



JURUSAN
TEKNIK LINGKUNGAN

TUGAS AKHIR

Uji Toksisitas Sungai Citarum Bagian Hilir Menggunakan Metode *Fish Embryo Toxicity* (FET) pada Ikan Zebra

Indita Ratna Pratiwi

21513174

Dosen Pembimbing 1:

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

Dosen Pembimbing 2:

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

Program Studi Teknik Lingkungan Program Sarjana

Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan

Universitas Islam Indonesia

2025



DEPARTMENT
ENVIRONMENTAL ENGINEERING

BACHELOR THESIS

Toxicity Test of the Downstream Citarum River Using the *Fish Embryo Toxicity (FET) Method on Zebrafish*

Indita Ratna Pratiwi

21513174

Supervisor 1:

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

Supervisor 2:

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

Environmental Engineering Bachelor Program

Faculty of Civil Engineering and Planning

Universitas Islam Indonesia

2025

LEMBAR PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

Uji Toksisitas Sungai Citarum Bagian Hilir Menggunakan Metode *Fish Embryo Toxicity (FET)* pada Ikan Zebra

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

Indita Ratna Pratiwi

21513174

Tugas akhir ini telah diuji pada tanggal 22 Juli 2025 dan disetujui oleh:



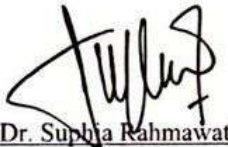
Any Juliani, S.T., M.Sc (Res Eng)., Ph.D

(Pembimbing 1)



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

(Pembimbing 2)



22 / 25
/ 7

Dr. Supha Rahmawati, S.T., M.T.,

(Penguji)

Mengetahui,

Ketua Prodi Teknik Lingkungan Program Sarjana



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

PERNYATAAN

Saya, penyusun tugas akhir ini, menyatakan bahwa:

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

Yogyakarta, 27 Juli 2025

Yang membuat pernyataan,

A handwritten signature in black ink is written over a yellow revenue stamp. The stamp features the Garuda Pancasila emblem and the text '1000', 'METEPAI', and 'TEMPER'. A serial number '340AMX4257 7087' is visible at the bottom of the stamp.

Indita Ratna Pratiwi
21513174

PRAKATA

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Segala puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala limpahan rahmat, hidayah, dan inayah-Nya yang senantiasa mengiringi, sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan tugas akhir yang berjudul “Uji Toksisitas Sungai Citarum Bagian Hilir Menggunakan Metode *Fish Embryo Toxicity* (FET) pada Ikan Zebra”. Dalam proses pengusunan tugas akhir ini, penulis menghadapi berbagai tantangan, kendala, dan kesulitan. Namun, berkat tekad yang kuat serta dukungan dari berbagai pihak, penulis bersyukur dapat menyelesaikan tugas akhir ini dengan baik. Oleh karena itu, penulis menyampaikan ucapan terima kasih dan apresiasi yang sebesar-besarnya kepada:

1. Allah SWT yang senantiasa hadir dalam setiap langkah hidup penulis, atas anugerah berupa akal, pikiran, serta segala kemudahan yang diberikan dalam proses penyusunan tugas akhir ini.
2. Ibu Any, S.T., M.Sc.(Res.Eng.), Ph.D. dan Dr. apt Farida Hayati, S.Si., M.Si. selaku dosen pembimbing, atas segala bimbingan, arahan, dan saran yang sangat berarti selama proses penelitian dan penyusunan tugas akhir ini berlangsung.
3. Ibu Dr. Suphia Rahmawati, S.T., M.T. selaku dosen penguji, atas kontribusi berupa masukan dan koreksi yang sangat membantu dalam menyempurnakan penulisan tugas akhir ini.
4. Terhususnya penulis persembahkan kepada orang tua tercinta, panutanku Bapak Suratno, terimakasih telah berjuang tanpa henti, keringat, tenaga, bahkan pikiran demi memastikan setiap langkah anakmu terarah dan penuh harapan. Bapak adalah sosok luar biasa, pendidik sejati yang menanamkan nilai-nilai hidup dan semangat pantang menyerah hingga penulis mampu menyelesaikan studinya sampai sarjana. Belahan jiwa dan sumber kekuatan penulis, Ibu Ina Mei Prihatiningsih. Cinta dan doa tulus Ibu yang tak pernah putus untuk segala hal baik dalam hidup penulis.

Terimakasih atas kesabaran dan kebesaran hati menghadapi penulis yang terkadang keras kepala. Ibu jadi pengingat dan penguat paling hebat. Terima kasih sudah menjadi tempatku untuk pulang, Bu. Tolong hidup lebih lama di dunia ini Bapak dan Ibu, selalu sehat, panjang umur, dan bisa menyaksikan keberhasilan lainnya yang akan penulis raih di masa yang akan datang.

5. Kepada kakakku Septian Adi Prakoso, terima kasih telah mengorbankan mimpi-mimpimu demi pendidikanku agar mimpi-mimpiku tumbuh. Setiap tetes keringatmu adalah bukti kasih sayang yang tak ternilai. Segala dukungan, semangat, dan inspirasinya yang turut memberikan kekuatan bagi penulis selama proses penyusunan tugas akhir ini. Keberhasilanku hari ini adalah berkat dari pengorbananmu.
6. Seluruh teman-teman Teknik Lingkungan angkatan 2021 yang telah berperan banyak memberikan pengalaman dan pembelajaran selama dibangku perkuliahan ini. Dan kepada semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu, namun telah memberikan bantuan dan dukungan dalam bentuk apa pun yang turut andil dalam penyelesaian tugas akhir ini.
7. Terakhir, terima kasih untuk diri saya sendiri! Terima kasih sudah berjuang sejauh ini, terima kasih telah bertahan, terima kasih untuk tetap hidup.

Penulis berharap segala bentuk bantuan, bimbingan, dan ilmu yang telah diberikan mendapatkan balasan yang setimpal dari Allah SWT. Penulis juga menyadari sepenuhnya bahwa keterbatasan kemampuan yang dimiliki menjadikan penyusunan tugas akhir ini belum sepenuhnya sempurna. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun untuk menyempurnakan laporan ini di masa mendatang.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Yogyakarta, 27 Juli 2025

Indita Ratna Pratiwi

Uji Toksisitas Sungai Citarum Bagian Hilir Menggunakan Metode *Fish Embryo Toxicity* (FET) pada Ikan Zebra

Mahasiswa : Indita Ratna Pratiwi
NIM : 21513174
Program Studi : Teknik Lingkungan - Program Sarjana
Pembimbing 1 : Ibu Any, S.T., M.Sc.(Res.Eng.), Ph.D.
Pembimbing 2 : Dr. apt Farida Hayati, S.Si., M.Si.

Abstrak

Sungai Citarum merupakan sumber air utama di Jawa Barat yang mengalami pencemaran berat akibat limbah domestik dan industri. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi tingkat toksisitas air Sungai Citarum bagian hilir terhadap embrio ikan zebra (*Danio rerio*) menggunakan metode *Fish Embryo Toxicity* (FET) sesuai OECD 236 Tahun 2013, serta menilai kandungan parameter kimia berupa COD, Pb, SO₄, dan Cr⁶⁺ terhadap baku mutu yang berlaku. Sampel air diambil dari tiga titik lokasi menggunakan metode *grab sampling* pada musim kemarau Agustus 2024. Uji dilakukan selama 96 jam pemaparan dengan pemantauan parameter toksik setiap 24 jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa meskipun terjadi beberapa respon subletal seperti keterlambatan perkembangan embrio dan kelainan morfologi, tidak ditemukan pola hubungan yang signifikan antara peningkatan konsentrasi air sungai dengan tingkat kematian embrio, sehingga LC₅₀ tidak dapat dihitung. Hal ini mengindikasikan bahwa toksisitas air bersifat rendah terhadap kematian akut, namun masih berpotensi menimbulkan dampak biologis non-fatal. Dari hasil uji kualitas air, diketahui bahwa kadar parameter COD melebihi ambang batas baku mutu air berdasarkan PP No. 22 Tahun 2021 pada beberapa titik uji. Namun, diantara empat parameter kimia yang diuji, hanya Cr⁶⁺ yang menunjukkan hubungan signifikan dengan respon toksik embrio. Data ini penting untuk pengawasan kualitas air dan penanganan pencemaran secara berkelanjutan.

Kata kunci: *Danio rerio*, FET, Parameter Kimia, Sungai Citarum, Toksisitas

Toxicity Test of the Downstream Citarum River Using the Fish Embryo Toxicity (FET) Method on Zebrafish

Student : Indita Ratna Pratiwi
Student Number : 21513174
Study Program : Environmental Engineering – Bachelor Program
Supervisor 1 : Ibu Any, S.T., M.Sc.(Res.Eng.), Ph.D.
Supervisor 2 : Dr. apt Farida Hayati, S.Si., M.Si.

Abstract

The Citarum River is a primary water source in West Java that has suffered from severe pollution due to domestic and industrial waste. This study aims to evaluate the toxicity level of the downstream Citarum River water on zebrafish embryos (Danio rerio) using the Fish Embryo Toxicity (FET) method based on OECD 236 (2013), as well as to assess the concentrations of chemical parameters including COD, Pb, SO₄, Cr⁶⁺ against applicable water quality standards. Water samples were collected from three locations using the grab sampling method during dry season in August 2024. The exposure lasted for 96 hours, with toxicological observations conducted every 24 hours. The results showed that although some sublethal responses such as delayed embryo development and morphological abnormalities were observed, no significant correlation was found between increasing sample concentration and embryo mortality. Therefore, LC₅₀ could not be calculated. This indicates that while the water may not cause acute lethality, it still poses potential non-lethal biological risks. Water quality analysis revealed that COD levels exceeded the threshold limits set by Government Regulation No. 22 of 2021 at several sampling points. However, among the four chemical parameters tested, only Cr⁶⁺ showed a significant correlation with toxic responses in embryos. These findings are important for water quality monitoring and the sustainable management of pollution.

Key words: Danio rerio, FET, Chemical Parameters, Citarum River, Toxicity

DAFTAR ISI

PRAKATA	i
Abstrak.....	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.5 Ruang Lingkup.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 DAS Sungai Citarum.....	5
2.2 Baku Mutu Kualitas Air	9
2.3 Toksisitas	10
2.4 Uji Toksisitas	11
2.5 Fish Embryo Toxicity (FET) OECD 236 2013.....	14
2.6 Ikan Zebra	19
2.7 Parameter Kimia	21
2.7.1 <i>Chemical Oxygen Demand</i> (COD).....	22
2.7.2 Timbal (Pb).....	23
2.7.3 Sulfat (SO ₄)	25
2.7.4 Kromium Heksavalen (Cr ⁶⁺)	26
2.8 Penelitian Terdahulu	28
BAB III METODE PENELITIAN	31
3.1 Diagram Alir Penelitian	31
3.2 Waktu dan Lokasi Penelitian	32
3.2.1 Waktu dan Lokasi Sampling	32

3.2.2 Waktu dan Lokasi Uji.....	36
3.3 Alat dan Bahan.....	37
3.3.1 Pengujian Toksisitas.....	37
3.3.2 Pengujian Parameter Kimia.....	42
3.4 Prosedur Pengambilan Data.....	44
3.4.1 Uji Toksisitas.....	44
3.4.2 Uji Parameter Kimia.....	57
3.5 Analisis Data.....	57
3.5.1 Uji Toksisitas.....	58
3.5.2 Uji Parameter Kimia.....	60
3.5.3 Keterkaitan Antara Dua Hasil Uji	62
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	63
4.1 Uji Toksisitas	63
4.1.1 Data Uji Validitas.....	63
4.1.2 Karakteristik Parameter Uji Toksisitas.....	64
4.1.3 Hasil Uji Toksisitas	69
4.1.4 Konsentrasi Kematian LC ₅₀	80
4.1.5 Evaluasi Hasil Uji Toksisitas pada Ketiga Sampel	81
4.2 Uji Parameter Kimia	83
4.2.1 Chemical Oxygen Demand (COD)	84
4.2.2 Timbal (Pb).....	85
4.2.3 Sulfat (SO ₄)	86
4.2.4 Kromium Heksavalen (Cr ⁶⁺)	87
4.2.5 Evaluasi Hasil Uji Parameter Kimia pada Ketiga Sampel	88
4.3 Perbandingan Per Titik pada Lokasi Sampel Uji Parameter Kimia...	89
4.4 Perbandingan Kualitas Air Sungai dengan Sungai Lain	90
4.5 Hubungan Antara Uji Toksisitas dengan Uji Parameter Kimia.....	92
BAB V PENUTUP.....	96
5.1 Kesimpulan	96
5.2 Saran.....	97
DAFTAR PUSTAKA.....	98

LAMPIRAN	103
RIWAYAT HIDUP	122

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Kelas Air dan Peruntukannya Sesuai Baku Mutu Kualitas Air Menurut PP No. 22 Tahun 2021 Lampiran VI.....	9
Tabel 2. 2 Penelitian Terdahulu	28
Tabel 3. 1 Lokasi Sampling Pengambilan Air Sungai Citarum.....	32
Tabel 3. 2 Alat <i>Breeding</i> Pengujian Toksisitas.....	37
Tabel 3. 3 Bahan <i>Breeding</i> Pengujian Toksisitas	39
Tabel 3. 4 Alat Seleksi, Pemaparan, dan Pengamatan Embrio	40
Tabel 3. 5 Bahan Seleksi, Pemaparan, dan Pengamatan Embrio.....	41
Tabel 3. 6 Alat dan Bahan Uji Parameter COD (SNI 6989.2:2009).....	42
Tabel 3. 7 Alat dan Bahan Uji Parameter Kimia Pb (SNI 6989.84-2019)	43
Tabel 3. 8 Alat dan Bahan Uji Parameter Kimia SO ₄ (SNI 06-6989.20:2004).....	43
Tabel 3. 9 Alat dan Bahan Uji Parameter Kimia Cr ⁶⁺ (SNI 6989.71:2009).....	44
Tabel 3. 10 Pengamatan Kelayakan Ikan pada Tahap Aklimatisasi	48
Tabel 3. 11 Pengamatan Toksisitas Akut Embrio Ikan Zebra	57
Tabel 3. 12 Baku Mutu Limbah Cair pada Air Sungai	57
Tabel 3. 13 Kategori Toksisitas Akut Berdasarkan <i>Fish and Wildlife Service</i>	59
Tabel 3. 14 Baku Mutu Parameter Kimia	61
Tabel 4. 1 Data Jumlah Embrio Koagulasi dan Fertil per Konsentrasi dan Waktu Sampel 1	69
Tabel 4. 2 Data Jumlah Embrio Koagulasi dan Fertil per Konsentrasi dan Waktu Sampel 2	70
Tabel 4. 3 Data Jumlah Embrio Koagulasi dan Fertil per Konsentrasi dan Waktu Sampel 3	71
Tabel 4. 4 Persentase (%) Kelainan pada Embrio Ikan Zebra Setelah 96 Jam.....	79
Tabel 4. 5 Perbandingan Hasil COD dengan Baku Mutu	84
Tabel 4. 6 Perbandingan Hasil Pb dengan Baku Mutu	86
Tabel 4. 7 Perbandingan Hasil SO ₄ dengan Baku Mutu	87
Tabel 4. 8 Perbandingan Hasil Cr ⁶⁺ dengan Baku Mutu.....	88

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Peta DAS Citarum.....	8
Gambar 2. 2 Sungai Citarum	8
Gambar 2. 3 Perkembangan Embrio Ikan Zebra	16
Gambar 2. 4 Perkembangan Ikan Zebra yang Normal pada 26°C.....	16
Gambar 2. 5 Embrio Ikan Zebra	17
Gambar 2. 6 Ikan Zebra Jantan	21
Gambar 2. 7 Ikan Zebra Betina	21
Gambar 2. 8 Morfologi Ikan Zebra	21
Gambar 3. 1 Diagram Alir Penelitian	31
Gambar 3. 2 Peta Lokasi Sampling Pengambilan Air Sungai Citarum	33
Gambar 3. 3 Lokasi Sampling Jembatan Cilalawak, Sektor 15.....	33
Gambar 3. 4 Jembatan Cilalawak.....	34
Gambar 3. 5 Lokasi Sampling Jembatan Cilele Purwakarta, Sektor 15	34
Gambar 3. 6 Jembatan Penyeberangan Cilele.....	35
Gambar 3. 7 Jembatan Bendung Walahar, Karawang	35
Gambar 3. 8 Jembatan Bendung Walahar.....	36
Gambar 3. 9 Skema Uji Toksisitas pada Embrio Ikan Zebra.....	45
Gambar 3. 10 Bagan Alir Tahapan Aklimatisasi	47
Gambar 3. 11 Tangki Pemijahan Ikan Zebra Tampak Atas: Kiri (Enceng Gondok + Kelereng) dan Kanan (Kelereng saja), Untuk Membandingkan Efektivitas Pemijahan	50
Gambar 3. 12 Tangki Pemijahan Ikan Zebra Tampak Samping.....	50
Gambar 3. 13 Pakan Ikan Zebra: Kiri (<i>Daphnia</i>) dan Kanan (<i>Blood Worm</i>)	51
Gambar 3. 14 Pakan Ikan Zebra <i>Blood Worm</i> Setelah Dilarutkan dengan Air	51
Gambar 3. 15 Proses Seleksi Embrio Ikan Zebra	52
Gambar 3. 16 Hasil Seleksi Embrio Ikan Zebra	52
Gambar 3. 17 Posisi <i>Wellplate</i> Uji Toksisitas pada Embrio Ikan Zebra	53
Gambar 3. 18 Proses Peletakan Embrio Ikan Zebra pada <i>Wellplate</i>	54
Gambar 3. 19 Proses Pemaparan Larutan Uji pada Embrio Ikan Zebra	54
Gambar 3. 20 Parameter Embrio Ikan Zebra yang Diberikan Larutan Uji: (a) Koagulasi Embrio, (b) Pembentukan somit, (c) Kegagalan Lepasnya Bagian Tail Bud dari Yolk, (d) Detak Jantung.....	55
Gambar 3. 21 Perkembangan Ikan Zebra Jam ke-22 Sampai ke-48.....	56
Gambar 3. 22 Proses Pengamatan Embrio Ikan Zebra	56
Gambar 4. 1 Grafik Hasil Pengamatan Kontrol	64

Gambar 4. 2	Koagulasi Embrio Ikan Zebra Setelah 24 Jam Paparan	65
Gambar 4. 3	Pembentukan Somit Embrio Ikan Zebra pada Tahap Perkembangan Awal	66
Gambar 4. 4	Pelepasan <i>Tail-bud</i> Embrio Ikan Zebra dari Yolk	66
Gambar 4. 5	Detak Jantung Pada Larva Ikan Zebra di Jam Ke-96.....	67
Gambar 4. 6	<i>Hatching</i> Embrio Ikan Zebra.....	68
Gambar 4. 7	Grafik Perbandingan Embrio Fertil dan Koagulasi pada Setiap Konsentrasi Sampel 1	69
Gambar 4. 8	Grafik Perbandingan Embrio Fertil dan Koagulasi pada Setiap Konsentrasi Sampel 2	70
Gambar 4. 9	Grafik Perbandingan Embrio Fertil dan Koagulasi pada Setiap Konsentrasi Sampel 3	71
Gambar 4. 10	Grafik Perkembangan Terbentuknya Embrio Sampel 1	73
Gambar 4. 11	Grafik (%) Kelainan dan Keterlambatan Perkembangan Embrio Sampel 1	73
Gambar 4. 12	Grafik Perkembangan Terbentuknya Embrio Sampel 2	75
Gambar 4. 13	Grafik (%) Kelainan dan Keterlambatan Perkembangan Embrio Sampel 2	75
Gambar 4. 14	Grafik Perkembangan Terbentuknya Embrio Sampel 3	77
Gambar 4. 15	Grafik (%) Kelainan dan Keterlambatan Perkembangan Embrio Sampel 3	77
Gambar 4. 16	<i>Pericardial edema</i> pada pC.....	80
Gambar 4. 17	Grafik Hasil Perbandingan COD dengan Baku Mutu.....	85
Gambar 4. 18	Grafik Hasil Perbandingan Pb dengan Baku Mutu	86
Gambar 4. 19	Grafik Perbandingan Hasil SO ₄ dengan Baku Mutu.....	87
Gambar 4. 20	Grafik Perbandingan Hasil Cr ⁶⁺ dengan Baku Mutu	88
Gambar 4. 21	Grafik Hubungan Parameter Koagulasi dengan Parameter Kimia (COD) dan Baku Mutu	92
Gambar 4. 22	Grafik Hubungan Parameter Koagulasi dengan Parameter Kimia (Pb) dan Baku Mutu	93
Gambar 4. 23	Grafik Hubungan Parameter Koagulasi dengan Parameter Kimia (SO ₄) dan Baku Mutu	93
Gambar 4. 24	Grafik Hubungan Parameter Koagulasi dengan Parameter Kimia (Cr ⁶⁺) dan Baku Mutu.....	94

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. 1 Perhitungan Konsentrasi Sampel.....	103
Lampiran 2. 1 Hasil Pengamatan Embrio Ikan Zebra	104
Lampiran 3. 1 Gambar kelainan embrio berupa <i>Pericardial edema</i> pada pC	121

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sungai Citarum di Jawa Barat merupakan salah satu sungai paling tercemar di Indonesia, padahal menjadi sumber utama air baku bagi PDAM yang memasok 80% kebutuhan air minum di sekitarnya. Pemanfaatan airnya mencakup irigasi (86,7%), kebutuhan perkotaan (0,37%), serta aktivitas rumah tangga dan industri (2%). Daerah Aliran Sungai (DAS) Citarum dihuni oleh 18,64 juta orang dan memiliki lebih dari 2.700 industri skala menengah dan besar yang berkontribusi 20% terhadap produksi industri nasional serta 60% produksi tekstil (Sumantri & Rahmani, 2020). Sungai Citarum terbentang sepanjang 297 km dengan hulu di Situ Cisanti yang terletak di kaki Gunung Wayang, Kabupaten Bandung dan bermuara di Pantai Utara Pulau Jawa, Muara Gembong, Kabupaten Bekasi. Aliran DAS Citarum melintasi 13 kabupaten/kota (Juniarti, 2020).

Beberapa wilayah yang dilalui DAS Citarum, seperti Kabupaten Purwakarta dan Karawang, mengalami pencemaran akibat kegiatan domestik yang menyumbang 40% dari limbah Sungai Citarum, sedangkan 60% sisanya berasal dari air limbah industri yang dibuang ke badan air (Wardhani et al., 2024). Limbah cair, terutama dari industri tekstil, mengandung logam berat yang berbahaya dan sulit terurai. Pencemaran semakin parah akibat pertumbuhan penduduk dan industri, termasuk di wilayah muara. Pemerintah telah melakukan pemantauan dan evaluasi kualitas air sesuai dengan Peraturan Pemerintah (PP) Nomor 22 Tahun 2021 tentang Penyelenggaraan Perlindungan dan Pengelolaan Lingkungan Hidup menegaskan pentingnya pemantauan kualitas air melalui pengujian parameter yang telah ditetapkan dalam baku mutu air sesuai dengan klasifikasi peruntukannya.

Untuk memperoleh gambaran yang lebih menyeluruh terkait tingkat pencemaran di Sungai Citarum, dilakukan dua pendekatan pengujian, yaitu

uji parameter kimia dan uji toksisitas. Kedua metode ini saling melengkapi karena masing-masing memiliki kelebihan dan keterbatasan. Pengujian parameter kimia memungkinkan identifikasi senyawa pencemar secara spesifik, namun hanya terbatas pada satu atau beberapa parameter terpilih dan tidak memberikan informasi langsung mengenai dampaknya terhadap makhluk hidup. Selain itu, ketika berbagai zat kimia bercampur dalam satu sampel air, interaksi antar-senyawa tidak dapat sepenuhnya tergambarkan melalui pendekatan ini. Untuk menjawab keterbatasan tersebut, uji toksisitas digunakan sebagai metode pelengkap yang dapat memberikan penilaian secara langsung terhadap dampak biologis dari campuran polutan yang ada di dalam air.

Dalam uji toksisitas, dilakukan penilaian terhadap potensi bahaya suatu senyawa terhadap organisme hidup, baik secara akut maupun subkronis, tergantung pada durasi paparan. Berbagai metode seperti *Fish Embryo Toxicity* (FET), *Whole Effluent Toxicity* (WET), dan *Algal Assays* digunakan dalam pengujian ini. Dalam penelitian ini, metode FET dipilih karena efektivitasnya dalam mengamati dampak toksik polutan melalui paparan embrio ikan zebra (*Danio rerio*). Ikan zebra dipilih karena memiliki kesamaan genetik dengan manusia, embrionya transparan sehingga memudahkan observasi, dan sesuai dengan prinsip etika penelitian dengan pendekatan *replacement*, yang mengurangi penggunaan mamalia. Metode ini telah distandardisasi melalui pedoman OECD 236 sejak tahun 2013 dan (OECD, 2013) mencakup pengujian toksisitas akut maupun teratogenik (Hayati, 2023).

Selain uji toksisitas, penting juga dilakukan analisis terhadap parameter kimia dalam air sungai, seperti Chemical Oxygen Demand (COD), Timbal (Pb), Sulfat (SO₄), dan Kromium heksavalen (Cr⁶⁺) (Sumantri & Rahmani, 2020). Parameter kimia yang terkandung dalam air sungai tentunya memiliki dampak serius. Sifat yang dimiliki senyawa kimia tersebut toksik, persisten dan bioakumulatif yang dapat membahayakan ekosistem terutama organisme akuatik dan melalui rantai makanan dapat berdampak pada manusia.

Pengujian parameter kimia dan metode FET memberikan validitas penting dalam menilai kualitas air di beberapa segmen Sungai Citarum. Pencemaran tidak hanya berasal dari industri, tetapi juga dari limbah domestik, limbah peternakan, limbah pertanian, aktivitas antropogenik, perubahan tata guna lahan, dan bentuk DAS yang berupa cekungan yang mempercepat akumulasi polutan. Dalam hal ini, pengujian menjadi krusial karena Sungai Citarum dikenal sebagai salah satu sungai paling tercemar di dunia. Karena belum adanya studi yang menggabungkan kedua pendekatan ini, penelitian dilakukan untuk memberikan gambaran komprehensif mengenai potensi pencemaran dan memberikan data ilmiah yang mendukung pengelolaan sumber daya air secara berkelanjutan.

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang diuraikan, maka dapat dirumuskan permasalahan yang terdapat pada penelitian ini, yaitu:

- 1) Bagaimana tingkat toksisitas air Sungai Citarum terhadap embrio ikan zebra (*Danio rerio*)?
- 2) Apakah kandungan COD, Pb, SO₄, dan Cr⁶⁺ di Sungai Citarum memenuhi baku mutu dan dampak terhadap organisme akuatik berdasarkan uji toksisitas?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan yang ingin dicapai pada penelitian ini adalah:

- 1) Menilai tingkat toksisitas air Sungai Citarum terhadap embrio ikan zebra (*Danio rerio*) melalui uji toksisitas menggunakan metode *Fish Embryo Toxicity* (FET).
- 2) Mengevaluasi kualitas air Sungai Citarum berdasarkan kandungan COD, Pb, SO₄, dan Cr⁶⁺ terhadap baku mutu yang berlaku serta menilai potensi dampak terhadap organisme akuatik melalui uji toksisitas.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang dapat diperoleh dari penelitian ini adalah:

1) Bagi Akademisi

Mengembangkan ilmu pengetahuan dan teknologi penelitian dalam mempelajari toksikologi lingkungan.

2) Bagi Pemerintah

Menjadi rekomendasi untuk evaluasi, optimalisasi dan pengembangan terhadap pengolahan air limbah, serta dapat digunakan sebagai acuan pada penelitian selanjutnya.

3) Bagi Masyarakat

Menjadi bahan informasi kepada masyarakat mengenai tingkat toksisitas limbah yang terkandung dalam air sungai tersebut.

1.5 Ruang Lingkup

Adapun ruang lingkup atau batasan masalah pada penelitian ini sebagai berikut:

- 1) Mengidentifikasi pengaruh kontak air Sungai Citarum pada embrio ikan zebra (*Dania rerio*), menggunakan metode *Fish Embryo Toxicity* (FET) dengan standar OECD 236 pada 2013.
- 2) Pengujian kualitas air Sungai Citarum terhadap parameter kimia Chemical Oxygen Demand (COD), Timbal (Pb), Sulfat (SO₄), dan Kromium heksavalen (Cr⁶⁺) menggunakan acuan dari Standar Nasional Indonesia (SNI).
- 3) Pengambilan sampel air sungai dengan metode *Grab Sampling* yang mengacu pada SNI. Pengambilan sampel dilakukan selama musim kemarau pada tanggal 12, 13, dan 14 Agustus 2024.
- 4) Ikan zebra (*Danio rerio*) sebagai hewan uji diperoleh dari peternak ikan di bantul, Daerah Istimewa Yogyakarta. Lalu dilakukan aklimatisasi di Laboratorium Farmakologi dan Prاكلinik.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 DAS Sungai Citarum

Sungai Citarum terletak pada koordinat 106°51'36"-107 51' Bujur Timur dan 7°19'-6°24' Lintang Selatan (Juniarti, 2020). Dengan panjang mencapai 297 km, Sungai Citarum merupakan sungai terpanjang di Provinsi Jawa Barat. Sungai ini memiliki hulu di lereng Gunung Wayang, tepatnya di Desa Cibereum, Kecamatan Kertasari, Kabupaten Bandung, dengan mata air yang bersumber dari danau buatan Situ Cisanti. Alirannya bergerak ke arah barat, melintasi Kabupaten Purwakarta dan Kabupaten Karawang, hingga akhirnya bermuara di Pantai Utara Pulau Jawa tepatnya di Muara Gembong Kabupaten Bekasi. Sungai Citarum memiliki luas wilayah mencapai 1.132.500 hektare. Daerah Aliran Sungai (DAS) Citarum mencakup 6.617 km² dan terdiri dari 19 DAS (Arief et al., 2012).

Secara administratif DAS Citarum melintasi 14 kabupaten/kota, termasuk Kabupaten Bandung, Kabupaten Bandung Barat, Kabupaten Purwakarta, Kabupaten Karawang, Kabupaten Bekasi, Kota Bandung, Kota Cimahi, serta sebagian wilayah Kabupaten Sumedang, Kabupaten Cianjur, Kabupaten Bogor, Kabupaten Garut, Kabupaten Subang, Kabupaten Indramayu, dan Kabupaten Sukabumi. Sungai ini juga menjadi sumber air baku bagi sekitar 27 juta jiwa (Juniarti, 2020). Sungai Citarum memiliki peran strategis dalam pemanfaatannya antara lain sebagai penggerak turbin Pembangkit Listrik Tenaga Air (PLTA) untuk pasokan energi wilayah Jawa-Bali, sebagai pemasok air baku dan air industri, mengairi daerah irigasi lumbung padi nasional, serta menjadi sumber utama air baku bagi ibu kota negara (BBWS, 2022).

Permasalahan utama di wilayah DAS Citarum antara lain mencakup degradasi lingkungan yang cukup signifikan, seperti maraknya lahan kritis, banjir musiman, sedimentasi tinggi, pencemaran dari limbah industri dan

domestik, serta buruknya pengelolaan sampah. Lahan kritis mendominasi wilayah DAS dengan luas sekitar 466.705 hektare, sedangkan banjir sering terjadi akibat kapasitas sungai yang menurun karena sedimentasi dan penyempitan badan sungai. Tingginya tingkat erosi di kawasan hulu menyebabkan material tanah terbawa ke aliran sungai, sehingga ketika musim hujan sungai tidak mampu menahan debit air yang meningkat dan menyebabkan banjir (BBWS, 2022).

Salah satu faktor penyumbang pencemaran utama berasal dari limbah industri. Terdapat banyak pabrik yang beroperasi di sepanjang Sungai Citarum, termasuk industri besar yang berada tepat setelah pintu pembuangan bendungan Ir. H. Djuanda di Kabupaten Purwakarta. Sayangnya masih banyak pabrik yang membuang limbah langsung ke sungai tanpa proses pengelolaan limbah (IPAL). Hal ini menyebabkan kualitas air Sungai Citarum menurun drastis, terlebih dengan masih banyaknya aktivitas masyarakat yang memanfaatkan sungai untuk mandi, mencuci, dan buang air besar (MCK) (BBWS, 2022).

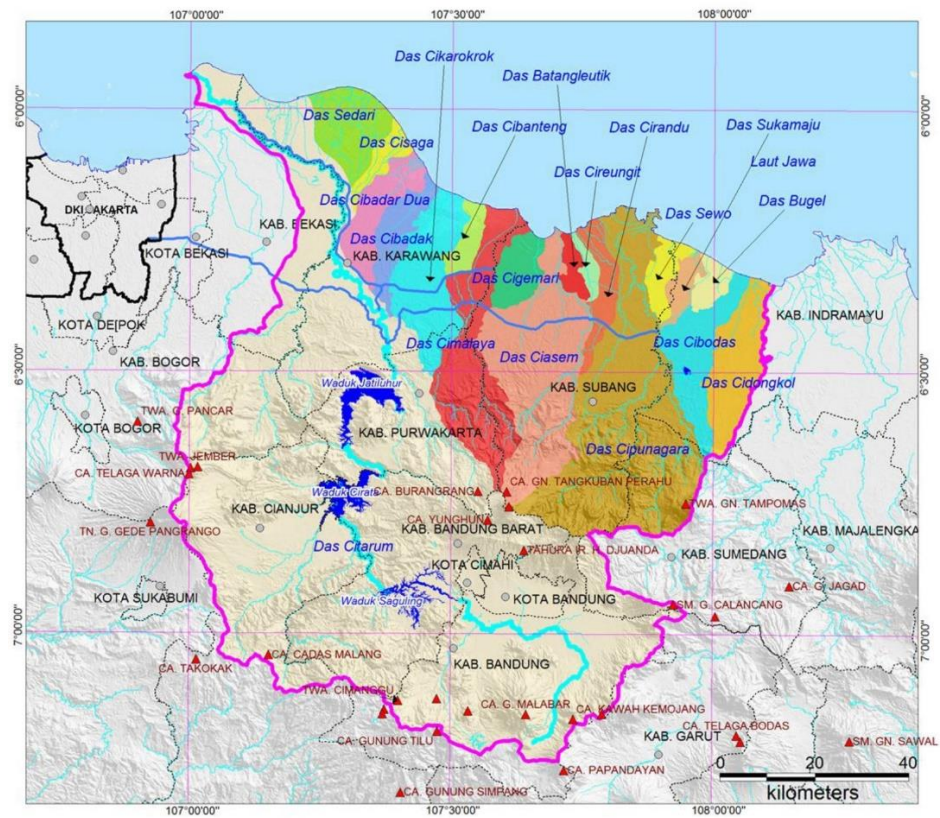
Tidak hanya limbah industri, pencemaran juga diperparah dengan limbah domestik, peternaka, dan pertanian yang langsung mengalir ke badan sungai. Kebiasaan membuang sampah sembarangan, kerap menyebabkan penyumbatan aliran air dan memicu banjir lokal. Selain itu, keberadaan keramba jaring apung (KJA) yang melebihi daya dukung waduk dan penyebaran gulma air seperti enceng gondok turut mengganggu kualitas air dan ekosistem perairan. Di sisi lain, eksploitasi air tanah untuk kebutuhan industri juga cukup tinggi, yang mengganggu keseimbangan ekosistem geohidrologi dan mempercepat penurunan muka tanah. Penyempitan badan sungai akibat okupasi bantara dan lemahnya penegakan hukum atas pemanfaatan ruang juga turut memperparah degradasi wilayah DAS Citarum (BBWS, 2022).

Aktivitas yang terjadi di sepanjang DAS ini, baik dari sektor rumah tangga, perkotaan, industri, hingga pertanian, menyebabkan penurunan kualitas air secara signifikan. Hal tersebut menjadikan Sungai Citarum

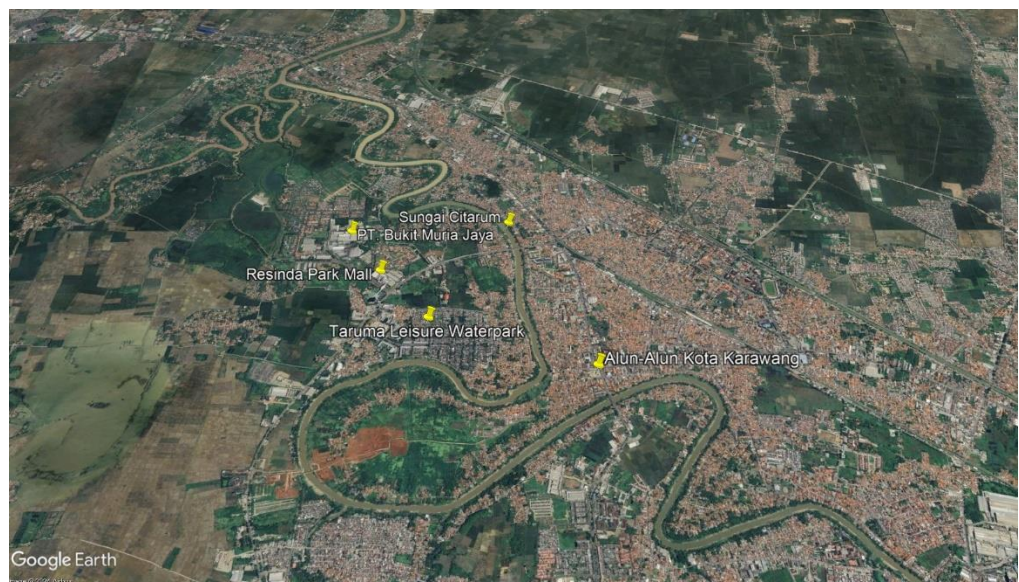
sebagai salah satu sungai dengan tingkat pencemaran tertinggi di dunia (Lova Sari et al., 2020). Namun, kualitas air sungai sering kali terancam karena aktivitas manusia yang menghasilkan limbah. Salah satu sumber air yang sangat tercemar saat ini yaitu sungai. Pencemaran sungai disebabkan oleh dua jenis sumber. Pertama, sumber titik yang mencakup limbah industri dan limbah domestik terpusat. Kedua, sumber non-titik, seperti aktivitas pertanian, pemukiman, dan transportasi. Pencemaran ini dapat terjadi melalui mekanisme biologis, kimiawi, atau fisik. Pencemaran kimiawi, misalnya, terbagi lagi menjadi pencemaran oleh senyawa organik dan anorganik. Ketika tingkat pencemaran melebihi baku mutu yang ditetapkan, hal ini berpotensi merusak habitat akuatik dan membahayakan manusia jika air yang tercemar digunakan dalam kehidupan sehari-hari (Arni, 2022).

Seiring berjalannya waktu, kondisi lingkungan Sungai Citarum sudah mengalami pencemaran dan teridentifikasi banyak mengandung logam berat yang sangat membahayakan (Sudarningsih et al., 2017). Berdasarkan hasil survei yang dilakukan, salah satu limbah yang sangat mempengaruhi pencemaran sungai yaitu limbah kimia beracun dan berbahaya dari industri. Pencemaran dapat menyebabkan penurunan kualitas air yang berupa perubahan fisik, kimia, dan biologi pada air.

Pencemaran pada sungai dapat mempengaruhi berbagai parameter fisika, kimia, dan biologis air. Di antaranya, parameter fisika seperti suhu, kekeruhan, dan warna air dapat menunjukkan perubahan akibat polusi. Sementara itu, parameter kimia seperti konsentrasi oksigen terlarut (DO), kebutuhan oksigen biokimia (BOD), dan bahan organik (COD), serta keberadaan logam berat seperti timbal (Pb), kromium (Cr VI), dan belerang (SO_4), menjadi indikator utama untuk menilai tingkat pencemaran dan kualitas air sungai. Peningkatan konsentrasi bahan-bahan kimia ini dapat menyebabkan kerusakan pada ekosistem perairan dan membahayakan makhluk hidup yang bergantung pada kualitas air tersebut.



Gambar 2. 1 Peta DAS Citarum
Sumber: Balai Besar Wilayah Sungai Citarum, 2024



Gambar 2. 2 Sungai Citarum
Sumber: *Google Earth*, 2025

2.2 Baku Mutu Kualitas Air

Baku mutu air sungai mengacu pada peraturan terbaru yaitu Peraturan Pemerintah No. 22 Tahun 2021 mengenai Penyelenggaraan Perlindungan dan Pengelolaan Lingkungan Hidup yang didalamnya mengatur mengenai baku mutu air sungai dan sejenisnya. Baku mutu air sungai terdapat pada Lampiran VI PP No. 22 tahun 2021 yang terdiri dari parameter fisik, kimia, dan biologi. Baku mutu air sungai didasarkan pada kelas air yang digunakan. Terdapat empat kelas air menurut PP No. 22 Tahun 2021, yaitu kelas I, II, III, dan kelas IV sesuai dengan kegunaan dan peruntukannya . Kelas air sungai dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2. 1 Kelas Air dan Peruntukannya Sesuai Baku Mutu Kualitas Air Menurut PP No. 22 Tahun 2021 Lampiran VI

No	Kelas Air	Kegunaan dan Peruntukan
1	Kelas I	Digunakan untuk air baku air minum dan peruntukan lainnya yang mempersyaratkan mutu air yang sama dengan kegunaannya.
2	Kelas II	Digunakan untuk sarana/prasarana rekreasi air, budidaya ikan tawar, peternakan, mengairi pertanian dan peruntukan lainnya yang mempersyaratkan mutu air yang sama dengan kegunaannya.
3	Kelas III	Digunakan untuk budidaya ikan tawar, peternakan, mengairi pertanian, dan peruntukan lainnya yang mempersyaratkan mutu air yang sama dengan kegunaannya.
4	Kelas IV	Digunakan untuk mengairi pertanian, dan peruntukan lainnya yang

No	Kelas Air	Kegunaan dan Peruntukan
		mempersyaratkan mutu air yang sama dengan kegunaannya.

Sumber: PP Nomor 22 Tahun 2021 Lampiran VI

2.3 Toksisitas

Toksikologi lingkungan merupakan cabang ilmu yang mempelajari dampak merugikan bahan kimia atau zat pencemar yang masuk ke dalam lingkungan terhadap sistem biologi organisme hidup. Dampak tersebut dapat bervariasi, mulai dari efek ringan hingga yang bersifat berat. Zat kimia yang dikaji dalam toksikologi lingkungan bisa berasal dari sumber alami maupun kegiatan industri. Untuk memahami pengaruh bahan toksis secara menyeluruh, toksikologi lingkungan memerlukan pendekatan multidisiplin melibatkan ilmu fisiologi, kimia, biokimia, epidemiologi, patologi, kedokteran, farmakologi, hingga ekologi. Fokus utama dari cabang ini adalah menelaah efek berbahaya dari bahan kimia yang tersebar di lingkungan, baik yang masuk ke tubuh manusia melalui udara, air makanan, maupun lingkungan kerja. Dengan demikian, toksikologi lingkungan berperan penting dalam mengkaji dan memantau potensi ancaman polutan terhadap ekosistem serta kesehatan manusia (Keman, 2020).

Toksisitas merupakan kemampuan suatu zat beracun untuk menimbulkan kerusakan ketika masuk ke dalam senyawa, tubuh, atau organ yang rentan. Tingkat toksisitas ini dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti jenis, komposisi, dan konsentrasi zat beracun, lamanya serta frekuensi paparan, kondisi lingkungan, dan karakteristik spesies makhluk hidup yang terpapar. Dampak toksisitas dapat bersifat merugikan karena mampu mengganggu fungsi dasar maupun struktur tubuh secara akut, kronis, atau subkronis, serta dapat menghasilkan efek yang bersifat *reversible* (dapat pulih) maupun *irreversible* (tidak dapat pulih) (Husni & Esmiralda, 2011).

2.4 Uji Toksisitas

Uji toksisitas yaitu suatu pengujian untuk memperoleh data dosis-respon dari efek toksik pada suatu zat pencemar terhadap sistem biologi. Data ini biasanya digunakan untuk dijadikan informasi bagaimana tingkat paparan zat toksik terhadap manusia, sehingga dapat ditentukan dosis dalam penggunaannya. Uji toksisitas dapat dilakukan dengan 2 (dua) cara yaitu uji kuantitatif dan uji kualitatif. Uji kuantitatif biasanya dilakukan pada hewan uji, sehingga dapat diketahui dosis aman dari zat toksik jika terpapar pada hewan uji. Sedangkan uji kualitatif yaitu pengujian toksisitas yang didasarkan pada gejala suatu penyakit yang timbul, sehingga dapat diketahui zat toksik yang meracuni hewan uji ataupun manusia (Soemirat, 2003).

Uji toksisitas merupakan salah satu bentuk pengujian biologis yang digunakan untuk menilai tingkat racun dari suatu zat atau bahan pencemar, serta dapat dimanfaatkan dalam kegiatan pemantauan limbah secara berkala. Salah satu pendekatan yang umum digunakan adalah uji toksisitas akut dengan menggunakan hewan uji, yang bertujuan untuk mengetahui apakah suatu efluen atau badan air penerima mengandung senyawa beracun dalam kadar yang dapat menimbulkan efek toksik akut (Husni & MT, 2010).

Pengamatan toksisitas yang mencakup efek secara umum tanpa fokus pada sistem atau organ tertentu (spektrum luas). Menurut Soemirat (2009) Uji toksisitas dapat dibagi menjadi tiga kelompok sebagai berikut:

1. Uji toksisitas akut atau uji tingkat I

Uji toksisitas tingkat I, yang juga dikenal sebagai uji toksisitas akut atau *short term test*, merupakan pengujian jangka pendek yang dilakukan dalam kurun waktu antara 24-96 jam. Tujuan utama dari pengujian ini adalah untuk memperkirakan kisaran dosis dan menentukan nilai LC_{50} (*Lethal Concentration 50%*). Pengujian biasanya dilakukan dalam dua ulangan (duplikat) atau tiga ulangan (triplikat) dan disesuaikan dengan karakteristik fisikokimia dari senyawa xenobiotik yang diuji, serta pemilihan organisme uji yang tepat. Variasi dosis diberikan berdasarkan estimasi konsentrasi

xenobiotik dalam media uji. Respon utama yang diamati adalah tingkat kematian pada hewan uji, atau imobilisasi jika menggunakan organisme dengan tingkat trofik lebih rendah.

2. Uji toksisitas subkronis atau uji tingkat II

Uji toksisitas tingkat II atau subkronis dilakukan untuk mengevaluasi efek toksik terhadap berbagai organ tubuh dengan durasi pengujian yang lebih lama. Lama waktu pengujian bervariasi tergantung metode aplikasi: 30 hari untuk aplikasi melalui kulit, 30-90 hari untuk pengujian melalui inhalasi, dan hingga 90 hari untuk pengujian secara oral. Selama proses ini, berbagai parameter diamati, termasuk neurologis, perubahan berat badan, perilaku abnormal, respirasi, serta hasil pemeriksaan elektrokardiogram, elektroensefalogram, biokimia darah, hematologi, analisis urin dan feses, serta kondisi organ secara histopatologis.

3. Uji toksisitas kronis atau uji tingkat III

Uji toksisitas tingkat III atau kronis merupakan pengujian jangka panjang yang berlangsung lebih dari setengah siklus hidup hewan uji, bahkan dapat melibatkan lebih dari satu generasi. Fokus utama pengujian ini meliputi evaluasi potensi karsinogenik, teratogenik, dan dampak terhadap sistem reproduksi. Selain itu, dilakukan juga pengujian mutagenesis pada hewan mamalia, studi karsinogenisitas pada tikus selama dua tahun, serta evaluasi farmakokinetik dan klinis pada manusia jika relevan. Data epidemiologis juga digunakan untuk menilai efek pajanan akut dan kronis terhadap manusia. Pengujian ini dilakukan secara menyeluruh tergantung pada sifat penggunaan zat yang diuji serta kemungkinan tingkat pajanan yang dapat diterima oleh manusia.

Limbah cair yang masuk ke lingkungan perairan dapat mengalami interaksi dengan berbagai faktor yang mempengaruhi tingkat toksisitasnya. Terdapat beberapa aspek yang menentukan seberapa besar dampak toksik

dari suatu zat terhadap organisme akuatik (Mangkoedihardjo & Samudro, 2009), yaitu:

1. Karakteristik Zat Toksik (Toksikan)

Tingkat toksisitas sangat dipengaruhi oleh sifat kimia dan fisik dari zat pencemar itu sendiri. Komposisi kimia dalam suatu toksikan dapat terdiri dari beberapa komponen dengan tingkat toksisitas yang berbeda. Oleh karena itu, senyawa pembentuk toksikan, serta sifat-sifat fisiokimia seperti kelarutan dan reaktivitas sangat berperan dalam menentukan potensi toksiknya.

2. Karakteristik Pemaparan terhadap Toksikan

Efek negatif terhadap biota akan muncul apabila terjadi kontak antara toksikan dengan organisme sasaran pada konsentrasi dan durasi tertentu. Beberapa faktor penting dalam konteks ini antara lain:

- Jenis Toksikan: Toksikan hidrofilik lebih mudah larut dalam air sehingga lebih cepat bereaksi dengan biota, dibandingkan dengan toksikan hidrofobik yang cenderung sukar larut dan kurang reaktif.
- Lama Paparan (Durasi): Paparan jangka pendek, seperti dalam hitungan jam hingga beberapa hari, biasanya menimbulkan efek akut. Sebaliknya, paparan jangka panjang (hari hingga tahun) yang berlangsung selama satu atau lebih siklus hidup organisme dapat menyebabkan efek kronis.
- Frekuensi Paparan: Pemaparan dapat bersifat tunggal, berulang, maupun terus menerus (kontinu), yang semuanya dapat mempengaruhi akumulasi toksik dalam tubuh organisme.
- Konsentrasi Toksikan: Tingkat konsentrasi zat dalam media juga berpengaruh besar terhadap intensitas efek toksik, terutama bila terjadi pemaparan berulang dalam konsentrasi tinggi.

3. Faktor Lingkungan

Kondisi lingkungan sekitar seperti suhu, pH, kadar oksigen terlarut, dan parameter fisikokimia lainnya, dapat mempengaruhi

aktivitas dan efektivitas toksikan dalam memberikan dampak pada organisme.

4. Karakteristik Biota

Respon terhadap zat toksik juga tergantung pada spesies organisme yang terpapar. Variabilitas ini berkaitan dengan perbedaan genetika, umur, dan kondisi fisiologis atau kesehatan masing-masing individu. Organisme dengan daya tahan yang rendah atau dalam kondisi tidak sehat akan lebih rentan terhadap pengaruh toksik.

2.5 Fish Embryo Toxicity (FET) OECD 236 2013

Fish Embryo Toxicity (FET) merupakan metode pengujian toksisitas akut yang dirancang untuk mengevaluasi efek toksik bahan kimia pada tahap embrio ikan, khususnya menggunakan embrio ikan zebra (*Danio rerio*). Uji ini menggunakan embrio ikan sebagai model karena dianggap lebih etis dan sesuai dengan peraturan yang membatasi penggunaan vertebrata dewasa dalam penelitian. FET berbasis ikan zebra (*Danio rerio*) sering diterapkan karena kemudahan pemeliharaan ikan zebra, siklus hidupnya yang cepat, dan transparansi embrio yang memudahkan observasi secara langsung. Ikan zebra juga memiliki 70% gen yang terkait dengan penyakit serupa yang dimiliki manusia. Uji ini diadopsi berdasarkan OECD *Guidelines for the Testing of Chemicals* No. 236 dan telah divalidasi melalui berbagai studi yang membuktikan efektivitasnya dalam mengidentifikasi toksisitas pada bahan dengan berbagai sifat seperti kelarutan, volatilitas, dan hidrofobisitas (OECD, 2013).

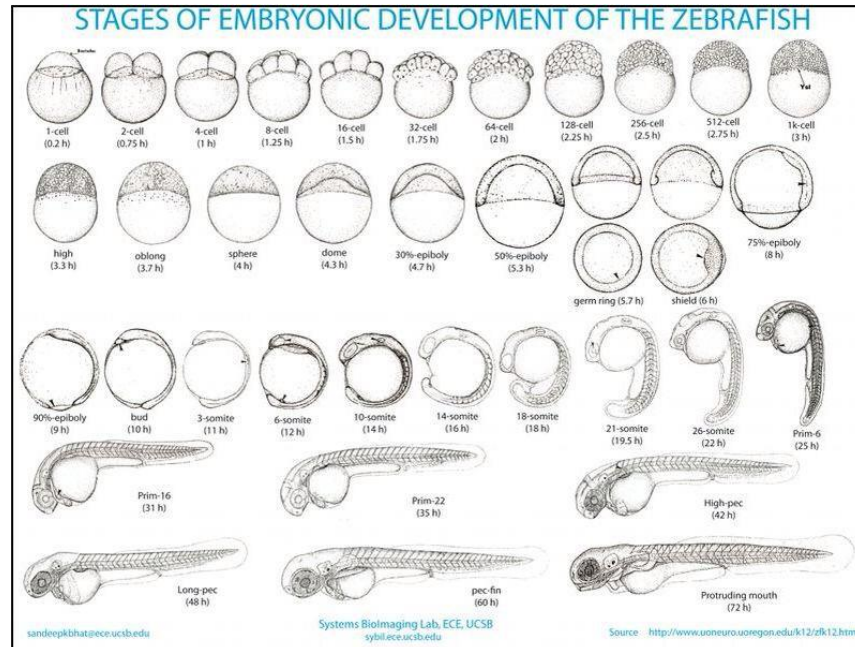
Pengujian ini memiliki sejumlah kelebihan dibandingkan metode toksisitas pada ikan dewasa, diantaranya adalah penggunaan jumlah hewan uji yang lebih sedikit serta penghindaran perlakuan terhadap organisme yang telah mengalami perkembangan penuh. Keunggulan tersebut menjadikan metode ini lebih sesuai dengan prinsip etika penelitian hewan yang dikenal sebagai prinsip 3R, yaitu *Replacement*, *Reduction*, dan *Refinement*. Prinsip *Replacement* mengacu pada upaya menggantikan penggunaan hewan uji

dengan alternatif lain yang setara, seperti kultur sel, jaringan, atau simulasi komputer (*in silico*). Prinsip *Reduction* menekankan pentingnya penggunaan jumlah hewan uji seminimal mungkin, namun tetap menghasilkan data yang valid dan dapat dipertanggungjawabkan. Sementara itu, *Refinement* bertujuan untuk meningkatkan kesejahteraan hewan uji dengan meminimalkan rasa sakit, ketidaknyamanan, stres, serta memberikan kondisi lingkungan yang mendukung, termasuk memastikan hewan terbebas dari rasa lapar, haus, nyeri, dan tekanan psikologis (Ridwan, 2013)

Selain itu, embrio ikan zebra dipilih karena tingkat perkembangan yang cepat dan kemampuan untuk merefleksikan respons toksisitas pada tingkat molekuler dan fisiologis. Pengujian ini dilakukan dalam kondisi yang terkontrol ketat, termasuk suhu air yang dijaga pada $26 \pm 1^\circ\text{C}$, kadar oksigen terlarut minimal 80% dari tingkat saturasi, serta pH antara 6,5 dan 8,5. Validitas uji memerlukan tingkat fertilisasi telur minimal 70% dan tingkat kelangsungan hidup kontrol negatif minimal 90%. Penyesuaian konsentrasi bahan uji dan metode eksposur seperti sistem statis atau semi-statis juga diterapkan untuk memastikan hasil yang akurat dan dapat diandalkan (OECD, 2013).

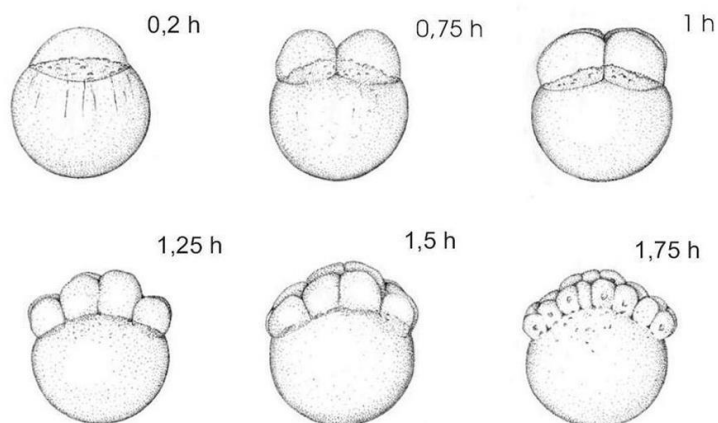
Perkembangan ikan zebra terdiri dari lima tahap utama, yaitu: embrio, menetas, larva, remaja, dan dewasa (Parichy et al., 2009). Pada tahap embrio, perkembangan dimulai dari pembelahan zigot, pembentukan morula, blastula, gastrula, hingga organogenesis (Gusrina, 2014). Tahap perkembangan embrio ikan zebra terbagi menjadi 8 fase. Fase awal adalah zigot (0-0,75 jam setelah pembuahan/fertilisasi), di mana telur mulai membelah. Lalu, fase morula (0,75-2,25 jam) ditandai dengan pembelahan sel berturut-turut hingga mencapai 64 sel. Fase berikutnya adalah blastula (2,25-5,25 jam) yang ditandai dengan terjadinya transisi midblastula (MBT) dan awal apiboli, yaitu pergerakan sel untuk menutup kuning telur. Tahap gastrula (5,25-10 jam) ditandai dengan perkembangan epiboli yang lebih lanjut dan pembentukan struktur tubuh awal. Setelah itu, tahap segmentasi dimulai dengan pembentukan somit (calon otot dan tulang belakang) serta munculnya kuncuk

ekor. Fase faringeal terjadi pada hari ke-2 hingga ke-3, ditandai dengan pigmentasi mata, sirkulasi darah, dan refleks tubuh (Kimmel et al., 1995).



Gambar 2. 3 Perkembangan Embrio Ikan Zebra
Sumber: Living Environment SAG, 2017

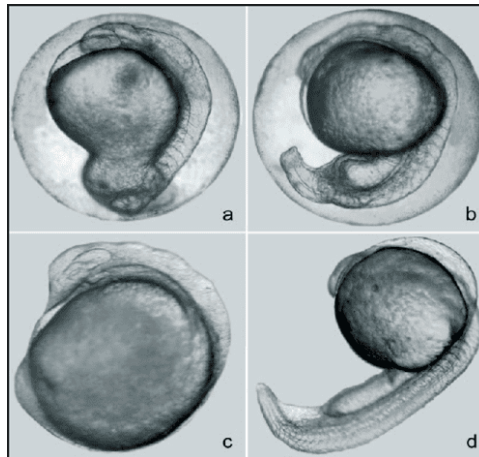
PERKEMBANGAN IKAN ZEBRA YANG NORMAL PADA 26 C°



Gambar 2. 4 Perkembangan Ikan Zebra yang Normal pada 26°C
Sumber: OECD, 2013

Tahap penetasan (*hatching*) terjadi ketika embrio keluar dari korion atau cangkang telur. Penetasan dimulai saat panjang embrio melebihi diameter kuning telur dan terbentuk sirip ekor. Proses ini dibantu oleh enzim

chorionase yang melembutkan korion. Setelah menetas, ikan memasuki tahap larva yang ditandai dengan kemampuan berenang dan merespon rangsangan (Gusrina, 2014). Pengujian menggunakan embrio ikan zebra harus memenuhi pedoman menurut OECD No.236 Tahun 2013.



Gambar 2. 5 Embrio Ikan Zebra
Sumber: www.semanticscholar.org

Prinsip dasar uji toksisitas menggunakan embrio ikan zebra mengacu pada pedoman OECD No. 236 (2013), di mana telur ikan zebra yang telah dibuahi (*fertilized egg*) dipaparkan pada larutan uji selama 96 jam. Setiap 24 jam dilakukan pengamatan terhadap empat parameter utama yang digunakan untuk menilai toksisitas secara kualitatif, yaitu koagulasi embrio, tidak terbentuknya somit, kegagalan pelepasan kuncup ekor (*tail-bud*) dari kuning telur (*yolk*), serta tidak terdeteksinya detak jantung. Jika salah satu dari indikator tersebut muncul atau menunjukkan hasil positif, embrio dianggap mati dan memiliki respon toksik. Nilai LC_{50} kemudian dihitung berdasarkan jumlah embrio yang menunjukkan respon toksik tersebut.

Validitas uji toksisitas embrio ikan zebra dapat diketahui melalui beberapa kriteria berikut (OECD, 2013).

1. Jumlah embrio yang fertil harus $\geq 70\%$ dari embrio yang diujikan.
2. Suhu air harus selalu dipertahankan pada suhu $26 \pm 1^\circ\text{C}$ dalam ruang uji.

3. Embrio yang terdapat pada kelompok kontrol negatif dan atau kelompok kontrol pelarut >90% bertahan hidup sampai dengan akhir pengamatan di jam ke-96.
4. Embrio yang terdapat pada kelompok kontrol positif (4,0 mg/L 3,4-*dichloroanilin*) harus menghasilkan tingkat mortalitas minimal 30% sampai dengan akhir pengamatan di jam ke-96.
5. Jumlah penetasan pada kelompok kontrol negatif dan atau kelompok kontrol pelarut harus $\geq 80\%$ sampai dengan akhir pengamatan di jam ke-96.
6. Selama pemaparan 96 jam, tingkat konsentrasi O₂ yang terlarut pada kontrol negatif dan konsentrasi uji paling tinggi harus 80% lebih besar dari saturasi.

Terdapat dua kelompok uji yang digunakan pada pengujian toksisitas akut terhadap embrio ikan zebra, yakni (OECD, 2013)

1. Kelompok konsentrasi

Kelompok konsentrasi terdiri dari 5 konsentrasi bahan uji yang terpilih melalui proses optimasi, dimana konsentrasi tertinggi menyebabkan 100% kematian embrio dan konsentrasi terendah menyebabkan 0% kematian embrio.

2. Kelompok kontrol

Kelompok kontrol dibagi menjadi 3 sebagai berikut:

- a. Kontrol positif

Digunakan konsentrasi tetap 4 mg/L 3,4-*dichloroaniline*. *Dichloroaniline* dapat memberikan efek toksisitas akut pada embrio ikan zebra karena efeknya yang toksik.

- b. Kontrol negatif

Digunakan air atau media yang digunakan untuk mengembangkan embrio (*dillution water*). Kontrol ini bertujuan untuk mengetahui apakah air atau media yang digunakan dalam penelitian memiliki efek terhadap embrio atau tidak.

- c. Kontrol internal

Larutan yang digunakan sama dengan larutan pada kontrol negatif. kontrol internal bertujuan untuk meminimalisir hasil yang disebabkan penggunaan alat atau media. Jika ditemukan lebih dari satu embrio yang mati pada kontrol ini saat pengujian, maka plate yang digunakan harus dikeluarkan dari pengujian.

d. Kontrol pelarut

Digunakan pelarut pada bahan uji, kontrol ini bertujuan untuk mempertimbangkan pengujian dapat diterima atau tidak, pelarut harus dibuktikan tidak memiliki efek signifikan pada waktu menetas, kelangsungan hidup, atau menghasilkan efek merugikan pada embrio.

2.6 Ikan Zebra

Ikan zebra memiliki berbagai keunggulan sebagai organisme model dalam FET. Embrio ikan ini transparan, memungkinkan pengamatan parameter subletal seperti perkembangan embrionik, morfologi, dan proses organogenesis secara langsung tanpa prosedur invasif. Berdasarkan hasil penelitian, sekitar 82% gen dalam ikan zebra memiliki kesamaan dengan gen yang berhubungan dengan penyakit pada manusia. Selain itu, hasil uji farmakologi pada ikan zebra menunjukkan korelasi yang kuat dengan hasil uji pada hewan mamalia seperti tikus (MacRae & Peterson, 2015). Ikan zebra juga dikenal memiliki laju reproduksi yang tinggi, mampu menghasilkan sekitar 200 embrio hanya dalam waktu tujuh hari. Ukurannya yang kecil dan embrionya yang transparan mendukung efisiensi dalam pengamatan perkembangan individu (Tavares & Lopes, 2013). Uji toksisitas menggunakan ikan zebra termasuk dalam kategori *in vivo* (dilakukan dalam organisme hidup) dan memungkinkan penggunaan dosis uji yang rendah, sehingga dianggap lebih efisien dan etis (Hayati, 2023).

Secara taksonomi, ikan zebra termasuk dalam ordo Cypriniformes (Utami, 2018). Ciri khas ikan zebra dewasa adalah adanya lima garis

horizontal berpigmen yang membentang sepanjang tubuh. Ukurannya relatif kecil, dengan panjang antara 3-4 cm. ikan ini juga memiliki siklus hidup yang cepat dengan waktu generasi 3-4 bulan dan kemampuan reproduksi dalam jumlah besar (Ribatti, 2018). Perbedaan klasifikasi taksonomi ikan zebra adalah sebagai berikut (McCluskey & Braasch, 2020).

- Kingdom : Metazoa (Animalia)
- Filum : Chordata
- Kelas : Actinopteri
- Kohort : Otomorpha
- Order : Cypriniformes
- Famili : Danionidae
- Genus : Danio
- Spesies : Danio rerio

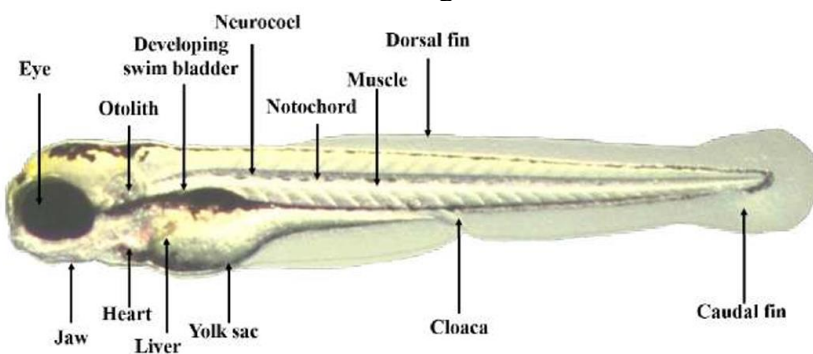
Gambar berikut menunjukkan perbedaan morfologis antara ikan zebra jantan dan betina dapat dikenali melalui beberapa karakteristik utama. Betina umumnya memiliki perut lebih membesar dibandingkan jantan, serta papila genital yang menonjol pada bagian ventral tubuh, sementara jantan tidak menunjukkan ciri tersebut. Selain itu, ikan zebra jantan biasanya memiliki warna kuning yang lebih mencolok dibandingkan betina (Kossack & Draper, 2019). Karakteristik morfologis ini penting untuk dikenali, terutama dalam konteks pengujian toksisitas seperti FET, yang memanfaatkan embrio ikan zebra sebagai objek uji. Uji FET memungkinkan pemantauan efek teratogenik melalui pengamatan perubahan morfologi embrio, seperti pola pemantauan efek teratogenik melalui pengamatan perubahan morfologi embrio, seperti pola pertumbuhan yang abnormal, kelainan pada kepala, tubuh, ekor, atau kantung kuning telur, serta perubahan pigmentasi atau aliran darah. Penggunaan embrio ikan zebra yang transparan sangat mendukung efektivitas pengamatan.



Gambar 2. 6 Ikan Zebra Jantan
Sumber: www.melekperikanan.com



Gambar 2. 7 Ikan Zebra Betina
Sumber: www.garnelio.de



Gambar 2. 8 Morfologi Ikan Zebra
Sumber: Maulaya, 2024

2.7 Parameter Kimia

Kualitas air adalah kondisi kualitatif air yang diukur dan atau diuji berdasarkan parameter-parameter tertentu dan metode tertentu berdasarkan peraturan perundang-undangan sesuai dengan baku mutu dan klasifikasi peruntukannya yang berlaku pada Peraturan Pemerintah (PP) Nomor 22 Tahun 2021 yang kemudian disesuaikan kembali dengan masing-masing SNI yang telah mengatur. Beberapa tolak ukur pencemaran air limbah disekitar daerah industri, pemukiman maupun pertanian pada umumnya *Chemical Oxygen Demand* (COD), timbal (Pb), sulfat (SO_4), dan kromium heksavalen

(Cr⁶⁺). Keempat parameter ini dipilih karena tidak hanya mencerminkan kondisi pencemaran dari berbagai sumber, tetapi juga berpotensi menimbulkan dampak biologis yang dapat diamati melalui uji toksisitas sehingga memberikan gambaran yang lebih menyeluruh terhadap kualitas lingkungan perairan.

2.7.1 Chemical Oxygen Demand (COD)

Chemical Oxygen Demand (COD) atau kebutuhan oksigen kimia merupakan indikator penting dalam mengukur tingkat pencemaran air yang disebabkan oleh bahan organik. COD menggambarkan jumlah oksigen yang dibutuhkan untuk menguraikan senyawa organik dalam air melalui proses oksidasi kimia. Semakin tinggi nilai COD, maka semakin besar pula kandungan bahan organik yang ada di dalam air, baik yang mudah maupun yang sulit terurai. Hal ini menunjukkan bahwa COD berbanding lurus dengan jumlah senyawa organik yang dapat dioksidasi dan sebaliknya berbanding terbalik dengan kadar oksigen terlarut (DO) dalam perairan (Siswoyo & Habibi, 2018).

Peningkatan nilai COD di badan air umumnya disebabkan oleh limbah organik yang berasal dari aktivitas manusia, seperti limbah rumah tangga, industri, maupun peternakan yang langsung dibuang ke sungai tanpa melalui proses pengolahan yang memadai. Limbah-limbah tersebut mempercepat proses degradasi bahan organik, yang pada akhirnya menurunkan kadar DO dan menyebabkan perubahan pH. Kondisi ini sangat mempengaruhi keseimbangan ekosistem perairan dan dapat mengakibatkan kematian organisme akuatik karena kekurangan oksigen (Suparjo et al., 2009). COD dipilih karena merupakan indikator utama pencemaran organik di perairan. Parameter ini mencerminkan total beban bahan organik (*biodegradable* maupun *non-biodegradable*) yang dapat mengkonsumsi oksigen dalam air. Di Sungai Citarum, COD secara konsisten tercatat melebihi baku mutu dan menjadi salah satu parameter dominan yang menandakan pencemaran berat dari limbah domestik, industri, dan pertanian (Ramadhiani et al, 2021).

Parameter COD dipilih untuk mewakili tingkat pencemaran organik di perairan yang berasal dari berbagai aktivitas di sekitar lokasi uji, seperti industri makanan dan minuman, limbah domestik, serta kegiatan pertanian dan peternakan. COD merupakan parameter yang mengukur kebutuhan oksigen untuk menguraikan senyawa organik dan anorganik dalam air secara kimiawi. Nilai COD yang tinggi mengindikasikan tingginya konsentrasi bahan organik terlarut, seperti sisa makanan, minyak, detergen, dan senyawa kimia lainnya. Keberadaan senyawa-senyawa ini dapat menurunkan kadar oksigen terlarut (DO) di dalam perairan, yang pada akhirnya berdampak negatif terhadap kehidupan biota akuatik.

Dalam konteks uji toksisitas menggunakan metode FET, tingginya nilai COD juga berkorelasi dengan peningkatan stres oksidatif dan potensi kerusakan jaringan pada embrio ikan. COD mencerminkan total beban pencemaran organik yang dapat mempengaruhi kondisi ekologis perairan, sehingga penting untuk dievaluasi untuk memahami latar belakang kimia yang mendasari kondisi toksikologis secara biologis. Oleh karena itu, parameter ini menjadi salah satu indikator utama dalam menilai pencemaran organik yang relevan terhadap hasil uji FET (Strecker et al., 2011).

2.7.2 Timbal (Pb)

Timbal (Pb) merupakan salah satu logam berat yang bersifat toksik dan tidak dapat terurai secara alami di lingkungan. Keberadaannya di lingkungan sangat berbahaya karena dapat menimbulkan dampak serius terhadap ekosistem maupun kesehatan manusia. Paparan Pb dalam jumlah tinggi dapat menyebabkan keracunan, baik secara langsung maupun tidak langsung melalui rantai makanan. Dalam lingkungan perairan, Pb umumnya terakumulasi pada lapisan sedimen dasar sungai, yang kemudian dapat mengganggu keseimbangan ekosistem akuatik serta membahayakan organisme perairan (Amirah et al., 2013). Karakteristik fisik Pb mencakup warna kebiru-biruan hingga abu-abu pucat, bersifat lunak dengan massa jenis tinggi yaitu $11,34 \text{ g/cm}^3$, memiliki titik lebur sebesar $327,4^\circ\text{C}$ dan titik didih 1.620°C . Secara kimia, Pb larut dalam asam nitrat (HNO_3) cair maupun pekat,

serta sedikit larut dalam asam klorida (HCl) dan asam sulfat (H₂SO₄) pekat (Sudarwin, 2008). Sifat fisiokimia ini menjadikan timbal mudah tersebar di lingkungan dan meningkatkan risiko bioakumulasi.

Pb banyak ditemukan pada air sungai dan air tanah yang tercemar. Di sungai, keberadaannya umumnya berasal dari limbah domestik dan non-domestik, Sedangkan di air tanah bisa berasal dari kandungan alami tanah maupun akibat aktivitas antropogenik, seperti penggunaan pupuk anorganik dalam pertanian. Pupuk jenis fosfat, misalnya sering mengandung logam berat seperti Pb, Cd, As, dan Cu yang dapat mencemari lingkungan melalui media tanah, air, dan udara. Pb yang terakumulasi di tanah dapat berada dalam bentuk terlarut maupun tersuspensi, walaupun kelarutannya relatif rendah. Tingginya konsentrasi Pb di lingkungan perairan sangat berbahaya karena dapat menurunkan kualitas air dan membahayakan makhluk hidup yang terpapar. Paparan jangka pendek terhadap timbal dapat menyebabkan efek akut seperti keracunan dan kejang, sedangkan dalam jangka panjang dapat menyebabkan gangguan saraf, kerusakan ginjal, kanker, hingga kematian ((Sianturi, 2018).

Pb merupakan logam berat berbahaya yang dapat mencemari perairan akibat berbagai aktivitas seperti industri, rumah tangga, dan pertanian di sekitar lokasi uji. Sumber utama Pb meliputi limbah aki bekas, cat berbasis timbal, proses pelapisan logam (*electroplating*) pada industri logam dan keramik. Dari aktivitas domestik, Pb dapat berasal dari pembuangan baterai bekas dan limbah elektronik. Di wilayah seperti Sungai Citarum yang dikenal memiliki tingkat pencemaran tinggi, Pb merupakan salah satu logam berat yang paling umum ditemukan, terutama akibat aktivitas industri yang tidak dikelola dengan baik.

Dalam konsentrasi rendah sekalipun, Pb bersifat toksik dan dapat terakumulasi dalam jaringan organisme. Paparannya pada manusia dapat menyebabkan gangguan neurologis, kerusakan ginjal, serta gangguan sistem peredaran darah. Sedangkan pada biota akuatik, termasuk ikan zebra, dapat memicu stres oksidatif, deformitas tubuh, penurunan detak jantung,

keterlambatan penetasan, bahkan kematian. Melalui metode FET dampak toksik Pb dapat terdeteksi secara jelas pada tahap awal perkembangan embrio ikan. Penelitian menunjukkan bahwa dalam konsentrasi rendah, Pb dapat mengganggu sistem saraf dan metabolisme embrio, sehingga pengujian parameter ini sangat penting untuk menilai kualitas air (Komoike & Matsuoka, 2022).

2.7.3 Sulfat (SO₄)

Sulfat (SO₄²⁻) merupakan anion poliatomik dengan massa molekul sebesar 96,06 sma dan struktur tetrahedral, terdiri atas satu atom sulfur yang dikelilingi oleh empat atom oksigen (Sinaga, 2016). Ion ini secara alami terdapat dalam berbagai mineral seperti barit, epsomit, dan gipsum, serta umum ditemukan dalam perairan alami dengan konsentrasi yang bervariasi. Dalam air tawar, kandungan sulfat biasanya berkisar 20 mg/L, sedangkan di air sungai dapat berkisar antara 0-630 mg/L. Batas ambang sulfat yang ditetapkan bervariasi tergantung pada jenis senyawanya, yaitu 200-500 mg/L untuk natrium, 250 mg/L untuk kalsium, dan 400-600 mg/L untuk magnesium. Sulfat diperlukan oleh organisme autotrof, bakteri heterotrof, dan jamur sebagai sumber unsur belerang, serta berperan dalam proses respirasi oleh bakteri desulfurikan (Sharma & Kaur, 2017).

Namun, kadar sulfat yang terlalu tinggi dalam air (>250 mg/L) dapat berdampak negatif terhadap kesehatan manusia, terutama menyebabkan gangguan pada sistem pencernaan. Konsumsi air mengandung sulfat dalam jumlah tinggi, khususnya dalam bentuk magnesium sulfat (MgSO₄) atau natrium (Na₂SO₄) dapat menimbulkan efek pencahar, mual, bahkan dehidrasi terutama pada kelompok rentan seperti anak-anak, lansia, dan pendatang (Sinaga, 2016). Untuk mendeteksi keberadaan ion sulfat dalam air, dapat digunakan metode uji kualitatif dengan mereaksikan sampel air dengan larutan barium klorida pada pH netral, atau metode kuantitatif menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan teknik turbidimetri. Metode ini didasarkan pada pembentukan partikel barium sulfat yang tidak terlarut dan membentuk koloid seragam yang diperkuat dengan zat tambahan seperti natrium klorida,

asam klorida, dan gliserol. Kandungan sulfat dalam air juga penting untuk diperhatikan karena dapat menyebabkan korosi pada jaringan pipa distribusi air (Sharma & Kaur, 2017).

Sulfat merupakan anorganik yang umum dijumpai di perairan akibat pelimbasan dari berbagai aktivitas, seperti penggunaan pupuk dalam pertanian, limbah domestik dari deterjen, serta buangan limbah industri kimia. Dalam konsentrasi rendah, sulfat bersifat esensial dan tidak berbahaya, namun pada kadar tinggi dapat menimbulkan berbagai dampak negatif. Konsentrasi sulfat yang tinggi berpotensi menyebabkan korosi pada sistem perpipaan, gangguan pencernaan pada manusia, serta mendukung pertumbuhan mikroorganisme anaerob penghasil gas hidrogen sulfida (H_2S) yang berbau busuk. Dalam konteks pencemaran perairan, sulfat menjadi indikator penting untuk mendeteksi adanya kontaminasi dari aktivitas pertanian, domestik, maupun industri.

Secara ekologis, kadar sulfat yang tinggi juga dapat berdampak pada organisme akuatik, terutama dengan mengganggu keseimbangan ionik dan menyebabkan iritasi pada insang. Pada penelitian menunjukkan bahwa paparan sulfat dalam konsentrasi tinggi (≥ 1500 mg/L) dapat menyebabkan kerusakan insang dan perubahan perilaku pada ikan zebra pada tahap juvenile (Cao et al., 2022). Meskipun belum banyak studi langsung pada embrio, dampak tersebut menunjukkan bahwa embrio yang lebih rentan kemungkinan besar juga akan terdampak, terutama pada fase awal perkembangan yang sensitif terhadap perubahan lingkungan.

2.7.4 Kromium Heksavalen (Cr^{6+})

Logam berat Kromium (Cr) yang umum ditemukan di lingkungan perairan adalah dalam bentuk *Trivalen* (Cr^{3+}) dan *Heksavalen* (Cr^{6+}). Di antara keduanya, kromium heksavalen dikenal memiliki sifat ionik, sangat larut dalam air, serta relatif stabil, sehingga mudah menyebar dan mencemari berbagai badan air, termasuk sungai maupun laut (Romadhon et al., 2017). Selain bersifat toksis, keberadaan Cr^{6+} di lingkungan perairan menimbulkan risiko tinggi terhadap kesehatan manusia.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa Cr^{6+} dapat masuk ke dalam tubuh melalui sistem pernapasan dan menimbulkan berbagai gangguan kesehatan. Beberapa gangguan kesehatan seperti iritasi luka (ulserasi), dan lesi non-neoplastik pada saluran pencernaan, khususnya lambung dan usus halus. Paparan Cr dalam jumlah berlebih juga dapat menyebabkan gangguan pada sistem pernapasan, sistem pencernaan, serta sistem saraf dan dalam kondisi tertentu bahkan dapat menyebabkan kematian (Vitasari et al., 2020). Cr^{6+} dipilih karena merupakan bentuk kromium yang paling toksik, bersifat karsinogenik, dan diketahui berasal dari aktivitas industri logam, tekstil, dan penyamakan kulit yang banyak terdapat di DAS Citarum. Cr^{6+} juga mudah larut dalam air, bersifat bioavailable, dan mampu memberikan efek toksik bahkan pada konsentrasi rendah, sehingga penting untuk dianalisis secara khusus (Aeni et al., 2020).

Cr^{6+} merupakan logam berat beracun yang sering ditemukan dalam limbah industri, seperti industri tekstil, penyamakan kulit, *elektroplating*, serta industri keramik. Penggunaannya dalam berbagai proses industri sebagai zat pewarna, anti karat, dan pengikat logam menjadikan Cr^{6+} sebagai salah satu kontaminan prioritas dalam penilaian kualitas air, terutama di wilayah yang dekat dengan kawasan industri. Cr^{6+} diketahui sangat toksik, karsinogenik, dan mampu menyebabkan berbagai gangguan kesehatan seperti iritasi kulit, kerusakan hati, dan bahkan kerusakan DNA pada organisme yang terpapar.

Dalam konteks ekotoksikologi, Cr^{6+} terbukti memberikan dampak signifikan terhadap perkembangan embrio ikan zebra. Paparan Cr^{6+} dengan konsentrasi tertentu dapat menyebabkan berbagai kelainan perkembangan, seperti edema pada kantung kuni telur dan jantung (edema perikardial), kelengkungan tulang belakang, gangguan pembentukan mata, keterlambatan penetasan, hingga kematian embrio (Sekar et al., 2020). Cr^{6+} bersifat neurotoksik dan oksidatif, dapat merusak sel melalui produksi radikal bebas Reactive Oxygen Species (ROS) yang menyebabkan stres oksidatif, dan menurunkan kerja enzim Acetylcholinesterase (AChE) yang penting bagi

fungsi sistem saraf (J. W. Lee et al., 2022; Umamaheswari et al., 2021). Beberapa pengujian menunjukkan bahwa embrio yang terpapar Cr^{6+} mengalami gangguan fisiologis dan morfologis yang jelas terlihat dalam 96 jam pertama setelah fertilisasi. Oleh karena itu, pengujian kadar Cr^{6+} dalam air sungai sangat penting untuk mengidentifikasi potensi toksik terhadap biota akuatik, khususnya pada tahap kehidupan awal yang paling rentan terhadap pencemaran logam berat ini (Domingues et al., 2010a).

2.8 Penelitian Terdahulu

Adanya penelitian terdahulu yang relevan dengan topik penelitian ini memberikan landasan teori dan perspektif yang penting dalam mengkaji masalah yang dihadapi, serta menunjukkan kontribusi dan perkembangan ilmu pengetahuan yang telah ada. Pembahasan ini bertujuan untuk menggali kesenjangan penelitian yang ada, serta memberikan gambaran mengenai fokus dan pendekatan yang digunakan oleh peneliti sebelumnya yang dapat menjadi referensi bagi penelitian yang sedang dilakukan.

Tabel 2. 2 Penelitian Terdahulu

Judul	Penulis	Hasil
Evaluation of water quality during successive severe drought years within Microcystis blooms using fish embryo toxicity tests for the San Francisco Estuary, California	(Kurobe et al., 2018)	Studi ini menunjukkan bahwa kekeringan parah meningkatkan intensitas dan durasi <i>Microcystis blooms</i> akibat air yang lebih hangat dan aliran sungai rendah. Uji toksisitas embrio ikan mengungkapkan risiko gangguan perkembangan, kelainan morfologi, dan kematian yang lebih tinggi, mengancam keanekaragaman hayati estuari.

Judul	Penulis	Hasil
Acidified water promotes silver-induced toxicity in zebrafish embryos	(Horng et al., 2024)	Studi ini menunjukkan bahwa kondisi air yang terasamkan meningkatkan toksisitas ion perak (Ag^+) terhadap embrio ikan zebra. Paparan larutan AgNO_3 pada pH 5 menyebabkan mortalitas 100% pada konsentrasi 0,25 mg/L, lebih tinggi dibandingkan pada pH netral (pH 7). Selain itu, air asam mempercepat akumulasi Ag^+ dalam embrio, mengakibatkan gangguan perkembangan, deformasi morfologi, dan peningkatan risiko kematian pada embrio ikan zebra dibandingkan kondisi normal.
Effect of water hardness/alkalinity and humic substances on the toxicity of peracetic acid to zebrafish embryos and pathogenic isolates	(Liu et al., 2021)	Nilai konsentrasi letal median (LC_{50}) untuk embrio <i>D. rerio</i> ditentukan dalam kisaran konsentrasi tertentu berdasarkan kekerasan air. Pada kondisi alkalinitas rendah, pH menurun secara signifikan ($\text{pH} < 5$), meningkatkan toksisitas PAA terhadap embrio.
Transcriptomic Point of Departure (tPOD) of androstenedione in zebrafish embryos	(Essfeld et al., 2024)	Hasil menunjukkan efluen tambang bersifat genotoksik dan teratogenik, dengan pH air mempengaruhi keberhasilan penetasan embrio. Konsentrasi

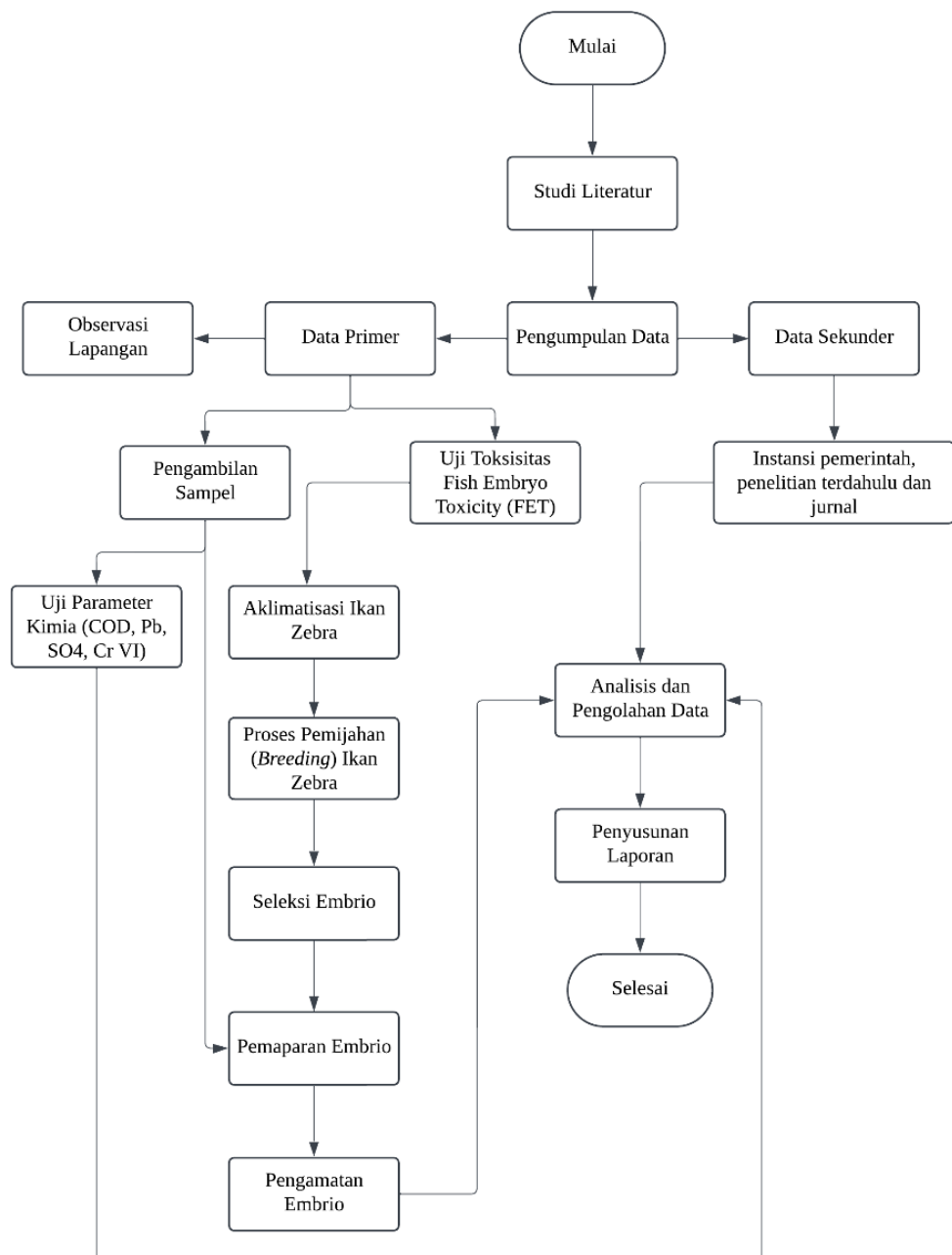
Judul	Penulis	Hasil
as a potential surrogate for chronic endpoints		limbah yang diuji berkisar 20–6105 mg/L, dengan nilai Transcriptomic Point of Departure (tPOD) sebesar 24 mg/L, 200 kali lebih rendah dari konsentrasi terendah dalam Fish Sexual Development Test (FSDT). Pada konsentrasi tinggi, efek ekspresi gen mencapai plateau.
ABC transporter-mediated MXR mechanism in fish embryos and its potential role in the efflux of nanoparticles	(Yin et al., 2023)	Eksperimen dilakukan dengan enam konsentrasi androstenedione untuk mengukur dampak toksik berdasarkan ekspresi gen diferensial pada perkembangan embrio ikan zebra. Pada konsentrasi tinggi, 56 gen mengalami perubahan signifikan, menandakan sensitivitas tinggi embrio. Ambang toksisitas (tPOD) dihitung sebesar 24 ng/L, menunjukkan tingkat toksisitas yang sangat rendah.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Diagram Alir Penelitian

Alur penelitian dapat ditunjukkan dalam diagram alir penelitian. Berikut ini adalah diagram alir penelitian yang dilakukan pada penelitian ini.



Gambar 3. 1 Diagram Alir Penelitian

3.2 Waktu dan Lokasi Penelitian

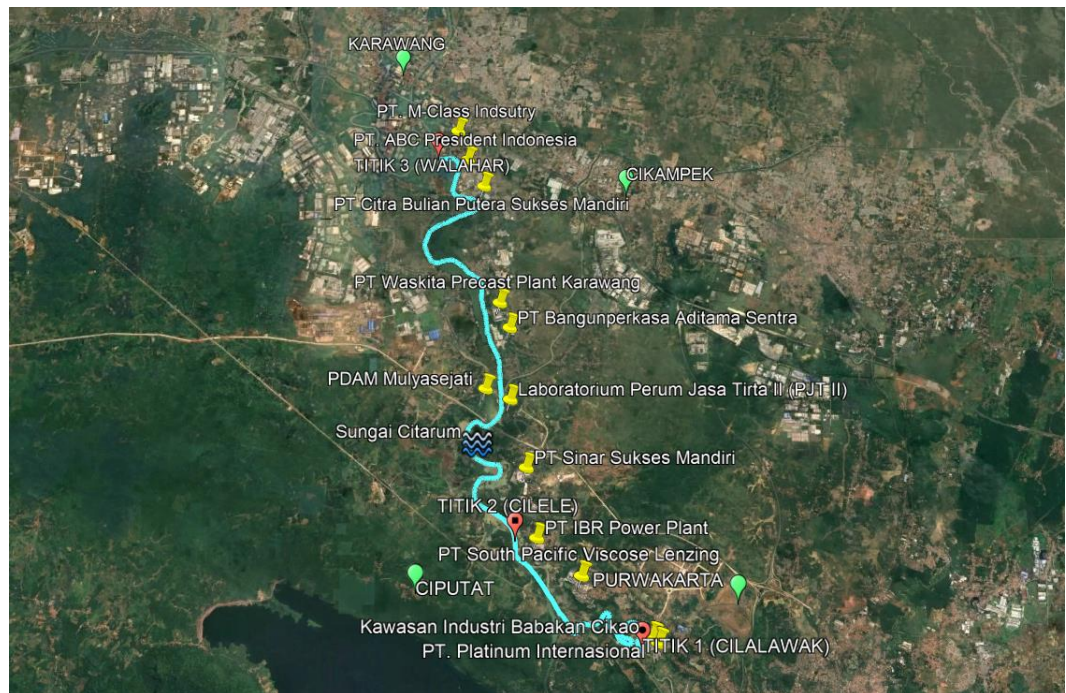
Penelitian ini dilaksanakan dalam kurun waktu kurang lebih tiga bulan, dimulai pada bulan Agustus 2024 hingga Oktober 2024. Penelitian ini dilaksanakan di beberapa lokasi yang meliputi pengambilan sampel air sungai dan lokasi uji toksisitas serta uji parameter kimia. Pemilihan lokasi didasarkan pada kebutuhan penelitian untuk memperoleh data yang relevan dan representatif terkait kualitas air Sungai Citarum serta pengujian toksisitas dan parameter kimia. Pengambilan sampel dilakukan dengan metode yang mengacu pada SNI 6989.59.2008 tentang Air dan Air Limbah, Bagian 59: Metode Pengambilan Contoh Air Limbah. Pengambilan sampel air limbah Sungai Citarum menggunakan metode *grab sampling* yang berarti sampel limbah diambil sesaat pada lokasi tertentu.

3.2.1 Waktu dan Lokasi Sampling

Lokasi pengambilan sampel dilakukan di Sungai Citarum, Jawa Barat, tepatnya di wilayah Kabupaten Karawang dan Kabupaten Purwakarta. Pengambilan sampel dilakukan selama musim kemarau pada tanggal 12, 13, dan 14 Agustus 2024. Pemilihan lokasi sampling dilakukan secara strategis untuk menggambarkan variasi kualitas air berdasarkan aktivitas di sekitar sungai. Terdapat tiga titik pengambilan sampel yang dipilih, yaitu:

Tabel 3. 1 Lokasi Sampling Pengambilan Air Sungai Citarum

No Sampel	Lokasi Sampling
Sampel 1	Jembatan Cilalawak, Sektor 15
Sampel 2	Jembatan Cilele Purwakarta, Sektor 15
Sampel 3	Jembatan Bendung Walahar, Karawang



Gambar 3. 2 Peta Lokasi Sampling Pengambilan Air Sungai Citarum
Sumber: *Google Earth*, 2025



Gambar 3. 3 Lokasi Sampling Jembatan Cilalawak, Sektor 15
Sumber: *Google Earth*, 2025



Gambar 3. 4 Jembatan Cilalawak
Sumber: *Google Earth*, 2025



Gambar 3. 5 Lokasi Sampling Jembatan Cilele Purwakarta, Sektor 15
Sumber: *Google Earth*, 2025



Gambar 3. 6 Jembatan Penyeberangan Cilele
Sumber: *Google Earth, 2025*



Gambar 3. 7 Jembatan Bendung Walahar, Karawang
Sumber: *Google Earth, 2025*



Gambar 3. 8 Jembatan Bendung Walahar
Sumber: *Google Earth*, 2025

3.2.2 Waktu dan Lokasi Uji

Lokasi pengujian dalam penelitian ini dibagi menjadi dua kategori utama, yaitu uji toksisitas dan uji parameter kimia. Pemisahan kategori ini bertujuan untuk memastikan bahwa setiap jenis analisis dilakukan di fasilitas yang memiliki alat dan teknologi yang sesuai dengan kebutuhan masing-masing. Pengujian dimulai setelah sampel diterima pada tanggal 15 Agustus 2024, dengan terlebih dahulu dilakukan uji toksisitas, kemudian dilanjutkan dengan uji parameter kimia, yang keseluruhan rangkaian pengujian berlangsung hingga akhir bulan Oktober 2024.

3.2.2.1 Uji Toksisitas

Uji toksisitas dalam penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi dan Praktek, yang berlokasi pada Fakultas Matematika Ilmu dan Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia, Daerah Istimewa Yogyakarta. Laboratorium ini dipilih karena memiliki fasilitas yang memadai dan tenaga ahli yang kompeten untuk melaksanakan pengujian toksisitas secara menyeluruh. Dalam uji ini, digunakan ikan zebra (*Danio rerio*) sebagai hewan uji. Ikan zebra diperoleh dari Peternak ikan di Semampir Aquatic, Bantul, Daerah Istimewa Yogyakarta. Dengan proses pemilihan yang memperhatikan kesehatan dan keseragaman spesies.

3.2.2.2 Uji Parameter Kimia

Pengujian parameter kimia dilakukan di Laboratorium Kualitas Lingkungan, Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan, Universitas Islam Indonesia, Daerah Istimewa Yogyakarta. Laboratorium ini dilengkapi dengan peralatan modern yang diperlukan untuk menganalisis parameter kimia air termasuk kandungan *Chemical Oxygen Demand* (COD), timbal (Pb), sulfat (SO₄), dan kromium heksavalen (Cr⁶⁺).

3.3 Alat dan Bahan

Untuk mendukung pelaksanaan penelitian ini, berbagai alat dan bahan telah digunakan guna memastikan pengujian berjalan sesuai metode yang telah dirancang. Pengujian dibagi menjadi dua bagian utama, yaitu pengujian toksisitas pada embrio ikan zebra sebagai indikator biologi, dan pengujian parameter kimia untuk menganalisis karakteristik fisikokimia air dari lokasi sampling. Setiap tahap pengujian memerlukan peralatan yang spesifik dan bahan pendukung yang disesuaikan dengan kebutuhan masing-masing metode.

3.3.1 Pengujian Toksisitas

Proses pemijahan (*breeding*) adalah tahap awal yang harus dilakukan saat melakukan pengujian toksisitas pada embrio ikan zebra. Berikut alat dan bahan yang diperlukan dalam proses *breeding*.

Tabel 3. 2 Alat *Breeding* Pengujian Toksisitas

ALAT		
No	Nama Alat	Gambar
1	Aquarium ikan	

ALAT		
No	Nama Alat	Gambar
2	Tangki ikan <i>breeding</i>	
3	TDS meter	
4	Swamping / Spawn Trap	
5	Kelereng	
6	<i>Air pump</i>	

Tabel 3. 3 Bahan *Breeding* Pengujian Toksisitas

BAHAN		
No	Nama Bahan	Gambar
1	Zebrafish (<i>Danio rerio</i>)	
2	<i>Methylene blue</i>	
3	Tanaman kiambang	
4	Garam ikan	
5	Air RO	

Setelah berhasil proses breeding dan mendapatkan embrio ikan zebra. Pada proses uji FET dilakukan beberapa perlakuan seperti seleksi embrio, pemaparan embrio, pengamatan uji toksisitas embrio selama 96 jam setiap 24 jam. Diperlukan alat dan bahan sebagai berikut.

Tabel 3. 4 Alat Seleksi, Pemaparan, dan Pengamatan Embrio

ALAT		
No	Nama Alat	Gambar
1	Miskroskop Stereo (ZEISS) Axiocam 208 Color	
2	<i>Well plate</i>	
3	Mikropipet	
4	<i>Bluetip</i>	

ALAT		
No	Nama Alat	Gambar
5	Timbangan analitik	

Tabel 3. 5 Bahan Seleksi, Pemaparan, dan Pengamatan Embrio
BAHAN

No	Nama Bahan	Gambar
1	1,0 sampel air per lokasi	
2	4,0 mg/L 3,4-diakloroanilin	
3	Aquades steril/Aquabides	

3.3.2 Pengujian Parameter Kimia

Selain melakukan pengujian FET, dalam air sungai juga sangat penting untuk mengetahui kuantitas parameter kimia yang terkandung. Penambahan analisis Pengujian kualitas air seperti Chemical Oxygen Demand (COD), Timbal (Pb), Sulfat (SO_4), dan Kromium Heksavalen (Cr^{6+}) pada Sungai Citarum sangat penting untuk menilai tingkat pencemaran yang terkandung dalam air sungai tersebut (Sumantri & Rahmani, 2020). Tentunya prosedur pengujian parameter ini menyesuaikan dengan SNI dan baku mutu yang berlaku. Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini merupakan sarana yang diperlukan untuk pengujian parameter kimia yang terkandung dalam air Sungai Citarum.

3.3.2.1 Chemical Oxygen Demand (COD)

Pengujian Chemical Oxygen Demand (COD) dalam penelitian ini mengacu pada SNI 6989.2.2009. standar tersebut digunakan sebagai pedoman dalam prosedur analisis, termasuk dalam penentuan alat dan bahan yang diperlukan.

Tabel 3. 6 Alat dan Bahan Uji Parameter COD (SNI 6989.2:2009)

No	Alat	Bahan
1	Spektrofotometer (400 nm - 700 nm)	Aquades
2	Kuvet kaca	Digestion solution rendah
3	Tabung refluks	Larutan pereaksi asam sulfat (H_2SO_4)
4	Pipet ukur	Sample air
5	Bola hisap	
6	<i>Thermoreaktor</i>	
7	Lemari asam	
8	Gelas ukur	
9	Labu ukur	

3.3.2.2 Timbal (Pb)

Pengujian kandungan timbal (Pb) dalam sampel air pada penelitian ini mengacu pada SNI 6989.84-2019. Standar ini dijadikan pedoman dalam pelaksanaan analisis logam berat, khususnya timbal, baik dari segi metode maupun kelengkapan alat dan bahan yang digunakan.

Tabel 3. 7 Alat dan Bahan Uji Parameter Kimia Pb (SNI 6989.84-2019)

No	Alat	Bahan
1	Spektrofotometer Serapan Asam (SSA)	HNO ₃ pekat
4	Kertas saring <i>whatman</i>	Sample air
5	Erlenmeyer	
6	Corong	
7	Gelas ukur	
8	<i>Magnetic stirrer</i>	
9	Kertas pH	
10	Kuvet kaca	
11	Pipet ukur	
12	Bola hisap	

3.3.2.3 Sulfat (SO₄)

Pengujian kandungan SO₄ dalam sampel air pada penelitian ini mengacu pada SNI 06-6989.20:2004. Standar ini digunakan sebagai acuan dalam prosedur analisis, termasuk pemilihan alat dan bahan yang diperlukan.

Tabel 3. 8 Alat dan Bahan Uji Parameter Kimia SO₄ (SNI 06-6989.20:2004)

No	Alat	Bahan
1	Spektrofotometer	Aquades
2	Labu ukur	Larutan baku sulfat
3	Pipet volumetrik	Barium klorida kristal (BaCl ₂ .2H ₂ O)
4	Erlenmeyer	Sample air

No	Alat	Bahan
5	<i>Magnetic stirer</i>	Larutan buffer A
6	Spatula	Larutan buffer B
7	Timbangan analitik	HCl pekat

3.3.2.4 Kromium Heksavalen (Cr^{6+})

Pengujian kandungan Cr^{6+} dalam sampel air pada penelitian ini mengacu pada SNI 6989.71:2009. Standar ini dijadikan pedoman dalam pelaksanaan analisis, termasuk dalam penentuan metode, alat, dan bahan yang digunakan.

Tabel 3. 9 Alat dan Bahan Uji Parameter Kimia Cr^{6+} (SNI 6989.71:2009)

No	Alat	Bahan
1	Spektrofotometer sinar tampak	Larutan H_3PO_4
2	Gelas Beaker	Sample air
3	Labu ukur	Asam sulfat
4	Kuvet kaca	Larutan <i>difenilkarbazida</i>
5	Kertas pH	Aquades

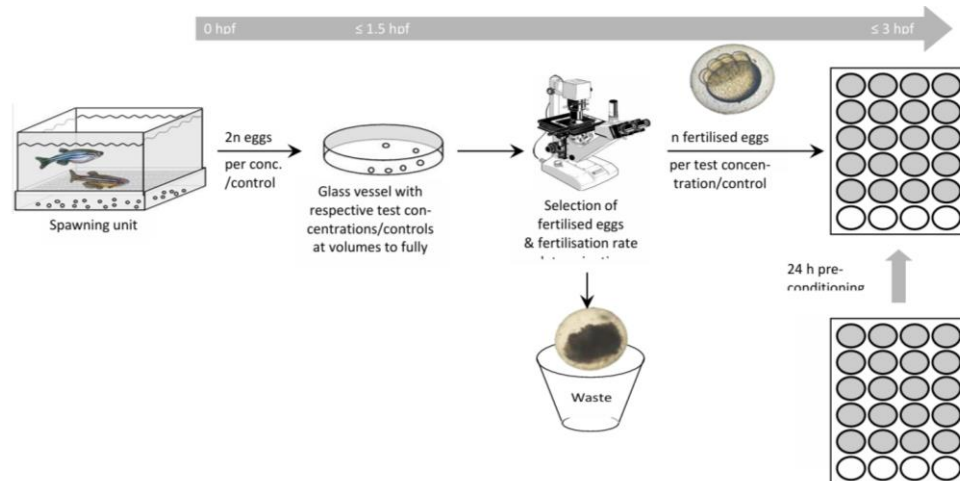
3.4 Prosedur Pengambilan Data

Proses pengambilan data dalam penelitian ini dilakukan secara sistematis, konsisten, dan sesuai dengan metodologi yang telah ditentukan. Data yang diambil mencakup dua kategori, yaitu uji toksisitas dan uji parameter kimia. Setiap tahapan prosedur dirancang untuk menghasilkan analisis data dari kualitas air Sungai Citarum terhadap embrio ikan zebra serta karakteristik kimia air tersebut.

3.4.1 Uji Toksisitas

Metode pengujian toksisitas akut pada ikan zebra akan dijabarkan sesuai dengan OECD 203 Tahun 2013 meliputi subjek uji, validitas uji, pemeliharaan ikan zebra, perlakuan, dan penganan pada ikan zebra. Pada

pemeleliharaan ikan zebra melalui beberapa tahap seperti aklimatisasi dan proses pemijahan (*breeding*), sebelum memasuki pada proses perlakuan dan pengamatannya.



Gambar 3. 9 Skema Uji Toksisitas pada Embrio Ikan Zebra
Sumber: OECD, 2013

3.4.1.1 Seleksi Ikan Zebra

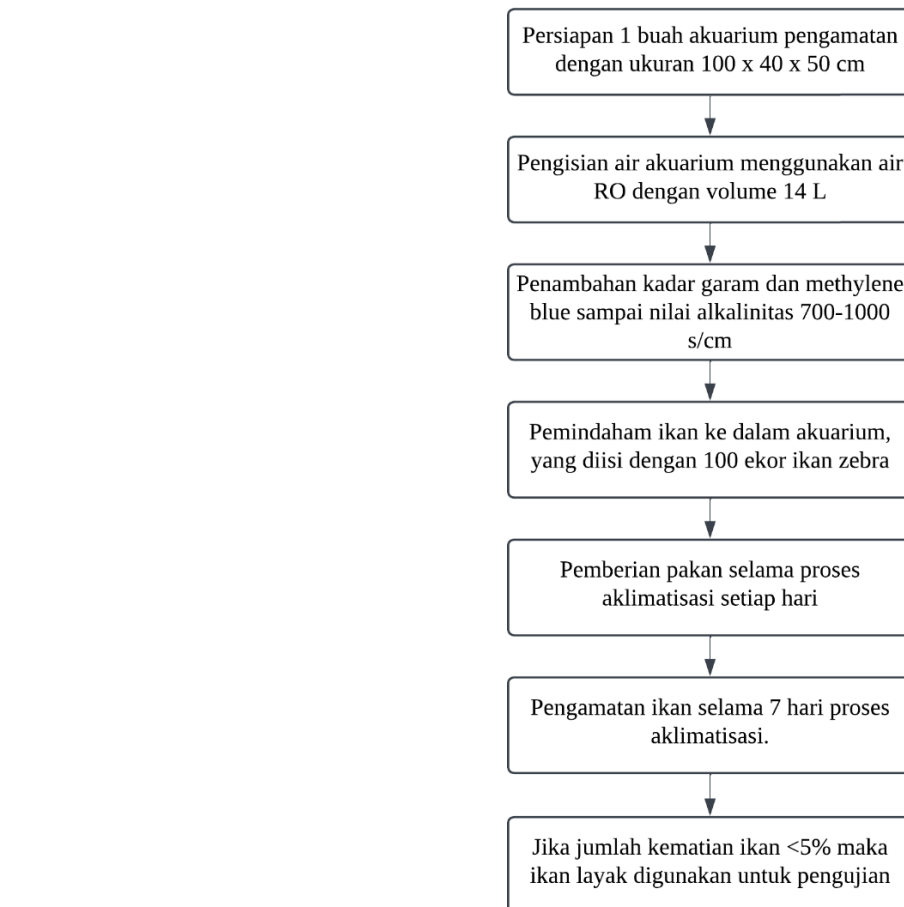
Sebelum proses aklimatisasi dilakukan, ikan zebra perlu diseleksi dan dipisahkan berdasarkan jenis kelaminnya. Pemisahan ini penting untuk memastikan kualitas embrio yang dihasilkan saat proses *breeding*, serta mencegah terjadinya *breeding* spontan yang tidak terkontrol di luar waktu yang direncanakan. Identifikasi jenis kelamin ikan zebra dilakukan berdasarkan beberapa ciri morfologis yang khas. Ikan zebra betina umumnya memiliki perut yang tampak lebih besar. Selain itu, ikan jantan cenderung memiliki pigmen kuning yang lebih kuat pada tubuhnya dibandingkan betina. Ciri lainnya adalah adanya papilla genital yang tampak menonjol pada bagian ventral betina, sementara pada jantan papilla ini tidak menonjol. Dengan melakukan seleksi dan pemisahan ini, proses *breeding* dapat dikontrol dengan lebih baik sehingga mendukung keberhasilan uji toksisitas yang bergantung pada kualitas embrio yang seragam.



Gambar 3. 10 Pemisahan Ikan Zebra Jantan dan Betina
Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2024

3.4.1.2 Aklimatisasi

Aklimatisasi hewan uji berfungsi untuk menyesuaikan kondisi biota uji kondisi lingkungan laboratorium. Tahapan aklimatisasi dapat dilihat pada gambar di bawah ini:



Gambar 3. 11 Bagan Alir Tahapan Aklimatisasi

Sebelum proses aklimatisasi, biota uji terlebih dahulu didiamkan selama 15 menit untuk meminimalkan potensi stres akibat perubahan lingkungan. Setelah itu, ikan diaklimatisasi selama 7 hari dalam media air yang telah ditambahkan garam ikan dan *methylen blue* hingga mencapai nilai konduktivitas (alkalinitas) sebesar 700-100 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Kondisi optimum untuk pemeliharaan ikan zebra meliputi suhu air antara $21^{\circ} - 25^{\circ}\text{C}$, pH berkisar antara 6-8,5, serta pencahayaan selama 12-16 jam/hari. Selama masa pemeliharaan, ikan diberi pakan sebanyak tiga kali dalam seminggu atau setiap hari, namun dihentikan 24-48 jam sebelum dilakukan uji FET. Ikan yang akan digunakan untuk uji toksisitas harus berada dalam kondisi sehat, tidak menunjukkan gejala penyakit, dan belum menerima pengobatan setidaknya dalam 2 minggu terakhir sebelum pengujian.

Beberapa faktor perlu diperhatikan untuk mencegah peningkatan angka kematian ikan selama masa pemeliharaan. Salah satu faktornya adalah tingginya kadar nitrat dalam air, biasanya disebabkan oleh pemberian pakan secara berlebihan. Oleh karena itu, pemberian pakan perlu dibatasi hingga dua kali sehari dengan jumlah yang sesuai kebutuhan. Untuk menjaga konsistensi, pemberian pakan dapat dilakukan secara otomatis menggunakan alat *feeder* dengan pengaturan waktu tertentu. Selain itu, keseimbangan kadar garam dalam air juga harus dijaga dengan baik karena konsentrasi garam yang terlalu tinggi dapat berdampak negatif terhadap keangsuran hidup ikan.

Tabel 3. 10 Pengamatan Kelayakan Ikan pada Tahap Aklimatisasi

Jumlah Kematian (%)	Keterangan
< 5	Layak
5 sampai 10	Dilanjutkan selama 14 hari
> 10	Tidak layak

Sumber: OECD, 2019

3.4.1.3 Proses Pemijahan (*Breeding*) Ikan Zebra

Proses pemijahan merupakan tahap awal yang penting dalam rangkaian pengujian toksisitas terhadap embrio ikan zebra (*Danio rerio*). Pemijahan pada ikan zebra idealnya dilakukan pada rentang usia 3-18 bulan, di mana pasangan induk tidak disarankan untuk dikawinkan selama dua hari berturut-turut. Pemijahan tetap harus dilakukan secara rutin meskipun telur tidak dibutuhkan, untuk menjaga stabilitas siklus reproduksi indukan. Kualitas induk dan keberhasilan proses pemijahan sangat berpengaruh terhadap kualitas embrio yang dihasilkan, dengan rasio ideal antara induk jantan dan betina yaitu 2 : 1. Dalam pengaturan pemijahan, disarankan agar lebih banyak ikan jantan daripada betina.

Ikan zebra yang digunakan sebagai hewan uji harus dipelihara dalam kondisi optimal mencakup pengaturan suhu, jenis pakan, kualitas air, serta sirkulasi yang memadai. Pada tahap persiapan pemijahan, campuran air dalam akuarium ditambahkan garam ikan dan larutan *methylene blue*, diukur menggunakan TDS meter hingga mencapai konduktivitas sebesar 700-1000

µs/cm. proses pemijahan dilakukan dalam lingkungan dengan suhu air sekitar 26°C dan 28°C, pH 7,3 serta pencahayaan buatan selama 14 jam terang dan 10 jam gelap. Induk jantan dan betina dipisahkan pada aquarium yang berbeda selama fase terang, kemudian disatukan kembali menjelang fase gelap pada satu aquarium yang sama dan dibiarkan bersama selama 10 jam. Ovulasi dan pembuahan biasanya terjadi pada awal fase terang, menghasilkan embrio dalam jumlah banyak yang kemudian dikumpulkan di dalam cawan petri dan diseleksi. Hanya embrio yang telah mengalami pembuahan (embrio fertil) yang akan digunakan dalam tahap selanjutnya.

Untuk memperoleh embrio dalam jumlah besar, digunakan beberapa tangki pemijahan khusus dengan perlakuan yang seragam. Pengumpulan telur dilakukan menggunakan metode *spawn trap* atau *swamping*, yaitu dengan meletakkan cawan petri yang sudah diberi jaring di dasar akuarium. Namun, juga ada yang menggunakan jaring langsung. Beberapa modifikasi juga dapat diterapkan untuk meningkatkan kenyamanan ikan dan memaksimalkan hasil pemijahan dengan menyediakan lingkungan yang mendukung perilaku reproduksi ikan, seperti penambahan elemen habitat berupa tanaman air (misalnya tanaman kiambang) atau substrat seperti kelereng yang meniru kondisi alami ikan. Selain itu, pemasangan *air pump* berfungsi untuk meningkatkan kadar oksigen terlarut dalam air yang penting bagi proses pemijahan dan kelangsungan hidup embrio.



Gambar 3. 12 Tangki Pemijahan Ikan Zebra Tampak Atas: Kiri (Kiambang + Kelereng) dan Kanan (Kelereng saja), Untuk Membandingkan Efektivitas Pemijahan
Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2024



Gambar 3. 13 Tangki Pemijahan Ikan Zebra Tampak Samping
Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2024

Jika ditargetkan produksi telur dalam jumlah banyak, ikan dapat diberi pakan sebanyak tiga kali sehari dengan jenis pakan yang tinggi protein (seperti *blood worm* atau *daphnia*). Selama proses pemberian pakan, pompa udara dan pompa air sebaiknya dimatikan selama kurang lebih 10 menit untuk memberikan waktu bagi ikan mengkonsumsi makanan secara optimal. Setelah itu, pompa harus segera diaktifkan kembali. Pembersihan tangki secara rutin setiap hari juga dianjurkan karena dapat meningkatkan kualitas lingkungan pemijahan dan mendukung produktivitas telur. Kebersihan air

berperan penting dalam menjaga kesehatan ikan zebra, karena air yang tercemar oleh kotoran ikan dapat menyebabkan penurunan kualitas lingkungan dan berisiko menimbulkan kontaminasi. Kotoran yang terlarut dalam air akuarium dapat menumpuk dan bersifat toksik, sehingga pembersihan rutin diperlukan untuk mencegah keracunan pada ikan zebra.



Gambar 3. 14 Pakan Ikan Zebra: Kiri (*Daphnia*) dan Kanan (*Blood Worm*)
Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2024



Gambar 3. 15 Pakan Ikan Zebra *Blood Worm* Setelah Dilarutkan dengan Air

Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2024

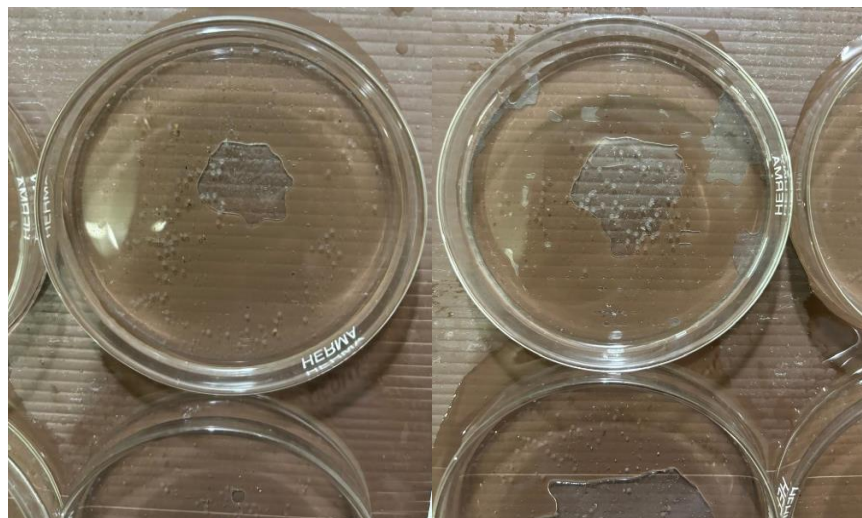
3.4.1.4 Seleksi Embrio

Embrio hasil pemijahan perlu diseleksi terlebih dahulu untuk memastikan hanya embrio fertil yang dapat digunakan sebagai objek uji. Seleksi ini bertujuan untuk memperoleh embrio berkualitas, yaitu embrio yang telah dibuahi dan tidak mengalami koagulasi. Kualitas embrio dinilai baik apabila lebih dari 70% embrio yang diperoleh merupakan embrio fertil. Embrio yang digunakan dalam pengujian merupakan embrio yang baru

dibuahi dan berusia kurang dari 6 jam pasca fertilisasi, dengan usia optimal sekitar 3 jam. Pemilihan embrio pada usia tersebut dilakukan agar senyawa uji dapat menembus membran embrio secara efektif. Penentuan usia embrio dilakukan dengan mengamati morfologi embrio menggunakan Miskroskop Stereo (ZEISS) Axiocam 208 Color. Kemudian dibandingkan dengan tahapan perkembangan embrio yang sesuai berdasarkan reverensi visual seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.3 dan Gambar 2.4.



Gambar 3. 16 Proses Seleksi Embrio Ikan Zebra
Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2024

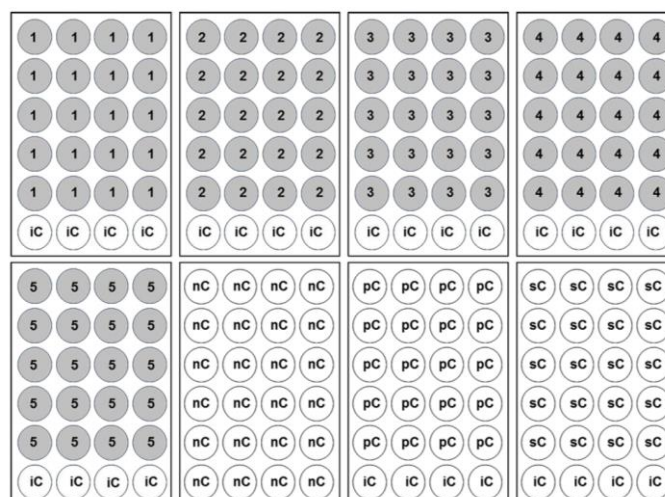


Gambar 3. 17 Hasil Seleksi Embrio Ikan Zebra
Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2024

3.4.1.5 Pemaparan Embrio

Sebanyak 17 *wellplate* dengan format 24 sumuran (6x4) digunakan dalam pengujian. Dari jumlah tersebut, digunakan tiga jenis sampel uji yang masing-masing akan dibuat dalam 5 variasi konsentrasi, yaitu 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%. Dengan demikian, untuk 1 sampel diperlukan 5 konsentrasi, sehingga total terdapat 15 kombinasi sampel dan konsentrasi larutan (3 sampel x 5 konsentrasi). 1 *wellplate* digunakan sebagai kontrol positif dengan senyawa 3,4-dichloroaniline (3,4-DCA) pada konsentrasi 4 mg/L. Sedangkan, 1 *wellplate* lainnya berfungsi sebagai kontrol negatif digunakan media air yaitu *dillution water*.

Setiap *wellplate* diisi dengan 24 embrio ikan zebra, di mana 1 embrio diletakkan dalam 1 sumuran. Sebanyak 4 sumuran dalam setiap *plate* digunakan sebagai kontrol internal dengan media berupa *dillution water*, sedangkan 20 sumuran lainnya diisi larutan uji sesuai konsentrasi yang telah dihitung. Sebelum embrio dimasukkan, larutan uji diinkubasi tanpa embrio dalam *wellplate* selama 24 jam dalam proses yang dikenal sebagai *pre-conditioning*. Tahapan ini bertujuan untuk menyiapkan kondisi lingkungan di dalam sumuran agar mendukung kestabilan selama proses pengujian toksisitas berlangsung.



Gambar 3. 18 Posisi *Wellplate* Uji Toksisitas pada Embrio Ikan Zebra
Sumber: OECD, 2013

Setelah tahap *pre-conditioning* selesai, larutan uji yang telah diinkubasi kemudian dibuang, dan sumuran dibersihkan menggunakan aquabides atau aquades yang sudah di sterilisasi. Selanjutnya, larutan uji yang baru dengan konsentrasi yang telah ditentukan dimasukkan kembali ke dalam setiap sumuran, dan proses pemaparan embrio dapat dilakukan. Selama pemaparan embrio berlangsung, suhu larutan dijaga konsisten pada $26 \pm 1^{\circ}\text{C}$ dan pH larutan dipertahankan dalam rentang 6,5 – 8,5 sesuai pedoman yang ditetapkan oleh OECD 2013.



Gambar 3. 19 Proses Peletakan Embrio Ikan Zebra pada *Wellplate*
Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2024

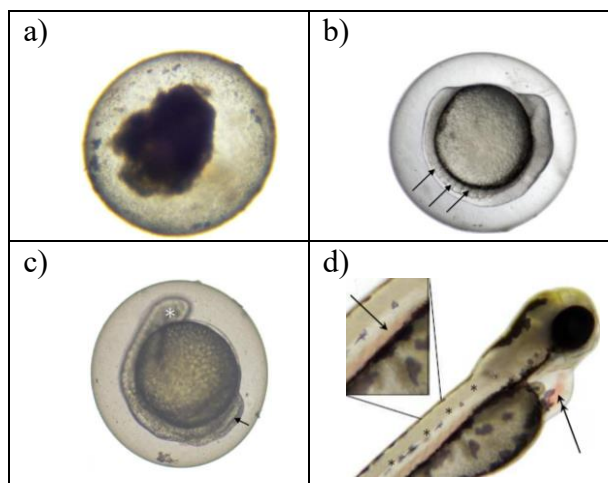


Gambar 3. 20 Proses Pemaparan Larutan Uji pada Embrio Ikan Zebra
Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2024

3.4.1.6 Pengamatan Embrio

Pengamatan terhadap embrio ikan zebra dilakukan secara berkala pada jam ke-24, 48, 72, dan 96 setelah embrio terpapar larutan uji. Pengamatan ini bertujuan untuk mengevaluasi tingkat kelangsungan hidup,

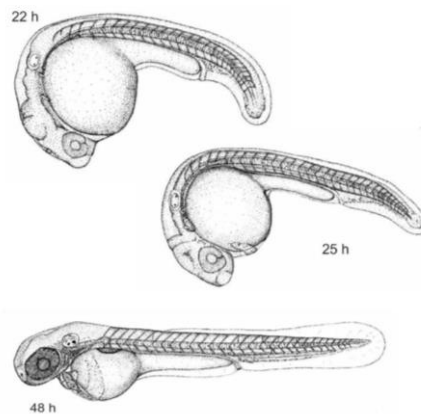
kematian, serta kemungkinan adanya abnormalitas morfologis pada embrio selama masa pemaparan (OECD, 2013). Terdapat 4 indikator utama yang diamati untuk menentukan kondisi hidup atau mati embrio meliputi terjadinya koagulasi, pembentukan somit, pelepasan ekor (*tail-bud*) dari kantung kuning telur (*yolk*), serta adanya denyut jantung. Selain itu, kemampuan embrio untuk menetas (*hatching*) mulai diamati sejak 48 jam setelah pemaparan.



Gambar 3. 21 Parameter Embrio Ikan Zebra yang Diberikan Larutan Uji:
(a) Koagulasi Embrio, (b) Pembentukan somit, (c) Kegagalan
Lepasnya Bagian Tail Bud dari Yolk, (d) Detak Jantung
Sumber: OECD, 2013

Abnormalitas embrio yang diamati meliputi bentuk sumbu tubuh dan ekor, pigmentasi, pembentukan otak, rahang, mata, gelembung pendengaran, pembuluh darah, jantung dan sirkulasi (termasuk adanya koagulasi darah), struktur notokorda, somit, serta kondisi kantung kuning telur (Kordinata, 2017). Embrio dikatakan dalam kondisi normal apabila pada jam ke-24 telah terbentuk somit dan menunjukkan gerakan spontan. Jika hingga waktu tersebut belum terbentuk somit, maka hal tersebut dapat mengindikasikan keterlambatan atau kegagalan perkembangan, dan embrio dianggap tidak berkembang. Pelepasan ekor dari kantung kuning telur mulai dapat diamati sejak 24 jam pertama setelah pemaparan, seiring dengan memanjang dan berkembangnya tubuh embrio. Perkembangan ikan zebra mulai jam ke-22 sampai ke-48 dapat dilihat dalam Gambar 3.20. Detak jantung embrio

umumnya dapat teramati pada jam ke-48. Apabila tidak terdeteksi adanya denyut jantung setelah waktu tersebut, maka embrio dinyatakan mati. Seluruh proses pengamatan dilakukan di dalam wellplate selama total 96 jam uji. Pengamatan dilakukan setiap 24 jam menggunakan Miskroskop Stereo (ZEISS) Axiocam 208 Color dengan perbesaran 40 kali. Empat indikator utama yang menjadi acuan dalam menilai kondisi embrio sebagaimana tercantum dalam pedoman OECD 2013.



Gambar 3. 22 Perkembangan Ikan Zebra Jam ke-22 Sampai ke-48
Sumber: OECD, 2013



Gambar 3. 23 Proses Pengamatan Embrio Ikan Zebra
Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2024

Tabel 3. 11 Pengamatan Toksisitas Akut Embrio Ikan Zebra

	Waktu pengamatan			
	24 jam	48 jam	72 jam	96 jam
Koagulasi embrio	+	+	+	+
Penghambatan pembentukan somit	+	+	+	+
Tidak terlepasnya ekor	+	+	+	+
Lemahnya detak jantung	+	+	+	+

Sumber: (OECD, 2013)

3.4.2 Uji Parameter Kimia

Pengujian parameter mengacu pada Lampiran VI Salinan Peraturan Pemerintah Nomor 22 Tahun 2021 Baku Mutu Air Nasional, yaitu parameter Chemical Oxygen Demand (COD), timbal (Pb), sulfat (SO_4), dan kromium heksavalen (Cr^{6+}).

Tabel 3. 12 Baku Mutu Limbah Cair pada Air Sungai

Parameter	Satuan	Metode	Acuan
COD	mg/L	Refluks tertutup secara spektrofotometri	SNI 6989.2:2009
Pb	mg/L	Spektrofotometri Serapan Atom (SSA)	SNI 6989.84:2019
SO_4	mg/L	Turbidimetri	SNI 06-6989.20:2004
Cr^{6+}	mg/L	Spektrofotometri	SNI 6989.71:2009

3.5 Analisis Data

Analisis terhadap data yang diperoleh dari uji toksisitas serta uji parameter kimia sampel air Sungai Citarum. Analisis ini untuk mengevaluasi kondisi kualitas air serta potensi toksisitas yang mungkin dapat mempengaruhi ekosistem akuatik dan kesehatan manusia.

3.5.1 Uji Toksisitas

Uji toksisitas dilakukan untuk mengevaluasi dampak paparan terhadap organisme uji, baik dari segi efek akut maupun kronis. Proses ini bertujuan untuk mendapatkan data yang dapat digunakan dalam menilai tingkat toksisitas sampel air sungai yang diuji. Hasil uji ini akan dianalisis lebih lanjut melalui dua pendekatan utama, yaitu analisis indikator perkembangan embrio dan nilai LC₅₀.

3.5.1.1 Analisis Indikator Perkembangan Embrio

Data yang dikumpulkan melalui pengamatan mencakup jumlah embrio yang mengalami perkembangan normal, kelainan, koagulasi, menunjukkan detak jantung, pembentukan somit, pelepasan *tail-bud*, serta kematian. Pengamatan terhadap malformalitas pada embrio ikan zebra setelah dilakukannya pemaparan dengan bahan uji. Abnormalitas mayor didefinisikan sebagai kelainan yang muncul dengan persentase kejadian sebesar $\geq 50\%$. Hasil pengamatan toksisitas akut embrio ikan zebra umumnya disajikan dalam bentuk kualitatif berdasarkan indikator yang telah ditetapkan dalam pedoman OECD 2013. Namun, beberapa peneliti juga menambahkan parameter kuantitatif, seperti persentase embrio yang mengalami kematian atau abnormalitas untuk mempermudah proses analisis data (Hayati, 2023).

1. % Kematian Embrio

$$= \frac{\text{jumlah kematian embrio}}{\text{jumlah total embrio yang digunakan}} \times 100\%$$

2. % Koagulasi

$$= \frac{\text{jumlah embrio yang koagulasi}}{\text{jumlah total embrio yang digunakan}} \times 100\%$$

3. % Pembentukan Somit

$$= \frac{\text{jumlah embrio yang terbentuk somit}}{\text{jumlah total embrio yang hidup}} \times 100\%$$

4. % Pelepasan Tail-Bud

$$= \frac{\text{jumlah embrio dengan pelepasan tail – bud}}{\text{jumlah total embrio yang hidup}} \times 100\%$$

5. % Detak Jantung

$$= \frac{\text{jumlah embrio dengan detak jantung terlihat}}{\text{jumlah total embrio yang hidup}} \times 100\%$$

6. % Kelainan

$$= \frac{\text{jumlah embrio dengan kelainan}}{\text{jumlah total embrio yang hidup}} \times 100\%$$

3.5.1.2 Lethal Concentration 50 (LC₅₀)

Penentuan LC₅₀ dilakukan untuk mengetahui tingkat toksisitas suatu zat terhadap organisme uji. LC₅₀ merupakan konsentrasi zat kimia dalam media pengujian yang mampu menyebabkan kematian pada 50% populasi organisme uji dalam kurun waktu tertentu. Dalam metode FET yang menggunakan embrio ikan zebra, LC₅₀ digunakan untuk mengevaluasi respon organisme terhadap perubahan fisik di perairan serta terhadap kandungan bahan kimia dalam air Sungai Citarum yang diuji pada berbagai konsentrasi. Semakin kecil nilai LC₅₀, maka semakin tinggi tingkat toksisitas zat tersebut terhadap organisme (Yulianto & Amalloyah, 2017). Klasifikasi tingkat toksisitas suatu zat didasarkan pada nilai LC₅₀ menurut standar dari *US Fish and Wildlife Service*.

Tabel 3. 13 Kategori Toksisitas Akut Berdasarkan *Fish and Wildlife Service*

Tingkat Toksisitan	LC ₅₀ -96 jam (µg/mL)
Super toxic	0,01-0,1
Highly toxic	0,1-1
Moderately toxic	1-10
Slightly toxic	10-100
Practicaly non-toxic	100-1000
Relative harmless	>1000

Sumber: (Johnson & Finley, 1980)

Data pengamatan terhadap kondisi hidup atau mati embrio ikan zebra dicatat pada interval 24, 48, 72, 96 jam setelah pemaparan. Informasi mengenai nilai LC₅₀ secara kuantitatif. Nilai LC₅₀ ditentukan berdasarkan persamaan regresi linear antara nilai probit dan logaritma konsentrasi ($y = mx$

+ b), di mana sumbu x menunjukkan nilai log konsentrasi badan uji dan sumbu y merupakan nilai probit dari persentase kematian. Perhitungan nilai LC₅₀ dilakukan menggunakan perangkat lunak *Statistical Package for the Social Science* (SPSS) (Rusli et al., 2020).

Selanjutnya, data yang diperoleh akan dianalisis secara statistik menggunakan metode Analysis of Variance (ANOVA) dengan rancangan Faktorial RAK (Rancangan Acak Kelompok) pada tingkat signifikansi 95%. Apabila hasil analisis menunjukkan perbedaan yang signifikan, maka akan dilanjutkan dengan Uji Duncan sebagai analisis lanjutan. Proses analisis lanjutan ini juga dilakukan menggunakan perangkat lunak SPSS (Rusli et al., 2020).

$$y = a + bx$$

Dimana :

y = Jumlah biota uji

x = Nilai LC₅₀

a = Nilai regresi linear “a”

b = Nilai regresi linear “b”

3.5.2 Uji Parameter Kimia

Uji parameter kimia pada sampel air merupakan langkah penting dalam menilai kualitas air. Hasil dari perhitungan statistika deskriptif kemudian akan dibandingkan dengan baku mutu yang berlaku untuk memahami kualitas air secara keseluruhan, serta untuk mengidentifikasi pola dan potensi masalah yang mungkin tidak terlihat pada pengujian individu.

3.5.2.1 Statistika Deskriptif

Statistika deskriptif merupakan metode analisis data yang digunakan untuk menggambarkan atau meringkas data yang telah diperoleh dari hasil pengukuran di laboratorium secara sistematis dan informatif. Dalam konteks penelitian ini, statistika deskriptif digunakan untuk menyajikan hasil pengujian parameter kimia air Sungai Citarum yang meliputi *Chemical Oxygen Demand* (COD), Timbal (Pb), Sulfat (SO₄), dan Kromium Hexavalen (Cr₆₊) dari tiga titik pengambilan sampel yang berbeda. Analisis ini dilakukan

untuk mengevaluasi kurva kalibrasi berdasarkan hasil penelitian di laboratorium, yang selanjutnya divisualisasikan dalam bentuk grafik untuk setiap parameter yang diuji untuk mengetahui sebaran serta kecenderungan nilai pada setiap lokasi.

Pengolahan data dilakukan menggunakan Microsoft Excel dan hasilnya juga divisualisasikan dalam bentuk kombinasi diagram batang dan garis untuk mempermudah interpretasi perbandingan antar titik sampling. Dengan menerapkan statistika deskriptif, pola dan tren pencemaran di Sungai Citarum dapat diidentifikasi secara lebih terstruktur. Melalui pendekatan ini, peneliti dapat memperoleh gambaran awal mengenai tingkat pencemaran di masing-masing lokasi sebelum dilakukan analisis lebih lanjut dibandingkan dengan baku mutu yang berlaku.

3.5.2.2 Baku Mutu

Dalam konteks pengujian kualitas air Sungai Citarum, statistika deskriptif digunakan untuk menganalisis data parameter kimia seperti *Chemical Oxygen Demand* (COD), timbal (Pb), sulfat (SO₄), dan kromium heksavalen (Cr₆₊). Hasil analisis ini kemudian dibandingkan dengan baku mutu yang telah ditetapkan oleh pemerintah, yaitu sesuai dengan Lampiran VI Peraturan Pemerintah Nomor 22 Tahun 2021 tentang Baku Mutu Air Nasional.

Tabel 3. 14 Baku Mutu Parameter Kimia

No	Parameter	Unit	Kelas 2	Kelas 3	Kelas 4
1	Chemical Oxygen Demand (COD)	mg/L	25	40	80
2	Timbal (Pb)	mg/L	0,03	0,03	0,5
3	Sulfat (SO ₄)	mg/L	300	300	400
4	Kromium Heksavalen (Cr ₆₊)	mg/L	0,05	0,05	1

3.5.3 Keterkaitan Antara Dua Hasil Uji

Pada analisis data *Fish Embryo Toxicity* (FET) menggunakan ikan zebra (*Danio rerio*), dilakukan dua jenis uji utama, yaitu uji toksisitas dan uji parameter kimia. Uji toksisitas mencakup analisis indikator pengamatan terhadap perkembangan embrio, yang meliputi pengamatan terhadap jumlah embrio yang mengalami perkembangan normal, kelainan, koagulasi, adanya detak jantung, pembentukan somit, pelepasan *tail-bud*, dan kematian. selain itu, dilakukan perhitungan nilai LC_{50} , yaitu konsentrasi bahan uji yang menyebabkan kematian 50% dari populasi organisme uji dalam waktu tertentu, sebagai parameter untuk mengukur tingkat toksisitas akut sampel air sungai. Sementara itu, uji parameter kimia dilakukan untuk menganalisis kualitas air melalui pendekatan statistika deskriptif dan perbandingan dengan baku mutu yang sesuai regulasi. Parameter kimia seperti *Chemical Oxygen Demand* (COD), timbal (Pb), sulfat (SO_4), dan kromium heksavalen (Cr^{6+}) dianalisis untuk memahami sifat kimiawi sampel yang berkontribusi terhadap tingkat toksisitas.

Keterkaitan antara kedua hasil uji ini sangat penting untuk menentukan hubungan antara karakteristik kimiawi sampel dan dampaknya terhadap perkembangan embrio ikan zebra. Hasil analisis parameter kimia memberikan gambaran mengenai potensi bahan pencemar yang terkandung dalam sampel, sedangkan hasil uji toksisitas menggambarkan efek biologis dari bahan kimia tertentu pada hewan uji. Kombinasi kedua hasil uji ini memungkinkan peneliti untuk mengidentifikasi faktor penyebab utama toksisitas serta mengevaluasi tingkat risiko lingkungan dari paparan bahan pencemar terhadap biota akuatik. Dengan demikian, integrasi kedua hasil uji tersebut memberikan dasar ilmiah yang kuat dalam pengelolaan kualitas lingkungan perairan.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Uji Toksisitas

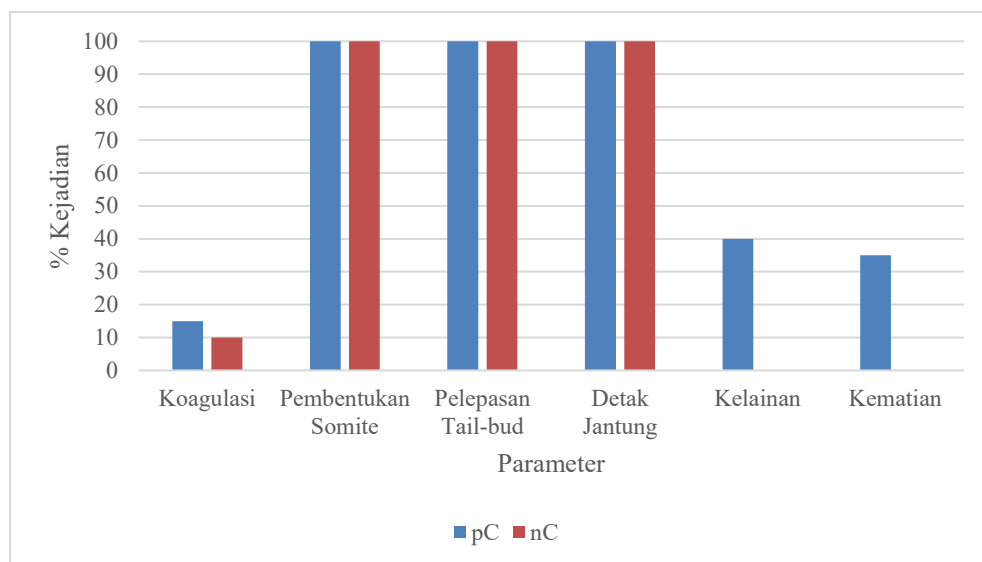
Uji toksisitas berpengaruh dalam mengidentifikasi zat pencemar terhadap sistem biologi, dalam hal ini embrio ikan zebra (*Danio rerio*), yang berfungsi sebagai hewan uji. Pengujian ini dilakukan untuk mengevaluasi hubungan antara dosis paparan zat toksik dengan respons biologis yang ditimbulkan, sehingga dapat diperoleh informasi mengenai tingkat toksisitas dari sampel air Sungai Citarum. Pelaksanaan uji toksisitas ini mengacu pada metode yang sesuai dengan panduan OECD Tahun 2013.

4.1.1 Data Uji Validitas

Pada uji validitas embrio ikan zebra, persentase embrio yang fertil merupakan salah satu parameter penting untuk menentukan kelayakan data pengamatan. Berdasarkan pedoman OECD 2013, jumlah embrio yang fertil harus $\geq 70\%$ dari total embrio yang digunakan dalam pengujian. Dalam penelitian ini, seluruh batch hasil breeding menghasilkan embrio dengan tingkat fertilitas $\geq 70\%$, sehingga dapat dinyatakan bahwa kondisi embrio memenuhi kriteria yang baik dan layak untuk digunakan dalam proses pengamatan lebih lanjut.

Pada metode FET dengan embrio ikan zebra, kontrol negatif (nC) dan kontrol positif (pC) digunakan untuk menjamin validitas hasil. Kontrol negatif memastikan bahwa media uji dan kondisi lingkungan tidak memberikan efek toksik, dengan menggunakan air tanpa zat pencemar *dilution water* (aquades steril atau aquabidest), sehingga perkembangan embrio normal menunjukkan bahwa efek pada perlakuan murni disebabkan oleh zat uji. Embrio yang terdapat pada kelompok kontrol negatif $> 90\%$ bertahan hidup atau mortalitas minimal 10% sampai dengan akhir pengamatan di jam ke-96. Sementara itu, kontrol positif menggunakan zat toksik dengan penambahan (4,0 mg/L 3,4-*dichloroanilin*). Validitas uji

embrio yang terdapat pada kelompok positif ini harus menghasilkan tingkat mortalitas minimal 30% sampai dengan akhir pengamatan di jam ke-96.



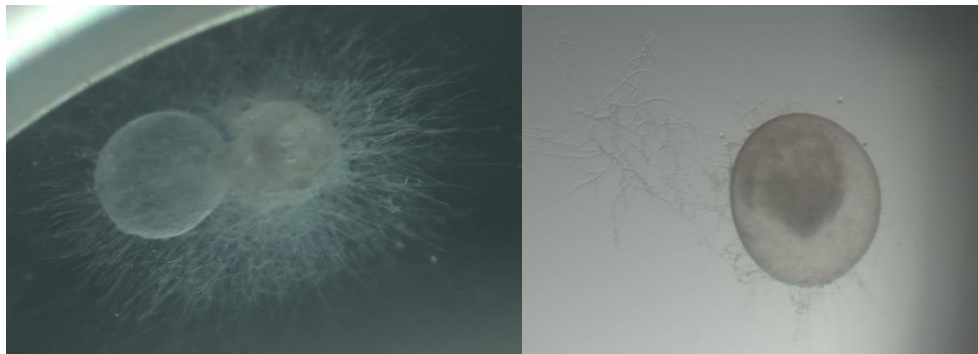
Gambar 4. 1 Grafik Hasil Pengamatan Kontrol

Grafik menunjukkan persentase kejadian koagulasi lebih tinggi pada pC 15% dan nC 10%. Pada pembentukan somit, pelepasan *tail-bud*, dan detak jantung menunjukkan persentase kejadian mencapai 100% baik pada pC dan nC, perkembangan normal embrio tanpa adanya gangguan. Data hasil uji validitas menunjukkan bahwa nC tidak menyebabkan kelainan maupun kematian pada embrio ikan zebra, dengan persentase 0% untuk kedua parameter. Hal ini sesuai dengan kriteria validitas OECD 2013, dimana tingkat mortalitas pada kontrol negatif harus berada di bawah 10%. Sementara itu, pC menunjukkan kelainan sebesar 40% dan tingkat kematian sebesar 35% yang melebihi ambang batas minimal 30% sebagai syarat validitas pC. Dengan demikian, baik nC maupun pC dalam pengujian ini dapat dinyatakan valid, sehingga data hasil uji dapat digunakan untuk analisis toksisitas lebih lanjut.

4.1.2 Karakteristik Parameter Uji Toksisitas

Dalam uji toksisitas menggunakan embrio ikan zebra, terdapat beberapa parameter yang diamati untuk menilai efek toksik, yaitu koagulasi, pembentukan somit, pelepasan *tail-bud*, detak jantung, *hatching*, dan

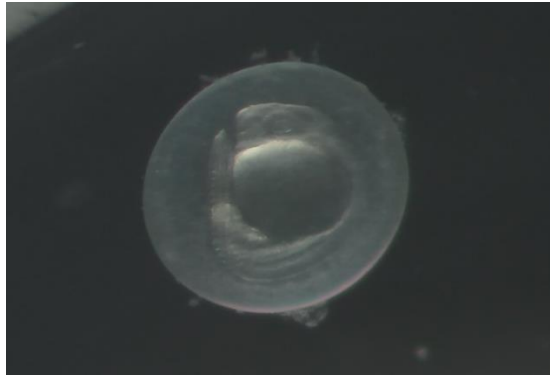
kelainan. Koagulasi pada embrio ikan zebra merujuk pada kondisi di mana embrio mengalami penggumpalan atau pengendapan yang dapat mengindikasikan adanya efek toksik dari zat yang diuji. Koagulasi biasanya terjadi sebagai respon terhadap stres lingkungan atau paparan senyawa beracun yang dapat mengganggu proses perkembangan normal embrio. Ciri dari koagulasi embrio ini dapat ditunjukkan dengan embrio tampak buram atau berwarna putih, tidak ada aktivitas biologis, struktur embrio menjadi tidak jelas atau hancur akibat gumpalan protein. Berdasarkan *OECD Test Guideline 236*, embrio yang mengalami koagulasi sebelum atau pada jam ke-24 pasca pembuahan (24 hpf) dinyatakan mati. Apabila tingkat koagulasi meningkat pada konsentrasi tertentu dari larutan uji, hal ini dapat menunjukkan adanya efek toksik yang signifikan terhadap embrio. Oleh karena itu, parameter ini sangat penting dalam mengevaluasi awal toksisitas suatu senyawa terhadap perkembangan organisme akuatik (OECD, 2013).



Gambar 4. 2 Koagulasi Embrio Ikan Zebra Setelah 24 Jam Paparan

Pembentukan somit merupakan proses penting dalam tahap awal perkembangan embrio ikan zebra yang terjadi selama tahap gastrulasi. Somit merupakan struktur berbentuk segmen yang terbentuk dari mesoderm dan berfungsi sebagai dasar untuk pembentukan berbagai jaringan dan organ, termasuk otot, tulang belakang, dan sistem saraf. Berdasarkan *OECD 236*, secara normal somit terbentuk dalam waktu 24 jam. Pengamatan dilakukan pada jam ke-24, 48, 72, dan 96. Apabila sampai di pengamatan jam ke-48 somit belum terbentuk kemungkinan embrionya sudah mati atau terjadi retardasi perkembangan (keterlambatan perkembangan atau hambatan dalam

proses biologis normal dari embrio). Ketidaknormalan dalam pembentukan somit dapat menunjukkan adanya efek teratogenik dari zat yang diuji (OECD, 2013).



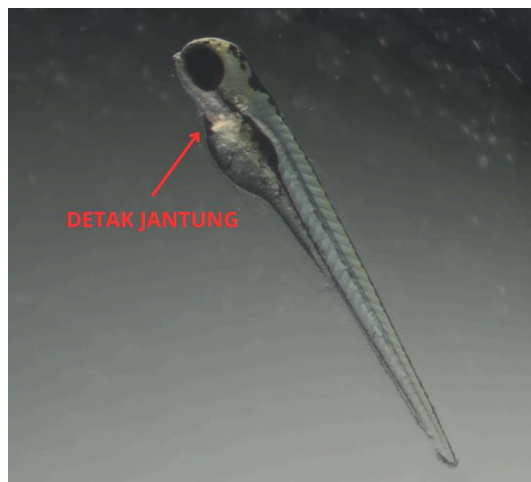
Gambar 4. 3 Pembentukan Somit Embrio Ikan Zebra pada Tahap Perkembangan Awal

Pelepasan *tail-bud* pada embrio ikan zebra merujuk pada proses di mana bagian ekor embrio yang dikenal sebagai *tail-bud* terpisah dari kantung kuning telur (*yolk sac*) dan mulai berkembang menjadi struktur tubuh yang lebih terdefinisi. Proses pemanjangan ekor terjadi ketidak sel-sel mesodermal dan ektodermal bergerak dan memanjang, menghasilkan pelepasan *tail-bud* dari struktur tubuh utama embrio. Berdasarkan OECD 236, secara normal pelepasan *tail-bud* terjadi di sekitar jam ke-24 hingga 48 jam pasca pembuahan. Embrio yang ekornya masih melekat hingga lebih dari 48 hpf dianggap mengalami keterlambatan perkembangan atau menunjukkan respons terhadap toksisitas seperti kelainan. Ketidakterlepasnya ekor menandakan bahwa perpanjangan sumbu tubuh tidak berjalan optimal, yang dapat menyebabkan kelainan struktural pada fase perkembangan selanjutnya (OECD, 2013).



Gambar 4. 4 Pelepasan *Tail-bud* Embrio Ikan Zebra dari Yolk

Detak jantung (*heartbeat*) pada embrio ikan zebra merupakan parameter fisiologis penting dalam uji toksisitas embrio ikan karena mencerminkan fungsi sistem kardiovaskular dan status kelangsungan hidup embrio. Dalam perkembangan normal, aktivitas detak jantung mulai dapat diamati pada kisaran 24-30 jam pasca pembuahan dan wajib sudah teramati paling lambat pada 48 hpf. Namun, dalam praktiknya, detak jantung embrio kadang baru terlihat setelah jam ke-48 dan pada beberapa kasus, aktivitas jantung yang tidak teratur dapat menyulitkan proses observasi. Selain itu, detak jantung yang tampak namun tidak disertai sirkulasi darah pada aorta abdominalis tidak dikategorikan sebagai kondisi fatal. Apabila detak jantung tidak dapat diamati secara langsung, pengamatan harus dilakukan dengan pembesaran minimal 80 kali selama durasi paling tidak 1 menit untuk memastikan keberadaan denyut jantung secara akurat. Ketiadaan detak jantung pada titik waktu pengamatan 48, 72, 96 hpf dicatat sebagai indikasi gangguan perkembangan atau kematian embrio. Oleh karena itu, parameter ini memiliki nilai diagnostik penting dalam menilai potensi toksik dari suatu senyawa terhadap sistem organ vital embrio (OECD, 2013; Kimmel et al., 1995).



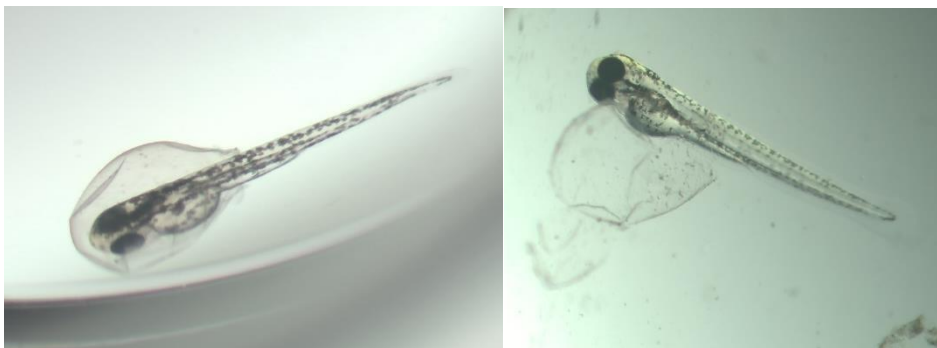
Gambar 4. 5 Detak Jantung Pada Larva Ikan Zebra di Jam Ke-96

Hatching pada embrio ikan zebra merujuk pada percepatan robeknya korion (selaput pelindung telur) yang memungkinkan larva untuk keluar dari telur. *Hatching* normal terjadi pada jam ke-48. Keterlambatan menetas di atas

72 hpf dapat menjadi indikasi adanya hambatan perkembangan atau efek toksik dari larutan uji berupa kematian (OECD, 2013). Proses ini dipicu oleh pergerakan yang dikenal dengan istilah *flipping*, yaitu pergerakan tidak normal yang terjadi pada embrio ikan zebra. *Flipping* ini biasanya terjadi sebagai respons terhadap stimulasi atau gangguan, seperti paparan zat kimia atau faktor eksternal lainnya yang mempengaruhi perkembangan embrio.

Proses *flipping* ini dapat dipengaruhi oleh sistem saraf (*neuroscience*) karena pergerakan tersebut sebagian besar dikendalikan oleh aktivitas otot dan saraf dalam tubuh embrio. Stimulasi berlebihan atau toksik pada pada sistem saraf embrio ikan zebra dapat mengakibatkan gangguan dalam koordinasi pergerakan, termasuk *flipping* lebih intens. Gangguan pada sistem saraf ini dapat menyebabkan percepatan robeknya korion, yang pada akhirnya mempercepat atau bahkan merusak proses *hatching*.

Pada kondisi normal, *hatching* terjadi setelah embrio mencapai perkembangan tertentu, dengan proses pemecahan korion yang dilakukan secara terkendali dan alami. Namun, pada paparan zat beracun atau bahan kimia dapat menyebabkan gangguan pada sistem saraf embrio, yang mengarah pada *flipping* yang tidak normal. Pergerakan ini dapat menyebabkan terjadinya *hatching* lebih awal atau terlambat, tergantung pada tingkat toksisitas dan gangguan yang terjadi. Jika toksisitasnya cukup tinggi, *flipping* dapat menyebabkan kerusakan pada embrio dan menghalangi proses *hatching* yang normal.



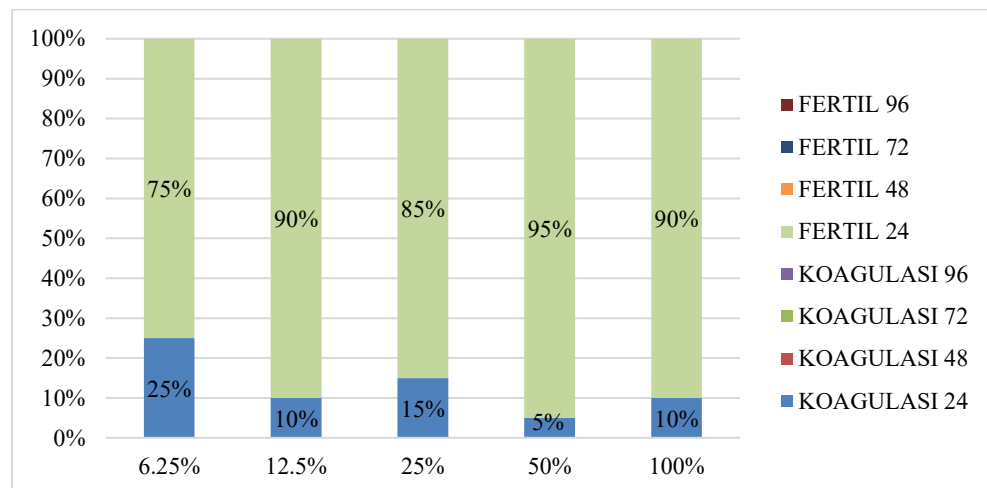
Gambar 4. 6 *Hatching* Embrio Ikan Zebra

4.1.3 Hasil Uji Toksisitas

Grafik berikut menunjukkan persentase keberhasilan perkembangan setiap parameter pada masing-masing waktu pengamatan. Visualisasi ini memberikan gambaran bagaimana tingkat perkembangan embrio pada masing-masing konsentrasi. Hasil ini menjadi dasar dalam menilai ada tidaknya efek toksik dari sampel terhadap perkembangan awal embrio ikan zebra.

Tabel 4. 1 Data Jumlah Embrio Koagulasi dan Fertil per Konsentrasi dan Waktu Sampel 1

KONSENTRASI	KOAGULASI				FERTIL			
	24	48	72	96	24	48	72	96
6.25%	5	0	0	0	15	0	0	0
12.5%	2	0	0	0	18	0	0	0
25%	3	0	0	0	17	0	0	0
50%	1	0	0	0	19	0	0	0
100%	2	0	0	0	18	0	0	0



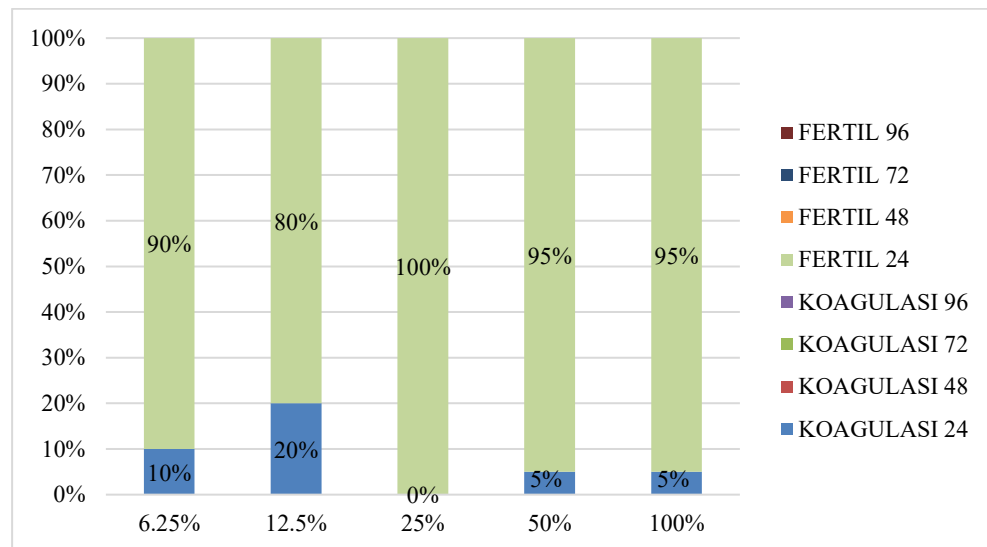
Gambar 4. 7 Grafik Perbandingan Embrio Fertil dan Koagulasi pada Setiap Konsentrasi Sampel 1

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap embrio ikan zebra pada Sampel 1 untuk kelima konsentrasi (6,25%, 12,5% 25%, 50%, dan 100%) pada jam ke-24, diketahui bahwa koagulasi cenderung tinggi pada konsentrasi rendah.

Pada konsentrasi 6,25% terdapat 5 embrio koagulasi, dengan embrio fertil yang hidup hanya 75%. Sedangkan pada konsentrasi tertinggi yaitu 100% hanya ditemukan 2 embrio koagulasi dengan embrio fertil yang hidup sebesar 90%.

Tabel 4. 2 Data Jumlah Embrio Koagulasi dan Fertil per Konsentrasi dan Waktu Sampel 2

KONSENTRASI	KOAGULASI				FERTIL			
	24	48	72	96	24	48	72	96
6.25%	2	0	0	0	18	0	0	0
12.5%	4	0	0	0	16	0	0	0
25%	0	0	0	0	20	0	0	0
50%	1	0	0	0	19	0	0	0
100%	1	0	0	0	19	0	0	0



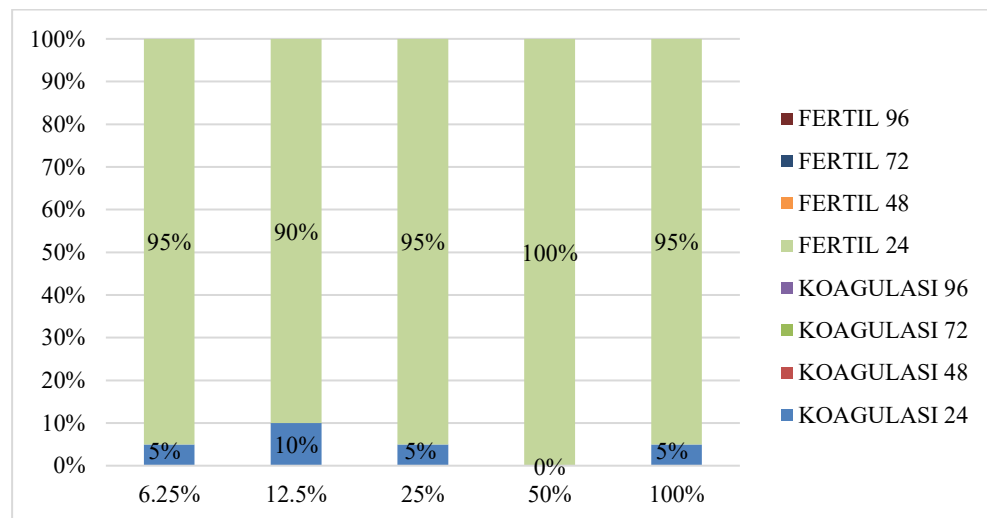
Gambar 4. 8 Grafik Perbandingan Embrio Fertil dan Koagulasi pada Setiap Konsentrasi Sampel 2

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap embrio ikan zebra pada Sampel 2 untuk kelima konsentrasi (6,25%, 12,5%, 25%, 50%, dan 100%) pada jam ke-24, diketahui bahwa koagulasi cenderung tinggi pada konsentrasi rendah. Pada konsentrasi 12,5% terdapat 4 embrio koagulasi, dengan embrio fertil yang hidup hanya 90%. Sedangkan pada konsentrasi tertinggi yaitu 100%

hanya ditemukan 1 embrio koagulasi dengan embrio fertil yang hidup sebesar 95%. Pada konsentrasi 25% tidak ditemukan embrio yang terkoagulasi, yang berarti terjadi 100% embrio fertil.

Tabel 4. 3 Data Jumlah Embrio Koagulasi dan Fertil per Konsentrasi dan Waktu Sampel 3

KONSENTRASI	KOAGULASI				FERTIL			
	24	48	72	96	24	48	72	96
6.25%	1	0	0	0	19	0	0	0
12.5%	2	0	0	0	18	0	0	0
25%	1	0	0	0	19	0	0	0
50%	0	0	0	0	20	0	0	0
100%	1	0	0	0	19	0	0	0

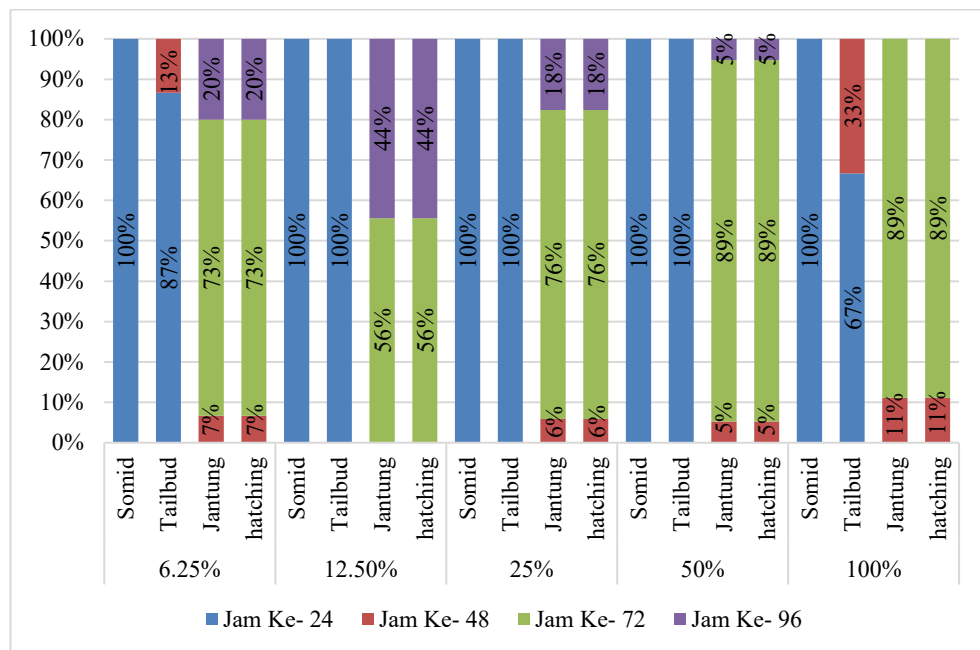


Gambar 4. 9 Grafik Perbandingan Embrio Fertil dan Koagulasi pada Setiap Konsentrasi Sampel 3

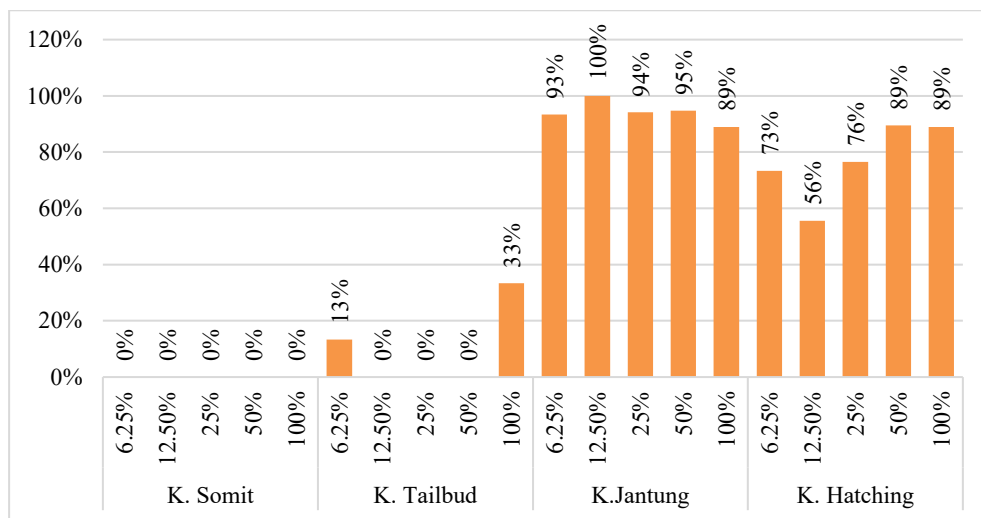
Berdasarkan hasil pengamatan terhadap embrio ikan zebra pada sampel 3 untuk kelima konsentrasi (6,25%, 12,5% 25%, 50%, dan 100%) pada jam ke-24, diketahui bahwa koagulasi cenderung tinggi pada konsentrasi rendah. Pada konsentrasi 12,5% terdapat 2 embrio koagulasi, dengan embrio fertil yang hidup hanya 90%. Sedangkan pada konsentrasi tertinggi yaitu 100% hanya ditemukan 1 embrio koagulasi dengan embrio fertil yang hidup sebesar

95%. Pada konsentrasi 50% tidak ditemukan embrio yang terkoagulasi, yang berarti terjadi 100% embrio fertil.

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa pada konsentrasi rendah (6,25% dan 12,5%) jumlah embrio yang mengalami koagulasi justru lebih tinggi dibandingkan pada konsentrasi yang lebih tinggi. Fenomena ini diduga berkaitan dengan mekanisme adsorpsi partikel larutan uji terhadap embrio. Pada konsentrasi rendah, terdapat pengenceran yang lebih tinggi, sehingga partikel-partikel uji dalam limbah air sungai menjadi lebih tersebar dan terlarut secara homogen, yang memungkinkan adsorpsi lebih efektif ke permukaan embrio, dan lebih mudah larutan menembus dinding korion, sehingga meningkatkan efek toksik. Sebaliknya, pada konsentrasi tinggi hingga 100% (tanpa pengenceran), kandungan padatan tersuspensi dan partikel limbah dalam larutan cenderung lebih pekat dan tidak larut sempurna, sehingga kemungkinan partikel menempel atau terserap oleh embrio menjadi lebih rendah karena larutan tidak mudah menembus dinding korion. Hal ini menyebabkan efek toksik yang ditimbulkan justru lebih kecil dibandingkan konsentrasi rendah. Oleh karena itu, perlu dipertimbangkan perlakuan awal terhadap sampel air limbah, seperti penyaringan menggunakan kertas saring Whatman, untuk menghilangkan partikel kasar atau padatan tersuspensi yang dapat mengganggu homogenitas larutan uji. Penyaringan ini diharapkan dapat memberikan hasil pengamatan yang lebih akurat terhadap zat toksik yang terlarut dalam limbah air sungai.



Gambar 4. 10 Grafik Perkembangan Terbentuknya Embrio Sampel 1

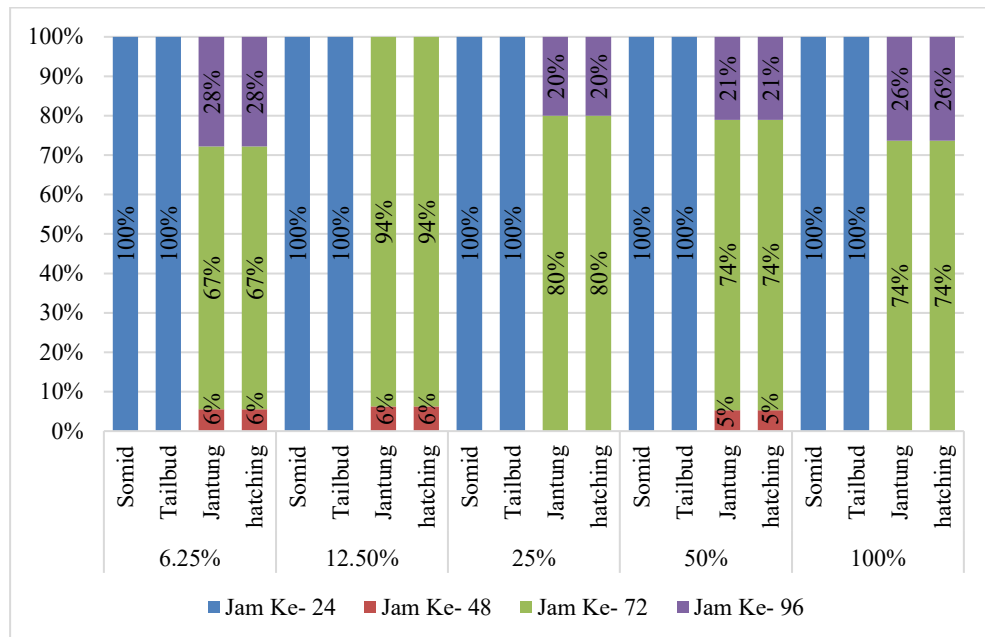


Gamb ar 4. 11 Grafik (%) Kelainan dan Keterlambatan Perkembangan Embrio Sampel 1

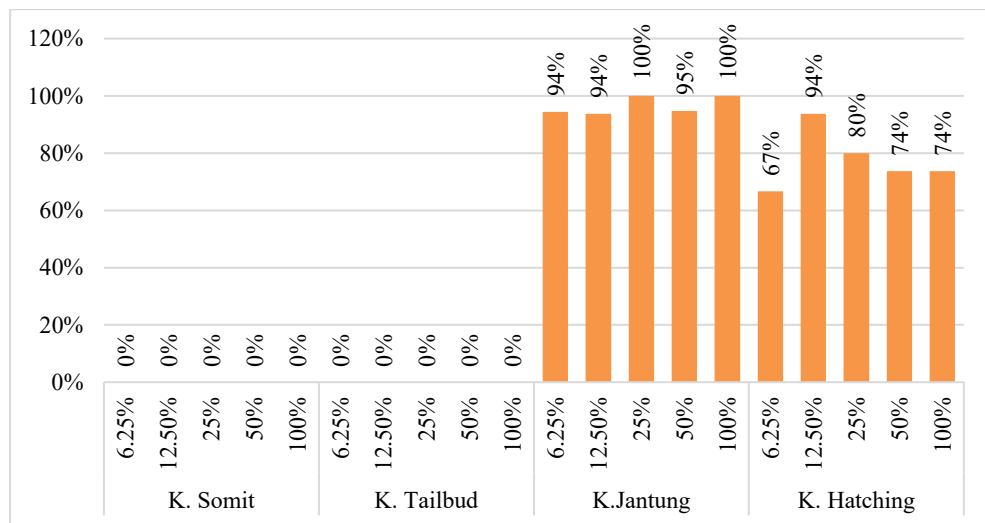
Berdasarkan grafik perkembangan embrio (Gamar 4.10) pada Sampel 1, diketahui bahwa pembentukan somit terjadi secara normal pada jam ke-24 dengan tingkat keberhasilan 100% di seluruh konsentrasi (6,25% hingga 100%). Namun, pada tahap pembentukan *tail-bud*, hanya konsentrasi 12,5%, 25%, dan 50% yang menunjukkan pelepasan *tail-bud* sebesar 100% pada jam ke-24. Namun, pada konsentrasi 6,25% dan 100% terjadi pelepasan *tail-bud* hingga jam ke-48, hal ini belum dikatakan sebagai keterlambatan karena

masih dalam waktu normal. Selanjutnya pengamatan terhadap detak jantung embrio pada jam ke-48 menunjukkan skala detak yang rendah, yaitu hanya sebesar 7% pada konsentrasi 6,25%, 6% pada konsentrasi 25%, 5% pada konsentrasi 50%, dan 11% pada konsentrasi 100%. Sementara sebagian besar embrio lainnya baru memperlihatkan aktivitas jantung secara lambat pada jam ke-72 dan 96. Konsentrasi 12,5% justru menunjukkan keterlambatan yang signifikan, karena tidak terdeteksi adanya detak jantung pada jam ke-48. Pola yang sama juga terlihat pada proses *hatching*, di mana keterlambatannya cenderung sejalan dengan keterlambatan detak jantung.

Pada grafik (%) kelainan dan keterlambatan perkembangan embrio pada Sampel 1 (Gambar 4.11), terlihat bahwa persentase pembentukan somit tidak mengalami keterlambatan. Pada sampel 1 ini tidak terjadi keterlambatan pelepasan *tail-bud*, pembentukan keseluruhan konsentrasi secara normal di jam ke-24 hingga 48. Kelainan detak jantung tampak sangat dominan di seluruh konsentrasi, dengan angka di atas 89%, bahkan mencapai 100% pada konsentrasi 12,5%. Keterlambatan *hatching* tertinggi pada konsentrasi 50% dan 100%, masing-masing sebesar 89%. Temuan ini mengindikasikan bahwa meskipun tingkat koagulasi menurun pada konsentrasi yang lebih tinggi, gangguan perkembangan organ dalam seperti jantung, serta keterlambatan menetas, justru meningkat pada konsentrasi tinggi. Hal ini menunjukkan adanya efek toksik dari senyawa uji terhadap perkembangan embrio secara sistemik pada konsentrasi yang lebih tinggi.



Gambar 4. 12 Grafik Perkembangan Terbentuknya Embrio Sampel 2

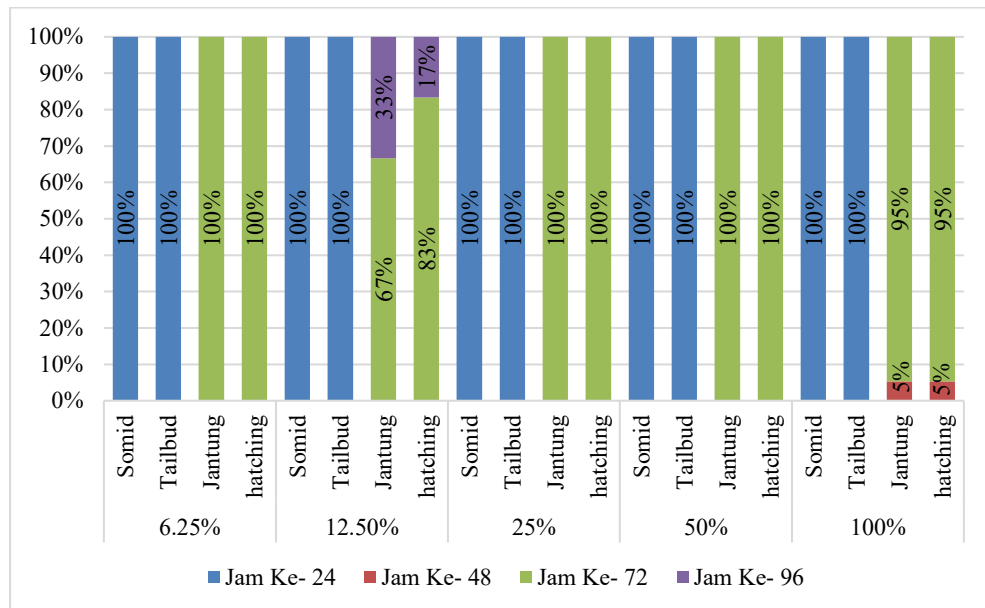


Gambar 4. 13 Grafik (%) Kelainan dan Keterlambatan Perkembangan Embrio Sampel 2

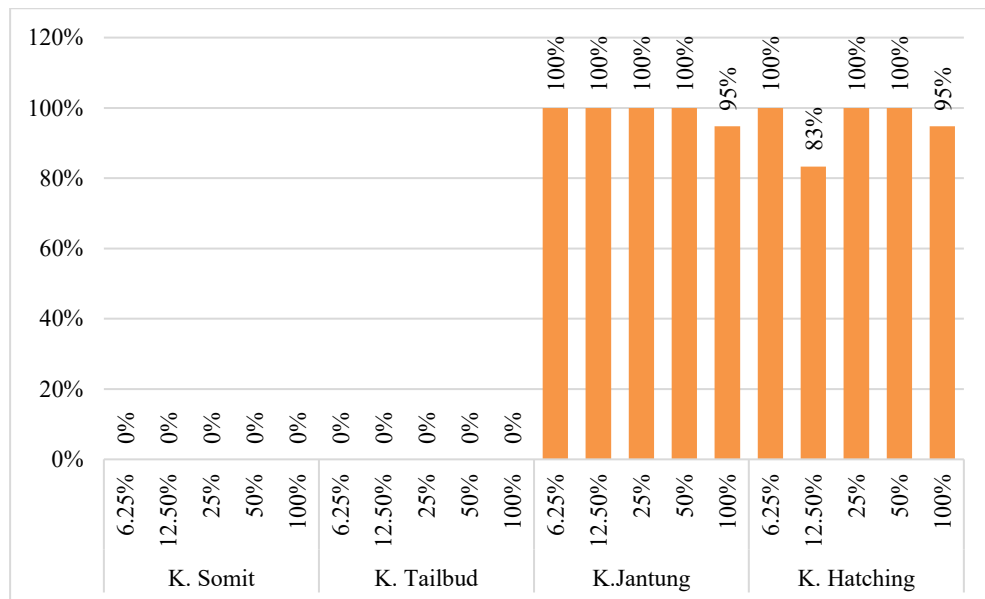
Berdasarkan grafik perkembangan embrio (Gamar 4.10) pada Sampel 2, diketahui bahwa pembentukan somit terjadi secara normal pada jam ke-24 dengan tingkat keberhasilan 100% di seluruh konsentrasi (6,25% hingga 100%). Tahapan selanjutnya, yaitu pembentukan *tail-bud* juga menunjukkan hasil yang serupa, di mana semua konsentrasi memperlihatkan pelepasan *tail-bud* sebesar 100% pada jam ke-24. Namun, perbedaan mulai terlihat pada perkembangan aktivitas detak jantung embrio pada jam ke-48 menunjukkan

skala detak yang rendah, yaitu hanya sebesar 6% pada konsentrasi 6,25%, 6% pada konsentrasi 12,5%, dan 5% pada konsentrasi 50%. Sementara sebagian besar embrio lainnya baru memperlihatkan aktivitas jantung secara lambat pada jam ke-72 dan 96. Konsentrasi 25% dan 100% justru menunjukkan keterlambatan yang signifikan, karena tidak terdeteksi adanya detak jantung pada jam ke-48. Pola yang sama juga terlihat pada proses *hatching*, di mana keterlambatannya cenderung sejalan dengan keterlambatan detak jantung.

Pada grafik (%) kelainan dan keterlambatan perkembangan embrio pada Sampel 2 (Gambar 4.12), terlihat bahwa persentase pembentukan somit tidak mengalami keterlambatan. Pada sampel 2 ini tidak terjadi keterlambatan pelepasan *tail-bud*, pembentukan keseluruhan konsentrasi secara normal di jam ke-24 hingga 48. Namun, kelainan detak jantung tampak sangat dominan di seluruh konsentrasi, dengan angka di atas 94%, bahkan mencapai 100% pada konsentrasi 25% dan 100%. Keterlambatan *hatching* tertinggi pada konsentrasi 12,5% sebesar 94%. Temuan ini mengindikasikan bahwa meskipun tingkat koagulasi menurun pada konsentrasi yang lebih tinggi, gangguan perkembangan organ dalam seperti jantung, serta keterlambatan menetas, justru tetap tinggi di seluruh konsentrasi, terutama konsentrasi 12,5%, 25%, dan 100%. Meskipun perkembangan awal seperti pelepasan *tail-bud* berlangsung normal tanpa keterlambatan, tingginya kelainan detak jantung dan keterlambatan *hatching* menguatkan indikasi bahwa senyawa uji memiliki efek toksik yang signifikan terhadap perkembangan fisiologis dan tahap akhir embrio secara sistemik.



Gambar 4. 14 Grafik Perkembangan Terbentuknya Embrio Sampel 3



Gambar 4. 15 Grafik (%) Kelainan dan Keterlambatan Perkembangan Embrio Sampel 3

Berdasarkan grafik perkembangan embrio (Gamar 4.10) pada Sampel 3, diketahui bahwa pembentukan somit terjadi secara normal pada jam ke-24 dengan tingkat keberhasilan 100% di seluruh konsentrasi (6,25% hingga 100%). Tahapan selanjutnya, yaitu pembentukan *tail-bud* juga menunjukkan hasil yang serupa, di mana semua konsentrasi memperlihatkan pelepasan *tail-bud* sebesar 100% pada jam ke-24. Namun, perbedaan mulai terlihat pada

tahap perkembangan detak jantung. Pada jam ke-48, detak jantung dalam kondisi normal hanya teramati dalam jumlah kecil pada konsentrasi 100% sebesar 5%. Sementara itu, pada konsentrasi lainnya (6,25%, 12,5%, 25%, dan 50%), tidak terdeteksi aktivitas jantung pada jam ke-48, dan sebagian besar embrio baru menunjukkan detak jantung yang melambat pada jam ke-72 dan 96. Pola yang sama juga terlihat pada proses *hatching*, di mana keterlambatannya cenderung sejalan dengan keterlambatan detak jantung.

Pada grafik (%) kelainan dan keterlambatan perkembangan embrio pada Sampel 3 (Gambar 4.15), terlihat bahwa persentase pembentukan somit tidak mengalami keterlambatan. Pada Sampel 3 ini tidak terjadi keterlambatan pelepasan *tail-bud*, pembentukan keseluruhan konsentrasi secara normal di jam ke-24 hingga 48. Namun, kelainan detak jantung tampak sangat dominan di seluruh konsentrasi, dengan angka di atas 95%, bahkan mencapai 100% pada konsentrasi 6,25%, 12,5%, 25% dan 50%. Keterlambatan *hatching* tertinggi pada konsentrasi 6,25%, 25%, dan 50% sebesar 100%. Temuan ini mengindikasikan bahwa meskipun tingkat koagulasi menurun pada konsentrasi yang lebih tinggi, gangguan perkembangan organ dalam seperti jantung, serta keterlambatan menetas, justru tetap tinggi di seluruh konsentrasi, terutama konsentrasi 12,5%, 25%, dan 100%. Meskipun perkembangan awal seperti pelepasan *tail-bud* berlangsung normal tanpa keterlambatan, tingginya kelainan detak jantung dan keterlambatan *hatching* menguatkan indikasi bahwa senyawa uji memiliki efek toksik yang signifikan terhadap perkembangan fisiologis dan tahap akhir embrio secara sistemik.

Berdasarkan hasil pengamatan pada Tabel 4.1 sampel dari tiga lokasi penelitian, yaitu Cilalawak (Sampel 1), Cilele (Sampel 2), dan Walahar (Sampel 3) menunjukkan bahwa embrio ikan zebra pada keseluruhan konsentrasi larutan uji (6,25%, 12,5%, 25%, 50%, 100%) serta nC tidak mengalami kelainan morfologis, baik dalam bentuk kelainan kematian maupun kelainan hidup. Namun pada pC ditemukan adanya kelainan morfologis berupa *Pericardial edema* dengan kematian yang teridentifikasi

sebesar 37,5%, sedangkan embrio yang hidup dengan kelainan tersebut mencapai 62,5%.

Pericardial edema adalah kondisi patologis yang ditandai dengan penumpukan cairan di sekitar kantong perikardium, yang mengelilingi jantung embrio. Kondisi ini sering muncul sebagai respons terhadap paparan senyawa kimia beracun atau perubahan lingkungan yang ekstrem. *Pericardial edema* dapat mengganggu fungsi normal jantung dan sirkulasi darah, yang pada akhirnya dapat memengaruhi pertumbuhan dan perkembangan embrio secara keseluruhan. Keberadaan kelainan ini pada kontrol positif menunjukkan bahwa senyawa toksik yang digunakan dalam pC berhasil memicu efek teratogenik, sehingga memperkuat validitas pengujian toksisitas. Di sisi lain, tidak adanya kelainan pada embrio dari larutan uji tiga lokasi sampling (Cilalawak, Cilele, dan Walahar) mengindikasikan bahwa air dari lokasi tersebut tidak mengandung senyawa toksik yang signifikan dan berada dalam batas aman bagi perkembangan embrio ikan zebra.

Tabel 4. 4 Persentase (%) Kelainan pada Embrio Ikan Zebra Setelah 96 Jam

Sampel	Konsentrasi	Embrio Abnormal (%)		Koagulasi (%)	Embrio Normal (%)
		Kematian	Hidup		
Kontrol	Kontrol Positif (pC)	15	25	15	10
	<i>Pericardial edema</i>	37.5	62.5	-	-
	Kontrol Negatif (nC)	0	0	10	90
Sampel 1	100%	0	0	0	100
	6,25%	0	0	25	75
	12,5%	0	0	10	90
	25%	0	0	15	85
	50%	0	0	5	95
	100%	0	0	10	90

Sampel	Konsentrasi	Embrio Abnormal (%)		Koagulasi (%)	Embrio Normal (%)
		Kematian	Hidup		
Sampel 2	6,25%	0	0	10	90
	12,5%	0	0	20	80
	25%	0	0	0	100
	50%	0	0	5	95
	100%	0	0	5	95
Sampel 3	6,25%	0	0	5	95
	12,5%	0	0	10	90
	25%	0	0	5	95
	50%	0	0	0	100
	100%	0	0	5	95



Gambar 4. 16 *Pericardial edema* pada pC

4.1.4 Konsentrasi Kematian LC₅₀

Lethal Concentration 50 (LC₅₀) adalah konsentrasi suatu zat kimia dalam media uji yang menyebabkan kematian pada 50% populasi organisme uji dalam kurun waktu tertentu. Dalam metode *Fish Embryo Toxicity (FET)* menggunakan ikan zebra (*Danio rerio*), LC₅₀ digunakan untuk mengetahui tingkat toksisitas air, baik akibat perubahan parameter fisik perairan maupun dari bahan kimia yang terkandung di dalam air Sungai Citarum pada berbagai

konsentrasi. Semakin rendah nilai LC_{50} dari suatu bahan kimia, maka semakin berbahaya zat tersebut terhadap organisme hidup yang terpapar.

Namun, dalam penelitian ini nilai LC_{50} tidak dapat dihitung. Hal ini disebabkan oleh tidak adanya korelasi yang signifikan atau tidak berbanding lurus antara peningkatan konsentrasi sampel dengan tingkat kematian embrio ikan zebra. Dengan kata lain, meskipun dilakukan pemaparan dengan berbagai konsentrasi, respons kematian tidak menunjukkan pola yang jelas atau konsisten yang dapat dianalisis secara statistik untuk menentukan nilai LC_{50} . Kondisi ini dapat terjadi apabila zat toksik dalam sampel tidak cukup kuat menyebabkan kematian, atau karena adanya faktor lain yang memengaruhi respons embrio sehingga hasil menjadi tidak terprediksi. Oleh karena itu, penentuan LC_{50} dalam konteks penelitian ini tidak memungkinkan untuk dilakukan.

4.1.5 Evaluasi Hasil Uji Toksisitas pada Ketiga Sampel

Evaluasi hasil uji toksisitas menggunakan metode *Fish Embryo Toxicity* (FET) pada ketiga sampel (Cilalawak, Cilele, dan Walahar) menunjukkan bahwa ketiga sampel tidak menyebabkan kelainan morfologis yang signifikan pada embrio ikan zebra. Hal ini terlihat dari tidak ditemukannya *Pericardial edema* maupun kelainan bentuk lainnya pada embrio yang terpapar larutan uji dari semua lokasi, serta tingkat kematian yang masih berada di bawah ambang batas. Validitas uji juga didukung dengan hasil nC yang menunjukkan 0% kematian dan kelainan, sesuai dengan standar OECD 2013, serta pC yang berhasil memicu kelainan dan kematian di atas ambang batas 30%. Namun demikian, hasil pengamatan menunjukkan adanya efek toksik secara fisiologis, terutama pada perkembangan organ dalam dan proses menetas embrio.

Fenomena tingginya koagulasi embrio pada konsentrasi rendah (6,25% dan 12,5%) diduga berkaitan erat dengan karakteristik fisikokimia larutan uji dan struktur biologis embrio ikan zebra, khususnya lapisan pelindung korion. Pada konsentrasi rendah, larutan uji cenderung lebih encer sehingga partikel-partikel limbah terdispersi secara merata dan memiliki ukuran relatif kecil.

Hal ini memungkinkan partikel tersebut lebih mudah menembus korion embrio melalui pori-pori yang berukuran sekitar $0,5 - 0,7 \mu\text{m}$ dan terdistribusi merata dengan jarak antar pori sekitar $1,5 - 3 \mu\text{m}$. Ketebalan korion sendiri mencapai $1,5 - 2,5 \mu\text{m}$ dan terdiri dari tiga lapisan pelindung, yang berfungsi menyaring atau menahan partikel berukuran besar atau molekul dengan berat $\geq 3 \text{ kDa}$ (Kim et al., 2024; Lee et al., 2007). Struktur pori ini memungkinkan terjadinya difusi pasif partikel kecil seperti nanopartikel logam berat atau senyawa organik terlarut ke dalam ruang dalam korion (*chorionic space*), bahkan pada embrio yang masih hidup.

Sebaliknya, pada konsentrasi tinggi 100%, padatan tersuspensi dalam larutan cenderung membentuk agregat atau menggumpal menjadi partikel yang lebih besar dari diameter pori korion. Akibatnya, partikel-partikel tersebut lebih sulit menembus lapisan pelindung embrio, sehingga interaksi langsung antara senyawa toksik dan bagian dalam embrio menurun. Hal ini menyebabkan tingkat koagulasi justru lebih rendah dibandingkan dengan konsentrasi rendah. Dengan demikian, perbedaan pola koagulasi antar konsentrasi dapat dijelaskan melalui mekanisme penetrasi partikel berdasarkan ukuran dan distribusinya dalam larutan serta keterbatasan fisik dari struktur korion embrio ikan zebra.

Namun pada konsentrasi tinggi muncul gangguan perkembangan seperti keterlambatan detak jantung dan proses menetas (*hatching*). Gangguan ini tidak hanya menyebabkan kematian langsung, tapi menunjukkan adanya efek racun yang bekerja perlahan dalam tubuh embrio. Munculnya kelainan tersebut di konsentrasi tinggi setelah waktu yang cukup lama masih belum sepenuhnya dipahami. Salah satu dugaan penyebabnya adalah karena di awal pengujian, partikel zat beracun dalam larutan yang pekat cenderung menggumpal dan mengendap di dasar wadah, sehingga tidak langsung berinteraksi dengan embri. Namun seiring waktu, partikel yang mengendap ini bisa saja perlahan larut kembali ke dalam air, atau pecah menjadi partikel lebih kecil karena suhu, gerakan inkubator, atau reaksi dengan air. Partikel yang ukurannya mengecil dan kembali tersuspensi dalam

air ini kemudian menjadi lebih mudah masuk ke tubuh embrio dan menyebabkan gangguan perkembangan secara bertahap. Dengan kata lain, pada konsentrasi tinggi, zat beracun tidak langsung bekerja di awal, tetapi efeknya baru terasa setelah waktu tertentu karena proses perubahan sifat partikel dalam media uji.

Pada sampel 1, ditemukan keterlambatan *hatching* tertinggi pada konsentrasi 50% dan 100%. Sampel 2, menunjukkan perkembangan morfologis yang normal, namun mengalami gangguan fisiologis yang cukup kuat, dengan keterlambatan detak jantung dan *hatching* pada konsentrasi 12,5%, 25%, dan 100%. Sedangkan Sampel 3, memperlihatkan pola serupa, dengan detak jantung yang sangat lambat hingga tidak terdeteksi pada sebagian besar konsentrasi, serta keterlambatan *hatching* hingga 100% pada beberapa konsentrasi.

Nilai LC_{50} tidak dapat ditentukan dalam penelitian ini karena tidak ditemukan pola peningkatan kematian embrio yang konsisten seiring peningkatan konsentrasi larutan uji. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa toksik dalam sampel air belum cukup kuat untuk menghasilkan efek letal 50%, atau adanya faktor lain yang mempengaruhi respons embrio. Secara keseluruhan, meskipun air dari ketiga lokasi tidak menyebabkan kelainan bentuk maupun kematian massal, keberadaan gangguan perkembangan fisiologis menunjukkan bahwa kualitas air Sungai Citarum masih mengandung senyawa toksik dalam kadar rendah hingga sedang yang tetap dapat mengganggu perkembangan embrio ikan secara sistemik. Oleh karena itu, pemantauan dan pengelolaan kualitas air secara berkelanjutan tetap perlu dilakukan.

4.2 Uji Parameter Kimia

Analisis parameter kimia air sungai, seperti Chemical Oxygen Demand (COD), timbal (Pb), sulfat (SO_4), dan kromium heksavalen (Cr^{6+}), penting untuk menilai tingkat pencemaran di Sungai Citarum. Pengujian ini dilakukan sesuai dengan SNI dan baku mutu berdasarkan Lampiran VI Peraturan Pemerintah Nomor 22 Tahun 2021 Tentang Baku Mutu Air

Nasional. Hasil pengujian akan dibandingkan dengan baku mutu untuk mengevaluasi kualitas air secara menyeluruh dan mengidentifikasi potensi masalah yang mungkin tidak terdeteksi secara langsung.

4.2.1 Chemical Oxygen Demand (COD)

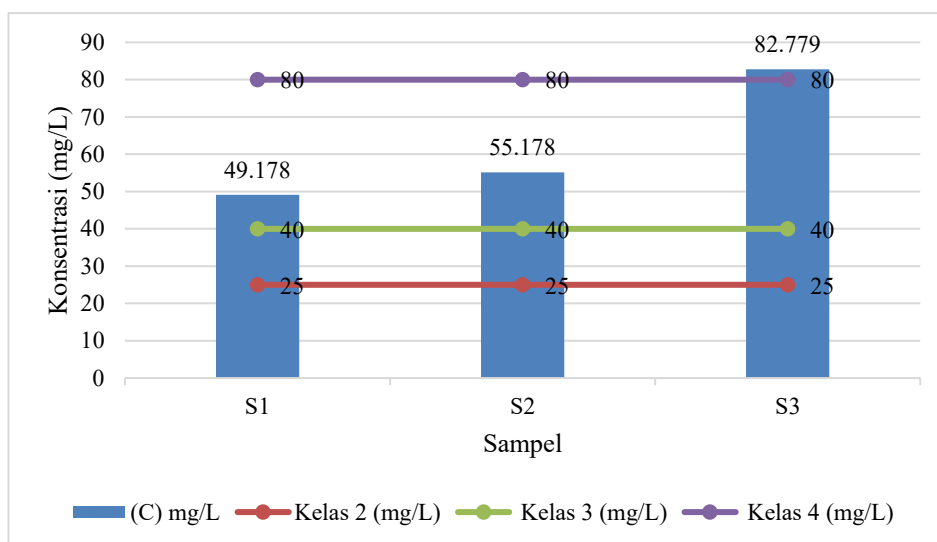
Hasil pengukuran parameter COD pada ketiga titik sampel yaitu Sampel 1 (Cilalawak), Sampel 2 (Cilele), dan Sampel 3 (Walahar), menunjukkan bahwa seluruh sampel telah melebihi ambang batas baku mutu kualitas air sesuai dengan PP Nomor 22 Tahun 2021. Pada titik Sampel 1, nilai COD tercatat 49,178 mg/L, sedangkan pada Sampel 2 sebesar 55,178 mg/L, dan yang tertinggi terdapat pada Sampel 3 sebesar 82,779 mg/L. Jika dibandingkan dengan baku mutu kelas 2 (25 mg/L) dan kelas 3 (40 mg/L), seluruh sampel telah melebihi baku mutu kelas 4 yang ditetapkan. Bahkan, sampel dari titik Sampel 3 melebihi baku mutu kelas 4 yang maksimal ambang batas sebesar 80 mg/L, sementara Sampel 1 dan Sampel 2 masih berada sedikit di bawah ambang batas tersebut.

Nilai COD yang tinggi mengindikasikan bahwa air di lokasi tersebut memiliki kandungan bahan organik yang cukup besar dan memerlukan oksigen dalam jumlah tinggi untuk proses penguraian secara kimiawi. Hal ini mencerminkan adanya potensi pencemaran organik yang signifikan, baik yang berasal dari limbah domestik, limbah industri, maupun limbah pertanian. Secara visual, grafik perbandingan menunjukkan bahwa konsentrasi COD untuk semua sampel jauh di atas garis baku mutu kelas 2 dan kelas 3, serta sangat mendekati atau bahkan melampaui kelas 4 pada Sampel 3. Hal ini menunjukkan bahwa kualitas air pada ketiga lokasi tidak memenuhi syarat sebagai sumber air untuk berbagai peruntukan kelas tertentu.

Tabel 4. 5 Perbandingan Hasil COD dengan Baku Mutu

Chemical Oxygen Demand (COD)				
Sampel	(C) mg/L	Baku mutu		
		Kelas 2 (mg/L)	Kelas 3 (mg/L)	Kelas 4 (mg/L)

S1	49.178	25	40	80
S2	55.178	25	40	80
S3	82.779	25	40	80



Gambar 4. 17 Grafik Hasil Perbandingan COD dengan Baku Mutu

4.2.2 Timbal (Pb)

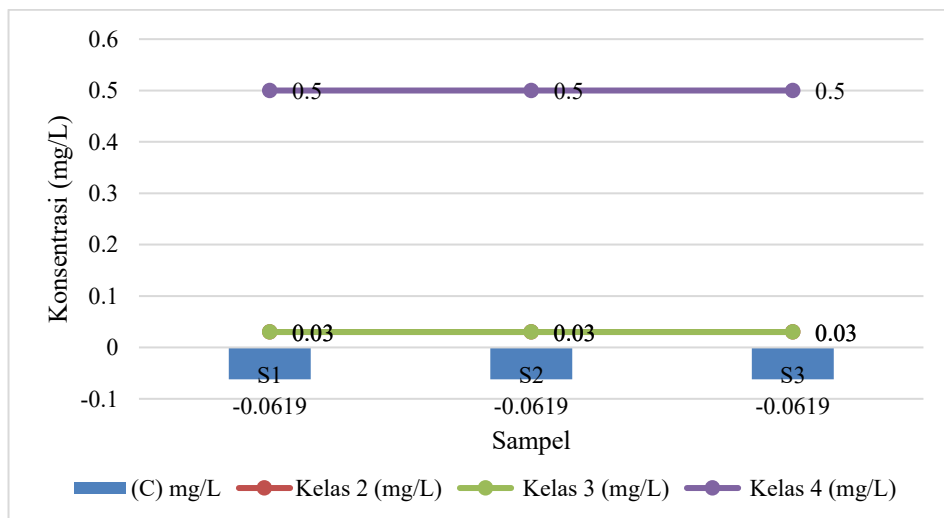
Berdasarkan hasil pengukuran kandungan logam berat Timbal (Pb) diketahui bahwa seluruh sampel air dari ketiga titik pengambilan, yaitu Sampel 1, Sampel 2, dan Sampel 3 memiliki konsentrasi Pb sebesar -0,0619 mg/L. nilai negatif ini menunjukkan bahwa kandungan Pb yang terdeteksi berada di bawah deteksi alat, sehingga secara teknis dapat diartikan bahwa kandungan timbal sangat rendah atau tidak terdeteksi dalam sampel air tersebut. Jika dibandingkan dengan baku mutu berdasarkan PP Nomor 22 Tahun 2021, ambang batas maksimum untuk Pb pada air kelas 2 dan kelas 3 adalah 0,03 mg/L, sedangkan untuk kelas 4 adalah 0,5 mg/L. dengan demikian, hasil konsentrasi Pb pada seluruh sampel berada jauh di bawah batas baku mutu yang berlaku untuk semua kelas.

Nilai negatif ini juga menguatkan asumsi bahwa tidak ditemukan indikasi pencemaran Pb pada ketiga titik sampling dan air belum terkontaminasi logam berat secara signifikan. Namun, perlu diperhatikan bahwa analisis logam berat sebaiknya tetap dilakukan secara berkala untuk

memantau potensi pencemaran di masa mendatang. Terutama di wilayah yang rentan terhadap aktivitas industri atau domestik yang dapat menghasilkan logam berat seperti Pb.

Tabel 4. 6 Perbandingan Hasil Pb dengan Bakun Mutu

Timbal (Pb)				
Sampel	(C) mg/L	Baku mutu		
		Kelas 2 (mg/L)	Kelas 3 (mg/L)	Kelas 4 (mg/L)
S1	-0.0619	0.03	0.03	0.5
S2	-0.0619	0.03	0.03	0.5
S3	-0.0619	0.03	0.03	0.5



Gambar 4. 18 Grafik Hasil Perbandinga Pb dengan Baku Mutu

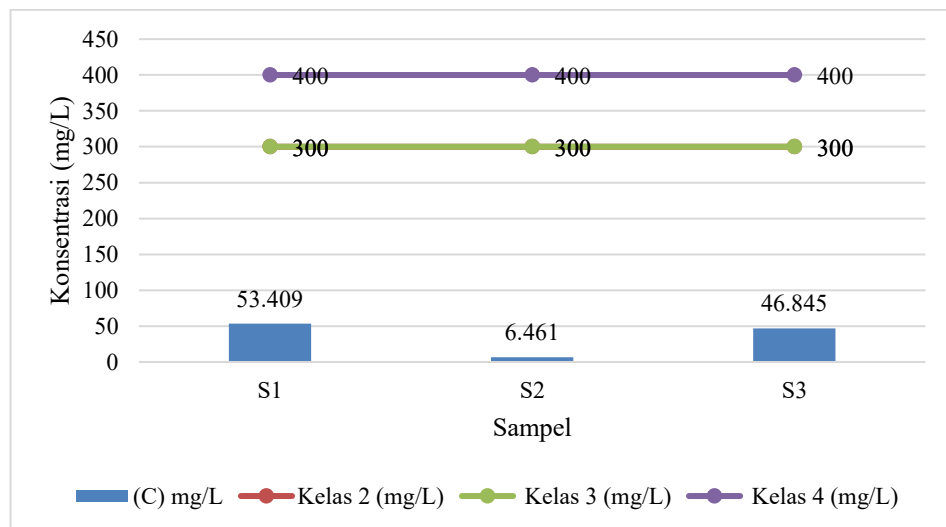
4.2.3 Sulfat (SO₄)

Berdasarkan hasil analisis kandungan SO₄ pada ketiga titik pengambilan masing-masing sampel, yaitu Sampel 1 sebesar 53,409 mg/L, Sampel 2 sebesar 6,461 mg/L, Sampel 3 sebesar 46,845 mg/L. Jika dibandingkan dengan baku mutu kualitas air berdasarkan PP Nomor 22 Tahun 2021, diketahui bahwa ambang batas maksimum untuk parameter SO₄ pada air kelas 2 dan kelas 3 adalah 300 mg/L, dan untuk kelas 4 adalah 400 mg/L. Dengan demikian, seluruh hasil pengukuran SO₄ pada ketiga sampel air

berada jauh di bawah batas baku mutu untuk semua kelas peruntukan air. Hal ini mengindikasikan bahwa tidak terdapat potensi pencemaran oleh SO_4 pada ketiga titik lokaksi pengambilan sampel.

Tabel 4. 7 Perbandingan Hasil SO_4 dengan Baku Mutu

<i>Sulfat (SO_4)</i>				
Sampel	(C) mg/L	<i>Baku mutu</i>		
		Kelas 2 (mg/L)	Kelas 3 (mg/L)	Kelas 4 (mg/L)
S1	53.409	300	300	400
S2	6.461	300	300	400
S3	46.845	300	300	400



Gambar 4. 19 Grafik Perbandingan Hasil SO_4 dengan Baku Mutu

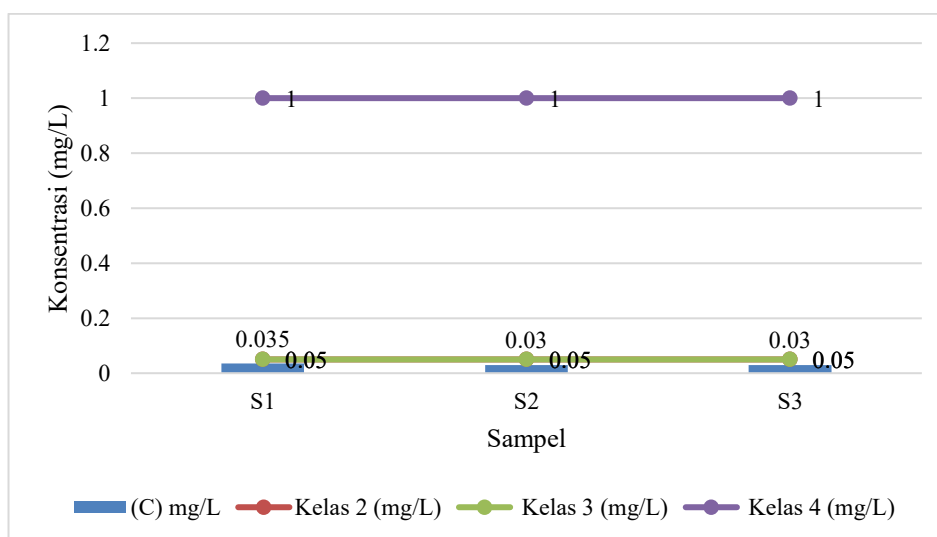
4.2.4 Kromium Heksavalen (Cr^{6+})

Hasil pengukuran kadar Cr^{6+} pada ketiga titik pengambilan sampel menunjukkan konsentrasi tertinggi terdapat pada Sampel 1 sebesar 0,035 mg/L, sedangkan pada Sampel 2 dan Sampel 3 sebesar 0,03 mg/L. Jika dibandingkan dengan baku mutu kualitas air menurut PP Nomor 22 Tahun 2021, batas maksimum konsentrasi Cr^{6+} untuk air kelas 2 dan kelas 3 adalah 0,05 mg/L, dan untuk kelas 4 sebesar 1 mg/L. Dengan demikian seluruh hasil pengukuran Cr^{6+} pada ketiga sampel masih berada di bawah baku mutu yang

ditetapkan, baik untuk kelas 2, kelas 3, dan kelas 4. Hal ini menunjukkan bahwa tidak ditemukan indikasi pencemaran Cr^{6+} yang melebihi ambang batas di lokasi penelitian.

Tabel 4. 8 Perbandingan Hasil Cr^{6+} dengan Baku Mutu

Sampel	(C) mg/L	Krom Heksavalen (Cr^{6+})		
		<i>Baku mutu</i>		
		Kelas 2 (mg/L)	Kelas 3 (mg/L)	Kelas 4 (mg/L)
S1	0.035	0.05	0.05	1
S2	0.03	0.05	0.05	1
S3	0.03	0.05	0.05	1



Gambar 4. 20 Grafik Perbandingan Hasil Cr^{6+} dengan Baku Mutu

4.2.5 Evaluasi Hasil Uji Parameter Kimia pada Ketiga Sampel

Hasil uji kimia pada ketiga titik sampling Sampel 1 (Cilalawak), Sampel 2 (Cilele), dan Sampel 3 (Walahar) menunjukkan bahwa COD merupakan parameter pencemar utama, dengan konsentrasi tertinggi pada Sampel 3 (82,779 mg/L). Seluruh nilai COD melebihi ambang batas kelas 2, 3, bahkan untuk Sampel 3 melebihi kelas 4. Menandakan pencemaran organik yang signifikan, kemungkinan berasal dari limbah domestik, industri, atau pertanian. Parameter SO_4 menunjukkan nilai yang bervariasi antar titik,

namun semuanya masih jauh di bawah ambang batas baku mutu pada tiap kelasnya. Namun, menunjukkan hasil rerata (35,5717 mg/L) dan rentang yang paling tinggi di antara parameter lainnya yaitu 46,948 mg/L. Rentang nilai yang tinggi mengindikasikan adanya disparitas atau perbedaan konsentrasi antar titik sampling, yang mungkin disebabkan oleh variasi penggunaan bahan kimia atau limbah domestik dan industri di sekitar masing-masing lokasi.

Untuk Pb, hasil menunjukkan nilai negatif (-0,0619 mg/L) di semua titik dan dengan rerata yang sama. Nilai ini kemungkinan berasal dari hasil koreksi blanko, gangguan instrumen atau error, konsentrasi yang berada di bawah batas deteksi alat, dan masih jauh di bawah ambang baku mutu. Sementara itu, nilai Cr^{6+} di semua sampel relatif seragam dan rendah dengan rerata sebesar 0,0317 mg/L dan rentang hanya 0,005 mg/L. Untuk konsentrasi tiap sampel juga di bawah baku mutu kualitas air menunjukkan tidak adanya indikasi pencemaran Cr^{6+} yang signifikan.

Secara keseluruhan, hasil evaluasi menunjukkan bahwa parameter COD menjadi fokus utama dalam pengendalian kualitas air karena nilai konsentrasinya tinggi dan konsisten melampaui baku mutu. Sementara itu, parameter SO_4 meskipun memiliki variasi tinggi, namun tetap berada dalam ambang batas aman. Parameter Cr^{6+} dan Pb menunjukkan tingkat konsentrasi yang rendah dan stabil di seluruh titik sampling. Dengan demikian, strategi pemantauan dan pengendalian pencemaran air sebaiknya difokuskan pada penurunan beban pencemar organik, disertai pemantauan berkala terhadap logam berat sebagai langkah pencegahan terhadap kontaminasi di masa mendatang.

4.3 Perbandingan Per Titik pada Lokasi Sampel Uji Parameter Kimia

Hasil uji parameter kimia menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kualitas air pada ketiga titik sampel, yaitu Cilalawak (Sampel 1), Cilele (Sampel 2), dan Walahar (Sampel 3). Parameter COD menunjukkan tren

peningkatan dari hulu ke hilir, dengan nilai tertinggi pada sampel 3 sebesar 82,779 mg/L, yang bahkan telah melebihi baku mutu kelas 4. Hal ini mengindikasikan adanya peningkatan beban pencemaran organik sepanjang aliran sungai, kemungkinan akibat akumulasi limbah dari aktivitas domestik dan industri. Untuk logam berat Pb, seluruh titik menunjukkan nilai yang tidak terdeteksi oleh alat (-0,0619 mg/L) yang berarti kadar Pb sangat rendah dan tidak melebihi ambang batas baku mutu di seluruh kelas peruntukan. Parameter ini tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan antar titik, menandakan belum adanya indikasi pencemaran logam berat Pb atau adanya error pada alat.

Kadar SO_4 tertinggi ditemukan pada Sampel 1 (53,409 mg/L) dan terendah pada Sampel 2 (6,461 mg/L), namun semuanya masih jauh di bawah ambang batas kualitas air. Perbedaan ini bisa mencerminkan variasi lokal akibat sumber air atau aktivitas antropogenik setempat. Begitu juga dengan Cr^{6+} , yang memiliki konsentrasi tertinggi di Sampel 1 (0,035 mg/L) namun masih di bawah baku mutu yang ditetapkan. Secara umum, perbandingan antar titik menunjukkan bahwa degradasi kualitas air paling nyata terjadi pada parameter COD, dengan kondisi terburuk dititik hilir. Sementara itu, parameter logam berat dan sulfat masih tergolong aman, meskipun tetap perlu dipantau secara berkala untuk mencegah pencemaran di masa yang akan datang.

4.4 Perbandingan Kualitas Air Sungai dengan Sungai Lain

Hasil penelitian kualitas air sungai di berbagai daerah di Indonesia menunjukkan perbandingan yang menarik dengan hasil penelitian yang dilakukan di Sungai Citarum. Pada parameter COD, penelitian di Kabupaten Jombang menunjukkan kadar COD sebesar 100 mg/L, yang melebihi baku mutu yang ditetapkan. Sedangkan pada air Sungai Citarum, kadar COD pada Sampel 1 tercatat 49,178 mg/L, Sampel 2 55,178 mg/L, dan Sampel 3 82,779 mg/L. Walaupun kadar COD di Sungai Citarum menunjukkan fluktuasi, nilainya lebih rendah dibandingkan dengan Sungai di Kabupaten Jombang

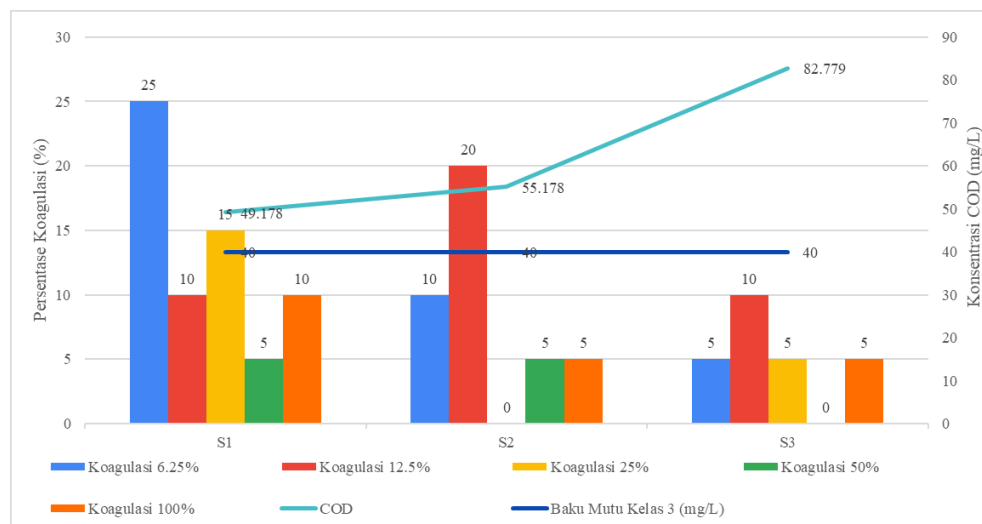
namun sama-sama melebihi baku mutu. Pada parameter Pb, penelitian di Sungai Batanghari menunjukkan kadar Pb sebesar 0,0199 mg/L. Di Sungai Citarum, kadar Pb pada Sampel 1, 2, dan 3 adalah 0,0619 mg/L. Ini menunjukkan bahwa meskipun kadar Pb pada sampel di Sungai Citarum lebih rendah dibandingkan dengan Sungai Batanghari, kedua sungai masih berada di bawah baku mutu.

Untuk kadar SO_4 , penelitian di Sungai Musi Kapuas menunjukkan kadar yang tinggi yaitu 300 mg/L. Sementara itu, di Sungai Citarum, kadar SO_4 pada Sampel 1 adalah 53,409 mg/L, Sampel 2 sebesar 6,461 mg/L, dan Sampel 3 sebesar 46,845 mg/L. Nilai kadar SO_4 di Sungai Citarum bervariasi dan tidak mencapai kadar yang ditemukan di Sungai Musi Kapuas, namun tetap menunjukkan fluktuasi yang signifikan sepanjang aliran sungai. Pada parameter Cr^{6+} , penelitian di Sungai Semarang menunjukkan kadar 0,0094 mg/L. Di Sungai Citarum, kadar Cr^{6+} pada Sampel 1 adalah 0,035 mg/L, Sampel 2 dan Sampel 3 menunjukkan 0,03 mg/L, yang sedikit lebih tinggi dibandingkan dengan kadar Cr^{6+} yang ditemukan di Sungai Semarang. Meskipun demikian, kadar Cr^{6+} di Sungai Citarum masih tergolong dalam batas yang ditetapkan, meskipun terdapat sedikit peningkatan di sepanjang aliran sungai.

Kualitas air Sungai Citarum masih menunjukkan pencemaran yang cukup signifikan, terutama pada parameter COD yang melebihi baku mutu di semua titik sampel, meskipun lebih rendah dibanding sungai di Jombang. Logam berat Pb berada di bawah ambang deteksi dan lebih rendah dari Sungai Batanghari, serta masih dalam ambang baku mutu. Kadar SO_4 lebih rendah dibanding Sungai Musi Kapuas namun bervariasi antar titik, mencerminkan pengaruh aktivitas manusia. Untuk Cr^{6+} , kadarnya sedikit lebih tinggi dari Sungai Semarang namun masih aman. Secara umum, pencemaran organik di Citarum masih menjadi tantangan utama, sementara logam berat relatif terkendali, menekankan pentingnya pemantauan dan pengendalian sumber pencemar.

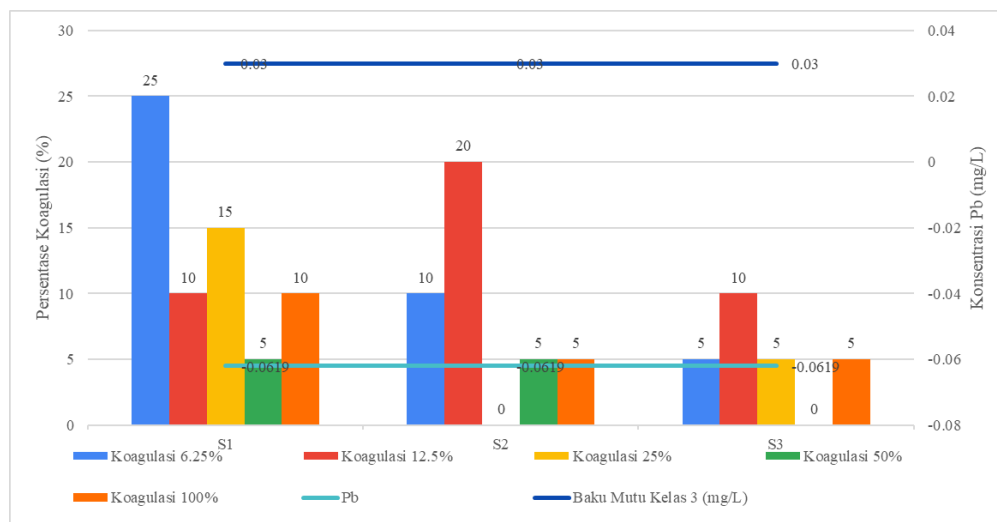
4.5 Hubungan Antara Uji Toksisitas dengan Uji Parameter Kimia

Uji toksisitas menggunakan metode FET bertujuan untuk melihat dampak langsung dari sampel air terhadap perkembangan embrio ikan zebra. Salah satu indikator yang diamati adalah persentasr koagulasi embrio, yang mencerminkan tingkat kematian atau kegagalan perkembangan dini akibat paparan zat toksik dalam air. Untuk mengetahui kemungkinan penyebabtoksisitas tersebut, dilakukan pengujian terhadap parameter kimia yaitu COD, Pb, SO₄, dan Cr⁶⁺, kemudian dibandingkan dengan nilai baku mutu kelas III (PP No. 22 Tahun 2021).



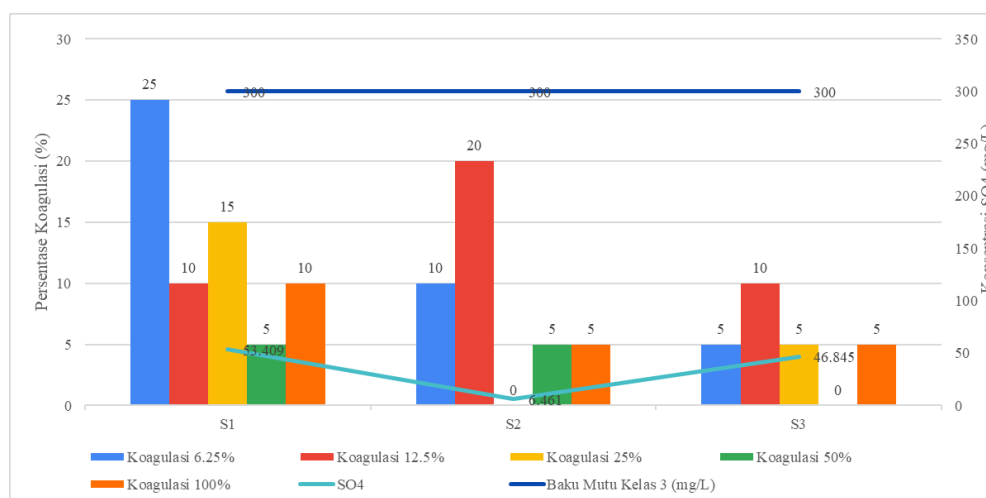
Gambar 4. 21 Grafik Hubungan Parameter Koagulasi dengan Parameter Kimia (COD) dan Baku Mutu

Hasil pengujian menunjukkan bahwa konsentrasi COD meningkat dari Sampel 1 hingga Sampel 3 (masing-masing 49,178; 55,178; 82,779 mg/L). Namun, hal ini tidak berbanding lurus dengan persentase koagulasi embrio, yang justru menurun di lokasi dengan COD tertinggi. Pada Sampel 1 dengan COD 49,178 mg/L, persentase koagulasi mencapai 25% pada konsentrasi 6,25%, sedangkan pada Sampel 3 dengan COD tertinggi, persentase koagulasi maksimal hanya 10%. Ini menunjukkan bahwa tidak terdapat korelasi langsung antara kadar COD dan kematian embrio, mengingat COD lebih mencerminkan beban pencemar organik secara umum, bukan efek toksik spesifik terhadap perkembangan embrio.



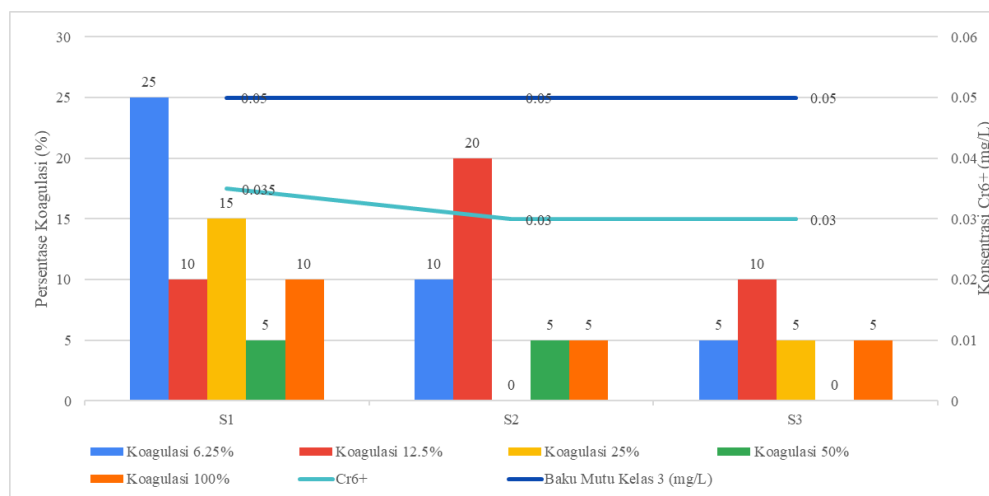
Gambar 4. 22 Grafik Hubungan Parameter Koagulasi dengan Parameter Kimia (Pb) dan Baku Mutu

Logam berat Pb dalam seluruh sampel menunjukkan kadar yang sangat rendah, yaitu sekitar -0.0619 mg/L, serta masih berada di bawah baku mutu kelas III sebesar 0,03 mg/L. Dari grafik hubungan Pb dengan koagulasi, tidak terlihat adanya kecenderungan yang konsisten antara peningkatan kadar Pb dan persentase koagulasi. Oleh karena itu, Pb tidak dapat dikaitkan secara langsung sebagai penyebab utama koagulasi embrio pada sampel ini, kemungkinan karena konsentrasinya terlalu kecil untuk menimbulkan efek toksik akut pada embrio ikan zebra.



Gambar 4. 23 Grafik Hubungan Parameter Koagulasi dengan Parameter Kimia (SO₄) dan Baku Mutu

Konsentrasi SO_4 pada ketiga sampel juga berada jauh di bawah baku mutu (300 mg/L) yaitu berkisar antara 0,061 hingga 46,845 mg/L. Meskipun SO_4 dapat memberikan tekanan osmotik dalam air, hasil grafik tidak menunjukkan adanya hubungan yang signifikan antara kadar SO_4 dan peningkatan koagulasi embrio. Pola data yang tidak konsisten pada masing-masing titik konsentrasi mengindikasikan bahwa sulfat tidak berperan dominan dalam menimbulkan toksisitas pada embrio ikan dalam pengujian ini.



Gambar 4. 24 Grafik Hubungan Parameter Koagulasi dengan Parameter Kimia (Cr^{6+}) dan Baku Mutu

Berbeda dengan parameter lainnya, Cr^{6+} menunjukkan hubungan yang cukup kuat dengan persentase koagulasi embrio. Konsentrasi Cr^{6+} tertinggi terdapat pada Sampel 1 (0,035 mg/L) yang juga memiliki persentase koagulasi tertinggi sebesar 25% pada konsentrasi larutan uji 6,25%. Sementara itu, pada Sampe 2 dan Sampel 3, kadar Cr^{6+} yang lebih rendah (0,03 mg/L) juga diikuti oleh penurunan tingkat koagulasi. Hal ini mengindikasikan adanya korelasi positif antara Cr^{6+} dan efek toksik akut terhadap embrio, yang ditandai dengan meningkatnya kejatian koagulasi meskipun pada konsentrasi paparan yang tergolong rendah.

Cr^{6+} dikenal sebagai logam berat yang sangat reaktif dan memiliki toksisitas tinggi. Dalam lingkungan perairan, Cr^{6+} hadir dalam bentuk ion terlarut seperti CrO_4^{2-} atau HCrO_4^- yang berukuran sangat kecil, yaitu dalam

skala angstrom hingga nanometer (Dang et al., 2023; Domingues et al., 2010). Ukuran ini jauh lebih kecil dibandingkan pori-pori korion embrio ikan zebra, yang berkisar antara 0,5 – 0,7 μm . dengan demikian, ion Cr^{6+} hadir dapat dengan mudah menembus lapisan pelindung korion melalui proses difusi pasif dan mencapai ruang dalam embrio (*chorionic space*). Setelah masuk, Cr^{6+} dapat memicu berbagai respon toksik seperti kerusakan DNA, stres oksidatif, dan gangguan metabolisme, yang pada akhirnya menyebabkan koagulasi embrio bahkan pada paparan konsentrasi rendah. Hal ini diperkuat oleh penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa paparan $\text{Cr}^{6+} \geq 3 \mu\text{g/L}$ telah cukup untuk menurunkan kelangsungan hidup embrio dan menimbulkan gangguan perkembangan seperti keterlambatan penetasan dan apoptosis (Dang et al., 2023).

Dari keempat parameter kimia yang dianalisis, hanya Cr^{6+} yang menunjukkan hubungan konsisten dan signifikan terhadap peningkatan koagulasi embrio, sedangkan COD, Pb, SO_4 tidak menunjukkan korelasi yang jelas. Hal ini menunjukkan bahwa uji toksisitas FET dapat digunakan sebagai alat pendeteksi dini (*early warning*) terhadap paparan logam berat seperti Cr^{6+} , yang mungkin tidak dapat terdeteksi secara signifikan hanya melalui pengukuran kadar kimia semata. Dengan kata lain, FET tidak hanya mencerminkan keberadaan pencemar, tetapi juga menunjukkan dampak nyata pencemar tersebut terhadap organisme hidup pada level embrionik.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan terhadap air Sungai Citarum bagian hilir menggunakan metode FET dan pengujian parameter kimia, maka dapat disimpulkan hal-hal berikut:

1. Tingkat toksisitas air Sungai Citarum terhadap embrio ikan zebra tergolong rendah dalam menyebabkan kematian akut, yang ditunjukkan dengan tidak tercapainya nilai LC_{50} pada semua konsentrasi uji hingga 96 jam pemaparan. Meskipun demikian, ditemukan adanya respon subletal berupa koagulasi embrio, keterlambatan detak jantung dan keterlambatan *hatching* yang bervariasi pada masing-masing sampel dan konsentrasi. Tidak ditemukan pola tren yang konsisten dari hulu ke hilir, sehingga indikasi subletal terjadi secara merata di ketiga titik tanpa menunjukkan peningkatan atau penurunan efek secara signifikan sepanjang aliran sungai. Hal ini mengindikasikan adanya efek toksik biologis non-fatal terhadap perkembangan embrio ikan zebra.
2. Hasil analisis parameter kimia menunjukkan kadar COD pada beberapa titik melebihi baku mutu air kelas III menurut PP No. 22 Tahun 2021, sedangkan kadar Pb, SO_4 , dan Cr^{6+} masih berada dalam ambang batas yang ditetapkan. Namun, berdasarkan grafik hubungan antara parameter kimia dengan hasil FET, hanya Cr^{6+} yang menunjukkan korelasi kuat dengan tingkat koagulasi embrio, yang mengindikasikan bahwa logam berat ini menjadi kontributor utama efek toksik terhadap embrio, bahkan pada konsentrasi rendah. Sementara itu, parameter lain seperti COD, Pb, dan SO_4 tidak menunjukkan hubungan yang konsisten dengan peningkatan toksisitas biologis.

5.2 Saran

1. Melakukan dua kali pengulangan pada uji toksisitas Air Sungai Citarum.
2. Melakukan penyaringan sampel air terlebih dahulu sebelum pengujian untuk menghilangkan partikel besar atau padatan tersuspensi dan memperoleh hasil yang lebih akurat terhadap senyawa terlarut.
3. Melakukan pengujian FET dalam satu waktu yang sama.
4. Memperbanyak penelitian terkait FET dengan menggunakan ikan zebra guna memperjelas apakah ikan zebra sensitif terhadap parameter yang terdapat di air limbah.
5. Penelitian lanjutan disarankan menggunakan konsentrasi uji yang lebih banyak dan bervariasi atau dilakukannya uji pendahuluan dulu untuk meningkatkan akurasi perhitungan LC_{50} serta mengidentifikasi pola dosis-respon secara lebih jelas.
6. Melakukan kalibrasi alat secara rutin dan sesuai prosedur standar ntuk meminimalkan potensi kesalahan (*error*) dalam pengukuran parameter kimia.
7. Penelitian selanjutnya disarankan menambah parameter kimia lain seperti amonia, nitrit, fosfat, dan logam berat lain untuk mengetahui sumber toksisitas yang lebih spesifik.

DAFTAR PUSTAKA

- Aeni, S. R. N., Murtafi'ah, N. M., & Handarini, H. (2020). Chromium (VI) Heavy Metal Biosorption in Citarum River Water Sample Using *Saccharomyces cerevisiae* and *Rhizopus oryzae* Biomass. *Biogenesis: Jurnal Ilmiah Biologi*, 8 (2), 119–125.
- Altertox, F. B., Braunbeck, T., & Lillicrap, A. (2013a). *OECD GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS 236-Fish Embryo Acute Toxicity (FET) Test*. <https://www.researchgate.net/publication/255968359>
- Altertox, F. B., Braunbeck, T., & Lillicrap, A. (2013b). *OECD GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS 236-Fish Embryo Acute Toxicity (FET) Test*. <https://www.researchgate.net/publication/255968359>
- Amirah, M. N., Afiza, A. S., Faizal, W. I. W., Nurliyana, M. H., & Laili, S. (2013). Human Health Risk Assessment of Metal Contamination through Consumption of Fish. *Journal of Environment Pollution and Human Health*, 1(1), 1–5. <https://doi.org/10.12691/jephh-1-1-1>
- Arief, H. R., Dhahiyat, Y., Fakultas, A., Dan Ilmu, P., Unpad, K., Dosen, S., Perikanan, F., & Ilmu, D. (2012). DISTRIBUSI KANDUNGAN LOGAM BERAT Pb dan Cd PADA KOLOM AIR DAN SEDIMEN DAERAH ALIRAN SUNGAI CITARUM HULU DISTRIBUTION OF HEAVY METALS CONTENT Pb AND Cd IN WATER COLUMN AND SEDIMENT OF UPPER CITARUM RIVER SEDIMENTS. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan*, 3(3), 175–182.
- Arni, A. (2022). Pencemaran air sungai akibat pembuangan sampah di desa bagan kuala tanjung beringin Kabupaten Serdang Bedagai. *Nautical : Jurnal Ilmiah Multidisiplin*, 1. <https://jurnal.arkainstitute.co.id/index.php/nautical/index>
- Cao, G., Zhao, J., Zhao, G., Wan, D., Wu, Z., Li, R., & He, Q. (2022). Determination of the Acute and Chronic Toxicity of Sulfate from the Sulfur Autotrophic Denitrification Process to Juvenile Zebrafish (*Danio rerio*). *ACS Omega*, 7(50), 47165–47173. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c06320>
- Dang, K. D., Ho, C. N. Q., Van, H. D., Dinh, S. T., Nguyen, Q. T. T., Nguyen, T. T. T., Kien, X. T. N., Dao, T. Van, Nong, H. V., Nguyen, M. T., Doan, C. C., Hoang, S. N., Nguyen, T. T. P., & Le, L. T. (2023). Hexavalent Chromium Inhibited Zebrafish Embryo Development by Altering Apoptosis- and Antioxidant-Related Genes. *Current Issues in Molecular Biology*, 45(8), 6916–6926. <https://doi.org/10.3390/cimb45080436>
- Domingues, I., Oliveira, R., Lourenço, J., Grisolia, C. K., Mendo, S., & Soares, A. M. V. M. (2010a). Biomarkers as a tool to assess effects of chromium (VI): Comparison of responses in zebrafish early life stages and adults. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 152(3), 338–345. <https://doi.org/10.1016/J.CBPC.2010.05.010>

- Domingues, I., Oliveira, R., Lourenço, J., Grisolia, C. K., Mendo, S., & Soares, A. M. V. M. (2010b). Biomarkers as a tool to assess effects of chromium (VI): Comparison of responses in zebrafish early life stages and adults. *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology*, 152(3), 338–345. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2010.05.010>
- Essfeld, F., Ayobahan, S. U., Strompen, J., Alvincz, J., Schmidt-Posthaus, H., Woelz, J., Mueller, T., Ringbeck, B., Teigeler, M., Eilebrecht, E., & Eilebrecht, S. (2024). Transcriptomic Point of Departure (tPOD) of androstenedione in zebrafish embryos as a potential surrogate for chronic endpoints. *Science of the Total Environment*, 953. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.176026>
- Gusrina, I. (2014). Genetika dan Reproduksi Ikan. *Deepublish*.
- Hayati, F. (2023). *Ikan Zebra (zebrafish) sebagai Hewan Coba dalam Penelitian Penemuan Obat*. Universitas Islam Indonesia.
- Hayatul Husni; Esmiralda, M. (2011). *UJI TOKSISITAS AKUT LIMBAH CAIR INDUSTRI TAHU TERHADAP IKAN MAS (Cyprinus carpio Lin) (Studi Kasus: Limbah Cair Industri Tahu “SUPER”, Padang)*. http://repository.unand.ac.id/17022/1/Uji_Toksisitas_Akut_Limbah_Cair_Industri_Tahu.pdf
- Hornig, J. L., Kung, G. X., & Lin, L. Y. (2024). Acidified water promotes silver-induced toxicity in zebrafish embryos. *Aquatic Toxicology*, 268, 106865. <https://doi.org/10.1016/J.AQUATOX.2024.106865>
- Johnson, W. W., & Finley, M. T. (1980). *Handbook of Acute Toxicity of Chemicals to Fish and Aquatic Invertebrates: Summaries of Toxicity Tests Conducted at Columbia National Fisheries Research Laboratory: Vol. Vol. 137, p. 106*. Resource Publication.
- Juniarti, N. (2020a). PENANGGULANGAN LAHAN KRITIS, KONSERVASI AIR, MITIGASI BENCANA, SANITASI LINGKUNGAN DAN PENGELOLAAN SAMPAH DI DESA CILENGKRANG KABUPATEN BANDUNG. *Kumawula: Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat*, 3(2), 256. <https://doi.org/10.24198/kumawula.v3i2.27348>
- Juniarti, N. (2020b). PENANGGULANGAN LAHAN KRITIS, KONSERVASI AIR, MITIGASI BENCANA, SANITASI LINGKUNGAN DAN PENGELOLAAN SAMPAH DI DESA CILENGKRANG KABUPATEN BANDUNG. *Kumawula: Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat*, 3(2), 256. <https://doi.org/10.24198/kumawula.v3i2.27348>
- Keman, S. (2020). *Pengantar toksikologi lingkungan*.
- Kim, R., Heo, Y., Yoon, H., & Park, J. W. (2024). Dechorionated zebrafish embryos improve evaluation of nanotoxicity. *Frontiers in Toxicology*, 6. <https://doi.org/10.3389/ftox.2024.1476110>
- Kimmel, C. B., Ballard, W. W., Kimmel, S. R., Ullmann, B., & Schilling, T. F. (1995). Stages of embryonic development of the zebrafish.

- Developmental Dynamics*, 203(3), 253–310.
<https://doi.org/10.1002/aja.1002030302>
- Komoike, Y., & Matsuoka, M. (2022). Developmental adverse effects of trace amounts of lead: Evaluation using zebrafish model. *Frontiers in Pharmacology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.1014912>
- Kordinata Edwin. (2017). *Toksisitas Akut Timokuinon Terhadap Embrio Ikan Zebra (Danio rerio)*.
- Kossack, M. E., & Draper, B. W. (2019). Genetic regulation of sex determination and maintenance in zebrafish (*Danio rerio*). In *Current Topics in Developmental Biology* (Vol. 134, pp. 119–149). Academic Press Inc. <https://doi.org/10.1016/bs.ctdb.2019.02.004>
- Kurobe, T., Lehman, P. W., Haque, M. E., Sedda, T., Lesmeister, S., & Teh, S. (2018). Evaluation of water quality during successive severe drought years within Microcystis blooms using fish embryo toxicity tests for the San Francisco Estuary, California. *Science of the Total Environment*, 610–611, 1029–1037. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.07.267>
- Lee, J. W., Kim, J. H., Lee, D. C., Lim, H. J., & Kang, J. C. (2022). Toxic Effects on Oxidative Stress, Neurotoxicity, Stress, and Immune Responses in Juvenile Olive Flounder, *Paralichthys olivaceus*, Exposed to Waterborne Hexavalent Chromium. *Biology*, 11(5). <https://doi.org/10.3390/biology11050766>
- Lee, K. J., Nallathamby, P. D., Browning, L. M., Osgood, C. J., & Nancy Xu, X. H. (2007). In vivo imaging of transport and biocompatibility of single silver nanoparticles in early development of zebrafish embryos. *ACS Nano*, 1(2), 133–143. <https://doi.org/10.1021/nn700048y>
- Liu, D., Pellicer, A. M., Brüggmann, A., Kiggen, M., Behrens, S., Good, C., Straus, D. L., & Meinelt, T. (2021). Effect of water hardness/alkalinity and humic substances on the toxicity of peracetic acid to zebrafish embryos and pathogenic isolates. *Aquaculture Reports*, 21, 100900. <https://doi.org/10.1016/J.AQREP.2021.100900>
- Lova Sari, G., Fashanah Hadining, A., & Sudarjat, H. (2020). ANALISIS KARAKTERISTIK FISIK-KIMIAWI AIR DAERAH ALIRAN SUNGAI CITARUM DI WADUK JATILUHUR. *Jukung Jurnal Teknik Lingkungan*, 6(1), 1–9.
- MacRae, C. A., & Peterson, R. T. (2015). Zebrafish as tools for drug discovery. In *Nature Reviews Drug Discovery* (Vol. 14, Issue 10, pp. 721–731). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nrd4627>
- Mangkoedihardjo, S., & Samudro, G. (2009). *Ekotoksikologi Teknosfer* (Surabaya: Guna Widya, Trans.).
- McCluskey, B. M., & Braasch, I. (2020). *Zebrafish phylogeny and taxonomy* (Academic Press, Trans.). 15–24. https://scholar.google.com/scholar?hl=en&as_sdt=0,5&q=mccluskey,+b.+m.+%26+braasch,+i.+2020.+zebrafish+taxonomy+and+phylogeny
- Niti Suparjo, M., Studi Manajemen Sumberdaya Perairan Jurusan Perikanan, P., Perikanan dan Ilmu Kelautan, F., & Diponegoro Jl Sudarto, U. (2009). KONDISI PENCEMARAN PERAIRAN SUNGAI BABON

- SEMARANG Pollution Level at Babon River Semarang. In *Jurnal Saintek Perikanan* (Vol. 4, Issue 2).
- Parichy, D. M., Elizondo, M. R., Mills, M. G., Gordon, T. N., & Engeszer, R. E. (2009). Normal table of postembryonic zebrafish development: Staging by externally visible anatomy of the living fish. *Developmental Dynamics*, 238(12), 2975–3015. <https://doi.org/10.1002/dvdy.22113>
- PENGESAHAN TESIS. (n.d.).
- Penguatan, R., Pengelolaan, K., Daya, S., Dan Pesisir, L., Romadhon, R. P., & Mahmiah, R. (2017). *Seminar Nasional Kelautan XII " Inovasi Hasil Riset dan Teknologi dalam AKUMULASI LOGAM BERAT Cr 6+ PADA AIR DI PERAIRAN WONOREJO SURABAYA*.
- Presipitasi, J., Komunikasi, M., Pengembangan, D., Lingkungan, T., Wardhani, E., Wulan, D. R., Amaliyah Velda, N., Cahya Nugraha, W., Rohman, O., & Irmansyah, A. Z. (n.d.). *Identifikasi Konsentrasi Logam Berat pada Air Sungai Citarum Menggunakan Metode Indeks Pencemaran Logam Berat*. www.DeepL.com/pro
- Ramadhiani, A. F., & Suharyanto. (2021). Analysis of river water quality and pollution control strategies in the upper Citarum River. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 623(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/623/1/012052>
- Ribatti, D. (2018). *The Zebrafish : In Vivo Models to Study Angiogenesis*. 75–88.
- Ridwan Endi. (2013). Etika Pemanfaatan Hewan Percobaan dalam Penelitian Kesehatan. *J Indon Med Assoc*, 63, 112–118.
- Rusli, Z., Sari, B., Wardatun, S., & Aristyo Wildan. (2020). SKRINING TOKSISITAS AKUT BEBERAPA FRAKSI BUAH KARONDA (*Carissa carandas* L.) PADA EMBRIO ZEBRAFISH (*Danio rerio*). *FITOFARMAKA: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 10(1), 42–53.
- Sekar, R., Lazarus, S., & Singh, H. J. (2020). *Effect of Chromium Trivalent (Cr-Iii) And Hexavalent (Cr-Vi) Toxicity on The Morphology of Zebra Fish, Danio Rerio (F. Hamilton, 1822) During Early Embryonic Developmental Stages*. 40.
- Sharma, Y., & Kaur, K. (2017). Determination of Nitrates and Sulphates in Water of Barnala (Punjab, India) Region and Their Harmful Effects on Human Lives. *International Journal of Advanced Research in Education & Technology*, 3, 79–82.
- Sianturi, A. H. (2018). *Analisis Kesadahan Total dan Alkalinitas pada Air Bersih Sumur Bor dengan Metode Titrimetri di PT Sucofindo Daerah Provinsi Sumatera Utara*. Doctoral dissertation, Universitas Sumatera Utara.
- Sinaga, E. (2016). *Penetapan Kadar Klorida pada Air Minum Isi Ulang dengan Metode Argentometri (Metode Mohr)*. Doctoral dissertation.
- Siswoyo, E., & Habibi, G. F. (2018). SEBARAN LOGAM BERAT CADMIUM (Cd) DAN TIMBAL (Pb) PADA AIR SUNGAI DAN SUMUR DI DAERAH SEKITAR TEMPAT PEMBUANGAN AKHIR (TPA) WUKIRSARI GUNUNG KIDUL, YOGYAKARTA. *Jurnal*

- Pengelolaan Sumberdaya Alam Dan Lingkungan (Journal of Natural Resources and Environmental Management)*, 8(1), 1–6.
<https://doi.org/10.29244/jpsl.8.1.1-6>
- Soemirat. (2003). *Toksikologi Lingkungan*. Gajah Mada University Press Sugiharto.
- Strecker, R., Seiler, T. B., Hollert, H., & Braunbeck, T. (2011). Oxygen requirements of zebrafish (*Danio rerio*) embryos in embryo toxicity tests with environmental samples. *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology*, 153(3), 318–327.
<https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2010.12.002>
- Sudarningsih, S., Bijaksana, S., Ramdani, R., Hafidz, A., Pratama, A., Widodo, W., Iskandar, I., Dahrin, D., Fajar, S. J., & Santoso, N. A. (2017). Variations in the concentration of magnetic minerals and heavy metals in suspended sediments from citarum river and its tributaries, West Java, Indonesia. *Geosciences (Switzerland)*, 7(3).
<https://doi.org/10.3390/geosciences7030066>
- Sumantri, A., & Rahmani, R. Z. (2020). Analisis Pencemaran Kromium (VI) berdasarkan Kadar Chemical Oxygen Demand (COD) pada Hulu Sungai Citarum di Kecamatan Majalaya Kabupaten Bandung Provinsi Jawa Barat 2018. *Jurnal Kesehatan Lingkungan Indonesia*, 19(2), 144–151.
<https://doi.org/10.14710/jkli.19.2.144-151>
- Tavares, B., & Lopes, S. S. (2013). *The Importance of Zebrafish in Biomedical Research A Importância do Peixe-Zebra na Investigação Biomédica*. www.actamedicaportuguesa.com
- Uji Toksisitas Akut Limbah Cair Industri Tahu*. (n.d.).
- Umamaheswari, S., Priyadarshinee, S., Kadirvelu, K., & Ramesh, M. (2021). Polystyrene microplastics induce apoptosis via ROS-mediated p53 signaling pathway in zebrafish. *Chemico-Biological Interactions*, 345.
<https://doi.org/10.1016/j.cbi.2021.109550>
- Utami, N. (2018). *ZEBRAFISH (Danio rerio) SEBAGAI HEWAN MODEL DIABETES MELLITUS*.
- Vitasari, M., Darundiati, Y. H., Setiani, O., Peminatan, M., Lingkungan, K., Masyarakat, K., Diponegoro, U., & Bagian, D. (2020). *Biokonsentrasi Faktor Logam Berat Kromium Heksavalen (Cr VI) Pada Ikan Nila (Oreochromis niloticus) di Sungai Tenggang Semarang Timur*. 10(1), 6–9. <https://ejournal.undip.ac.id/index.php/jim/index>
- Yin, J., Hu, J., Deng, X., Zheng, Y., & Tian, J. (2023). ABC transporter-mediated MXR mechanism in fish embryos and its potential role in the efflux of nanoparticles. In *Ecotoxicology and Environmental Safety* (Vol. 263). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.115397>

LAMPIRAN

Lampiran 1. 1 Perhitungan Konsentrasi Sampel

- Konsentrasi 100% dalam 50 mL
Sampel $= 100\% \times 50 \text{ mL}$
 $= 50 \text{ mL}$
- Konsentrasi 50% dalam 50 mL
Sampel $= 50\% \times 50 \text{ mL}$
 $= 25 \text{ mL}$
Pengenceran (Aquades Steril) $= 50 \text{ mL} - 25 \text{ mL}$
 $= 25 \text{ mL}$
Jadi, konsentrasi 50% adalah 25 mL Sampel + 25 mL Aquades Steril
- Konsentrasi 25% dalam 50 mL
Sampel $= 25\% \times 50 \text{ mL}$
 $= 12,5 \text{ mL}$
Pengenceran (Aquades Steril) $= 50 \text{ mL} - 12,5 \text{ mL}$
 $= 37,5 \text{ mL}$
Jadi, konsentrasi 50% adalah 12,5 mL Sampel + 37,5 mL Aquades Steril
- Konsentrasi 12,5% dalam 50 mL
Sampel $= 12,5\% \times 50 \text{ mL}$
 $= 6,25 \text{ mL}$
Pengenceran (Aquades Steril) $= 50 \text{ mL} - 6,25 \text{ mL}$
 $= 43,75 \text{ mL}$
Jadi, konsentrasi 50% adalah 6,25 mL Sampel + 43,75 mL Aquades Steril
- Konsentrasi 6,25% dalam 50 mL
Sampel $= 6,25\% \times 50 \text{ mL}$
 $= 3,125 \text{ mL}$
Pengenceran (Aquades Steril) $= 50 \text{ mL} - 3,125 \text{ mL}$
 $= 46,875 \text{ mL}$
Jadi, konsentrasi 50% adalah 3,125 mL Sampel + 46,875 mL Aquades Steril

Lampiran 2. 1 Hasil Pengamatan Embrio Ikan Zebra

a) Sampel 1

Konsentrasi 100%

Sampel		Parameter Pengamatan															
	Nomor Embrio	Koagulasi				Pembentukan Somite				Pelepasan Tail-bud				Detak Jantung			
		24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96
100%	1					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	2					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	3					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	4					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	5					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	6	+	+	+	+												
	7					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	8					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+
	9					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	10					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	11					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	12					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	13	+	+	+	+												
	14					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	15					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+
	16					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	17					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	18					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	19					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	20					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+

Konsentrasi 50%

Sampel		Parameter Pengamatan															
	Nomor Embrio	Koagulasi				Pembentukan Somite				Pelepasan Tail-bud				Detak Jantung			
		24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96
50%	1					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	2					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	3					+	+	+	+	+	+	+	+				+
	4					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	5					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	6	+	+	+	+												
	7					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	8					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	9					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	10					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	11					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+
	12					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	13					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	14					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	15					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	16					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	17					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	18					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	19					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	20					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+

Konsentrasi 25%

Sampel		Parameter Pengamatan															
	Nomor Embrio	Koagulasi				Pembentukan Somite				Pelepasan Tail-bud				Detak Jantung			
		24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96
25%	1					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	2					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	3					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	4					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	5					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	6					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	7					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	8					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	9					+	+	+	+	+	+	+	+				+
	10					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	11	+	+	+	+												
	12					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	13					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	14					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	15	+	+	+	+												
	16					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+
	17					+	+	+	+	+	+	+	+				+
	18	+	+	+	+												
	19					+	+	+	+	+	+	+	+				+
	20					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+

Konsentrasi 12,5%

Sampel		Parameter Pengamatan															
	Nomor Embrio	Koagulasi				Pembentukan Somite				Pelepasan Tail-bud				Detak Jantung			
		24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96
12,5%	1					+	+	+	+	+	+	+	+				+
	2	+	+	+	+												
	3					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	4					+	+	+	+	+	+	+	+				+
	5					+	+	+	+	+	+	+	+				+
	6					+	+	+	+	+	+	+	+				+
	7					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	8					+	+	+	+	+	+	+	+				+
	9					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	10					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	11					+	+	+	+	+	+	+	+				+
	12					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	13					+	+	+	+	+	+	+	+				+
	14					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	15					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	16					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	17	+	+	+	+												
	18					+	+	+	+	+	+	+	+				+
	19					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	20					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+

Konsentrasi 6,25%

Sampel		Parameter Pengamatan															
	Nomor Embrio	Koagulasi				Pembentukan Somite				Pelepasan Tail-bud				Detak Jantung			
		24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96
6,25%	1					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	2	+	+	+	+												
	3					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	4	+	+	+	+												
	5	+	+	+	+												
	6					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	7					+	+	+	+	+	+	+	+				+
	8					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	9					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	10					+	+	+	+	+	+	+	+				+
	11					+	+	+	+	+	+	+	+				+
	12	+	+	+	+												
	13					+	+	+	+		+	+	+			+	+
	14					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	15					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	16					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+
	17					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	18	+	+	+	+												
	19					+	+	+	+		+	+	+			+	+
	20					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+

b) Sampel 2

Konsentrasi 100%

Sampel		Parameter Pengamatan															
	Nomor Embrio	Koagulasi				Pembentukan Somite				Pelepasan Tail-bud				Detak Jantung			
		24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96
100%	1	+	+	+	+												
	2					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	3					+	+	+	+	+	+	+	+				+
	4					+	+	+	+	+	+	+	+				+
	5					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	6					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	7					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	8					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	9					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	10					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	11					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	12					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	13					+	+	+	+	+	+	+	+				+
	14					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	15					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	16					+	+	+	+	+	+	+	+				+
	17					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	18					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	19					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	20					+	+	+	+	+	+	+	+				+

Konsentrasi 50%

Sampel		Parameter Pengamatan															
	Nomor Embrio	Koagulasi				Pembentukan Somite				Pelepasan Tail-bud				Detak Jantung			
		24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96
50%	1					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	2					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	3					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	4					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	5					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	6					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	7					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	8					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	9					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	10					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	11					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	12					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	13					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	14					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	15					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	16					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	17	+	+	+	+												
	18					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	19					+	+	+	+	+	+	+	+				+
	20					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+

Konsentrasi 25%

Sampel		Parameter Pengamatan															
	Nomor Embrio	Koagulasi				Pembentukan Somite				Pelepasan Tail-bud				Detak Jantung			
		24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96
25%	1					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	2					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	3					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	4					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	5					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	6					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	7					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	8					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	9					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	10					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	11					+	+	+	+	+	+	+	+				+
	12					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	13					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	14					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	15					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	16					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	17					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	18					+	+	+	+	+	+	+	+				+
	19					+	+	+	+	+	+	+	+				+
	20					+	+	+	+	+	+	+	+				+

Konsentrasi 12,5%

Sampel		Parameter Pengamatan															
	Nomor Embrio	Koagulasi				Pembentukan Somite				Pelepasan Tail-bud				Detak Jantung			
		24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96
12,5%	1					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	2					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	3					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	4					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	5					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+
	6					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	7					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	8					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	9					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	10					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	11					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	12					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	13					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	14	+	+	+	+												
	15					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	16					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	17					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	18	+	+	+	+												
	19	+	+	+	+												
	20	+	+	+	+												

Konsentrasi 6,25%

Sampel		Parameter Pengamatan															
	Nomor Embrio	Koagulasi				Pembentukan Somite				Pelepasan Tail-bud				Detak Jantung			
		24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96
6,25%	1					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	2	+	+	+	+												
	3					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	4					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	5					+	+	+	+	+	+	+	+				+
	6					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	7					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	8					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	9					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	10					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	11					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	12					+	+	+	+	+	+	+	+				+
	13					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	14					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+
	15					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	16	+	+	+	+												
	17					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	18					+	+	+	+	+	+	+	+				+
	19					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	20					+	+	+	+	+	+	+	+				+

c) Sampel 3

Konsentrasi 100%

Sampel		Parameter Pengamatan															
	Nomor Embrio	Koagulasi				Pembentukan Somite				Pelepasan Tail-bud				Detak Jantung			
		24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96
100%	1					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	2					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	3					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	4					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	5					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	6					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	7					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	8					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	9					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	10					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	11					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	12					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	13					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	14					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	15					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	16	+	+	+	+												
	17					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	18					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	19					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+
	20					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+

Konsentrasi 50%

Sampel		Parameter Pengamatan															
	Nomor Embrio	Koagulasi				Pembentukan Somite				Pelepasan Tail-bud				Detak Jantung			
		24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96
50%	1					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	2					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	3					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	4					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	5					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	6					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	7					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	8					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	9					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	10					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	11					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	12					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	13					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	14					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	15					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	16					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	17					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	18					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	19					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	20					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+

Konsentrasi 25%

Sampel		Parameter Pengamatan															
	Nomor Embrio	Koagulasi				Pembentukan Somite				Pelepasan Tail-bud				Detak Jantung			
		24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96
25%	1					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	2					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	3					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	4					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	5					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	6					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	7					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	8	+	+	+	+												
	9					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	10					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	11					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	12					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	13					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	14					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	15					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	16					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	17					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	18					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	19					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	20					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+

Konsentrasi 12,5%

Sampel		Parameter Pengamatan															
	Nomor Embrio	Koagulasi				Pembentukan Somite				Pelepasan Tail-bud				Detak Jantung			
		24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96
12,5%	1					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	2					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	3	+	+	+	+												
	4					+	+	+	+	+	+	+	+				+
	5					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	6					+	+	+	+	+	+	+	+				+
	7					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	8					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	9					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	10					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	11					+	+	+	+	+	+	+	+				+
	12					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	13					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	14					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	15					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	16					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	17	+	+	+	+												
	18					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	19					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	20					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+

Konsentrasi 6,25%

Sampel		Parameter Pengamatan															
	Nomor Embrio	Koagulasi				Pembentukan Somite				Pelepasan Tail-bud				Detak Jantung			
		24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96
6,25%	1					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	2					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	3					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	4					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	5					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	6					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	7					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	8					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	9					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	10					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	11					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	12					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	13					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	14					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	15					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	16					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	17					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	18					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	19					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	20	+	+	+	+												

d) Kontrol Negatif (nC)

Sampel		Parameter Pengamatan															
	Nomor Embrio	Koagulasi				Pembentukan Somite				Pelepasan Tail-bud				Detak Jantung			
		24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96
Kontrol (-)	1					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+
	2					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+
	3					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	4	+	+	+	+												
	5					+	+	+	+	+	+	+	+				+
	6					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	7					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+
	8					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+
	9					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+
	10					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	11	+	+	+	+												
	12					+	+	+	+	+	+	+	+				+
	13					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+
	14					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+
	15					+	+	+	+	+	+	+	+				+
	16					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	17					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	18					+	+	+	+	+	+	+	+				+
	19					+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	20					+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+

e) Konstrol Positif (pC)

Sampel		Parameter Pengamatan															
	Nomor Embrio	Koagulasi				Pembentukan Somite				Pelepasan Tail-bud				Detak Jantung			
		24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96
Kontrol (+)	1					+	+	+	+			+	+			+	+
	2	+	+	+	+												
	3					+	+	+	+		+	+	+			+	+
	4					+	+	+	+			+	+			+	+
	5					+	+	+	+		+	+	+			+	
	6					+	+	+	+		+	+	+			+	
	7					+	+	+	+		+	+	+			+	
	8					+	+	+	+			+	+			+	
	9	+	+	+	+												
	10					+	+	+	+				+			+	
	11					+	+	+	+			+	+			+	
	12					+	+	+	+			+	+			+	+
	13					+	+	+	+				+			+	
	14					+	+	+	+				+			+	
	15					+	+	+	+			+	+			+	
	16					+	+	+	+			+	+			+	+
	17					+	+	+	+				+			+	+
	18	+	+	+	+												
	19					+	+	+	+				+			+	+
	20					+	+	+	+				+			+	

Lampiran 3. 1 Gambar kelainan embrio berupa *Pericardial edema* pada pC



RIWAYAT HIDUP



Indita Ratna Pratiwi biasa dipanggil Indita, lahir di Semarang pada tanggal 22 Januari 2002. Penulis merupakan anak bungsu dari dua bersaudara, putri dari pasangan Bapak Suratno dan Ibu Ina Mei Prihatiningsih. Pendidikan dasar ditempuh di SDN Purwoyoso 06 Kota Semarang (2008-2014). Setelah itu, penulis melanjutkan pendidikan menengah pertama di SMP H. Isriati Kota Semarang (2014-2017), dan menempuh pendidikan menengah atas di SMAN 7 Kota Semarang (2017-2020). Pada tahun 2021, penulis melanjutkan pendidikan tinggi di Program Studi Teknik Lingkungan Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan Universitas Islam Indonesia, dan berhasil menyelesaikan studi jenjang Strata Satu (S1) pada tahun 2025.