recommendations for Whole Effluent Toxicity ( WET ) Testing (40 CFR Part 136). *Office of Water, July*, 60.
- US EPA. (2002). Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms: Fifth Edition. *Epa/821/R02/012, October*, 266. <http://www.epa.gov/waterscience/WET/disk1/ctm.pdf>
- Verma, Y. (2011). Toxicity assessment of dye containing industrial effluents by acute toxicity test using *Daphnia magna*. *Toxicology and Industrial Health*, 27(1), 41–49. <https://doi.org/10.1177/0748233710380218>
- Vishwakarma, S., & Dharmendra. (2022). A Critical Review on Economical and Sustainable Solutions for Wastewater Treatment Using Constructed Wetland. *Civil and Environmental Engineering Reports*, 32(3), 260–284. <https://doi.org/10.2478/ceer-2022-0040>
- Vistanty, H., Budiyono, Budihardjo, M. A., Nasuka, Crisnaningtyas, F., & Zen, N. (2025). Full-scale application and performance of circulated biological and constructed wetland system for batik wastewater treatment. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 13(1). <https://doi.org/10.1016/j.jece.2024.115101>
- Vymazal, J. (2010). Constructed wetlands for wastewater treatment. *Water (Switzerland)*, 2(3), 530–549. <https://doi.org/10.3390/w2030530>
- Wahyuningsih, S., & Gitarama, A. M. (2020). Amonia pada sistem budidaya ikan. *Jurnal Ilmiah Indonesia*, 5(2), 112–125.
- Wicaksono, A. P., & Wardani, R. (2025). Analisis status mutu air pada saluran perairan pembuangan limbah cair batik dengan metode indeks pencemaran di Desa Kebon, Kecamatan Bayat, Kabupaten Klaten. *Prosiding Seminar Nasional Teknik Lingkungan Kebumihan Satu Bumi*, 6(1), 62–70.
- Xiao, J., Guo, S., Wang, D., & An, Q. (2024). Fenton-Like Reaction: Recent Advances and New Trends. *Chemistry - A European Journal*, 30(24). <https://doi.org/10.1002/chem.202304337>
- Xu, W., Liu, X., Cai, J., Xue, T., & Tang, K. (2021). *Synthesis of Reusable Cyclodextrin Polymers for Removal of Naphthol and Naphthylamine From Water*. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-561607/v1>
- Yaseen, D. A., & Scholz, M. (2019). Textile dye wastewater characteristics and constituents of synthetic effluents: a critical review. In *International Journal of Environmental Science and Technology* (Vol. 16, Issue 2). Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/s13762-018-2130-z>

- Yohannes, S. B., Mihret, D. U., & Asamire, A. G. (2024). Use of Vetevera grass (*Chrysopogon zizanioides*) in a constructed wetland to remove heavy metals from Kege Wet Coffee Processing Plant, Dale Woreda, Sidama Regional. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, 28(4), 1083–1095.
- Yu, T. H., Dafre, A. L., de Aragão Umbuzeiro, G., & Franciscon, E. (2015). CYP-dependent induction of glutathione S-transferase in *Daphnia similis* exposed to a disperse azo dye. *Ecotoxicology*, 24(1), 232–237. <https://doi.org/10.1007/s10646-014-1348-x>
- Zhou, Y., Lu, J., Zhou, Y., & Liu, Y. (2019). Recent advances for dyes removal using novel adsorbents: A review. *Environmental Pollution*, 252, 352–365. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.05.072>