p-ISSN. 2406-9825
e-ISSN. 2614-3178

Acta Aquatica: Aquatic Sciences Journal, 12:2 (August, 2025): 172-179

Acta Aquatica
Aquatic Sciences Journal

Analisis toksisitas akut LC50-96 Jam (*Lethal Concentration*) *compound* logam berat kromium dan surfaktan *Linear Alkylbenzene Sulfonate* (Studi kasus: ikan zebra (*Danio rerio*))

Acute toxicity analysis of LC50-96-hour (Lethal Concentration) compound of heavy metal chromium and surfactant Linear Alkylbenzene Sulfonate (Case study: zebra fish (*Danio rerio*))

Received: 03 September 2024, Revised: 19 May 2025, Accepted: 21 May 2025
DOI: 10.29103/aa.v12i2.18577

Linda Dwi Kusmawati[a]*, Dedy Suprayogi[a], dan Abdul Hakim[a]

[a] Department of Environmental Engineering, Faculty of Science and Technology, Sunan Ampel State Islamic University Surabaya, Jl. Dr. Ir. H. Soekarno No. 682, Gunung Anyar, Kota Surabaya 60294, East Java, Indonesi

Abstrak

Penurunan kualitas air akibat kehadiran unsur kimia yang melebihi batas aman di lingkungan disebabkan oleh aktivitas manusia. Salah satu penyebab utama pencemaran adalah penggunaan logam berat seperti kromium dalam berbagai industri tanpa pengolahan yang memadai, menjadikannya sebagai salah satu polutan yang paling berbahaya. Selain itu, limbah cair yang mengandung surfaktan dari deterjen sintetis dapat membentuk gelembung busa yang sulit hilang dan mengganggu pertukaran gas antara air dan atmosfer, sehingga memperburuk pencemaran. Penelitian ini bertujuan untuk menilai tingkat toksisitas akut dan menganalisis klasifikasi *compound* logam berat Kromium (Cr) *dan Linear Alkylbenzene Sulfonate* (LAS) yang dapat menyebabkan kematian pada ikan zebra (*Danio rerio*). Proses penelitian mencakup tahap penyesuaian biota uji, *Range Finding Test* (RFT), dan *Acute Toxicity Test* (ATT). Konsentrasi yang digunakan dalam uji toksisitas akut (ATT) adalah P1 (0 ppm), P2 (6,4 ppm), P3 (9,0 ppm), P4 (12,5 ppm), P5 (17,6 ppm), dan P6 (25,6 ppm). Penelitian ini adalah studi eksperimental yang menggunakan analisis probit untuk menghitung nilai LC_{50}. Hasil analisis toksisitas akut menunjukkan bahwa nilai LC_{50} untuk *compound* logam berat Kromium (Cr) dan LAS adalah 11,46 ppm. Berdasarkan klasifikasi bahaya kimia dan pelabelan oleh US EPA tahun 2004, nilai LC_{50} ini masuk dalam kategori IV, yang mengindikasikan bahwa *compound* logam berat Kromium (Cr) dan LAS tergolong relatif tidak berbahaya.

Kata Kunci: Ikan Zebra (Danio rerio); Lethal Concentration$_{50}$; Compound Logam Berat Kromium (Cr) dan Linear Alkylbenzene Sulfonate (LAS); Uji Toksisitas Akut

Abstract

The decline in water quality due to the presence of chemical elements that exceed safe limits in the environment is caused by human activities. One of the main causes of pollution is the use of heavy metals such as chromium in various industries without adequate treatment, making it one of the most harmful pollutants. In addition, liquid waste containing surfactants from synthetic detergents can form foam bubbles that are difficult to remove and interfere with gas exchange between water and the atmosphere, thus exacerbating pollution. This study aims to assess the level of acute toxicity and analyze the classification of compound heavy metals Chromium (Cr) and Linear Alkylbenzene Sulfonate (LAS) that can cause death in zebrafish (*Danio rerio*). The research process includes the stages of adjusting the test biota, Range Finding Test (RFT), and Acute Toxicity Test (ATT). The concentrations employing in the acute toxicity test (ATT) were P1 (0 ppm), P2 (6.4 ppm), P3 (9.0 ppm), P4 (12.5 ppm), P5 (17.6 ppm), and P6 (25.6 ppm). This research is an experimental study that employing probit analysis to calculate the LC_{50} value. The results of acute toxicity analysis showed that the LC_{50} value for compound heavy metals Chromium (Cr) and LAS was 11.46 ppm. Based on the chemical hazard classification and labeling by the US EPA in 2004, this LC_{50} value is included in category IV, which indicates that compound heavy metals Chromium (Cr) and LAS are classified as relatively harmless.

Keywords: Acute Toxicity Test; Compound Heavy Metal Chromium (Cr) and Linear Alkylbenzene Sulfonate (LAS); Lethal Concentration$_{50}$; Zebra fish (Danio rerio)

** Korespondensi: Program Studi Teknik Lingkungan, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Sunan Ampel Surabaya, Kota Surabaya, Indonesia.*
Tel: +62-82228205446
e-mail: lindadwi662@gmail.com

1. Pendahuluan

Penurunan kualitas air permukaan dan air tanah disebabkan oleh faktor alami serta aktivitas manusia. Kehadiran unsur kimia yang melebihi batas aman di lingkungan alam adalah akibat dari kegiatan manusia. Dengan kata lain, sumber utama

pencemaran meliputi limbah perkotaan, domestik, dan industri, penggunaan pestisida dan pupuk dalam pertanian, serta pembuangan sampah ke saluran air (Georgaki & Charalambous, 2023). *Linear Alkylbenzene* Sulfonate (LAS) adalah surfaktan anionik yang paling umum dimanfaatkan dalam konteks pencucian di *laundry* institusional dan komersial karena kemampuannya yang sangat baik dalam pembersihan dan efektivitasnya yang tinggi (Mungray dan Kumar, 2009 dalam Ikpesu, 2024). Komponen utama dalam produk deterjen adalah surfaktan, yaitu zat aktif permukaan yang berdampak negatif pada badan air, mengakibatkan penurunan kualitas air dan peningkatan kematian hewan di perairan (Ghosh et al., 2022).

Penggunaan *Linear Alkylbenzene Sulfonate* (LAS) di seluruh dunia setiap tahun melebihi surfaktan lainnya dengan total mencapai 18,2 juta ton. Namun, sekitar 5% dari produksi *Linear Alkylbenzene Sulfonate* (LAS) mencemari badan air dan tidak dapat terurai pada konsentrasi tinggi. Selain itu, toksisitas *Linear Alkylbenzene Sulfonate* (LAS) terdeteksi pada konsentrasi antara 0,0025 ± 300 hingga 0,3 ± 200 mg/l (Gouda, Hagras, et al., 2022). Air limbah yang mengandung surfaktan dari deterjen sintetis yang dibuang ke lingkungan dapat menyebabkan terbentuknya gelembung-gelembung yang sukar hilang dan busa yang bertahan lama di permukaan air. Busa ini bertindak sebagai penghalang yang mengganggu pertukaran gas antara badan air dan atmosfer, yang mengakibatkan pencemaran. Efeknya termasuk kerusakan pada badan air, penurunan kadar oksigen terlarut yang dapat membunuh mikroorganisme, terhambatnya degradasi zat beracun, serta dampak negatif lainnya (Gouda, Okbah, et al., 2022). Semua jenis deterjen berpotensi menyebabkan kerusakan serius pada insang dengan merusak lapisan lendir yang melindungi ikan dari bakteri dan parasit. Deterjen banyak digunakan di industri dan rumah tangga untuk membersihkan peralatan, instalasi, mesin berat, kendaraan, dan bahan yang kotor karena minyak (Mo & Ochogwu, 2020).

Selain bahan organik seperti *Linear Alkylbenzene Sulfonate* (LAS) yang dapat mencemari air, logam berat dengan massa jenis tinggi seperti Kobalt (Co), Kromium (Cr), Arsen (As), Tembaga (Cu), Besi (Fe), Magnesium (Mg), Timah (Sn), Mangan (Mn), Aluminium (Al), Timbal (Pb), dan Seng (Zn) juga cukup toksik bahkan pada konsentrasi rendah dan dapat terakumulasi dalam berbagai organ ikan. Kromium dan partikelnya masuk ke perairan dari berbagai sektor industri seperti tekstil, pelapisan listrik, pewarnaan, dan industri medis karena penggunaan logam ini yang luas. Penggunaan kromium (Cr(III)/Cr(VI)) dalam penyamakan kulit menjadi salah satu pencemar lingkungan yang paling berbahaya karena dapat dengan mudah melewati membran sel (Ali et al., 2021). Penyebaran polusi kromium terjadi karena metode pengolahan yang tidak efisien. Berdasarkan data *Toxics Release Inventory*, kromium yang dilepaskan ke udara dan air masing-masing mencapai 250 dan 64.500 pon per tahun (Murthy et al., 2023). Penelitian yang dilakukan oleh Darmawan (2019) menunjukkan kadar kromium (Cr) di sepanjang sungai Rungkut, Kota Surabaya, yang diukur pada tiga titik berbeda di lima desa. Kadar kromium (Cr) yang ditemukan di masing-masing desa diantaranya Desa Medokan sebesar 2,231 mg/kg, Desa Wonorejo sebesar 2,520 mg/kg, Desa Penjaringan sebesar 1,557 mg/kg, Desa Pandugo sebesar 1,782 mg/kg, dan Desa Kalirungkut sebesar 1,788 mg/kg.

Ikan sering digunakan sebagai bioindikator yang efektif dan sensitif untuk mengevaluasi toksisitas polutan dalam air serta kualitas ekosistem. Dalam hal ini, ikan zebra (*Danio rerio*) telah terbukti menjadi model yang dapat diandalkan dalam berbagai penelitian, terutama di bidang ekotoksikologi. Ikan zebra (*Danio rerio*) adalah model yang ekonomis dengan kesamaan genetik yang tinggi dengan vertebrata lain, termasuk manusia, dan menunjukkan sensitivitas tinggi terhadap pencemaran lingkungan (Libanio Reis Santos et al., 2024). Karena ikan merupakan target utama zat beracun, sehingga ikan menjadi alat yang tepat untuk mengevaluasi kualitas lingkungan perairan dan memantau pencemaran lingkungan (Gouda, Okbah, et al., 2022).

Dalam penelitian ini, uji toksisitas dilakukan untuk menilai potensi toksisitas dari *compound* logam berat Kromium (Cr) dan *Linear Alkylbenzene Sulfonate* (LAS), yang dapat menyebabkan kematian pada ikan zebra (*Danio rerio*) pada konsentrasi tertentu, diukur menggunakan nilai LC50. Tujuan dari analisis ini adalah untuk menilai tingkat toksisitas akut limbah terhadap ikan zebra dengan mengkaji keberadaan senyawa kimia beracun dalam ekosistem perairan.

2. Materials and Methods

2.1. Lokasi dan waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Teknik Lingkungan Universitas Islam Negeri Sunan Ampel Surabaya, tepatnya berlokasi di Jl. Dr. Ir. Soekarno No. 682, Kecamatan Gunung Anyar, Surabaya. Penelitian dimulai pada bulan Desember 2023 dan berlangsung hingga Januari 2024.

2.2. Alat dan bahan penelitian

Penelitian ini menggunakan berbagai peralatan, termasuk kolam aklimatisasi dengan ukuran 1 m x 0,5 m x 0,25 m yang terbuat dari terpal dengan rangka pipa. Tahap *Range Finding Test* (RFT) dan *tahap Acute Toxicity Test* (ATT) dilakukan dengan menggunakan 11 reaktor kaca dengan ukuran 0,25 m x 0,25 m x 0,20 m. Selain itu, digunakan rangkaian aerator untuk suplai oksigen, gelas beker berukuran 1000 mL dan 100 mL, gelas ukur 10 mL, neraca analitik, pH meter, lux light meter, termometer, DO meter, pengaduk kaca, dan saringan ikan. Penelitian ini menggunakan beberapa bahan yang meliputi logam berat Kromium ($K_2Cr_2O_7$), surfaktan *Linear Alkylbenzene Sulfonate* (LAS), 300 ekor ikan zebra (*Danio rerio*) berukuran 2-3 cm (Rahayu, dkk. 2020), dan air PDAM.

2.3. Tahap penyesuaian biota uji

Penyesuain biota uji dengan lingkungannya yang baru dilakukan untuk mencegah terjadinya stress pada biota uji. Penyesuaian biota uji atau tahap penyesuain biota uji ini dilaksanakan selama tujuh hari. Selama aklimatisasi berlangsung dilakukan pengecekan parameter pH, suhu, DO (tingkat oksigen terlarut), dan intensitas cahaya untuk memastikan kondisi lingkungan yang baru telah sesuai dengan kelayakan hidup biota uji.

2.4. Rancangan percobaan penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian eksperimental skala laboratorium. Pemberian perlakuan terhadap ikan zebra (*Danio rerio*) pada uji toksisitas akut LC50-96 jam dilakukan dengan toksikan *compound* logam berat Kromium (Cr) dan *Linear Alkylbenzene Sulfonate* (LAS) pada lima perlakuan secara duplo dan penambahan satu kontrol.

2.5. Tahap range finding test

Penentuan rentang konsentrasi senyawa kimia serta durasi pemaparan selama empat hari atau 96 jam dilakukan pada tahap uji *Range Finding Test* atau uji pendahuluan (Kartikasari, dkk. 2022). Pada tahap ini, pengamatan memiliki tujuan untuk mengidentifikasi konsentrasi yang dapat mengakibatkan 100% kematian biota uji dan 0% kelangsungan hidup biota uji. Terdapat lima perlakuan beserta kontrol yang digunakan diantaranya P1 (0 ppm), P2 (1,6 ppm), P3 (3,2 ppm), P4 (6,4 ppm), P5 (12,8 ppm), dan P6 (25,6 ppm). Pemberian pakan terhadap biota uji dihentikan saat tahap *Range Finding Test* (RFT) sedang

berlangsung untuk mencegah kematian akibat kontaminasi makanan atau penumpukan kotoran ikan yang berlebihan. Setiap hari, dilakukan pengecekan beberapa parameter seperti pH, suhu, DO (tingkat oksigen terlarut), dan intensitas cahaya.

2.6. Penentuan konsentrasi acute toxicity test

Konsentrasi yang digunakan diperoleh berdasarkan nilai ambang batas bawah saat tahap *Range Finding Test* (RFT), yaitu dimulai dari konsentrasi 6,4 ppm. Konsentrasi selanjutnya didapatkan dari series geometris dengan faktor pengali 1,4 sesuai dengan pedoman (OECD, 2019).

2.7. Tahap acute toxicity test

Tahap *Acute Toxicity Test* (ATT) memiliki tujuan sebagai penentu jumlah kematian pada biota uji yang mencapai kematian hingga 50% selama 96 jam. Lima perlakuan beserta kontrol yang digunakan diantaranya P1 (0 ppm), P2 (6,4 ppm), P3 (9,0 ppm), P4 (12,5 ppm), P5 (17,6 ppm), dan P6 (25,6 ppm). Di sisi lain, selama pengamatan juga dilakukan pengukuran pH, suhu, DO, dan intensitas cahaya dengan kurun waktu 96 jam pada masing-masing reaktor.

2.8. Analisis data

Analisis data dalam penelitian ini dilakukan dengan menggunakan analisis probit yang dioperasikan melalui Microsoft Excel. metode ini membantu menentukan LC50-96 jam (konsentrasi mematikan 50% dalam 96 jam) dari suatu toksikan dengan menganalisis data uji toksisitas.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Tahap penyesuaian biota uji

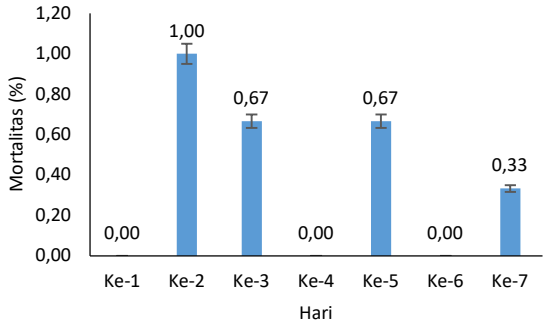
Tahap penyesuaian biota uji dilaksanakan dengan tujuan agar membiasakan biota uji yaitu ikan zebra (*Danio rerio*) dengan kondisi air baru di dalam air yang memiliki karakteristik serupa dengan air yang hendak digunakan ketika melakukan percobaan. Penyesuaian biota uji dilaksanakan dalam kurun waktu satu tujuh hari (Husein, dkk. 2023). Jumlah ikan zebra (*Danio rerio*) pada tahap penyesuaian biota uji ini sebanyak 300 ekor dengan berat rata-rata ikan yaitu 0,25 gr. Biota uji diberi pakan setiap hari sebanyak 4% dari bobot biomassa ikan (Pratama, dkk., 2020). Pakan yang diberikan yaitu artemia *polar red*. Selama tahap ini, mortalitas biota uji diamati untuk memastikan kelayakannya dalam melanjutkan ke tahap berikutnya. Berdasarkan pedoman OECD (2019), biota uji dianggap layak selama tahap penyesuaian jika memenuhi kriteria-kriteria berikut.

1) Biota uji layak untuk tahap selanjutnya jika kematian yang terjadi kurang dari 5% dari total biota uji selama periode penyesuaian biota uji.
2) Jika tingkat kematian biota uji selama penyesuaian biota uji berada antara 5% hingga 10%, maka penyesuaian terhadap biota uji perlu diperpanjang selama 14 hari ke depan.
3) Biota uji dianggap tidak layak untuk melanjutkan ke tahap berikutnya jika tingkat kematian mencapai lebih dari 15% selama penyesuaian biota uji.

Berikut ini merupakan tabel dan grafik dari mortalitas Ikan Zebra (*Danio rerio*) pada tahap penyesuaian biota uji disajikan dalam Tabel 1 dan Gambar 1.

Tabel 1
Mortalitas ikan zebra (*Danio rerio*) tahap penyesuaian biota uji.

Hari	Jumlah Ikan Zebra (*Danio rerio*)	Mortalitas	
		Ekor	(%)
Ke-1	300	0	0,00
Ke-2	300	3	1,00
Ke-3	300	2	0,67
Ke-4	300	0	0,00
Ke-5	300	2	0,67
Ke-6	300	0	0,00
Ke-7	300	1	0,33



Gambar 1. Grafik mortalias ikan zebra *(Danio rerio*) pada tahap penyesuaian biota uji.

Berdasarkan hasil mortalitas selama tahap penyesuaian biota uji, diketahui bahwa total mortalitas biota uji sebesar 2,67%. Sehingga biota uji yaitu ikan zebra (*Danio rerio*) dapat dikatakan layak untuk tahap selanjutnya sesuai pedoman OECD (2019), yang menyatakan mortalitas biota uji kurang dari 5%.

Selama proses penyesuaian biota uji, dilakukan pemantauan faktor-faktor lingkungan seperti pH, suhu, kadar oksigen terlarut (DO), dan intensitas cahaya untuk memastikan kondisi lingkungan pada tahap penyesuaian biota uji sesuai dengan habitat alami biota yang diuji. Pemeliharaan ikan zebra (*Danio rerio*) dapat dilakukan secara optimal jika kondisi air memenuhi kriteria berikut.

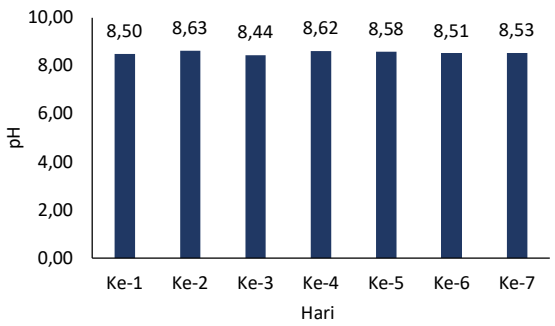
1) Tingkat oksigen terlarut (DO) optimum berada pada kisaran 5,0 ppm (US EPA, 2002).
2) Suhu air harus berada dalam rentang 6 – 38°C (Department of Research Regulation, 2020).
3) pH dipertahankan antara 6 hingga 8,5 selama tahap penyesuaian biota uji (US EPA, 2002).
4) Intensitas cahaya yang optimal untuk ikan zebra (*Danio rerio*) adalah antara 54 hingga 324 lux (Department of Research Regulation, 2020).

Berikut ini merupakan hasil pengecekan parameter kualitas air pada tahap penyesuaian biota uji.

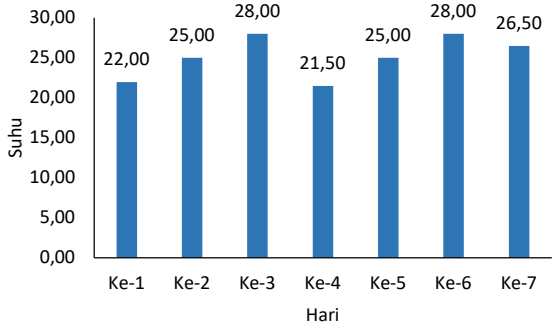
Tabel 2
Pengukuran kualitas air tahap penyesuaian biota uji.

Kualitas Air	Hasil	Satuan
Tingkat oksigen terlarut (DO)	5,75- 7,08	ppm
Suhu	21,50-28,00	℃
pH	8,44 - 8,63	-
Intensitas cahaya	62-252	lux

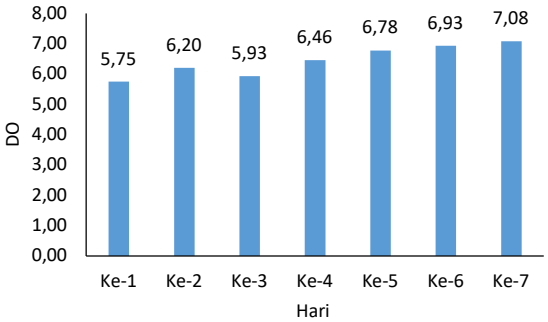
Grafik hasil nilai pH, suhu, DO, dan intensitas cahaya dapat dilihat pada Gambar 2, Gambar 3, Gambar 4, dan Gambar 5 sebagai berikut.



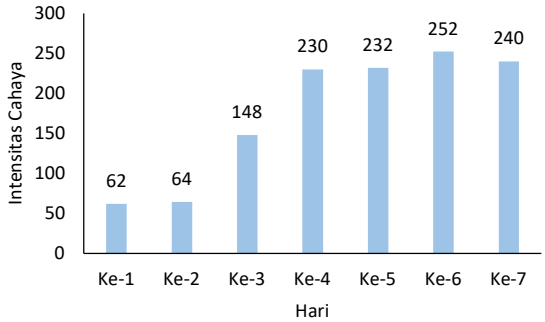
Gambar 2. Hasil pengukuran pH air tahap penyesuaian biota uji.



Gambar 3. Hasil pengukuran suhu air tahap penyesuaian biota uji.



Gambar 4. Hasil pengukuran DO air tahap penyesuaian biota uji.



Gambar 5. Hasil pengukuran intensitas cahaya tahap penyesuaian biota uji.

Hasil pengukuran pH selama tahap penyesuaian biota uji menunjukkan peningkatan yang disebabkan oleh proses aerasi terus-menerus, yang melepaskan karbon dioksida dan amonia, sehingga membuat pH air menjadi lebih tinggi. Kenaikan pH ini terjadi karena pemecahan protein oleh enzim proteolitik (autolisis), yang menghasilkan senyawa amonia bersifat basa. Proses autolisis juga mendorong pertumbuhan bakteri karena lingkungan yang dihasilkan dari pemecahan enzim selama autolisis menjadi kondusif bagi pertumbuhan mikroba (Liviawaty dan Afrianto, 2014 *dalam* Negin, dkk. 2017). Sebaliknya, penurunan pH terjadi karena pada hari tersebut dilakukan pengurasan kolam penyesuaian biota uji dengan mengganti air hingga 100%, sehingga tidak ada kotoran yang tersisa. Selama tahap ini, kolam penyesuaian biota uji dilakukan pengurasan sebanyak tiga kali untuk tetap menjaga kualitas air. Perubahan nilai suhu selama tahap penyesuaian biota uji selama tujuh hari masih dapat ditoleransi oleh ikan zebra (*Danio rerio*), karena ikan ini mampu hidup dalam rentang suhu 6°C hingga 38°C (Spence, et al., 2008 *dalam* Department of Research Regulation, 2020).

Peningkatan kadar oksigen (DO) selama tahap penyesuaian biota uji disebabkan oleh proses aerasi yang terus-menerus, didukung oleh rangkaian aerator yang mencakup pompa dengan dua lubang, selang, dan batu aerator berfungsi dengan baik sepanjang pelaksanaan penelitian. Proses ini menghasilkan gelembung udara yang memicu terjadinya difusi oksigen, sehingga meningkatkan kadar oksigen dalam air. Hal ini memastikan transfer oksigen dalam air berlangsung secara maksimal, memungkinkan ikan untuk tetap hidup dalam keadaan ideal. Hasil pengukuran parameter DO selama tujuh hari penyesuaian biota uji menunjukkan nilai yang optimal untuk ikan, yaitu kisaran 5,0 ppm (US EPA, 2002). Perubahan tingkat intensitas cahaya yang terjadi disebabkan oleh faktor cuaca. Meskipun demikian, perubahan tersebut masih berada dalam rentang intensitas cahaya yang optimal untuk ikan zebra (*Danio rerio*), yaitu antara 54 hingga 324 lux (Spence, et al., 2008 *dalam* Department of Research Regulation, 2020).

3.2. *Uji range finding test*

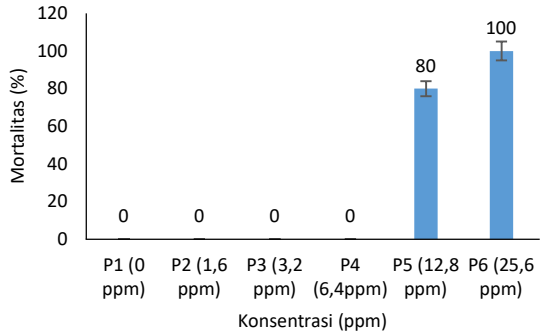
Tujuan dari tahap *Range Finding Test* (RFT) yaitu sebagai penentu range konsentrasi yang akan digunakan sebagai batas atas dan bawah dalam uji toksisitas akut berikutnya (*Acute Toxicity Test*, ATT). Berdasarkan OECD (2019), Konsentrasi batas atas merujuk pada tingkat konsentrasi yang menjadi penyebab mortalitas sebanyak 100% pada biota uji, sedangkan konsentrasi batas bawah adalah tingkat konsentrasi yang menyebabkan mortalitas sebanyak 0% pada biota uji. Selama tahap ini, biota uji dalam reaktor tidak diberi makan untuk mencegah timbulnya kotoran berlebihan yang dapat menyebabkan pertumbuhan parasit (Kartikasari, dkk. 2022).

Berdasarkan hasil analisa, diketahui bahwa pada P1 (0 mg/L) hingga P4 (6,4 ppm) tidak menyebabkan kematian terhadap ikan zebra (*Danio rerio*) selama empat hari uji *Range Finding Test* (RFT). Limbah dapat menyebabkan kematian terhadap ikan zebra (*Danio rerio*) pada P5 (12,8 ppm) dengan presentase sebesar 80% yakni sebanyak 8 ekor. Sedangkan pada P6 (25,6 ppm) menyebabkan kematian ikan hingga 100% yakni sebanyak 10 ekor. Sesuai data rata-rata kematian tersebut kemudian dapat diketahui bahwa nilai ambang batas bawah yang akan digunakan untuk tahap *Acute Toxicity Test* berada pada P4 (6,4 ppm) dan nilai ambang batas atas untuk tahap *Acute Toxicity Test* berada pada P6 (25,6 ppm). Berikut rincian mortalitas Ikan Zebra (*Danio rerio*) selama tahap *Range Finding Test* dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3
Mortalitas ikan zebra (*Danio rerio*) tahap *range finding test*.

Konsentrasi (ppm)	Jumlah Ikan Zebra (*Danio rerio*)	Mortalitas 96 Jam	
		Ekor	(%)
P1 (0 ppm)	10	0	0
P2 (1,6 ppm)	10	0	0
P3 (3,2 ppm)	10	0	0
P4 (6,4 ppm)	10	0	0
P5 (12,8 ppm)	10	8	80
P6 (25,6 ppm)	10	10	100

Berikut ini merupakan grafik dari mortalitas Ikan Zebra (*Danio rerio*) pada tahap *Range Finding Test* yang dapat dilihat pada Gambar 6.



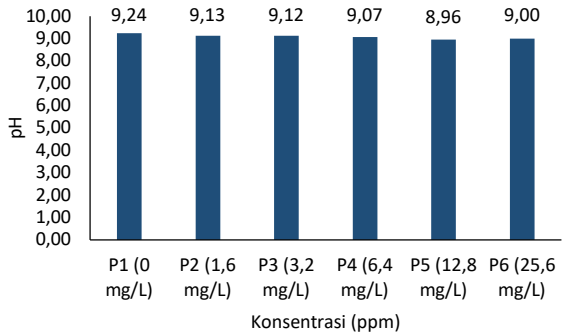
Gambar 6. Grafik mortalias ikan zebra *(Danio rerio*) pada tahap *range finding Test*.

Semakin tinggi konsentrasi dapat menyebabkan kematian pada biota uji semakin banyak. Selain pengamatan mortalitas, pengamatan kualitas air dilakukan setiap hari selama tahap *Range Finding Test* dengan parameter pH, suhu, Oksigen Terlarut (DO), dan intensitas cahaya. Dari 6 perlakuan dan dua ulangan, hasil yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 4.

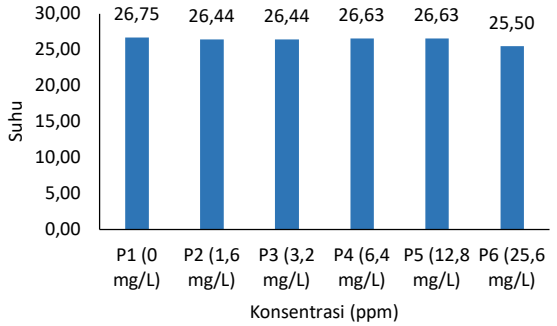
Tabel 4
Pengukuran Kualitas Air Tahap *Range Finding Test*.

Kualitas Air	Hasil	Satuan
Tingkat oksigen terlarut (DO)	4,29-5,33	ppm
Suhu	25,50-26,75	℃
pH	8,96-9,24	-
Intensitas cahaya	72-164	lux

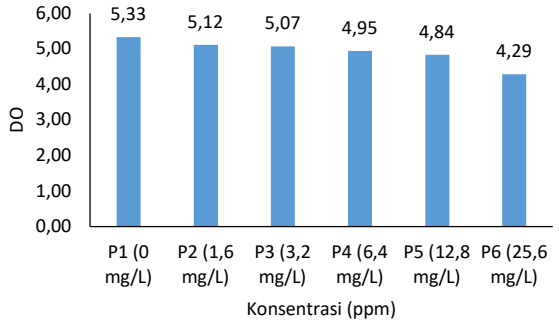
Grafik hasil nilai pH, suhu, DO, dan intensitas cahaya dapat dilihat pada Gambar 7, Gambar 8, Gambar 9, dan Gambar 10 sebagai berikut.



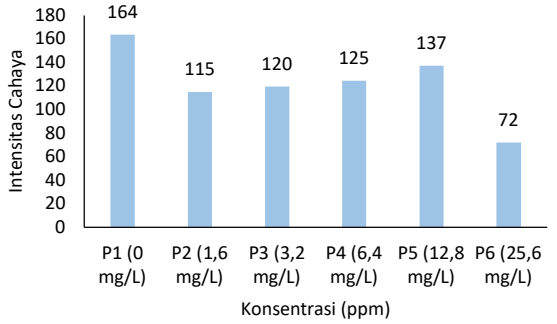
Gambar 7. Hasil pengukuran pH air tahap *range finding test*.



Gambar 8. Hasil pengukuran suhu air tahap *range finding test*.



Gambar 9. Hasil pengukuran DO air tahap *range finding test*.



Gambar 10. Hasil pengukuran intensitas cahaya tahap *range finding test*.

Nilai pH pada tahap *Range Finding Test* mengalami peningkatan dengan range 8,96-9,24 dibandingkan dengan nilai pH saat tahap penyesuaian biota uji dengan range 8,44 - 8,63. Pemberian konsentrasi zat beracun dalam air dapat menyebabkan naiknya pH. Hal tersebut selaras dengan pernyataan Mainassy, 2017 *dalam* Maulidia, dkk (2023), dimana ketika air tercemar oleh bahan organik dan anorganik dapat menyebabkan pH air cenderung meningkat. Perubahan suhu pada tahap ini cenderung stabil pada tiap perlakuan dan nilai yang didapatkan berada pada zona aman untuk hidup ikan zebra (*Danio rerio*), karena ikan ini mampu hidup dalam rentang suhu 6°C hingga 38°C (Spence, et al., 2008 *dalam* Department of Research Regulation, 2020).

Hasil pengukuran DO pada tahap *Range Finding Test* menunjukkan bahwa hasil DO semakin rendah pada perlakuan dengan konsentrasi yang semakin tinggi. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Mo & Ochogwu (2020), yaitu kadar oksigen terlarut (DO) mengalami penurunan seiring meningkatnya konsentrasi racun. Selain itu, tingginya kadar amonia dapat menyebabkan DO menurun hingga mendekati nol selama periode aliran rendah. Rendahnya kadar DO ini menciptakan kondisi anoksik, yang menyebabkan mobilisasi logam dan pelepasan gas beracun seperti hidrogen sulfida (Rampley et al., 2020). Perubahan intensitas cahaya yang terjadi dipengaruhi oleh kondisi cuaca. Meskipun demikian, perubahan tersebut tetap berada dalam rentang pencahayaan yang ideal untuk ikan zebra (Danio rerio), yaitu antara 54 hingga 324 lux lux (Spence, et al., 2008 *dalam* Department of Research Regulation, 2020).

3.3. Tahap acute toxicity test

Uji Toksisitas Akut (*Acute Toxicity Test*,ATT) bertujuan untuk mengukur tingkat kematian organisme uji hingga 50% dalam waktu 96 jam. Selama pengamatan, parameter seperti pH, suhu, DO, dan intensitas cahaya diukur pada setiap reaktor.

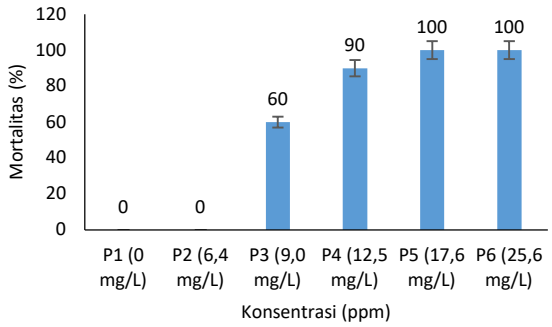
Tahap ini serupa dengan Uji Penentuan Rentang (*Range Finding Test*,RFT), tetapi berbeda dalam variasi konsentrasi yang digunakan (Kartikasari, dkk. 2022).

Berdasarkan hasil analisa, diketahui bahwa pada P1 (0 mg/L) hingga P4 (6,4 ppm) tidak menyebabkan kematian terhadap ikan zebra (*Danio rerio*) selama empat hari uji *Acute Toxicity Test* (ATT). Limbah dapat menyebabkan kematian terhadap ikan zebra (*Danio rerio*) pada P3 (9,0 ppm) dengan jumlah kematian sebesar 60% atau sebanyak 6 ekor di hari ke-1. Sedangkan pada P4 (12,5 ppm) menyebabkan kematian sebesar 80% di hari ke-1 dan menjadi 90% di hari ke-2. Kematian ikan zebra (*Danio rerio*) pada P4 (17,6 ppm) dapat menyebabkan kematian sebesar 70% di hari ke-1 dan menjadi 100% di hari ke-2. Kemudian pada P5 (25,6 ppm) menyebabkan kematian ikan hingga 100% yakni sebanyak 10 ekor. Berikut rincian mortalitas Ikan Zebra (*Danio rerio*) selama tahap *Acute Toxicity Test* dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4
Mortalitas ikan zebra (*Danio rerio*) tahap *acute toxicity test*.

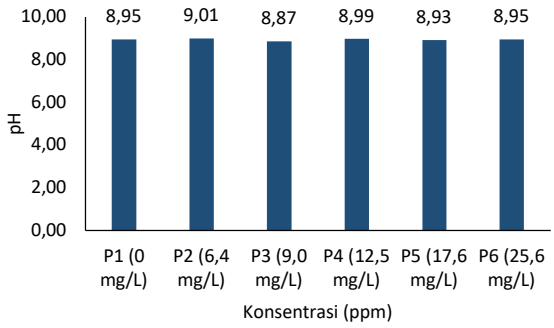
Konsentrasi (ppm)	Jumlah Ikan Zebra (*Danio rerio*)	Mortalitas 96 Jam	
		Ekor	Ekor
P1 (0 ppm)	10	0	0
P2 (6,4 ppm)	10	0	0
P3 (9,0 ppm)	10	6	60
P4 (12,5 ppm)	10	9	90
P5 (17,6 ppm)	10	10	100
P6 (25,6 ppm)	10	10	100

Berikut ini merupakan grafik dari mortalitas Ikan Zebra (*Danio rerio*) pada tahap *acute toxicity test* yang dapat dilihat pada Gambar 6.

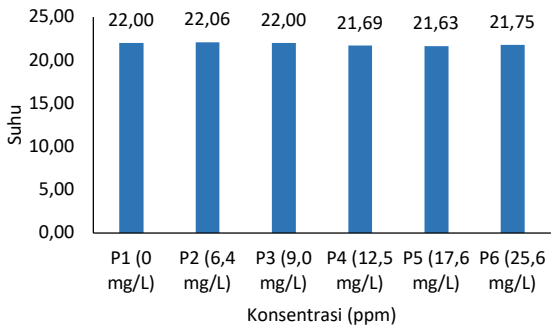


Gambar 6. Grafik mortalias ikan zebra *(Danio rerio*) pada tahap *acute toxicity test*.

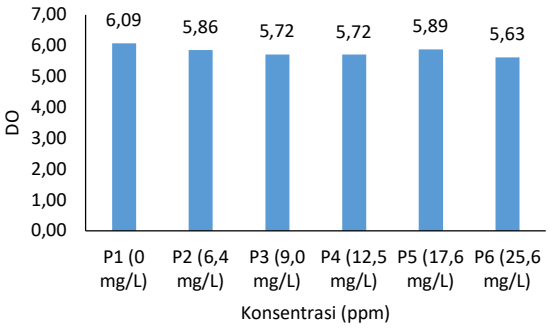
Pengamatan kualitas air dilakukan setiap hari selama tahap *acute toxicity test* dengan parameter pH, suhu, Oksigen Terlarut (DO), dan intensitas cahaya yang diamati. Dari 6 perlakuan dan dua ulangan, hasil yang diperoleh adalah pH 8,93-9,01 dapat dilihat pada Gambar 11, suhu 21,63-22,06℃ dapat dilihat pada Gambar 12, DO 5,63-6,09 ppm dapat dilihat pada Gambar 13, dan intensitas cahaya 116-148 lux dapat dilihat pada Gambar 14.



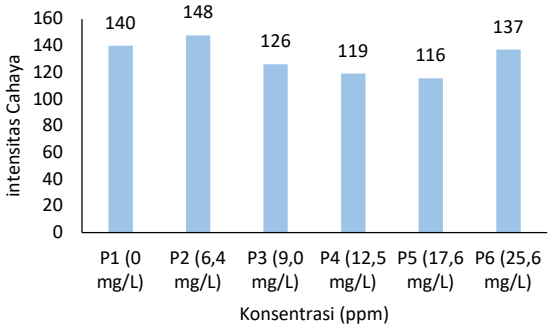
Gambar 11. Hasil pengukuran pH air tahap *acute toxicity test*.



Gambar 3. Hasil pengukuran suhu air tahap *acute toxicity test*.



Gambar 4. Hasil pengukuran DO air tahap *acute toxicity test*.



Gambar 5. Hasil pengukuran intensitas cahaya tahap *acute toxicity test*.

Terdapat peningkatan pada pengukuran pH yang sejalan dengan bertambahnya konsentrasi zat beracun di air. Saat perairan tercemar oleh zat organik dan anorganik, pH air cenderung meningkat (Mainassy, 2017 dalam Maulidia, dkk. 2023). Logam Cr dalam perairan dapat meningkatkan aktivitas sistem pertahanan antioksidan (SOD, GSH dan tanin terkondensasi dalam jaringan ikan. Sebaran Cr (VI) pada ikan adalah sebagai berikut: Insang > Hati > Kulit > Otot. PH air mempengaruhi akumulasi logam Cr pada jaringan ikan, Cr (VI) menginduksi perubahan perilaku, gerakan muncul ke permukaan dan melesat, sekresi lendir yang banyak, berkumpulnya ikan di dekat aerator, gerakan lesu, peningkatan gerakan aneh untuk bernapas lebih cepat, renang tidak teratur dan meledak-ledak, serta gerakan tiba-tiba cepat dan maju. Logam Cr menyebabkan fertilisasi akut, pembekuan darah, penurunan WBC, jumlah sel

darah merah dan konsentrasi Hb (Murthy et al., 2023). Kadar oksigen terlarut (DO) di setiap reaktor mengalami fluktuasi tetapi tetap cukup stabil. Menurut Rampley et al. (2020), tingginya kadar amonia dapat menurunkan DO hingga hampir nol saat aliran air rendah, menciptakan kondisi anoksik yang memicu pelepasan logam dan gas beracun seperti hidrogen sulfida. Selain itu, peningkatan konsentrasi racun sedikit mengurangi kadar DO (Mo & Ochogwu, 2020).

Selama empat hari pengukuran, suhu di semua reaktor meningkat karena reaktor menyesuaikan suhu dengan ruangan ber-AC di laboratorium. Namun, perubahan suhu ini tidak memengaruhi kehidupan ikan zebra (Danio rerio), karena suhu tetap dalam kisaran aman, yaitu 6°C hingga 38°C (Spence et al., 2008 dalam Department of Research Regulation, 2020). Fluktuasi harian pada intensitas cahaya di setiap reaktor dipengaruhi oleh kondisi cuaca di luar laboratorium, tetapi intensitas cahaya tersebut masih berada dalam rentang optimal untuk ikan zebra (Danio rerio), yaitu 54-324 lux (Matthews et al., 2002 dalam Department of Research Regulation, 2020).

3.3. *Analisis nilai LC_{50}*

Lethal Concentration 50-96 jam (LC_{50}-96 jam) mengacu pada konsentrasi zat yang menyebabkan kematian 50% organisme uji dalam 96 jam atau empat hari. Nilai LC_{50} dihitung setelah melakukan uji toksisitas akut, di mana data kematian organisme dikumpulkan. Dalam uji toksisitas yang melibatkan ikan zebra, persentase kematian dihitung dan dianalisis menggunakan di Microsoft Excel dengan metode regresi untuk menghitung nilai LC_{50} selama 96 jam. Hasilnya menunjukkan LC50 sebesar 11,46 ppm selama 96 jam. Nilai ini lebih tinggi dibandingkan penelitian oleh Daulay, dkk (2021), yang mendapatkan LC50 sebesar 1,58 ppm menggunakan Benih ikan kakap putih yang memiliki ukuran 5-6 cm. dan bahan toksik LAS. Perbedaan ini mendukung pernyataan (Bosman, dkk. 2013 dalam Daulay, dkk 2021) bahwa kerentanan organisme terhadap zat toksik bervariasi sesuai dengan tingkat konsentrasi zat tersebut., spesies, dan ukuran organisme. Perhitungan nilai LC_{50} pada uji toksisitas *compound* logam berat krom dan surfaktan LAS dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5
Data perhitungan nilai LC_{50}-96 jam menggunakan metode probit.

Konsentrasi (ppm)	Log ppm	probit	Mati (%)	Mati	Total
P1 (0 ppm)	0,81	0,00	0	0	10
P2 (6,4 ppm)	0,95	5,25	60	6	10
P3 (9,0 ppm)	1,10	6,28	90	9	10
P4 (12,5 ppm)	1,25	8,09	100	10	10
P5 (17,6 ppm)	1,41	8,09	100	10	10

Dari data di atas, dapat diturunkan persamaan garis lurus yang menghubungkan variabel Y (nilai probit dari persentase kematian) dan variabel X (log konsentrasi). Persamaan ini dapat dinyatakan sebagai Y = ax + b. Berikut adalah nilai-nilai yang terkait dengan persamaan tersebut dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6
Parameter estimates.

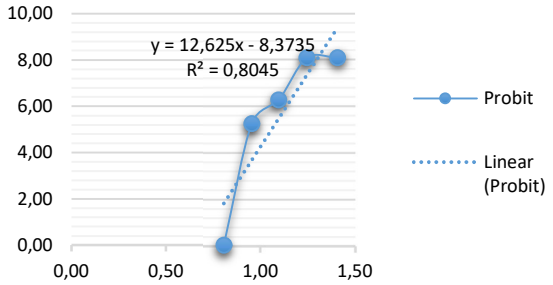
	Coeffi-cients	*Standard Error*	*t Stat*	*P-value*	*Lower 95%*	*Upper 95%*
Intercept	-8,373	4,033	-2,076	0,129	-21,207	4,460
log ppm	12,625	3,593	3,514	0,039	1,191	24,060

Estimasi nilai untuk variabel ini adalah 12,625 untuk konsentrasi (a) dan -8,373 untuk intercept (b). Nilai Y (probit) yang digunakan adalah 5, sesuai dengan tabel transformasi persentase dan berdasarkan tingkat kematian biota uji sebesar 50%. Persamaan garis lurus tersebut digunakan untuk memperoleh nilai LC_{50} dengan menggunakan persamaan pada Tabel 7.

Tabel 7
Perhitungan nilai LC_{50}-96 jam menggunakan metode probit.

	Coeffisient	Satuan
Intercept	-8,373	b
log ppm	12,625	a
Persamaan	Y = ax+b	
	5 = 12,625x + (-8,373)	
	5 + 8,373 = 12,625x	
	13,373 = 12,625x	
x	1,059	
Antilog x	11,46	ppm

Berdasarkan hasil perhitungan di atas, dapat diperoleh grafik hasil nilai LC50 96 jam yang dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Grafik probit uji toksistas.

Berdasarkan grafik di atas, perhitungan LC50 menggunakan metode analisis regresi Microsoft Excel untuk *compound* logam berat Kromium (Cr) dan *Linear Alkylbenzene Sulfonate* (LAS) terhadap Ikan Zebra (Danio rerio) menunjukkan nilai 11,46 ppm. Kemudian dilakukan analisis klasifikasi tingkat toksisitas dari *compound* logam berat Kromium (Cr) dan Linear Alkylbenzene Sulfonate (LAS) terhadap ikan Zebra. Penentuan klasifikasi toksisitas ini didasarkan pada pedoman yang dikeluarkan oleh US EPA (2004) mengenai Chemical Hazard Classification and Labeling: Comparison of OPP Requirements and the GHS.

Tabel 8
Klasifikasi toksisitas.

Kategori	Nilai (ppm)	Klasifikasi
I	Nilai LC50 ≤ 0,05 ppm	Berbahaya
II	0,05 ppm < Nilai LC50 ≤ 0,5 ppm	Peringatan
III	0,5 ppm < Nilai LC50 ≤ 2 ppm	Awas
IV	Nilai LC50 > 2 ppm	Jika hasil menunjukkan kategori IV, maka dapat menggunakan pelabelan kategori III Relatif tidak berbahaya

Menurut tabel klasifikasi tersebut, nilai LC50 sebesar 11,46 ppm termasuk dalam kategori IV, yang berarti relatif tidak berbahaya, karena nilai LC_{50} > 2 mg/L.

4. Kesimpulan

Hasil anallisis toksisitas akut LC_{50} *compound* logam berat Kromium (Cr) dan *Linear Alkylbenzene Sulfonate* (LAS) diperoleh nilai LC_{50} sebesar 11,46 ppm, yang berarti relatif tidak berbahaya karena nilai LC_{50} > 2 mg/L. Peneliti menyarankan agar dilakukan studi lanjutan mengenai paparan *compound* logam berat Kromium (Cr) dan *Linear Alkylbenzene Sulfonate* (LAS) yang

terakumulasi dalam tubuh ikan zebra (*Danio rerio*), khususnya dengan meninjau kondisi jaringan secara histologi.

Bibliography

Ali, Z., Yousafzai, A.M., Sher, N., Muhammad, I., Nayab, G.E., Aqeel, S.A.M., Shah, S.T., Aschner, M., Khan, I., and Khan, H. 2021. Toxicity and bioaccumulation of manganese and chromium in different organs of common carp (*Cyprinus carpio*) fish. *Toxicology Reports*, *8*(February), 343–348. https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2021.02.003

Darmawan. 2019. Analisa kandungan logam timbal (Pb) dan kromium (Cr) pada kreco (*Pila ampullacea*) di sepanjang sungai Rungkut Surabaya. *Jurnal EnviScience (Environment Science)*, *3*(2): 0–3.

Daulay, A.M., Erniati, 'Aklaa, C.M.N., Erlangga., dan Imamshadiqin, D. 2021. Nilai Toksisitas LC-50 (*Lethal Concentration*) Surfaktan LAS (*Linier Alkilbenzene Sulfonate*) terhadap Benih Ikan Kakap Putih (*Lates calcarifer*) skala laboratorium Toxicity. *Acta Aquatica*, *8*(8), 98–102. https://doi.org/10.29103/aa.v9i3.6780

Department of Research Regulation. 2020. *Ministry of Public Health: Policy on Zebrafish Research*.

Georgaki, M.N., and Charalambous, M. 2023. Toxic chromium in water and the effects on the human body: a systematic review. *Journal of Water and Health*, *21*(2): 205–223. https://doi.org/10.2166/wh.2022.214

Ghosh, S., Saha, N.C., Bhattacharya, R., Medda, S., and Pal, S. 2022. Alkyl benzene sulfonate induced acute toxicity and potential alteration of growth, hematological, biochemical, enzymological and stress biomarkers in *Oreochromis mossambicus* (Peters, 1852). *Scholars Academic Journal of Biosciences*, *10*(10): 233–256. https://doi.org/10.36347/sajb.2022.v10i10.001

Gouda, A.M.R., Hagras, A.E., Okbah, M.A., and El-Gammal, M.I. 2022. Influence of the Linear Alkylbenzene Sulfonate (LAS) on hematological and biochemical parameters of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *29*(2): 1006–1013. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.09.074

Gouda, A.M.R., Okbah, M.A., El-Gammal, M.I., and Hagras, A.E. 2022. Linear Alkylbenzene Sulphonate (LAS) in Nile delta lagoon and its effects on hematological and biochemical parameters in Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Chemistry and Ecology*, *38*(9), 857–872. https://doi.org/10.1080/02757540.2022.2119224

Husein, S., Nanda, N., Saputri, A., dan Ulfa, A.M. 2023. Uji toksisitas akut limbah antibiotik streptomicyn dan tetrasiklin Hcl terhadap ikan mas (*Cyprinus carpio L.*). *Indonesian Nursing Journal of Education an Clinic*, *3*(4): 234–241.

Ikpesu, T.O. 2024. The Impact of Surfactant on aquatic ecosystems: a study on biochemical alterations in *Clarias gariepinus* induced with linear alkylbenzene sulfonates. *Pollution*, *10*(1): 620–628. https://doi.org/10.22059/POLL.2024.367804.2131

Kartikasari, N.A., Suprayogi, D., dan Amrullah, A. 2022. Analisis Toksisitas akut LC50-96 Jam limbah laundri terhadap ikan mujair (*Oreochromis sp.*). *Jurnal Serambi Engineering*, *7*(4): 4186–4194. https://doi.org/10.32672/jse.v7i4.5104

Libanio Reis Santos, E., Silva, O., Nascimento Araújo, B. J., de Lima Rodrigues, M., de Oliveira-Lima, J., and Camargo-Mathias, M.I. 2024. Effects of sodium dodecylbenzene sulfonate (SDBS) on zebrafish (*Danio rerio*) gills and blood. *Journal of Toxicology and Environmental Health - Part A: Current Issues*, *87*(8): 357–370. https://doi.org/10.1080/15287394.2024.2312253

Maulidia, B., Pramadita, S., dan Jumiati, J. 2023. Uji toksisitas air lindi (*Leachate*) TPA Batu Layang, Kota Pontianak terhadap ikan nila (*Oreochromis Niloticus*) dengan metode uji renewal test. *Jurnal Reka Lingkungan*, *11*(2): 162–172. https://doi.org/10.26760/rekalingkungan.v11i2.162-172

Mo, A., and Ochogwu, J. 2020. Acute Toxicity of Detergent on juveniles of African catfish (*Clarias gariepinus*). *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, *8*(5): 38–43.

Murthy, M.K., Khandayataray, P., Padhiary, S., and Samal, D. 2023. A review on chromium health hazards and molecular mechanism of chromium bioremediation. *Reviews on Environmental Health*, *38*(3): 461–478. https://doi.org/10.1515/reveh-2021-0139

Negin, C., Ali, S., and Xie, Q. 2017. Most common surfactants employed in chemical enhanced oil recovery. *Petroleum*, *3*(2): 197–211. https://doi.org/10.1016/j.petlm.2016.11.0

OECD. 2019. *Test No. 203: Fish, Acute Toxicity Test. 203*.

Pratama, S., Martino, Y.A., dan Purnomo, Y. 2020. Pernapasan dan gambaran histologi lamela insang ikan zebra (*Danio rerio*) dewasa yang dipapar malathion secara kronik. *Jurnal Kedokteran Komunitas (Journal of Community Medicine)*, 1–10.

Rahayu, W., Hardi, E.H., and Saptiani, G. 2020. Pathogenicity of bacteria enterobacteriaceae on zebrafish as animal model. *Jurnal Veteriner*, *21*(4): 512–518. https://doi.org/10.19087/jveteriner.2020.21.4.512

Rampley, C.P.N., Whitehead, P.G., Softley, L., Hossain, M.A., Jin, L., David, J., Shawal, S., Das, P., Thompson, I. P., Huang, W. E., Peters, R., Holdship, P., Hope, R., and Alabaster, G. 2020. River toxicity assessment using molecular biosensors: Heavy metal contamination in the Turag-Balu-Buriganga river systems, Dhaka, Bangladesh. *Science of the Total Environment, 703, 134760.*, *36*(June), 5860.

US EPA. 2002. Methods for Measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms. Fifth Edition. *Epa/821/R02/012*, *October*, 266. http://www.epa.gov/waterscience/WET/disk1/ctm.pdf