

**LAPORAN TAHUNAN/AKHIR
PENELITIAN FUNDAMENTAL**



**POTENSI MIKROALGA SEBAGAI AGEN
BIOREMEDIASI DAN APLIKASINYA
DALAM PENURUNAN KONSENTRASI
LOGAM BERAT PADA INSTALASI
PENGOLAH AIR LIMBAH INDUSTRI**

Tahun ke 2 dari rencana 2 tahun

Ketua/Anggota Tim:

Dr. Tri Retnaningsih Soeprbowati, MAppSc. (0029046405)

Dra. Riche Hariyati, MSi. (0021036106)

Dibiayai oleh Direktur Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi (Ditlitabmas Ditjen Dikti) Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Tahun Anggaran 2013, melalui DIPA No DIPA -023.04.2.189815/2013 tanggal 05 Desember 2012.

UNIVERSITAS DIPONEGORO
November 2013

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Kegiatan : Potensi Mikroalga sebagai Agen Bioremediasi dan Aplikasinya dalam Penurunan Konsentrasi Logam Berat pada Instalasi Pengolahan Air Limbah Industri

Peneliti / Pelaksana
Nama Lengkap : TRI RETNANINGSIH S
NIDN : 0029046405
Jabatan Fungsional :
Program Studi : Biologi
Nomor HP : 08156619465
Surel (e-mail) : trsoeprobowati@yahoo.co.id


Anggota Peneliti (1)
Nama Lengkap : RICHE HARIYATI
NIDN : 0021036106
Perguruan Tinggi : UNIVERSITAS DIPONEGORO

Institusi Mitra (jika ada)
Nama Institusi Mitra :
Alamat :
Penanggung Jawab :
Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 2 dari rencana 2 tahun
Biaya Tahun Berjalan : Rp. 40.000.000,00
Biaya Keseluruhan : Rp. 78.000.000,00


Mengesahkan
Dekan SMA N DIP

(Dr. Muhammad Nur, DEA)
NIP/NIK 198711261990011001

Semarang, 11 - 11 - 2013,
Ketua Peneliti,


(TRI RETNANINGSIH S)
NIP/NIK 196404291989032001


Menyetujui
Ketua LP2M

(Prof. Drs. Imah Ghozali, M.Kom, Akt. PhD.)
NIP/NIK 19580161986031002

RINGKASAN

Bioremediasi adalah proses pembersihan lingkungan dari bahan pencemar secara biologi dengan memanfaatkan organisme, baik secara *in-situ* maupun *ex-situ*. Pada awal perkembangannya, bioremediasi hanya memanfaatkan mikroorganisme, namun sekarang sudah lebih meluas seperti halnya aplikasinya pada perairan tawar, laut maupun terestrial dan merupakan area multidisipliner. Proses bioremediasi menggunakan bakteri, khamir, jamur, alga dan tumbuhan tingkat tinggi guna mengatasi tumpahan minyak maupun logam berat. **Fikoremediasi** adalah pemanfaatan makroalga atau mikroalga untuk remediasi lingkungan. Namun penggunaan istilah fikoremediasi akhir-akhir ini cenderung untuk proses perbaikan lingkungan dengan mengaplikasikan proses biologi khususnya mikroalga. Penelitian ini bertujuan untuk Mengkaji pertumbuhan populasi *Chlorella. pyrenoidosa*, *Chaetoceros calcitrans*, *Porphyridium cruentum* dan *Spirulina platensis* pada limbah tekstik, plastik, dan lindi yang dijadikan media kultur; menganalisis bioremoval Total Nitrogen (TN), Total Fosfor (TP) dan logam berat Pb, Cd, Cr, dan CU, serta kandungan klorofil-a ; membandingkan mikroalga khususnya *Chlorella. pyrenoidosa*, *Chaetoceros calcitrans*, *Porphyridium cruentum* dan *Spirulina platensis* dalam remediasi limbah tekstik, plastik, dan lindi; dan menganalisis Bio Concentration Factor (BCF) dari *Chlorella. pyrenoidosa*, *Chaetoceros calcitrans*, *Porphyridium cruentum* dan *Spirulina platensis* dalam remediasi limbah tekstik, plastik, dan lindi.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka mikroalga mampu tumbuh pada limbah industri plastik, tekstil, dan lindi namun pertumbuhan populasinya lebih rendah dibandingkan dengan kontrol. Setelah hari ke 7, ada kecenderungan kenailan populasi sering dengan penurunan konsentrasi logam berat. Mikroalga mampu meremediasi logam berat Pb, Cd, Cr, dan Cu dari limbah industri plastik, tekstil, dan lindi. *Chlorella pyrenoidosa* mempunyai kemampuan bioremoval paling tinggi, khususnya pada Cd limbah plastik (91,28%), Cu limbah tekstil (84,07), Pb limbah plastik (83,08%), Pb limbah tekstil (80,08%). *Chaetoceros calcitrans* memiliki kemampuan bioremoval Cd 87,27% sedangkan *Spirulina platensis* kemampuan bioremoval terhadap logam berat < 80%. *C.pyrenoidosa*, *P. cruentum*, *S. platensis* dan *C. calcitrans* merupakan bioakumulator logam berat. Ditinjau dari BCF, maka akumulasi tertinggi logam berat pada hari ke 15 pada *batch* limbah tekstil yang dijumpai pada *C. pyrenoidosa* adalah untuk Cd>Cu>Cr>Pb sedangkan pada *batch* plastik BCF mulai dari tertinggi adalah Pb, Cu, Cr, dan Cd. Pengembangan penelitian lanjutan perlu memperhatikan jumlah sel inokulan yang diberikan di awal pengembangan *batch* kultur mikroalga agar perubahan populasi mikroalga yang terjadi lebih merefleksikan pengaruh logam berat pada limbah. Perubahan anatomi mikroalga setelah terpapar logam berat juga harus dianalisis untuk mengetahui dampak toksisitas logam berat.

Key words: bioremediasi, fikoremediasi, mikroalga, logam berat, BCF

PRAKATA

Fikoremediasi merupakan aplikasi mikroalga dalam meremediasi perairan. Penggunaan istilah fikoremediasi baru dimulai tahun 2000an. Mikroalga memiliki peranan penting dalam ekosistem perairan. Peranannya sebagai produser primer menjadikan organism lain pada trofik di atasnya sangat tergantung kepada mikroalga, tidak hanya sebagai sumber makanan, namun juga penyediaan oksigen perairan.

Penelitian mengenai potensi mikroalga untuk remediasi perairan sudah banyak dilakukan, namun belum ada penelitian yang membandingkan potensi mikroalga dari divisi berbeda dalam remediasi logam berat. Oleh karena itu, maka penelitian ini dilakukan guna landasan dalam aplikasinya untuk menurunkan konsentrasi logam berat pada instalasi pengolahan limbah industri.

Penelitian ini juga mendukung pengembangan pembelajaran berbasis riset, maka penelitian ini sangat mendukung dalam mata kuliah yang diampu peneliti baik program S1 maupun S2), yaitu Bioremediasi dan Ekologi Eksperimental (Program Magister Biologi UNDIP), Protista, Ilmu Lingkungan, Ekologi Akuatik dan Algologi (Program Studi Biologi UNDIP).

Terima kasih kami sampaikan kepada Departemen Pendidikan Nasional melalui Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, yang telah memberikan dana penelitian Riset Fundamental dengan Nomor Kontrak: 154b-6/UN7.5/2013 tanggal 15 Februari 2013. Terima erima kasih juga kami sampaikan kepada mahasiswa yang terlibat dalam penelitian ini: F. Setyaningsih, Her Nur Yoga, Danu Maulana, Eko Bambang Fitriyanto, Kenanga Sari, Filemon Jalu

Banyak kekurangan dan kelemahan yang menjadikan tantangan dalam penelitian. Informasi yang tersaji ini diharapkan memberikan kontribusi penanganan pencemaran logam berat.

Semarang, November 2013

Dr. Tri R. Soeprbowati

DAFTAR ISI

	halaman
HALAMAN SAMPUL	
HALAMAN PENGESAHAN	1
RINGKASAN	2
PRAKATA	3
DAFTAR ISI	4
DAFTAR TABEL	5
DAFTAR GAMBAR	5
BAB 1. PENDAHULUAN	6
Latar Belakang	6
Permasalahan yang diteliti	8
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	10
BAB 3. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	24
BAB 4. METODE PENELITIAN	25
BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN	32
BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN	54
DAFTAR PUSTAKA	55

DAFTAR TABEL

Tabel		halaman
1	Perbandingan adsorpsi dan biosorpsi ion logam berat antara <i>immobilized nonliving cells</i> dengan <i>immobilized living cells</i>	11
2	Biomass dan biosorben – perbandingan kapasitas biosorpsi beberapa alga dan jamur	22
3	Studi komperatif rekoveri logam berat dengan menggunakan organisme	23
4	Komposisi pupuk yang digunakan untuk kultur mikroalga	27
5	Konsentrasi logam berat air limbah industri tekstil dan plastik	33
6	Bioremoval logam berat oleh 4 jenis mikroalga	40
7	Bioakumulasi logam berat oleh mikroalga	51
8	Luaran Penelitian Fundamental Tahun 2013	52
9	Mahasiswa Yang Terlibat Dalam Penelitian	53

DAFTAR GAMBAR

Tabel		halaman
1	<i>Restocking</i> mikroalga dan aklimatisasi sebelum ditumbuhkan dalam media kultur limbah industri	26
2	Persiapan limbah cair industri yang akan digunakan sebagai media tumbuh mikroalga	26
3	Kultur hari ke 0 <i>Chlorella pyredoidosa</i> (warna hijau) dan <i>Porphyridium cruentum</i> (warna merah)	28
4	Kultur hari ke 0 <i>Spirulina platensis</i>	28
5	Pemantauan populasi mikroalga setiap hari	29
6	Kerangka pikir dan tahapan penelitian	31
7	Pertumbuhan populasi <i>Chlorella pyrenoidosa</i> pada media limbah tekstil, plastik, dan lindi	35
8	Pertumbuhan populasi <i>Porphyridium cruentum</i> pada media limbah tekstil, plastik, dan lindi	36
9	Pertumbuhan populasi <i>Spirulina platensis</i> pada media limbah tekstil, plastik, dan lindi	38
10	Pertumbuhan populasi <i>Chaetoceros calcitrans</i> pada media limbah tekstil, plastik, dan lindi	38
11	Bioremoval logam berat industri oleh <i>Chlorella pyrenoidosa</i>	43
12	Bioremoval logam berat industri hari ke 4 dan 17 oleh <i>Porphyridium cruentum</i>	44
13	Bioremoval logam berat industri oleh <i>Spirulina platensis</i>	45
14	Bioremoval logam berat industri oleh <i>Chaetoceros calcitrans</i>	46

BAB 1. PENDAHULUAN

Latar Belakang

Bioremediasi adalah proses pembersihan lingkungan dari bahan pencemar secara biologi dengan memanfaatkan organisme, baik secara *in-situ* maupun *ex-situ* (Crawford & Crawford, 2005). Pada awal perkembangannya, bioremediasi hanya memanfaatkan mikroorganisme, namun sekarang sudah lebih meluas seperti halnya aplikasinya pada perairan tawar, laut maupun terestrial dan merupakan area multidisipliner. Proses bioremediasi menggunakan bakteri, khamir, jamur, alga dan tumbuhan tingkat tinggi guna mengatasi tumpahan minyak maupun logam berat. Bioremediasi merupakan teknologi yang sedang berkembang oleh karena itu maka penelitian harus terus dilakukan dan dikembangkan guna mengatasi problem lingkungan yang semakin kompleks (Bathnagar & Kumari, 2013).

Fikoremediasi adalah pemanfaatan makroalga atau mikroalga untuk remediasi lingkungan (Olguin, 2003). Namun penggunaan istilah fikoremediasi akhir-akhir ini cenderung untuk proses perbaikan lingkungan dengan mengaplikasikan proses biologi khususnya mikroalga (Sivasubramanian *et.al.*, 2012, Soeprbowati & Hariyati, 2013a). Banyak penelitian telah dikembangkan dalam fikoremediasi, baik dalam skala laboratorium maupun aplikasi di alam. Secara prinsip dalam fikoremediasi CO₂, Nitrogen dan Fosfor yang ada dalam limbah cair dimanfaatkan oleh mikroalga sebagai sehingga dihasilkan biomassa dan oksigen. Seterusnya oksigen dimanfaatkan oleh bakteri untuk merombak bahan organik yang ada dalam limbah tersebut. Hal tersebut dapat terjadi pada temperatur dan pH yang optimal.

Salah satu spesies mikroalga yang telah banyak diteliti untuk fikoremediasi adalah *Chlorella*. Pada hari ke 14, *C. vulgaris* mampu menurunkan konsentrasi Pb, Cu, dan Cd 90%, 83% 62% dalam media kultur yang diberi 0,5 mg/L logam berat (Soeprbowati & Hariyati, 2012). *Chlorococcum humicola* mampu menurunkan 95.81% sulfat, 70.27% BOD dan 70.51% total alkalinitas. Skala lapang,

Chlorococcum humicola mampu meremediasi sludge 47.75%. menurunkan BOD 93.20%, TSS 80.83%, TDS 80.79% and EC 80.83% (Sivasubramanian *et al.*, 2012). *C. conglomerata* mampu menurunkan nitrat dan fosfat limbah industri minuman ringan dengan sangat cepat baik dalam skala laoratoris maupun skala lapang (Sivasubramanian *et al.*, 2012).

Fikoremediasi menawarkan alternatif restorasi ramah lingkungan karena area permukaan mampu menyerap substansi dan mekanisme yang efisien dalam mengakumulasi air, nutrien, dan mineral, menyerapan ion selektif, dan mampu berkembang dan beradaptasi pada logam berat atau polutan lainnya pada level cukup tinggi (Carvalho & Martin, 2001; Chojnacka, 2009).

Mikroalga merupakan tumbuhan tingkat terndah yang memiliki peranan sangat penting dalam ekosistem akuatik sebagai produser primer dan pensuplai oksigen perairan. Mikroalga merupakan bioremediator yang handal (Soeprbowati & Hariyati, 2013a) berkaitan dengan kemampuan biosorpsinya karena memiliki gugus fungsi yang dapat mengikat ion logam, terutama gugus karboksil, hidroksil, amina, sulfudril imadazol, sulfat dan sulfonat yang terdapat dalam dinding sel (Volesky, 2007), bahan bakunya mudah didapat dan tersedia dalam jumlah banyak, bahan baku operasional rendah, *sludge* yang dihasilkan sangat minim, dan tidak perlu nutrisi tambahan (Wang and Chen, 2009).

Namun, mikroalga juga memiliki kelemahan, diantaranya adalah ukurannya yang kecil, berat jenis rendah dan mudah rusak oleh degradasi mikroorganisme lain. Banyak penelitian telah dilakukan tentang pemanfaatan mikroalga sebagai agen bioremediasi, misalnya akulumasi Cd oleh *Tetraselmis chuii* dan *Spirulina maxima* (Costa and Franca, 2003); biosorpsi Pb, Cd, Hg oleh *Microcystis aeruginosa* (Chen *et al.*, 2005), biosorpsi Cd, Cr, Cu oleh *Spirulina* (Chojnacka *et al.*, 2005); bioakumulasi Pb dan Cd oleh *Chladophora* (Lamai *et al.*, 2005); biosorpsi Cu oleh *Chlorella vulgaris* (Al-Rub *et al.*, 2006); aplikasi *Chlorella vulgaris* untuk remediasi limbah tekstil (Lim *et al.*, 2010); bioremediasi Hg, Cd, Pb oleh *Dunaliella* (Imani *etal.*, 2011); toksisitas, transformasi dan akulumasi arsenik pada *Scenedesmus* (Bahar *et al.*, 2012); resistensi dari 2 ekotipe *Eustigmatos* sp. Terhadap Zn dan Pb

(Trzeinska and Pawlik-Skowronska, 2012); efisiensi bioremediasi Cr^{6+} oleh *Oscillatoria* (Miranda *et al.*; 2012).

Permasalahan yang diteliti

Peneliti telah banyak melakukan penelitian tentang bioindikator kualitas air. Lebih lanjut kemudian penelitian dikembangkan pada potensi jenis mikroalga dalam remediasi lingkungan, dalam hal ini logam berat. Logam berat diperlukan oleh organisme dalam mendukung proses enzimatik, namun apabila jumlahnya melebihi kebutuhannya dapat berakibat toksik bagi organisme. Salah satu problem pencemaran perairan di Indonesia adalah logam berat, sehingga diperlukan upaya untuk penanganan/penaggulungannya.

Potensi mikroalga sebagai bioindikator perairan telah banyak dilakukan dan tidak diragukan lagi keandalannya. Penelitian lebih lanjut tentang pemanfaatan **mikroalga** untuk **remediasi** lingkungan, khususnya logam berat, telah mulai dilakukan di Indonesia, namun masih bersifat tunggal, sehingga belum ada informasi spesies mikroalga yang paling handal untuk bioremediasi. Penelitian ini harus segera dilaksanakan guna memberi landasan kuat dalam bioremediasi logam berat perairan. Di sisi lain, banyak industri yang menghasilkan limbah pabrik dengan kandungan logam berat cukup tinggi. Meskipun telah dilakukan pengolahan secara fisik, kimia dan biologi, namun seringkali konsentrasinya masih tinggi. Pemanfaatan mikroalga pada salah satu kolam biologi di Instalasi Pengolah Air Limbah (IPAL) mampu menurunkan konsentrasi logam berat sebelum di buang di perairan bebas, sehingga lebih ramah lingkungan.

Belum ada penelitian yang dikembangkan untuk membandingkan potensi mikroalga dari beberapa divisi, sehingga dihasilkan satu rekomendasi pemanfaatan mikroalga tertentu untuk remediasi logam berat tertentu. Penelitian ini dirancang untuk memberi jawaban tersebut, guna memberi landasan dalam remediasi logam berat limbah industri menggunakan jenis mikroalga yang tepat. Dengan demikian maka kualitas air limbah yang dibuang di perairan bebas dapat di bawah ambang batas baku mutu limbah.

Pada tahun pertama penelitian (tahun 2012) diperoleh hasil bahwa mikroalga berpotensi sebagai bioremediator logam berat Pb, Cd, Cu dan Cr. *Chlorella vulgaris* Beyerinck merupakan bioremediator semua logam berat dalam paparan waktu lebih lama (Soeprbowati & Hariyati, 2013b; Purnawati dkk, 2013). *Chaetoceros calcitrans* (Paulsen) Takano merupakan bioremediator untuk Cu dan Cr dalam paparan 9 hari, namun pada paparan 15 hari baik untuk meremediasi Pb > Cu > Cr > Cd (Soeprbowati & Hariyati, 2013c). *Porphyridium* merupakan bioremediator pada paparan hari ke 15 untuk Cu > Pb > Cd > Cr (Soeprbowati & Hariyati, 2013a).

Berdasarkan hasil penelitian ini, maka *Chlorella vulgaris* Beyerinck, *Chaetoceros calcitrans* (Paulsen) Takano dan *Porphyridium* dapat diaplikasikan untuk remediasi logam berat limbah industri dan dilaksanakan pada tahun ke 2 penelitian (tahun 2013).

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

Salah satu masalah pencemaran perairan di Indonesia adalah pencemaran logam berat. Logam berat diperlukan biota air dalam jumlah yang sangat sedikit. Kandungan logam berat dalam perairan berasal dari pelapukan batuan, namun konsentrasi yang lebih tinggi berasal dari industri. Pencemaran yang ditimbulkan oleh logam berat sampai tingkat tertentu dapat mengganggu perairan dan mutu air. Masalah yang ditimbulkan cukup rumit, karena logam memiliki sifat racun, tidak dapat dirombak atau hancur oleh organisme, dan dapat terakumulasi dalam tubuh organisme.

Suatu organisme akan kronis apabila makanan yang dikonsumsinya mengandung logam berat. Proses industri dan urbanisasi memegang peranan penting terhadap peningkatan kontaminan tersebut karena pemasukan utama kontaminan logam kedalam lingkungan ditemukan dari kegiatan perkotaan dan pembuangan lumpur limbah seperti industri tekstil, pestisida, kulit, plastik, pengumpulan besi tua, pengelasan dan lain sebagainya. Waktu tinggal dan waktu kontak merupakan variabel yang sangat berpengaruh terhadap desain proses bioremediasi, termasuk immobilisasi sel, pH dan konsentrasi biomasa. Penggunaan sel hidup menawarkan sejumlah kelebihan, sementara itu secara praktis biomassa dikemas dalam bentuk bubuk atau dikulturasikan pada operasi terpisah sebelum digunakan. Dengan kondisi ini pemilihan penggunaan metode immobilisasi dinilai lebih menguntungkan. Augusto da Cocta dkk melaporkan *Chlorella homosphaera* yang diimmobilisasikan pada alginate menghasilkan sistem yang baik untuk mereduksi kadmium, seng dan emas dari suatu perairan yang tercemar. Dengan inisial konsentrasi logam beratnya berkisar 20-27 ppm, Cd dan Zn dapat direduksi sebesar 99% dalam jangka waktu 60 menit dan 90% tereduksi setelah 30 menit. Wilkinson dkk melaporkan sel immobilisasi dari *Chlorella emersoni* dapat mengakumulasi merkuri lebih tinggi dibandingkan dengan sel tanpa immobilisasi. (Suhendrayatna (2001). Biosorpsi immobilisasi seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Perbandingan adsorpsi dan biosorpsi ion logam berat antara *immobilized nonliving cells* dengan *immobilized living cells*

Adsorpsi dengan <i>immobilised non-living biomass</i>	
Keuntungan	Kerugian
1. Tidak tergantung pada pertumbuhan sel, toksisitas ion logam berat, dan tidak perlu nutrisi	1. Sangat cepat jenuh
2. Proses tidak diatur oleh sifat fisik	2. Proses adsorpsi tergantung pada pH dan spesifikasi logam
3. Pemilihan teknik immobilisasi tidak tergantung pada toksisitas dan inaktivasi termal	3. Tidak berpotensi mendegradasi sampai ke bentuk organometalik
4. Sangat cepat dan efisien, biomassa memiliki perilaku setara dengan penukar ion	4. Tidak berpotensi untuk pengembangan proses biologis sepanjang sel tidak dapat bermetabolisme
5. Logam dapat segera dipisahkan dari biomassa dan direkonversi kembali	
6. Sistem mudah dirancang dengan perhitungan matematis	
Biosorpsi dengan <i>immobilised living cells</i>	
Keuntungan	Kerugian
1. Walaupun setiap sel dapat jenuh, namun sel memiliki kemampuan meregenerasikannya sendiri berdasarkan kemampuan pertumbuhannya	1. Tergantung pada tingkat toksisitas logam pada sel, karena ada sel yang tidak tahan pada konsentrasi logam rendah sekalipun
2. Logam disimpan dalam kondisi labil dan sensitifitas rendah pada desorpsi spontan	2. Proses tergantung sifat fisik
3. Aktivitas metabolisme untuk mencapai perubahan valensi atau degradasi kandungan organometalik melalui tahapan multienzim cukup ekonomis	3. Perlu nutrisi bagi pertumbuhan sel
4. Sangat potensial dalam isolasi mutan atau manipulasi genetik untuk pengembangan strain baru	4. Sel dapat membentuk ikatan kompleks logam bila dikembalikan dalam bentuk cairan
5. Dua atau lebih organisme dapat digunakan bersamaan	5. Logam tidak dapat segera dipisahkan dari biomassa karena ikatan intraselulernya
	6. Sistem sulit dirancang secara matematis

(Suhendrayatna (2001).

Logam Berat

Logam berat merupakan *trace element* dengan densitas $\geq 3 \text{ g/cm}^3$, yang pada konsentrasi rendah diperlukan oleh organisme, namun bersifat toksik pada konsentrasi lebih tinggi dari konsentrasi fisiologis organisme (Banvalvi, 2011).

Kadmium (Cd) merupakan salah satu jenis logam berat yang berbahaya dan karena dapat menyebabkan anemia, menurunkan absorpsi besi dalam usus dan dapat menurunkan aktivitas enzim (Banfalvi, 2011). Dalam jangka panjang kadmium dapat terakumulasi pada tubuh khususnya hati dan ginjal. Pada konsentrasi rendah berefek terhadap gangguan paru-paru, emphysema dan renal tubular disease yang kronis. Kadmium lebih mudah diakumulasi oleh tanaman dibandingkan dengan ion logam berat lainnya seperti timbal. Kadmium, timbal dan merkuri sebagai *the big three heavy metal* yang memiliki tingkat bahaya tertinggi pada kesehatan manusia. Menurut badan dunia FAO/WHO, konsumsi per minggu yang ditoleransikan bagi manusia adalah 400-500 μg per orang atau 7 μg per kg berat badan. Menurut WHO, kadar kadmium (Cd) maksimum air yang diperuntukkan bagi air minum adalah 0,005 mg/L. Toksisitas kadmium dipengaruhi oleh pH dan keberadaan seng dan timbal (Girard, 2010).

Kromium (Cr) merupakan unsur berbahaya yang dijumpai dalam kondisi oksida antara Cr (II) sampai Cr (VI), tetapi hanya Cr (III) dan Cr (VI) memiliki kesamaan sifat biologi. Cr (III) memiliki sifat racun yang rendah dibanding dengan Cr (VI). Cr(IV) bersifat karsinogenik karena merusak struktur kromatin dan fungsi sel (Banvalvi, 2011). Pada bahan makanan dan tumbuhan mobilitas kromium relatif rendah, dan konsumsi harian pada manusia harus di bawah 100 μg , kebanyakan berasal dari makanan, sedangkan konsumsinya dari air dan udara dalam level yang rendah. Logam berat ini memiliki tingkat racun yang tinggi terhadap tumbuhan. Tumbuhan memerlukan cairan kromium dalam konsentrasi tidak lebih dari 1 ppm. Kadar kromium (Cr) yang aman bagi kehidupan biota air sekitar 0,05 mg/L. Toksisitas kromium dipengaruhi oleh bentuk oksidasi kromium, suhu dan pH (Girard, 2010).

Tembaga (Cu) merupakan logam berat yang dijumpai di perairan alami dan merupakan unsur esensial bagi alga. Tembaga berperan sebagai penyusun

plastocyanin yang berfungsi dalam transport elektron dalam proses fotosintesis (Reynold (2006). Tembaga dijumpai pada pusat sitokrom c oksidasi, penyusun enzim superoksida dismutase dan pembawa oksigen pada pigmen hematocyanin. Banyak enzim yang mengandung tembaga (Banvalvi, 2011). Algasida mengandung tembaga ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) digunakan untuk membasmi alga yang tumbuh secara berlebihan di perairan. Tembaga menghambat penyerapan silika oleh diatom sehingga mengganggu proses pembentukan frustula. Di perairan alami, kadar tembaga kurang dari 0,02 mg/L, kadar maksimum untuk air minum adalah 0,1 mg/L (Effendi 2003). **Tembaga** bersifat racun bagi tumbuhan pada konsentrasi larutan diatas 0.1 ppm. Konsentrasi yang aman bagi air minum manusia tidak lebih dari 1 ppm dan bersifat racun bagi domba pada konsentrasi di atas 20 ppm. Konsentrasi normal t di tanmbaga berkisar 20 ppm dengan tingkat mobilitas sangat lambat karena ikatan yang sangat kuat dengan material organik dan mineral tanah liat. Kehadiran tembaga pada limbah industri biasanya dalam bentuk ion bivalen Cu (II) sebagai *hydrolytic product*. Tembaga banyak dijumpai dalam limbah industri pewarnaan, kertas, minyak, dan pelapisan.

Timbal (Pb) merupakan logam berat yang sangat beracun, dapat dideteksi secara praktis pada seluruh benda mati di lingkungan dan seluruh sistem biologis. Sumber utama timbal berasal dari komponen gugus alkil timbal yang digunakan sebagai bahan additif bensin. Timbal beracun pada sistem saraf, hemetologic, hemetotoxic dan mempengaruhi kerja ginjal. Timbal dapat menyebabkan terbentuknya sel darah merah kecil. Keracunan timbal dapat menyebabkan anemia yang memicu peningkatan level serum zat besi. Level timbal darah merupakan biomarker tingginya konsentrasi timbal di lingkungan (Banvalvi, 2011). Konsumsi mingguan timbal yang direkomendasikan oleh WHO bagi orang dewasa tidak lebih dari 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ berat badan dan untuk bayi atau anak-anak tidak lebih dari 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ berat badan. Mobilitas timbal di tanah dan tumbuhan cenderung lambat dengan kadar normalnya pada tumbuhan berkisar 0.5-3 ppm. Kadar dan toksisitas timbal dipengaruhi oleh kesadahan, pH, alkalinitas, dan kadar oksigen. Di perairan timbal membentuk senyawa kompleks yang memiliki sifat kelarutan rendah dengan beberapa anion, misalnya hidroksida, karbonat, sulfida, dan sulfat. Untuk perikanan

dan peternakan, kandungan timbal di perairan tidak boleh melebihi 0,1 mg/L, untuk pertanian pada tanah yang netral atau bersifat alkalis adalah 10 mg/L, sedangkan pada tanah asam adalah 5 mg/L (Effendi, 2003).

Logam-logam berat dalam sumber air atau tanah terkontaminasi yang berasal dari limbah berbagai pabrik dapat didegradasi keberadaannya dengan teknik bioremediasi melalui proses absorpsi biologis oleh mikroalga. Absorpsi logam berat oleh mikroalga melalui *uptake site* atau difusi melalui permukaan membran sel, kemudian ke sitoplasma. Di dalam sitoplasma logam akan dibentuk menjadi ligan sitoplasmadan badan polifosfat atau disimpan dalamvacuola. Secara biologis, logam mempengaruhi reaksi enzimatik sehingga secara tidak langsung mempengaruhi proses fotosintesis, respirasi dan reproduksi sehingga akan menghambat pertumbuhan mikroalga (Conti & Cecchetti, 2003).

Bioremediasi

Remediasi (pemulihan) kondisi sumber air dan tanah terkontaminasi dapat dilakukan secara fisik, kimia dan biologi, namun teknik biologi lebih murah dan efektif. Oleh karena itu, maka pengembangan teknik bioremediasi menjadi teknologi alternatif pengendalian pencemaran sumber air dan tanah yang terkontaminasi secara *in-situ*.

Secara harafiah bio berarti kehidupan (organisme), remediasi berarti perbaikan, sehingga bioremediasi berarti perbaikan lingkungan dengan menggunakan organisme. Bioremediasi merupakan proses pembersihan lingkungan dari bahan pencemar secara biologi dengan menggunakan organisme hidup. Berdasarkan organisme yang digunakan, maka bioremediasi terdiri dari (mikro)bioremediasi, fikoremediasi, mikoremediasi, dan fitoremediasi.

Mikroba telah banyak digunakan dalam proses pembersihan lingkungan dan disebut sebagai bioremediator. Perkembangan bioremediasi diawali dengan aplikasi mikroba dalam memperbaiki kondisi lingkungan tercemar, sehingga disebut sebagai mikrobioremediasi, yang selanjutnya disebut lebih dikenal dengan istilah bioremediasi. Proses mikrobioremediasi meliputi pemanfaatan mikrobia asli dari daerah yang terkontaminasi dengan memberi nutrienbahan esensial yang

diperlukannya untuk tumbuh dan berkembang sehingga mampu menghilangkan/mengurangi kontamin di daerah tersebut. Mikrobioremediator yang handal antara lain *Bacillus* (Gupta *et al.*, 2001), *Pseudomonas* (Jayashree *et al.* 2012), dan *Streptomyces* (Selatria *et al.* 2004). Mikrobioremediator yang berperan sebagai biosorben logam, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Cinetobacter*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Rhodococcus* dan *Sphingomona* (Bhatnagar & Kumari, 2013).

Proses **fikoremediasi** merupakan pemanfaatan alga untuk menghilangkan polutan dari lingkungan atau mengubahnya menjadi bentuk yang kurang beracun. Dalam cakupan yang lebih luas, fikoremediasi merupakan pemanfaatan mikro maupun makroalga untuk menghilangkan atau mentransformasi polutan, termasuk nutrien dan senobiotik dari limbah cair dan CO₂ udara (Shamsuddoha *et al.*, 2006). Namun penelitian tentang fikoremediasi lebih banyak dilakukan dengan mikroalga, sehingga ada kecenderungan penggunaan istilah fikoremediasi sebagai upaya pemanfaatan mikroalga untuk remediasi lingkungan (Soeprbowati & Hariyati, 2013a).

Mikroalga sangat adaptif dan mampu hidup secara autotrof, heterotrof atau miksotrof. Pada lingkungan alami, alga berperan sangat penting dalam mengontrol konsentrasi logam di danau maupun laut. Hal ini berkaitan dengan kemampuannya dalam mendegradasi atau mengakumulasi logam berat toksik dan polutan organik seperti fenolik, hidrokarbon, pestisida, dan bipenil dari lingkungan dan mengakumulasinya, sehingga konsentrasi dalam alga lebih tinggi dari konsentrasi di polutan yang ada di lingkungan. Pengambilan logam oleh mikroalga dilakukan dalam 2 cara yaitu adsorpsi dan absorpsi. Adsorpsi merupakan metabolisme sel yang dilakukan secara bebas, secara fisik terjadi pada permukaan sel kemudian logam menuju sitoplasma (kemoadsorpsi). Absorpsi merupakan metabolisme sel yang tergantung pada pengambilan logam berat secara intraseluler. Pb, Cu, Cd, Co, Hg, Zn, Mg, Ni dan Ti berikatan dengan polifosfat alga dan berfungsi sebagai penyimpan dan detoksifikasi logam (Dwivedi, 2012). Proses sekuitrasi logam berat oleh mikroalga merupakan sumber multi fungsi polimer (Seufferheld dan Cuzi, 2010). Mikroalga juga mampu menghilangkan nitrogen dari air melalui proses

biosorpsi dan menyimpannya sebagai biomassa. Ketika mikroalga mati, maka terdekomposisi dan melepaskan amonia atau ureum ke badan air dan dapat dimanfaatkan sebagai sumber nitrogen lagi (Woodward, *et al.*, 2009).

Mikoremediasi merupakan pemanfaatan miselium jamur untuk dekontaminasi atau menyaring limbah yang toksik dari area yang terkontaminasi. Miselium jamur mengeluarkan enzim ekstraseluler dan asam yang dapat menghancurkan lignin dan selulosa. *Phanaerochaete chrysosporium* dan *Polyporus* sp. Merupakan contoh jamur yang mampu meremediasi hidrokarbon, *polycyclic aromatic hydrocarbons* (PAHs), bahan peledak, *polychlorinated biphenyls* (PCBs) dan pestisida (Ayu *et al.* 2011).

Proses **fitoremediasi** dilakukan melalui 5 cara, yaitu fitoekstraksi, rizofiltrasi, fitostabilisasi, rizodegradasi dan fitodegradasi (*Phytoremediation Resource Guide*, 1999; EPA, 2000).

1. **Fitoakumulasi (fitoekstraksi)** yaitu proses absorpsi logam berat oleh akar tumbuhan dan translokasinya dalam tumbuhan, sehingga proses ini disebut juga hiperakumulasi.
2. **Rizofiltrasi** adalah proses adsorpsi atau pengendapan zat kontaminan oleh akar untuk menempel pada akar. Proses ini telah dibuktikan dengan percobaan menanam bunga matahari pada kolam mengandung zat radio aktif di Chernobyl Ukraina.
3. **Fitostabilisasi** yaitu immobilisasi logam berat oleh penyerapan, pengendapan dan kompleksasi zat-zat kontaminan tertentu pada akar yang tidak mungkin terserap kedalam batang tumbuhan. Zat zat tersebut menempel erat (stabil) pada akar sehingga tidak akan terbawa oleh aliran air dalam media.
4. **Fitodegradasi Phytodegradation (phyto transformation)** yaitu proses yang dilakukan tumbuhan untuk menguraikan zat kontaminan yang mempunyai rantai molekul yang kompleks menjadi bahan yang tidak berbahaya dengan susunan molekul yang lebih sederhana yang dapat berguna bagi pertumbuhan tumbuhan itu sendiri. Proses ini dapat berlangsung pada daun, batang, akar atau di luar sekitar akar dengan bantuan enzim yang

dikeluarkan oleh tumbuhan itu sendiri. Beberapa tumbuhan mengeluarkan enzim berupa bahan kimia yang mempercepat proses degradasi.

5. **Fitovolatilasi** yaitu proses menarik dan transpirasi zat kontaminan oleh tumbuhan dalam bentuk yang telah menjadi larutan terurai sebagai bahan yang tidak berbahaya lagi untuk selanjutnya di uapkan ke atmosfer. Beberapa tumbuhan dapat menguapkan air 200 sampai dengan 1000 liter per hari untuk setiap batang.

Mikroalga

Mikroalga merupakan Protista autotrof eukariotik, yang dibedakan atas dinding sel, flagella, kloroplast dan cadangan makanan. Mikroalga memiliki pigmen fotosintetik hijau (klorofil), coklat (fikosantin), biru kehijauan (fikobilin), dan merah (fikoreritrin) dan kebanyakan hidup di air (mensuplai 50% oksigen perairan dan penyusun utama plankton), lainnya di permukaan yang lembab. Secara morfologis, mikroalga dapat berupa sel tunggal atau membentuk koloni, mampu hidup hampir di semua habitat perairan. Mikroalga dapat berbentuk uniseluler atau multiseluler, namun tugas dari masing-masing komponen selnya belum jelas, hal inilah yang membedakannya dengan tumbuhan tingkat tinggi (Reynold, 2006).

Mikroalga mempunyai sifat seperti tumbuhan yaitu mampu melakukan proses fotosintesis sehingga sangat membutuhkan cahaya matahari. Oleh karena itu mikroalga lebih banyak dijumpai pada zona fotik (badan air yang masih dapat ditembus sinar matahari). Hasil fotosintesis oleh mikroalga dimanfaatkan sebagai sumber energi oleh organisme pada tingkatan trofik selanjutnya.

Mikroalga merupakan **produser primer** di perairan karena mampu melakukan sintesis ikatan organik kompleks dari senyawa organik sederhana, sehingga memiliki peranan sangat penting dalam rantai makanan. Produktivitas mikroalga lebih besar dari tumbuhan tingkat tinggi, karena secara spasial mikroalga tersebar diperairan yang luasnya 70% dari luas permukaan bumi, dan secara vertikal tersebar dari zona eufotik hingga abisal.

Mikroalga ada yang bersifat bentik (menempel pada substrat), ada yang bersifat planktonik (melayang pada badan air). Mikroalga yang bersifat planktonik,

banyak dijumpai di perairan tawar (limnoplankton), maupun laut (haloplankton). Secara vertikal, fitoplankton tersebar pada zona eufotik, disebut epiplankton, yang hidup pada zona disfotik disebut mesoplankton, yang hidup di zona aphotik disebut bathyplankton) dan yang hidup di dasar perairan disebut hypoplankton.

Berdasarkan ukurannya, mikroalga dapat dibagi menjadi beberapa kelompok: ultraplankton ($< 2 \mu$), nanoplankton ($2 - 20 \mu$), mikropilankton ($20-200 \mu$), makropilankton ($200- 2000 \mu$) dan megaloplankton ($> 2000\mu$). Kelompok ultraplankton hampir semuanya berupa bakteri, nanoplankton seluruhnya terdiri dari fitoplankton. Mikropilankton dapat berupa fito maupun zooplankton secara bersamaan. Zooplankton termasuk kategori makro – megaloplankton. Berdasarkan **siklus hidupnya**, maka mikroalga dapat dibedakan menjadi holoplankton (seluruh hidupnya bersifat sebagai plankton) dan meroplankton (hanya sebagian dalam daur hidupnya bersifat sebagai plankton, sebagai contoh larva ikan, udang dan kepiting (Barus, 2002).

Ada 11 divisi mikroalga yaitu Bacillariophyta, Cyanobacteria, Chlorophyta, Chrysophyta, Cryptophyta, Euglenophyta, Phaeophyta, Pyrrophyta, Raphidophyta, Rhodophyta dan Xanthophyta. Mikroalga memiliki peranan sangat penting dalam rantai makanan karena merupakan produsen primer perairan. Kandungan protein dan vitaminnya yang tinggi merupakan alasan pengembangan mikroalga sebagai sumber protein tinggi seperti *Chlorella* dan *Spirulina*. *Chlorella* juga menghasilkan antibiotik klorelin yang dapat melawan penyakit yang disebabkan oleh bakteri (Roger, 2011).

Dalam biomassa mikroalga terkandung bahan-bahan penting yang sangat bermanfaat, misalnya protein, karbohidrat, lemak dan asam nukleat. Persentase keempat komponen tersebut bervariasi tergantung jenis alga. Sebagai contoh, mikroalga *Chlorella vulgaris* Beyerinck memiliki kandungan protein sebesar 51 – 58%, karbohidrat 12 - 17%, lemak 14 – 22% dan asam nukleat 4 – 5%. *Spirulina platensis* memiliki kandungan protein sebesar 46 – 43%, karbohidrat 8 – 14%, lemak 4 – 9%, dan asam nukleat 2 – 5% . Mikroalga lainnya seperti, *Botryococcus braunii*, *Dunaliella salina*, *Monalanthus salina* mempunyai kandungan lemak berkisar 40 - 85% (Chojnacka, 2009).

Studi pendahuluan yang telah dilaksanakan

Potensi mikroalga sebagai bioindikator kualitas air sudah tidak diragukan lagi. Penelitian mikroalga yang telah dikembangkan antara lain pemanfaatan diatom untuk rekonstruksi kondisi perairan di masa lampau (Soeprbowati, *et al.*, 2007; Soeprbowati, *et al.*, 2010; Soeprbowati, *et al.*, 2012;) dan diatom sebagai indikator perubahan kualitas air (Soeprbowati, *et al.*, 1999; Soeprbowati, *et al.*, 2001; Soeprbowati, 2009; Soeprbowati, 2010). Penelitian tentang fitoplankton yang telah dilakukan antara lain terkait dengan status trofik perairan (Soeprbowati, 1996; Soeprbowati & Suedy, 2007); dan limbah pabrik tekstil (Soeprbowati, *et al.*, 1995). Berdasarkan penelitian-penelitian tersebut, maka diketahui bahwa kemampuan mikroalga dalam menyerap logam berat cukup signifikan, sehingga sangat perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui potensinya dalam menurunkan konsentrasi logam berat industri.

Penelitian mengenai ikatan ion logam berat dengan mikroalga telah banyak dilakukan, seperti *Chlorella vulgaris* Beyerinck dan *Phormidium* sp. Jenis ini relatif lebih mudah tumbuh dalam suatu kultur media. Beberapa jenis mikroalga seperti *Dunaliella tertiolecta*, *Scenedemus acutus*, *Chlorella vulgaris*, *Nostoc* sp. *Phormidium* sp., *Euglena gracilis* memiliki toleransi yang tinggi terhadap pengambilan ion logam berat bahkan laju pertumbuhan mikroalgae tersebut akan menurun tanpa hadirnya ion logam berat pada media kulturisasinya.

Mikroalga *Chlorella* memiliki potensi sebagai pakan alami, pakan ternak, suplemen, penghasil komponen bioaktif bahan farmasi dan kedokteran. Hal tersebut disebabkan *Chlorella* mengandung berbagai nutrien seperti protein, karbohidrat, asam lemak tak jenuh, vitamin, klorofil, enzim, serat yang tinggi (Steenblock, 2000). Selain itu, *Chlorella* merupakan mikroalga kosmopolit yang sebagian besar hidup di lingkungan akuatik baik perairan tawar, laut maupun payau, juga ditemukan di tanah dan di tempat lembab (Roger, 2011)

Sel *Chlorella* memiliki tingkat reproduksi yang tinggi, setiap sel *Chlorella* mampu berkembang menjadi 10.000 sel dalam waktu 24 jam (Prihantini dkk, 2005). Pemanfaatan *Chlorella* dilakukan menggunakan teknik kultur. Keberhasilan teknik kultur bergantung pada kesesuaian antara jenis mikroalga yang dibudidayakan dan beberapa faktor lingkungan, salah satu hal yang perlu diperhatikan adalah faktor derajat keasaman (pH) agar metabolisme sel mikroalga tidak mengganggu

(Chojnacka, 2009). Derajat keasaman (pH) media menentukan kelarutan dan ketersediaan ion mineral sehingga mempengaruhi penyerapan nutrisi oleh sel. Perubahan nilai pH yang drastis dapat mempengaruhi kerja enzim serta dapat menghambat proses fotosintesis dan pertumbuhan beberapa mikroalga. Kultur *Chlorella* dengan medium ekstrak taoge paling optimal dalam pertumbuhan populasinya dengan pH awal 7, dengan puncak populasi pada hari ke 10 (Prihantini dkk, 2005).

Dalam kultur skala laboratorium, *Chlorella* mampu menurunkan konsentrasi seng (Zn) 71,6% pada konsentrasi 0,1542 ppm (Hastutiningsih & Soeprbowati, 1999), dan konsentrasi kadmium (Cd) 30,61% pada konsentrasi 1,5702 ppm (Kusrinah dibawah bimbingan Soeprbowati, 2001). Akumulasi kadmium pada dinding sel *Ankistrodesmus* dan *Chlorella vulgaris* Beyerinck mencapai sekitar 80 derajat dari total akumulasinya di dalam sel, sedangkan arsenik yang berikatan dengan dinding sel *Chlorella vulgaris* Beyerinck rata-rata 26 persen. Protein dan polisaccharida memegang peranan yang sangat penting dalam proses biosorpsi ion logam berat di mana terjadinya ikatan kovalent termasuk juga dengan gugus amino dan group carbonil. Pengambilan ion logam berat oleh *Chlorella regularis* secara selektif dikarenakan oleh adanya ikatan yang kuat antara pasangan ion logam berat dan komponen sel, khususnya protein. Augusto da Cocta dkk melaporkan *Chlorella homospaera* yang diimobilisasikan pada alginat menghasilkan sistem yang baik untuk mereduksi kadmium, seng dan emas dari suatu perairan yang tercemar. Dengan inisial konsentrasi logam beratnya berkisar 20-27 ppm, Cd dan Zn dapat direduksi sebesar 99% dalam jangka waktu 60 menit dan 90% tereduksi setelah 30 menit. Suhendrayatna (2001) menambahkan, untuk mendesain suatu proses pengolahan limbah yang mengandung ion logam berat dengan melibatkan sianobakteria relatif mudah dilakukan.

Sianobakteria merupakan mikroalga yang tersebar luas di perairan tawar maupun lautan. Sampai saat ini diketahui sekitar 2.000 jenis sianobakteria tersebar di berbagai habitat. Berdasarkan penelitian terbaru, sianobakteria merupakan organisme yang mampu mengakumulasi (menyerap) logam berat tertentu seperti Hg, Cd dan Pb. Umumnya, penyerapan ion logam berat oleh sianobakteria melibatkan proses *active uptake* (biosorpsi) dan *passive uptake* (bioakumulasi). Proses *active uptake* terjadi sejalan dengan konsumsi ion logam untuk pertumbuhan sianobakteria,

dan/atau akumulasi intraselular ion logam tersebut. Logam berat dapat juga diendapkan pada proses metabolisme dan ekresi sel pada tingkat kedua. Proses ini tergantung dari energi yang terkandung dan sensitivitasnya terhadap parameter yang berbeda seperti pH, suhu, kekuatan ikatan ionik, cahaya dan lainnya (Suhendrayatna (2001). Namun demikian, proses ini dapat pula dihambat oleh suhu rendah, tidak tersedianya sumber energi dan penghambat metabolisme sel.

Pemanfaatan sianobakteria untuk menanggulangi pencemaran logam berat merupakan hal yang sangat menarik dilakukan, baik oleh masyarakat, pemerintah maupun industri. Sianobakteria merupakan organisme selular yang mudah dijumpai, mempunyai spektrum habitat sangat luas, dapat tumbuh dengan cepat dan tidak membutuhkan persyaratan tertentu untuk hidup, mudah dibudidayakan dalam sistem akuakultur. Pertumbuhan *spirulina sp* dalam kultur mencapai kepadatan maksimal pada hari ke-7, yaitu sebanyak $11,698 \times 10^3$ unit/ml (Hariyati, 2008). *Spirulina* merupakan biosorben yang baik karena mampu mengikat logam berat. Biosorpsi adalah kemampuan organisme untuk mengikat logam berat toksik pada permukaan dinding selnya. Sel *Spirulina* mampu mengikat logam berat ion Cr (III) paling tinggi, disusul oleh Cu (II) dan Cd(II). Jika dibandingkan dengan makroalga, maka mikroalga, dalam hal ini *Spirulina* memiliki kapasitas biosorpsi jauh lebih tinggi dibandingkan makroalga (Tabel 2, Chojnacka, 2009).

Biokumululasi adalah kenaikan konsentrasi substansi tertentu seperti logam berat pada organisme hidup yang masuk ke tubuh bersama-sama dengan udara, air atau makanan yang terkontaminasi oleh logam berat tersebut. Bioakumulasi dapat digunakan untuk monitoring pencemaran lingkungan karena terdapat korelasi antara kapasitas bioakumulasi dengan konsentrasi limbah atau lingkungan tercemar. Toksik diabsorpsi dulu baru kemudian diakumulasi. Mikroalga yang merupakan bioasorban antara lain *Chlorella vulgaris* Beyerinck (Al-Rub *et al.*, 2006) *Microcystis aeruginosa* (Chen *et al.*, 2005). Baik biosorpsi maupun bioakumulasi dapat diaplikasikan untuk menghilangkan kontaminan dari efluen (Chojnacka, 2009).

Logam berat kadmium (Cd) memiliki nilai *inhibition Concentration* – IC₅₀-96jam terhadap *Chaetoceros gracilis* pada konsentrasi 1,3 mg/L, sedangkan timbal (Pb) pada konsentrasi 0,7 mg/L. Nilai *Lowest Observed Effect Concentration* (LOEC 96 jam) dari toksikan kadmium dan timbal terhadap *C.gracillis* masing-masing

adalah 0.56 mg /L dan 0.26 mg /L. Nilai *No observed Effect Concentration* (NOEC 96 jam) dari toksikan kadmium dan timbal terhadap *C.gracillis* adalah kurang dari 0.56 mg Cd/L dan 0.26 mg/L (Setiyawati, 2009).

Tabel 2. Biomass dan biosorben – perbandingan kapasitas biosorpsi beberapa alga dan jamur

Species	Type of the biomass	Biosorption capacity [meq/g]
<i>Ascophyllum sp.</i>	brown algae	2-2.5
<i>Eclonia radiata</i>	brown algae	1.8-2.4
<i>Rhizopus arrhizus</i>	filamentous fungi	1.1
<i>Sargassum sp.</i>	brown algae	2-2.3
Peat moss	peat moss	4.5-5.0
<i>Spirulina sp.</i>	microalgae	2.0-11.4
Cation-exchange resins		0.35-5.0

Tabel 3. Studi komperatif rekoveri logam berat dengan menggunakan organisme

Mikroorganisms	Metode	Logam Berat	Initial Conc. (ppm)	% Removal	Ref.
<i>Rhizomucor miehi</i> (F)	passive uptake	Cu(II)	100	96	28
<i>Mucor mucedo</i> (F)	passive uptake	Cu(II)	100	86	28
<i>Rhizopus stolonifer</i> (F)	passive uptake	Cu(II)	100	82	28
<i>Aspergillus oryzae</i> (F)	passive uptake	Cu(II)	100	58	28
<i>Penicillium chrysogenum</i> (F)	passive uptake	Cu(II)	100	18	28
<i>Ecklonia radiata</i> (A)	passive uptake	Cu(II)	0.29	95	19
<i>Phellinus badius</i> (F)	passive uptake	Cu(II)	0.29	43	19
<i>Pinus radiata</i> (F)	passive uptake	Cu(II)	0.29	24	19
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Y)	active uptake	Cu(II)	0.29	17	19
<i>Chlorella vulgaris</i> (A)	passive uptake	Pb(II)	100.2	83	22
<i>Ecklonia radiata</i> (A)	passive uptake	Pb(II)	0.82	100	19
<i>Phellinus badius</i> (F)	passive uptake	Pb(II)	0.82	50	19
<i>Pinus radiata</i> (F)	passive uptake	Pb(II)	0.82	21	19
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Y)	active uptake	Pb(II)	0.82	34	19
<i>Chlorella vulgaris</i> (A)	active uptake	As(V)	9	17	23
<i>Chlorella vulgaris</i> (A)	active uptake	As(III)	4	26	20
<i>Citrobacter</i> sp. (B)	active uptake	Cd(II)		40	24
<i>Ecklonia radiata</i> (A)	passive uptake	Cd(II)	0.48	90	19
<i>Phellinus badius</i> (F)	passive uptake	Cd(II)	0.48	33	19
<i>Pinus radiata</i> (F)	passive uptake	Cd(II)	0.48	29	19
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Y)	active uptake	Cd(II)	0.48	10	19

(A) alga, (B) bacterium, (F) Fungus, (Y) yeast.

BAB 3. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

Tujuan penelitian

1. Mengkaji pertumbuhan populasi *Chlorella. pyrenoidosa*, *Chaetoceros calcitrans*, *Porphyridium cruentum* dan *Spirulina platensis* pada limbah tekstik, plastik, dan lindi yang dijadikan media kultur
2. Menganalisis bioremoval Total Nitrogen (TN), Total Fosfor (TP) dan logam berat Pb, Cd, Cr, dan CU, serta kandungan klorofil-a pada awal, tengah dan akhir penelitian
3. Membandingkan mikroalga khususnya *Chlorella. pyrenoidosa*, *Chaetoceros calcitrans*, *Porphyridium cruentum* dan *Spirulina platensis* dalam remediasi limbah tekstik, plastik, dan lindi
4. Menganalisis Bio Concentration Factor (BCF) dari *Chlorella. pyrenoidosa*, *Chaetoceros calcitrans*, *Porphyridium cruentum* dan *Spirulina platensis* dalam remediasi limbah tekstik, plastik, dan lindi.

Manfaat penelitian

Secara teoritik, penelitian ini berkontribusi dalam pengembangan penelitian fikoremediasi. Dalam pengembangan pembelajaran berbasis riset, maka penelitian ini sangat mendukung dalam mata kuliah yang diampu peneliti baik program S1 maupun S2), yaitu Bioremediasi dan Ekologi Eksperimental (Program Magister Biologi UNDIP), Protista, Ilmu Lingkungan, Ekologi Akuatik dan Algologi (Program Studi Biologi UNDIP).

Secara terapan, penelitian ini dapat diaplikasikan dalam pengolahan limbah industri, maupun pengembangan HRAP (*High Rate Algae Pond*) dalam pengolahan pencemaran air.

BAB 4. METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan tahap ke 2. Pada Tahap/tahun I telah dilakukan penelitian eksperimental untuk menentukan potensi mikroalga yang dalam remediasi logam berat Pb, Cd, Cr dan Cu. Tahap/Tahun II ini merupakan implementasi dari hasil penelitian di tahap I, yaitu aplikasi mikroalga dalam remediasi limbah cair yang mengandung logam berat. Kerangka pikir dan tahap penelitian yang akan dilakukan pada Gambar 1. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Ekologi dan Biosistematik FMIPA UNDIP.

Tahap II/Tahun II: **Aplikasi mikroalga dalam remediasi limbah cair yang mengandung logam berat**

1. Persiapan

Menentukan industri yang dalam IPAL nya akan diperlakukan dengan mikroalga. Pemilihan industri berdasarkan kriteria kandungan logam berat tinggi pada limbahnya. Berdasarkan penelusuran referensi, maka diperoleh data industri di Semarang yang limbahnya mengandung logam berat. Survey ke pabrik diperlukan untuk mendapatkan informasi. Diantara industri yang ada di Semarang, maka limbah industri plastik dan tekstil mempunyai kandungan logam berat melebihi ambang batas baku mutu.

2. Perbanyak kultur

Kultur yang digunakan adalah *Chlorella pyrenodosa*, *Chaetoceros calcitrans*, *Spirulina platensis* dan *Porphyridium cruentum*. Spesies tersebut didapatkan dari BBPBAP Jepara. Sebelum dilakukan penelitian stock kultur mikroalga diperbanyak terlebih dahulu agar jumlahnya mencukupi untuk dilakukan penelitian (Gambar 1).



Gambar 1. *Restocking* mikroalga dan aklimatisasi sebelum ditumbuhkan dalam media kultur limbah industri



Gambar 2. Persiapan limbah cair industri yang akan digunakan sebagai media tumbuh mikroalga

3. Pembuatan pupuk

Pupuk yang digunakan dalam skala laboratorium harus mempunyai unsur yang lengkap terdiri dari N,P,K,S,Na,Si dan Ca. Selain itu juga perlu mikro nutrient unsur N, P, S untuk pembentukan protein. Sedangkan K berperan dalam metabolisme karbohidrat, Fe dan Na sebagai pembentuk klorofil sedangkan Si dan Ca untuk pembentukan dinding sel, EDTA berguna sebagai buffer dan pengkhaelt larutan. Komposisi pupuk yang digunakan sebagai berikut:

Tabel 4. Komposisi pupuk yang digunakan untuk kultur mikroalga

Komposisi	Konsentrasi (ppm)
NaH ₂ PO ₄	20
H ₂ PO ₃	33,6
NH ₄ NO ₃	100
MnCl ₂	0,36
EDTA	45
Vitamin B12	0,001
FeCl ₃	1,3
Vitamin B12	0,001
SiO ² (hanya untuk kultur <i>Chaetoceros</i>)	

4. Sterilisasi

Sterilisasi alat diperlukan untuk mencegah adanya kontaminan. Semua alat dan bahan dicuci dengan sabun setelah itu dibilas dengan air mengalir selanjutnya direndam ke dalam larutan chlorine 20- 25 ppm selama 20 menit. Setelah itu perlu dikeringanginkan dan ditata didalam rak dan perlu diberi aerasi.

5. Tahap eksperimen sebagai landasan dalam implementasi

Dilakukan pengambilan limbah cair industri plastik dan tekstil yang mengandung logam berat, kemudian diinokulasikan *Chlorella pyrenodosa*, *Chaetoceros calcitrans*, *Spirulina platensis* dan *Porphyridium cruentum*. Agar pertumbuhan mikroalga optimal, maka ditambahkan pupuk Walne. Inokulum yang

ditanam pada *Spirulina platensis* sebanyak 10.000 sel/ml, *Chaetoceros calcitrans* sebanyak 100.000 sel/ml, *Chlorella pyrenoidosa* sebanyak 1.000.000 sel/ml, *Porphyridium cruentum* sebanyak 10.000 sel/ml (Gambar 3-4). Populasi mikroalga dihitung setiap hari selama selama 14 hari. Analisis TN, TP, logam berat Pb, Cd, Cr, dan Cu, serta klorofil-a dilakukan pada Hari ke 0, 3, 7, 10, dan 15. Kualitas fisik kimia air limbah dianalisis terutama pH, Oksigen terlarut, suhu, salinitas, dan intensitas cahaya dijaga agar tetap stabil.



Gambar 3. Kultur hari ke 0 *Chlorella pyrenoidosa* (warna hijau) dan *Porphyridium cruentum* (warna merah)



Gambar 4. Kultur hari ke 0 *Spirulina platensis*

6. Pengaturan Faktor Lingkungan

Faktor lingkungan sangat diperlukan untuk menjaga kelangsungan hidup mikroalga, faktor lingkungan meliputi pengaturan temperatur, pengaturan salinitas, pH, cahaya, aerasi. Temperatur diaga agar konstan pada 27°C, salinitas 0, pH 7, dan intensitas cahaya 4.500 -7.098 lux.

7. Pemantauan populasi mikroalga

Untuk pemantauan populasi alga dilakukan setiap hari dengan cara mengambil 1mL sampel kemudian diteteskan pada SRC dan dihitung dibawah mikroskop dengan perbesaran 100X dengan bantuan *handy tally counter* (Gambar 5). Hermocytometer digunakan untuk menghitung *Chlorella pyrenodosa*, *Spirulina* mikroskop dengan perbesaran 100X.



Gambar 5. Pemantauan populasi mikroalga setiap hari

Pemantauan populasi mikroalga *Chlorella pyrenodosa*, *Chaetoceros calcitrans*, dan *Porphyridium cruentum* dihitung dengan menggunakan rumus :

$$N = \frac{n1 \times n2}{2}$$

Keterangan :

N = Jumlah populasi mikroalga

n1= Jumlah mikroalga di kotak ke-1

n2= Jumlah mikroalga di kotak ke-2

Pemantauan populasi mikroalga *Spirulina platensis*. dihitung dengan menggunakan rumus :

$$N = \frac{n1 \times 1000 \times \text{pengenceran}}{3,14}$$

Keterangan :

N = Jumlah populasi mikroalga

n1= Jumlah mikroalga di kotak ke-1..ke-10

8. Analisis logam berat

Kandungan logam berat yang meliputi Pb, Cd, Cu dan Cr dianalisis pada hari ke 0, 3, 7, 10 dan 15, bersamaan dengan analisis kandungan klorofil-a, TN, dan TP.

9. Analisis bioakumulasi

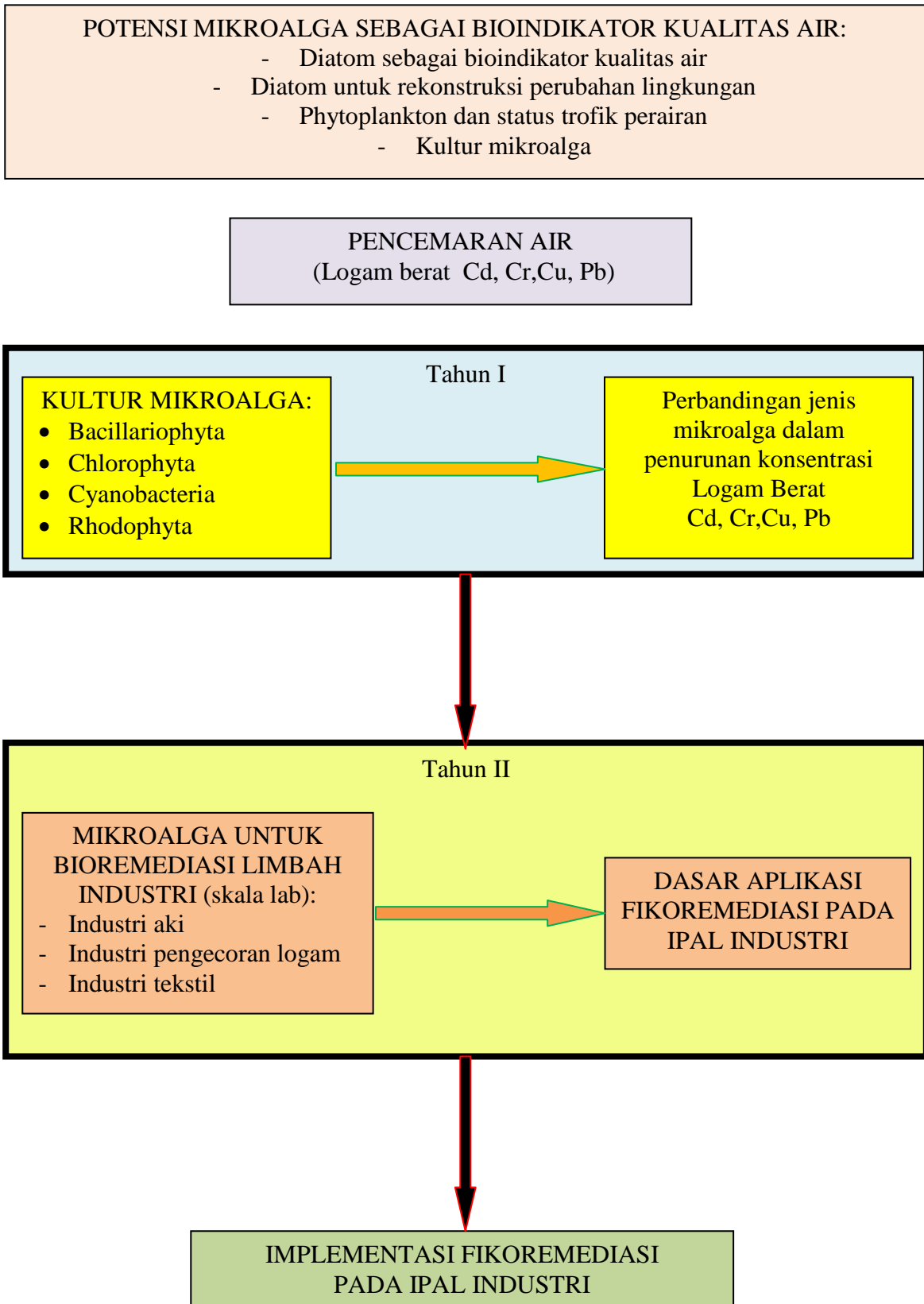
Guna mengetahui akumulasi logam berat pada mikroalga dengan pendekatan penghitungan *BioConcentration Factor* (BCF). BCF merupakan perbandingan antara konsentrasi kimia yang ada pada suatu organisme (atau di dalam lemak maupun jaringan tertentu dalam organisme) dengan konsentrasi bahan kimia di lingkungan perairan (Ivanciuc *et al.*; 2006).

$$BCF = C_{org} / C_{media} \dots\dots\dots Ivanciuc *et al.* (2006)$$

C_{org} adalah konsentrasi logam berat dalam mikroalga

C_{media} adalah konsentrasi logam berat pada media.

Kedua konsentrasi tersebut di atas diukur setelah pemaparan jangka panjang sampai tercapai kondisi yang stabil.



Gambar 6. Kerangka pikir dan tahapan penelitian

BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Kualitas limbah plastik, tekstil, dan lindi

Sebelum dijadikan sebagai media tumbuh mikroalga, limbah cair dari industri plastik, tekstil dan lindi dianalisis konsentrasi logam berat Pb, Cd, Cr, dan Cu, serta Total organik, TN dan TP (Tabel 5). Berdasarkan hasil analisis, kandungan konsentrasi logam berat memang tidak melebihi ambang baku kualitas limbah industri PerMen LH No 3 tahun 2010 tentang baku Mutu Air Limbah bagi Kawasan Industri. Limbah Industri yang akan dibuang ke perairan bebas kandungan Pb dan Cr nya tidak boleh lebih dari 1 mg/L, sedangkan Cd tidak boleh lebih dari 0,1 mg/L, dan Cu tidak boleh lebih dari 2 mg/L. Namun, konsentrasi logam berat Pb, Cd, Cr, dan Cu melebihi ambang batas baku mutu air kelas I, II, III, maupun IV seperti yang tetuang dalam PP No 82 Tahun 2001 Baku Mutu Air.

Total Nitrogen (TN) pada limbah plastik 6,22 mg/L, paling tinggi dibandingkan pada lindi maupun limbah tekstil. Namun untuk TP, limbah tekstil memiliki TP paling tinggi (10,45) diikuti lindi dan limbah plastik (Tabel 5). Kandungan logam berat Pb, Cd, Cr, dan Cu pada limbah plastik lebih rendah dibandingkan dengan limbah tekstil dan lindi.

Lindi adalah limbah cair hasil fermentasi limbah padat dari TPA. Kandungan logam berat lindi dari TPA Jatibarang Semarang meningkat seiring dengan waktu. Pada tahun 2008, kandungan Pb dan Cd berturut-turut adalah 0,136 mg/L, dan 0,09 mg/L. Pb dan Cd dari lindi TPA Jatibarang, telah mencemari sungai Kreo dan terakumulasi dalam sedimen. Pencemaran tingkat tinggi terjadi pada jarak 143 meter dari TPA Jatibarang (Sudarwin, 2008). Pada tahun 2013, dari penelitian ini diketahui kandungan Pb dan Cd berturut-turut 0,76 mg/L dan 0,43 mg/L (Tabel 4). Apabila tidak dilakukan pengolahan yang lebih baik, maka lindi akan mencemari lingkungan, baik sungai maupun air tanah pada radius lebih luas. Kandungan TN dan TP yang relatif tinggi merupakan sumber nutrien bagi organisme untuk hidup didalamnya.

Tabel 5. Konsentrasi logam berat air limbah industri tekstil dan plastik

No	Parameter	Limbah cair plastik	Lindi	Limbah cair tekstil	BAKU MUTU AIR (PP NO 82 TH 2001)				Baku Mutu Air Limbah Industri (PerMen LH No 03 Th 2010)
					Kelas I	Kelas II	Kelas III	Kelas IV	
1	Pb (mg/L)	0,223	0,76	0,725	0,03	0,03	0,03	1	1
2	Cu (mg/L)	0,137	0,38	0,65	0,02	0,02	0,02	0,2	2
3	Cd (mg/L)	0,087	0,43	0,44	0,01	0,01	0,01	0,01	0,1
4	Cr (mg/L)	0,053	0,43	0,318	0,05	0,05	0,05	1	1
5	As (mg/L)	0,032	1,16		0,05	1	1	1	
6	Ni (mg/L)	0,102							0,5
7	Zn (mg/L)	0,062			0,05	0,05	0,05	2	10
8	Fe (mg/L)	0,034			0,3				
9	Total N (mg/L)	6,22	2,11	0,779	0,5				20 (NH3-N)
10	Total P (mg/L)	0,923	3,17	10,45	0,2	0,2	1	5	
11	Total organik (%)		7,89						

Catatan:

Baku Mutu Air Permukaan:

Kelas I : air baku air minum

Kelas II : air baku sarana rekreasi, peternakan, pembudidayaan ikan air tawar dan pertamanan

Kelas III : air baku peternakan, pembudidayaan ikan air tawar dan pertamanan

Kelas IV: air baku untuk mengairi pertamanan

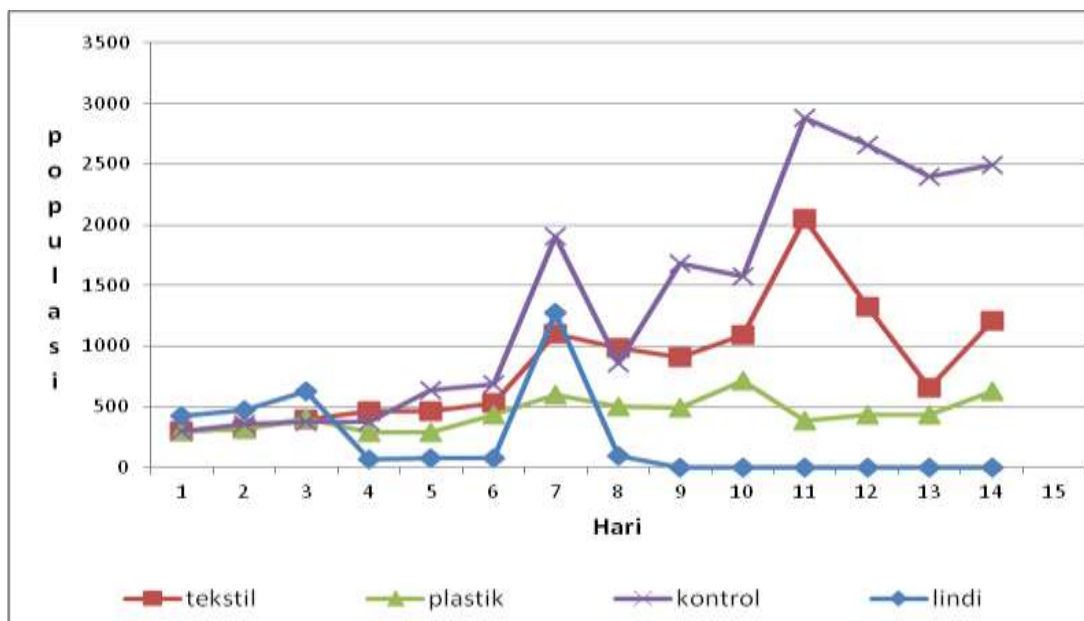
Chlorella pyrenoidosa, *Spirulina platensis*, *Chaetoceros calcitrans* dan *Porphyridium cruentum* telah ditumbuhkan pada limbah industri plastik, tekstil, dan lindi (limbah cair dari Tempat Pembuangan Akhir sampah padat). Pada limbah cair plastik, kandungan TN jauh lebih tinggi dibandingkan dengan limbah cair lindi dan tekstil. Untuk TP limbah cair tekstil jauh lebih tinggi dibandingkan dengan lindi dan limbah cair plastik. Lindi dari TPA Jatibarang Semarang mempunyai kandungan total organik 7,89%, kandungan logam berat Pb, Cr, dan As lebih tinggi dibandingkan limbah cair plastik dan tekstil, sedangkan Cu dan Cd tertinggi pada limbah cair tekstil.

2. Pertumbuhan populasi mikroalga pada limbah tekstil, plastik, dan lindi

Populasi yang diberikan pada media limbah untuk tiap spesies mikroalga berbeda disesuaikan dengan ukuran, minimal diberikan 10.000 sel/ml. Secara umum, untuk ke 4 jenis mikroalga usang digunakan dalam penelitian ini, memerlukan waktu adaptasi hingga 3 hari sebelum pertumbuhan eksponensialnya. Respon tiap jenis mikroalga terhadap media limbah berbeda-beda. Meskipun kandungan logam berat pada limbah plastik lebih rendah dibandingkan dengan limbah tekstil, namun pertumbuhan populasi mikroalga pada media limbah plastik paling rendah. Hal ini mungkin berkaitan dengan kandungan Arsenik (As) 1,16 mg/L yang melebihi ambang batas baku kualitas air Kelas II,III, dan IV (1 mg/L). Warna dan kepekatan lindi yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu lindi murni dari TPA tanpa pengenceran berkonsekuensi terhadap fase adaptasi mikroalga yang ditumbuhkan dalam limbah lindi lebih lama (5 hari) dibandingkan limbah plastik (3 hari) dan lindi (2 hari). Salah satu faktor yang menentukan lamanya fase adaptasi adalah umur kultur yang digunakan sebagai inokulum. Fase adaptasi akan menjadi lebih singkat atau bahkan tidak terlihat apabila sel-sel yang diinokulasikan berasal dari kultur yang berada dalam fase eksponensial (Fogg dan Thake, 1987 dalam Prihantini *et al.*, 2005).

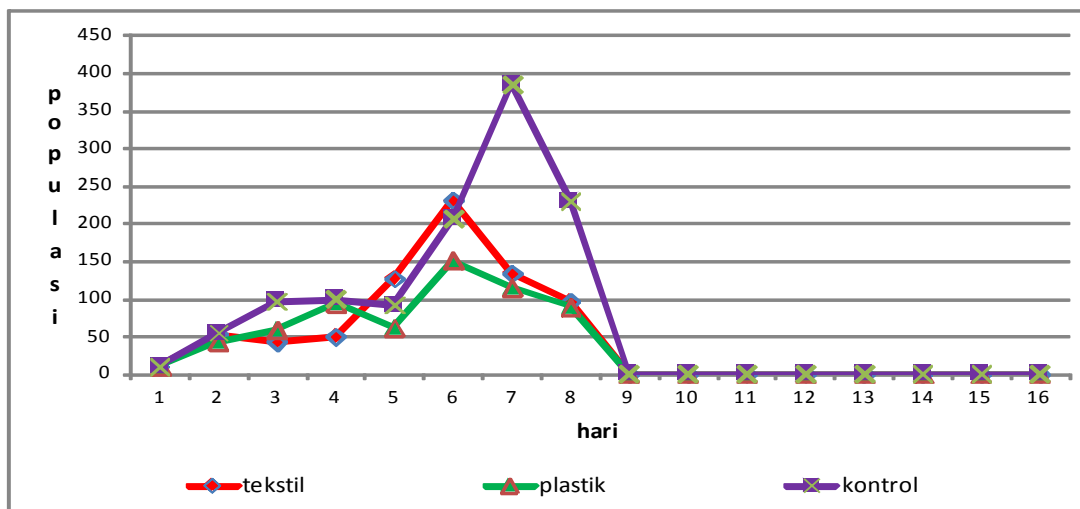
C. pyrenoidosa lebih mampu hidup pada media limbah tekstil dibandingkan dengan limbah plastik. Namun populasinya lebih rendah dibandingkan dengan

kontrol (Gambar 7). Puncak populasi terjadi pada hari ke 7 dan 11. Pada kontrol, pertumbuhan populasi semakin bertambah seiring waktu, demikian halnya pertumbuhan *C. pyrenoidosa* pada limbah cair plastik, namun pada limbah cair plastik relatif stabil sejak hari ke 7, ada sedikit kenaikan populasi pada hari ke 10 untuk kemudian turun seperti pada hari ke 6. Hal menarik pada pertumbuhan *C. pyrenoidosa* pada media lindi. Setelah adaptasi 3 hari, populasi justru turun di hari ke 4 – 6, selanjutnya pada hari ke 7 meningkat drastis, dan menurun secara drastis pula di hari ke 8 dan mati di hari ke 9 dst. Tren ini serupa dengan penelitian yang dilakukan dalam pengembangan HRAP Rawapening (Soeprbowati dkk, 2013). Tren yang tampak pada *batch* lindi serupa dengan kontrol, hanya setelah hari ke 7 populasi *C. pyrenoidosa* menurun sangat drastis dan cenderung populasinya mati. Meskipun kandungan TN dan TP dalam lindi cukup tinggi, namun dalam penelitian ini tetap ditambahkan pupuk Walne sehingga kematian yang terjadi bukan karena kekurangan nutrisi, namun karena fotosintesis yang terganggu karena intensitas cahaya kurang mampu menembus lindi. Kisaran intensitas cahaya yang dapat diadaptasi bagi *Chlorella sp.* antara 4000-30000 lux (Cotteau, 1996).



Gambar 7. Pertumbuhan populasi *Chlorella pyrenoidosa* pada media limbah tekstil, plastik, dan lindi

Limbah industri plastik dan tekstil juga menghambat pertumbuhan *P. cruentum*, perlu waktu adaptasi 3 hari, selanjutnya hari ke 4 hingga ke 7 merupakan fase eksponensial dan kemudian populasi turun drastis. Pada 3 hari pertama, *P. cruentum* lebih bisa mentolerir limbah plastik dibandingkan dengan limbah tekstil dilihat dari populasinya yang lebih tinggi. Mulai hari ke 4, populasi *P. cruentum* lebih tinggi dibandingkan dengan *batch* limbah plastik. Namun, pada hari ke 7 populasi menurun drastis, dan pada hari ke 8 populasi mati, termasuk *batch* kontrol (Gambar 8).



Gambar 8. Pertumbuhan populasi *Porphyridium cruentum* pada media limbah tekstil, plastik, dan lindi

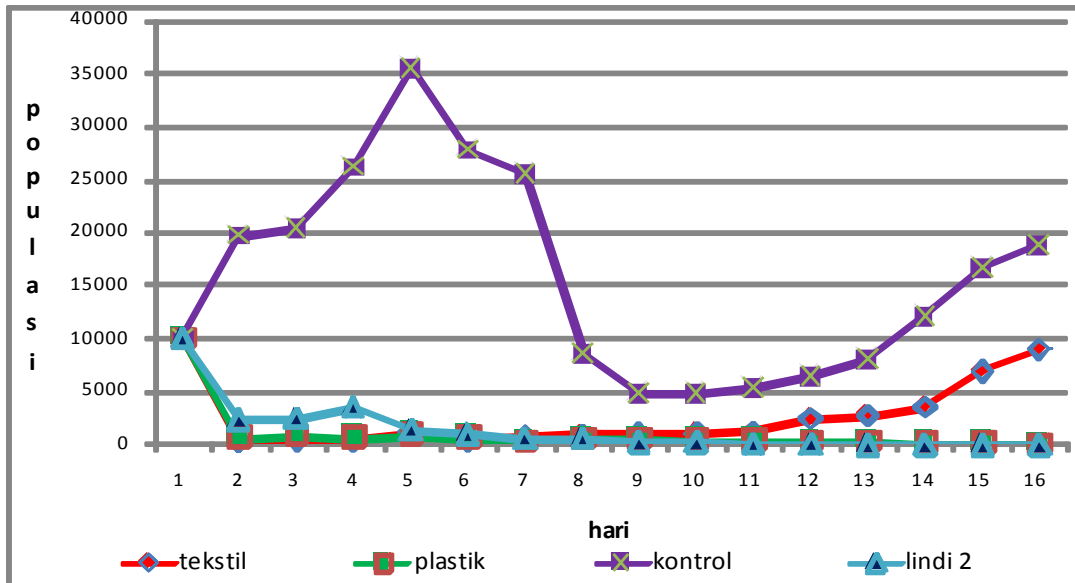
P. cruentum paling toleran terhadap lindi dibandingkan *C. pyrenoidosa*, *S. platensis*, dan *C. calcitran*, diindikasikan oleh paling tingginya populasi *P. cruentum* pada *batch* lindi. Perlu kajian lebih mendalam mengenai remediasi lindi oleh *P. cruentum*. Jika dibandingkan dengan mikroalga lainnya, maka pertumbuhan populasi *P. cruentum* pada limbah plastik, tekstil maupun lindi paling rendah. Meskipun kontaminasi oleh *Chlamidomonas* pada *batch* *P. cruentum* tidak lebih dari 10%, namun karena stock inokulan yang digunakan tidak pada fase eksponensial pertumbuhan, mengakibatkan pertumbuhan populasi sampai hari ke 7 untuk selanjutnya masuk fase deklinasi dan mulai eksponensial lagi pada *batch* tekstil di hari ke 12 (Gambar 8). Tren pertumbuhan populasi *P. cruentum* dalam *batch* limbah

tekstil serupa dengan kontrol hanya berbeda pada besarnya populasi. Hal ini mengindikasikan bahwa logam berat yang ada dalam *batch* kultur menekan populasi *P. cruentum*.

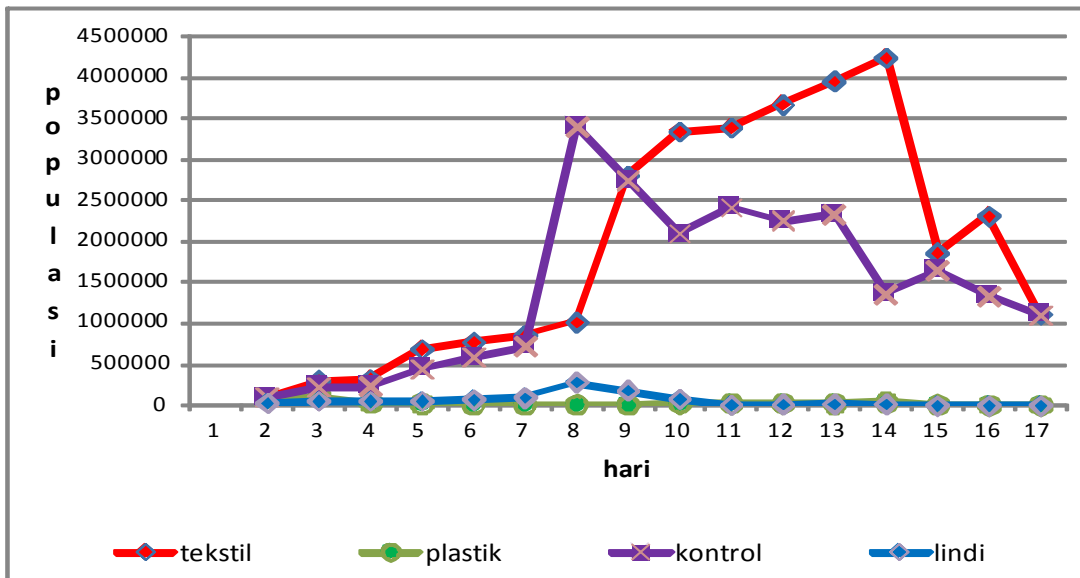
Uji laboratoris pada tahun pertama penelitian menunjukkan bahwa dalam *batch* dengan perlakuan logam berat tunggal, maka pada konsentrasi 3 mg/l dan 5 mg/L pertumbuhan populasi *P. cruentum* lebih rendah dibandingkan pada konsentrasi 1 mg/L (Soeprbowati & Hariyati, 2013a). Namun dalam limbah industri, meskipun masing-masing logam berat dengan konsentrasi kurang dari 1, sinergisme antar logam berat mengakibatkan dampak toksisitasnya lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan logam berat tunggal.

S. platensis mampu hidup pada limbah cair industri tekstil dan plastik meskipun populasinya menurun drastis sejak di hari ke 1. Secara teknik pengembangan kultur *S. platensis* lebih sulit dibandingkan mikroalga lainnya. Pada tahun I, percobaan mengalami kegagalan tumbuh. Di tahun ke II, dilakukan lagi percobaan pertumbuhan *S. platensis* pada perlakuan logam berat Pb, Cd, Cr, dan Cu pada konsentrasi 1, 3, dan 5 mg/L. Puncak pertumbuhan populasi *S. platensis* terjadi pada hari ke 4 kemudian menurun secara drastis pada hari ke 8 untuk kemudian mulai meningkat lagi. Namun pertumbuhan populasi *S. platensis* pada limbah cair tekstil dan plastik menurun drastis dan mulai terjadi peningkatan populasi pada hari ke 11 (Gambar 9).

Secara umum *C. calcitrans* menunjukkan respon yang serupa, masa adaptasi 3 hari, mulai hari ke 4 terjadi fase eksponensial, hanya puncak pertumbuhan terjadi pada hari ke 8. Hal ini serupa dengan penelitian dengan perlakuan logam berat tunggal (Soeprbowati & Hariyati, 2013c). Ketika pada *batch* limbah plastik, lindi, serta kontrol, pertumbuhan populasi menurun mulai hari ke 9, namun pada limbah plastik, populasi justru naik terus hingga hari ke 11, untuk kemudian turun (Gambar 10). Pertumbuhan populasi *C. calcitrans* pada *batch* lindi paling rendah dibandingkan lainnya, mencapai puncak populasi pada hari ke 8 kemudian menurun drastis sampai dengan hari ke 17.



Gambar 9. Pertumbuhan populasi *Spirulina platensis* pada media limbah tekstil, plastik, dan lindi



Gambar 10. Pertumbuhan populasi *Chaetoceros calcitrans* pada media limbah tekstil, plastik, dan lindi

Bioremoval TN, TP dan logam berat industri oleh mikroalga

Bioremoval nutrien, dalam hal ini diindikasikan oleh penurunan kandungan TN dan TP terjadi pada semua *batch*. Hal menarik terjadi pada *batch* lindi dimana terjadi penurunan TN dari TN awal pada semua *batch* mikroalga > 30% dan penurunan TP > 60%. Meskipun pada semua *batch* di awal perlakuan ditambahkan pupuk Walne yang sama volumenya, namun dalam limbah itu sendiri terdapat nutrien yang dapat dimanfaatkan oleh mikroalga. Dari sisi jumlah, memang kandungan TN pada *batch* lindi lebih rendah dibandingkan limbah plastik dan limbah industri, namun kandungan TP nya jauh lebih tinggi dibandingkan limbah plastik dan tekstil, sehingga sisi pemanfaatannya jauh lebih tinggi diindikasikan dengan besarnya persentase penurunan TP (64,35% oleh *C. pyrenoidosa*, 61,26% oleh *P. cruentum*, 65,62% oleh *S. platensis* dan 66,88% oleh *C. calcitrans*, Tabel 5, Gambar 12). Jika dilihat pertumbuhan populasi mikroalga pada lindi, jauh lebih rendah dibandingkan dengan kontrol, sehingga penurunan nutrien kemungkinan tidak dimanfaatkan oleh mikroalga namun oleh bakteri. Keterbatasan dalam penelitian ini keberadaan bakteri dan aktivitasnya tidak dianalisis, sehingga kemungkinan ini perlu dibuktikan dengan penelitian lanjutan.

Seiring dengan pertumbuhan populasi mikroalga, maka terjadi penurunan konsentrasi logam berat dalam *batch* kultur. Persentase penurunan bertambah seiring dengan waktu. Secara umum bioremoval logam berat pada *batch* *C. pyrenoidosa* lebih tinggi dibandingkan dengan *P. cruentum*, *S. platensis*, dan *C. calcitrans* (Tabel 6). Jika dilihat dari jenis limbahnya, maka limbah industri tekstil memiliki kandungan logam berat lebih tinggi dibandingkan dengan limbah industri plastik dan lindi (Tabel 5). Jika dilihat bioremoval logam berat, maka *batch* limbah tekstil juga lebih tinggi dibandingkan dengan limbah plastik dan lindi. Bioremoval pada *batch* lindi relatif lebih rendah oleh *C. pyrenoidosa*, *S. platensis*, dan *C. calcitrans*. Hal ini berkaitan dengan kepekatan lindi dan warnanya yang coklat gelap, sehingga mengurangi penetrasi cahaya, dan berdampak pada rendahnya proses fotosintesis dan pertumbuhan mikroalga.

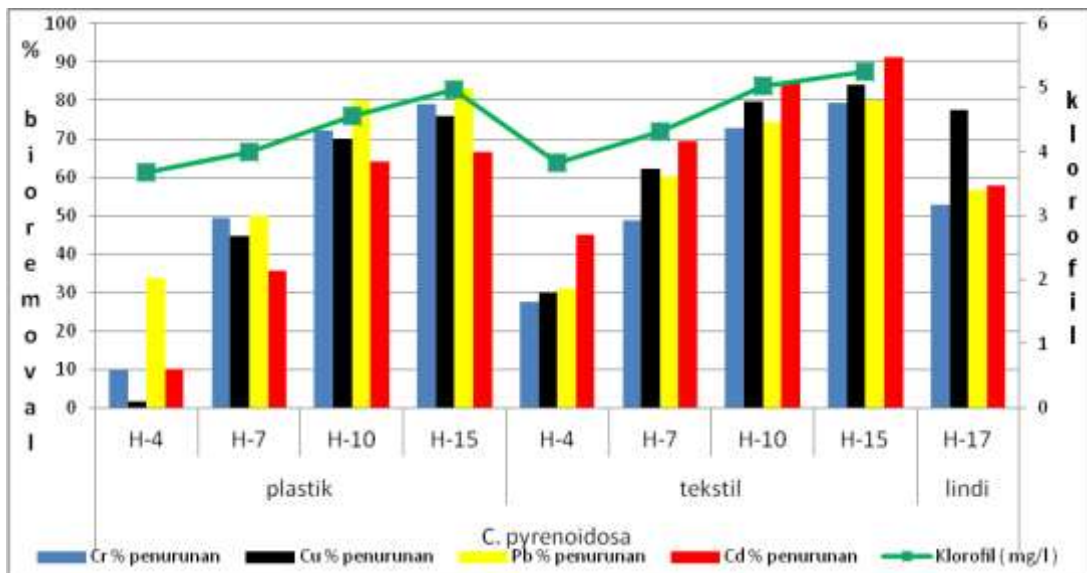
Tabel 6. Bioremoval logam berat oleh 4 jenis mikroalga

Jenis mikroalga	Limbah	Hari	Total N		Total P		Klorofil		Cr		Cu		Pb		Cd	
			(mg/l)	% penurunan	(mg/l)	% penurunan	(mg/l)	(mg/l)	% penurunan	(mg/l)	% penurunan	(mg/l)	% penurunan	(mg/l)	% penurunan	
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	plastik	H-0	6,09		0,92		4,33	0,43		0,44		0,65		0,42		
		H-4	5,75	5,67	0,72	21,48	3,67	0,38	9,88	0,43	1,61	0,43	33,85	0,38	10,07	
		H-7	5,65	7,22	0,78	14,61	3,99	0,22	49,41	0,24	44,83	0,33	50,00	0,27	35,73	
		H-10	5,07	16,75	0,76	17,12	4,56	0,12	72,24	0,13	70,11	0,13	80,00	0,15	64,03	
		H-15	4,17	27,42	0,66	28,03	4,97	0,09	79,06	0,11	75,86	0,11	83,08	0,14	66,43	
	tekstil	H-0	10,01		0,67		4,52	0,30		0,59		0,74		0,44		
		H-4	7,58	24,28	0,62	7,76	3,83	0,22	27,63	0,41	30,17	0,51	30,89	0,24	44,95	
		H-7	6,69	33,17	0,53	20,90	4,31	0,16	48,68	0,22	62,20	0,29	60,43	0,13	69,27	
		H-10	6,13	38,76	0,44	34,18	5,03	0,08	72,70	0,12	79,83	0,19	74,53	0,07	85,09	
		H-15	5,59	44,16	0,32	52,69	5,25	0,06	79,28	0,09	84,07	0,15	80,08	0,04	91,28	
lindi	H-0	2,11		3,17			0,43		0,38		0,76		0,43			
	H-17	1,31	37,86	1,13	64,35		0,20	52,69	0,08	77,60	0,33	56,48	0,18	57,94		
<i>Porphyridium calcitrans</i>	plastik	H-0	6,12		0,91		0,18	0,43		0,51		0,66		0,42		
		H-4	6,09	0,64	0,83	8,35	0,04	0,42	3,01	0,45	11,37	0,65	0,91	0,38	8,67	
	H-7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	tekstil	H-0	10,13		0,66		0,20	0,33		0,60		0,74		0,43		
H-4		8,44	16,67	0,53	19,24	0,05	0,29	10,40	0,56	7,45	0,69	6,35	0,40	6,94		
lindi	H-7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	H-0	2,11		3,17			0,43		0,38		0,76		0,43			

<i>Spirulina platensis</i>	plastik	H-17	1,21	42,76	1,23	61,26		0,22	48,95	0,11	70,93	0,31	58,99	0,14	67,29
		H-0	6,22		0,92		-	0,44		0,54		0,66		0,42	
		H-4	5,82	6,43	0,79	14,19	2,26	0,40	9,82	0,50	7,09	0,49	25,98	0,38	9,22
		H-7	5,34	14,18	0,65	29,58	2,52	0,26	40,64	0,40	24,81	0,37	44,86	0,24	43,26
		H-10	4,68	24,79	0,64	30,44	2,94	0,16	64,16	0,28	48,69	0,23	65,26	0,19	56,03
		H-15	4,29	31,03	0,63	31,74	3,33	0,10	76,48	0,16	70,90	0,17	75,08	0,11	75,18
	tekstil	H-0	10,45		0,78		-	0,32		0,65		0,73		0,44	
		H-4	6,92	33,79	0,62	20,03	2,44	0,28	10,69	0,49	24,15	0,64	11,31	0,41	7,95
		H-7	5,49	47,46	0,50	35,56	2,64	0,19	40,25	0,31	52,62	0,46	36,69	0,33	24,55
		H-10	5,78	44,75	0,45	42,23	3,29	0,11	65,41	0,23	65,23	0,27	62,76	0,24	45,45
		H-15		58,59		50,58			72,01		79,69		73,24		62,73
		H-0	4,33		0,39		3,92	0,09		0,13		0,19		0,16	
	lindi	H-0	2,11		3,17			0,43		0,38		0,76		0,43	
		H-17	1,01	52,26	1,09	65,62		0,19	55,50	0,09	75,20	0,28	62,96	0,13	69,86
		H-0	6,22		0,92		-	0,44		0,54		0,66		0,42	
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	plastik	H-1	6,18	0,64	0,923	0,00	1,565	0,432	1,37	0,443	17,35	0,654	1,21	0,42	0,71
		H-3	6,075	2,33	0,84	8,99	1,94	0,41	6,39	0,428	20,15	0,485	26,74	0,382	9,69
		H-6	5,677	8,73	0,792	14,19	2,389	0,34	22,37	0,384	28,36	0,36	45,62	0,302	28,61
		H-9	5,32	14,47	0,702	23,94	2,725	0,29	33,79	0,341	36,38	0,296	55,29	0,24	43,26
		H-12	4,879	21,56	0,645	30,12	2,924	0,245	44,06	0,29	45,90	0,211	68,13	0,167	60,52
		H-15	4,33	30,39	0,595	35,54	3,26	0,204	53,42	0,218	59,33	0,148	77,64	0,09	78,72
	tekstil	H-0	10,45		0,78		1,67	0,32		0,65		0,74		0,44	
		H-1	9,876	5,51	0,663	14,89	1,67	0,31	2,52	0,595	8,46	0,74	0,00	0,434	1,36
		H-3	8,955	14,32	0,603	22,59	1,995	0,296	6,92	0,534	17,85	0,62	16,22	0,356	19,09
		H-6	7,83	25,09	0,575	26,19	2,43	0,245	22,96	0,478	26,46	0,502	32,16	0,286	35,00

	H-9	6,985	33,17	0,52	33,25	2,922	0,209	34,28	0,402	38,15	0,403	45,54	0,193	56,14
	H-12	6,021	42,39	0,479	38,51	3,325	0,162	49,06	0,32	50,77	0,317	57,16	0,112	74,55
	H-15	5,62	46,23	0,428	45,06	3,96	0,118	62,89	0,275	57,69	0,232	68,65	0,056	87,27
	H-0	2,11		3,17			0,43		0,38		0,76		0,43	
lindi	H-17	1,11	47,13	1,05	66,88		0,17	60,89	0,12	69,07	0,25	67,59	0,11	73,60

Bioremoval tertinggi yaitu Cd (91,28% pada batch limbah tekstil) dijumpai pada *batch C. pyrenoidosa* disusul oleh Pb (83,08% pada batch limbah plastik). Bioremoval Pb pada limbah tekstil juga dijumpai pada *batch C. pyrenoidosa* (Gambar 11). *C. pyrenoidosa* mempunyai kemampuan bioremoval lebih tinggi dibandingkan dengan *P. cruentum*, *S. platensis*, dan *C. calcitrans*. Hal ini berkaitan dengan sifat *C. pyrenoidosa* yang hidup di air tawar, sehingga lebih mudah beradaptasi. Pada penelitian skala laboratorium *C. vulgaris* mampu menurunkan konsentrasi Pb, Cu, dan Cd 90%, 83% 62% dalam media kultur yang diberi 0,5 mg/L logam berat (Soeprbowati & Hariyati, 2012b).



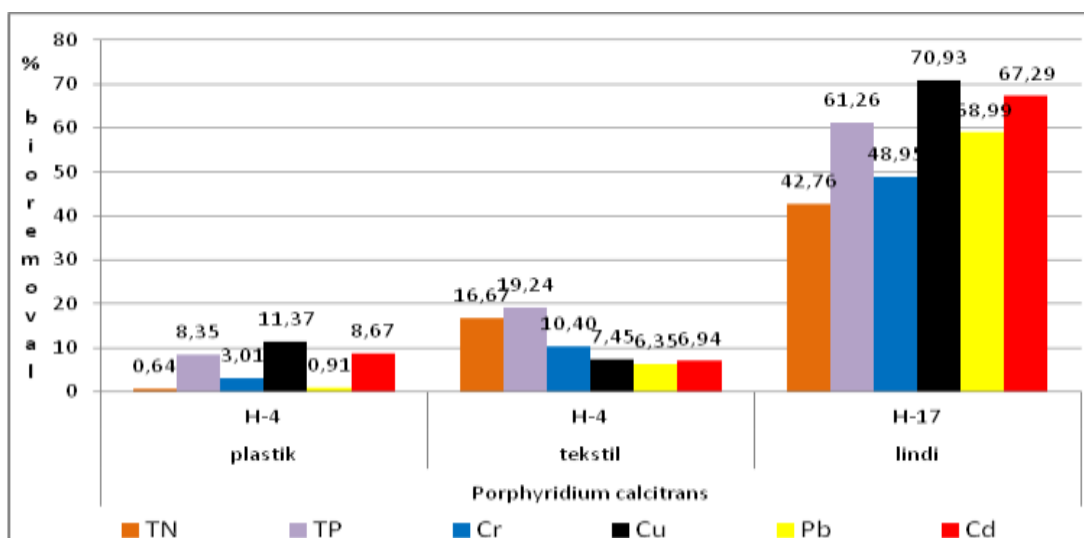
Gambar 11. Bioremoval logam berat industri oleh *Chlorella pyrenoidosa*

Batch P. cruentum untuk semua jenis limbah dapat dikatakan mengalami kegagalan diindikasikan oleh matinya *P. cruentum* pada limbah plastik dan tekstil pada hari ke 4. Namun, *P. cruentum* pada lindi dalam salah satu ulangnya ada tumbuh hingga hari ke 17 dan mampu menurunkan kandungan logam berat Cr sebanyak 48,95%, Cu 70, 93%, Pb 58,99%, dan Cd 67.29% (Tabel 5, Gambar 12).

Kegagalan pada *batch P. cruentum* kemungkinan besar berkaitan dengan sultinya memperoleh bibit stock baru, sehingga yang digunakan adalah umur stock yang sudah lebih dari 1 tahun, sedangkan mikroalga lainnya masih baru. Inokulan yang diberikan di awal pengembangan *batch* adalah 10.000 sel/ml. Memang

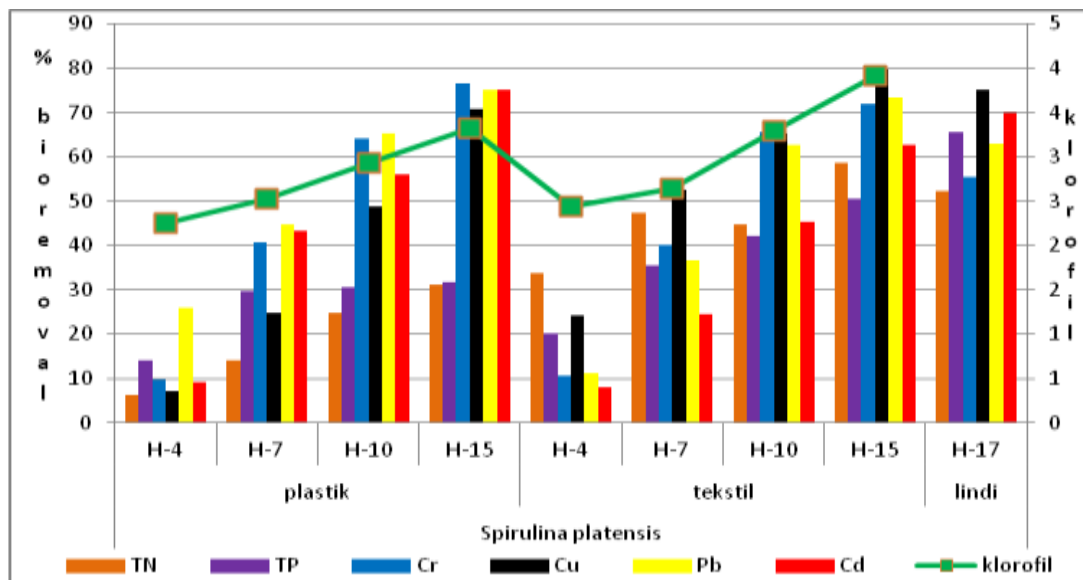
dijumpai kontaminasi oleh *Chlamydomonas* pada batch *P. cruentum*, namun kontaminasi tersebut kurang dari 5%. Guna lebih mendukung hasil yang telah diperoleh ini, maka perlu dikembangkan penelitian terhadap kemampuan fikoremediasi *P.cruentum* dengan bibit stock baru dan kepadatan inokulan yang lebih tinggi.

Sebenarnya *P.cruentum* memiliki potensi sebagai fikoremediator berdasarkan penelitian skala laboratorium, yaitu memiliki kemampuan bioremoval tinggi pada konsentrasi Cu 1 mg/L, sedangkan pada konsentrasi lebih tinggi, kemampuan bioremovalnya menurun (Soeprbowati & Hariyati, 2013a). *P.cruentum* yang ditumbuhkan pada media lindi mempunyai kemampuan mereduksi 48,95%, 58,99% Pb, 67,29% Cd, dan 70,93% Cu (Gambar 12) dengan reduksi TN dan TP pada hari ke 17 lebih dari 70%. *P. cruentum* memiliki kemampuan adaptasi tinggi terhadap perubahan salinitas yang ekstrim, pH, dan temperature. Pertumbuhannya akan cepat pada media yang cocok dan mencapai populasi tinggi serta mudah di panen (Wilde *et al.*, 1988). *P. cruentum* selain memiliki kemampuan fikoremediasi, juga berpotensi sebagai sumber energi alternatif. *P. cruentum* dapat dikembangkan sebagai sumber nutrisi, khususnya polisakarida, asam lemak tidak jenuh, karetenoid, dan fikobiliprotein yang terdiri dari fikoeritrin, R-fikosianin, dan allofikosianin (Velea, *et al.*, 2011).



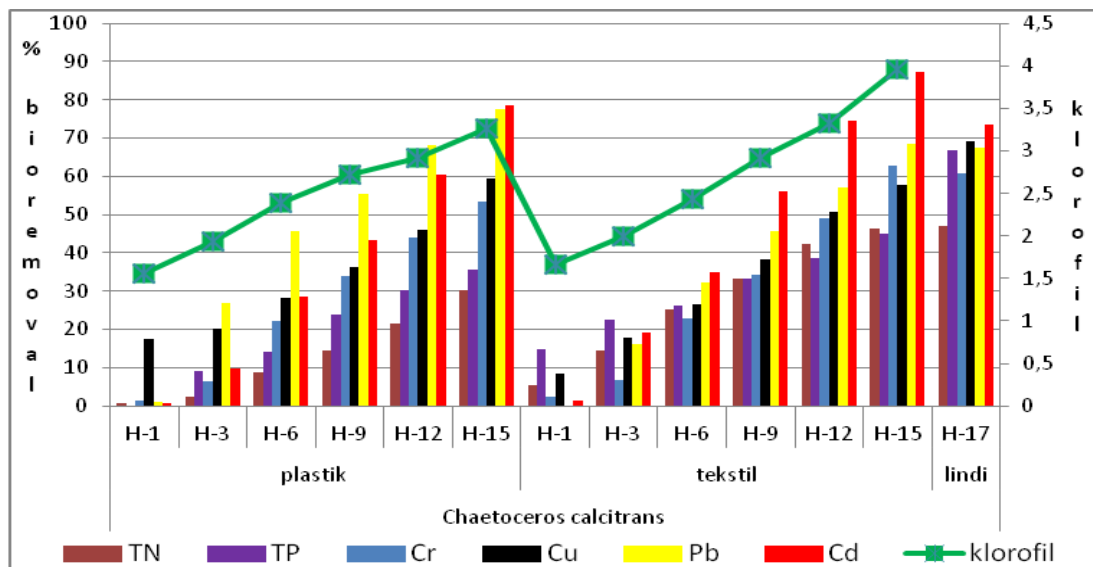
Gambar 12. Bioremoval logam berat industri hari ke 4 dan 17 oleh *Porphyridium cruentum*

S. platensis memiliki kemampuan fikoremediasi, meskipun tidak setinggi *C. pyrenoidosa*. Bioremoval logam berat Cr, Cu, dan Pb pada hari ke 10 dan ke 15 di atas 48%, meskipun yang tertinggi hanya 80% (Gambar 13). *Spirulina* memiliki kemampuan sebagai biosorben ion logam Cr^{+3} , Cd^{+2} dan Cu^{+2} dan mampu mengikat 97% kromium dari air limbah (Chojnaka, 2007). Reduksi TN dan TP pada lindi oleh *S. platensis* lebih dari 50% (Hari ke 17).



Gambar 13. Bioremoval logam berat industri oleh *Spirulina platensis*

Pada penelitian *batch C. calcitrans*, analisis kandungan logam berat pada media maupun pada *C. calcitrans* dilakukan setiap 3 hari hingga hari ke 15, dan menunjukkan gradasi kenaikan persentase penurunan logam berat yang semakin meningkat. Bioremoval tertinggi oleh *C. calcitrans* terjadi untuk Cd disusul Pb, Cr dan Cu (Gambar 14). *C. calcitrans* berpotensi untuk remediasi logam berat, *C. calcitrans* cukup melimpah di Indonesia dan mudah di kultur dengan laju pertumbuhan yang cukup pesat (Soeprbowati & Hariyati, 2013c).



Gambar 14. Bioremoval logam berat industri oleh *Chaetoceros calcitrans*

3. Bioakumulasi logam berat oleh mikroalga

Seiring dengan bioremoval yang terjadi pada *batch* mikroalga dengan limbah plastik, tekstil, dan lindi, maka akumulasi tertinggi pada hari ke 15 juga dijumpai pada *C. pyrenoidosa* seperti halnya bioremovalnya. BCF tertinggi pada *C. pyrenoidosa* yaitu 10,39 untuk Cd dijumpai *batch* limbah tekstil (Tabel 7). Secara berturut-turut BCF oleh *C. pyrenodosa* pada *batch* limbah plastik yaitu $Pb > Cu > Cr > Cd$, pada *batch* limbah tekstil adalah $Cd > Cu > Cr > Pb$, sedangkan pada *batch* lindi adalah $Cu > Cd > Pb > Cr$.

BCF pada *S. platensis* pada *batch* limbah plastik berturut-turut adalah $Cr > Cd > Pb > Cu$, pada *batch* limbah tekstil berturut-turut $Cu > Pb > Cr > Cd$, sedangkan pada *batch* lindi adalah $Cu > Cd > Pb > Cr$ (Tabel 6). Meskipun BCF nya lebih rendah dibandingkan dengan *C. pyrenoidosa*, namun kelipatan akumulasi Cr pada *S. platensis* lebih dari 10 kali. Demikian halnya pada *C. calcitrans* dengan akumulasi Cd 17,86 kali (*batch* limbah tekstil) dan 11,11 kali (*batch* limbah plastik).

Menurut Conti & Cecchetti (2003), $BCF > 1$ ppm menunjukkan bahwa mikroalga tersebut merupakan akumulator logam berat, sedangkan apabila memiliki $BCF > 1.000$ ppm maka merupakan bioakumulator yang bagus. Berdasarkan penelitian ini, maka mikroalga merupakan akumulator, namun bukan merupakan

bioakumulator yang baik. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Sekabira *et al.* (2011), bahwa mikroalga bulan merupakan bioakumulator yang bagus. BCF pada awalnya disusun untuk mengetahui tingkat akumulasi pada ikan, sehingga kriteria yang disusun untuk menjadi akumulator yang baik, sangat sulit dicapai oleh mikroalga, mengingat ukurannya yang sangat kecil sehingga sulit untuk mencapai BCF lebih dari 1.000 ppm. Meskipun bukan merupakan bioakumulator yang baik, namun waktu akumulasi yang pendek menjadikan mikroalga memiliki potensi untuk meremediasi lingkungan yang tercemar logam berat.

Potensi toksisitas logam berat dapat dikaji salah satunya dengan pendekatan faktor biokonsentrasi (BioConcentration factor = BCF) dan faktor bioakumulasi (BioAccumulation Factor = BAF). Biokonsentrasi logam berat pada mikroalga dapat menggambarkan keadaan lingkungan akibat pengaruh logam berat tersebut. BAF dan BCF merupakan model kompartemen tunggal yang memprediksi bagian antara media kultur dan mikroalga. BCF dan BAF dihitung sebagai rasio kesetimbangan antara konsentrasi logam berat pada mikroalga dengan konsentrasi logam berat paparan.

Dalam penelitian laboratoris ini, akumulasi pada mikroalga hanya dari air, maka pendekatan yang digunakan adalah dengan penghitungan BCF. Pada umumnya pendekatan BAF digunakan apabila akumulasi pada organisme berasal dari air dan makanan. Secara umum, BAF digunakan dalam penelitian lapang dan ada pengaruh asupan makanan, sedangkan BCF lebih mudah diukur di bawah kondisi laboratorium (McGeer *et al.*, 2003).

Bioakumulasi adalah proses penyerapan bahan kimia oleh organism dengan semua jalur paparan yang terjadi di lingkungan alam, termasuk dari makanan dan lingkungan sekitarnya. Penghapusan zat kimia dari organism termasuk pertukaran respirasi, pembuangan feses, biotransformasi metabolik dari senyawa induk dan dilusi pertumbuhan (Arnot dan Gobas, 2006). Menurut McGeer *et al.* (2003), bioakumulasi digunakan untuk mengidentifikasi bahaya lingkungan perairan untuk mengetahui potensi dampak buruk terhadap biota. Menurut Ivanciuc *et al.* (2006), organisme akuatik dapat mengakumulasi senyawa kimia baik secara langsung dari lingkungan (melalui kulit atau permukaan saluran pernapasan) dan secara tidak

langsung (dengan cara mengumpulkan dan mengakumulasi senyawa kimia dari makanan). Proses ini disebut bioakumulasi, dan diukur dengan faktor bioakumulasi (BAF) yang didefinisikan sebagai rasio konsentrasi bahan kimia yang terakumulasi di dalam organisme (dari makanan dan paparan langsung) dengan konsentrasi di lingkungan sekitarnya.

Perhitungan BCF dapat didasarkan pada berat basah (BCFW), atau pada konten lipid (BCFL) dari organisme akuatik. BCF biasanya ditentukan untuk berbagai jenis ikan, namun dapat juga digunakan untuk organisme lain seperti mikroalga. Nilai BCF tidak hanya tergantung pada struktur kimia tetapi juga pada tingkat paparan lingkungan, pada spesies, dan karakteristik organisme akuatik seperti usia, kadar lemak, atau durasi paparan bahan kimia). Konsentrasi total zat kimia dalam air, seperti konsentrasi zat kimia terlarut bebas dalam air dan zat kimia yang terikat pada partikel dan bahan organik. Hanya konsentrasi zat kimia terlarut bebas dalam air yang mampu melewati membran sel dan yang siap untuk diserap mikroalga. BCF biasanya dihitung dari konsentrasi air total yang diukur ($BCF = C_B/C_{WT}$). Titik akhir biokonsentrasi universal yang bebas dari bahan organik dalam air tersebut dinyatakan dalam konsentrasi bahan kimia terlarut secara bebas sebagai $BCF_{fd} = C_B/C_{WD}$ (Ivanciuc *et al.*, 2006).

Bioakumulasi yang terjadi pada organisme dapat digunakan untuk monitoring kualitas lingkungan karena ada korelasi antara kapasitas bioakumulasi dengan lingkungan yang tercemar maupun konsentrasi limbah. Baik biosorpsi maupun bioakumulasi dapat digunakan untuk menurunkan kontaminan dari limbah industri (Chojnacka, 2009).

Absorpsi logam berat dapat terjadi melalui 2 cara, yaitu pertukaran ion logam berat dengan dengan sel, atau melalui ikatan kovalen antara logam berat dengan ion gugus aktif dinding sel. Dinding mikroalga tersusun oleh poriten organik, polisakarida, asam alginat, dan asam urinat yang mampu berikatan dengan logam berat (Wang and Chen, 2009). Hal inilah yang menyebabkan akumulasi logam berat pada mikroalga.

Konsentrasi logam berat pada mikroalga merefleksikan konsentrasi logam berat pada lingkungan tempat hidupnya. Penelitian lapang yang dilakukan di sungai

Uganda menunjukkan hasil yang sama dengan penelitian laboratorium ini, bahwa memiliki potensi sebagai bioakumulator logam berat $Cu > Pb > Cd$ (Sekabira, *et al.*, 2011).

Pada penelitian tahun I (skala laboratorium) BCF pada *Chorella vulgaris* dan *Porphyridium* paling tinggi terjadi pada semua perlakuan logam berat Pb, Cd, Cu, dan Cr konsentrasi 1 mg/L (Soeprbowati & Hariyati, 2013a; Purnamawati, dkk, 2013). Namun lama waktu paparan mempengaruhi nilai BCF. *Porphyridium* menunjukkan toleransi yang lebih tinggi terhadap Cu dibandingkan dengan Pb, Cd, dan Cr. BCF *Porphyridium* pada hari ke 8 dari yang paling tinggi adalah $Cu > Cr > Cd > Pb$, dan pada hari ke 15 adalah $Cu > Pb > Cd > Cr$ (Soeprbowati & Hariyati, 2013a). Berdasarkan kecenderungan dari data, maka Pb memerlukan waktu lebih lama untuk terakumulasi, sementara Cu lebih cepat. Hal ini juga terlihat pada BCF *Chlorella vulgaris* Beyerinck pada hari ke 76 dari yang paling tinggi adalah $Pb > Cd$ (Purnamawati dkk, 2013).

Logam berat diserap secara aktif melalui metabolisme *Chlorella vulgaris*, dengan menghasilkan protein pengkhelat logam fitokhelatin sebagai respon negatif logam berat. Fitokhelatin disintesis dari glutasi tripeptida yang tersusun dari glutamat, cystidin, dan glisin yang terdapat dalam seluruh sel (Lehniger, *et al.*, 2005). Dalam lingkungan logam berat, glutasi akan membentuk fitokhelatin-Cd yang selanjutnya akan diteruskan ke vakuola (Haryoto & Wibowo, 2004).

Adanya kemampuan mikroalga mengakumulasi toksikan, misalnya logam berat seperti tersebut di atas, merupakan tantangan, sehingga demi keamanan, maka setelah di panen harus dimusnahkan. Apabila akan dimanfaatkan, maka sebelum dimanfaatkan, toksikan tersebut harus dieliminir terlebih dahulu. Hal tersebut dapat dilakukan dengan pengembangan mikroalga transgenik, yaitu manipulasi genetik untuk meningkatkan kemampuan detoksifikasi (Bhatnagar & Kumari, 2013). Terkait dengan toksisitas logam berat terhadap mikroalga, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap perubahan struktur anatomi mikroalga, sehingga dapat diketahui efek logam berat. Dalam penelitian ini masih terfokus pada level perubahan pertumbuhan populasi, sehingga dalam penelitian mendatang perlu difokuskan pada level seluler.

Masih banyak peluang dan tantangan dalam fikoremediasi, seperti pengembangan fioremediasi oleh konsorsium mikroalga-mikroalga, mikroalga-tumbuhan air, konsorsium mikroalga-bakteri, maupun mikroalga-bakteri-tumbuhan air. Dalam aplikasi lapang, seringkali hal tersebut sulit dihindari sehingga perlu dikaji lebih lanjut mana yang lebih optimal dalam fikoremediasi pencemaran air (Soeprbowati, 2013).

Pemanfaatan teknologi dan inovasi dapat membuka jalan bagi temuan terapan yang lebih baru. Oleh karena itu, penguatan dan pengembangan sains dasar merupakan kunci utama dalam menjamin keberlanjutan dari upaya pemanfaatan teknologi dan peningkatan daya saing industri. Pengembangan ilmu hayati atau biologi, diarahkan untuk mencapai sasaran yang mencakup diantaranya penyempurnaan basis data sumberdaya alam atau hayati; penguasaan ilmu hayati beserta aspek lingkungannya, pengembangan ilmu manipulasi genetika tanaman dan hewani; penguasaan dan pengembangan metode kultur jaringan, seperti yang tertuang dalam Agenda Riset Nasional 2010- 2014.

Tabel 7. Bioakumulasi logam berat oleh mikroalga

Jenis mikroalga	jenis limbah	Mikroalga				BCF				Kelipatan akumulasi			
		Cr	Cu	Pb	Cd	Cr	Cu	Pb	Cd	Cr	Cu	Pb	Cd
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	plastik	0,36	0,43	0,56	0,28	3,99	4,06	5,08	1,97	11,24	9,52	9,09	7,14
	tekstil	0,24	0,54	0,56	0,40	3,86	5,73	3,84	10,39	15,87	10,64	6,80	26,32
	lindi	0,21	0,40	0,41	0,29	1,05	4,79	1,24	1,59	4,95	11,90	3,04	5,56
<i>Porphyridium cruentum</i>	plastik	0,02	0,08	0,01	0,04	0,04	0,17	0,01	0,10	2,39	2,21	1,53	2,64
	tekstil	0,02	0,09	0,03	0,03	0,07	0,15	0,04	0,07	3,41	1,79	1,44	2,49
	lindi	0,25	0,31	0,36	0,24	1,12	2,86	1,17	1,71	4,59	9,17	3,23	7,14
<i>Spirulina platensis</i>	plastik	0,33	0,38	0,50	0,32	3,22	2,46	3,04	3,09	9,71	6,41	6,06	9,52
	tekstil	0,22	0,50	0,52	0,27	2,47	3,77	2,66	1,62	11,24	7,58	5,15	6,10
	lindi	0,23	0,35	0,39	0,26	1,21	3,80	1,39	2,02	5,26	10,75	3,57	7,75
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	plastik	0,24	0,31	0,51	0,32	1,18	1,44	3,45	3,57	4,90	4,59	6,76	11,11
	tekstil	0,19	0,37	0,45	0,38	1,59	1,33	1,93	6,71	8,47	3,64	4,31	17,86
	lindi	0,40	0,42	0,23	0,31	2,41	3,65	0,92	2,74	5,99	8,62	4,08	8,85

Luaran penelitian Fundamental ini adalah publikasi pada jurnal ilmiah terakreditasi/internasional (Tabel 8).

Tabel 8. Luaran Penelitian Fundamental Tahun 2013

NO	Jenis Publikasi	Judul Publikasi	Nama Jurnal/Seminar
1.	Jurnal Internasional	Bioaccumulation of Pb, Cd, Cu, and Cr by <i>Porphyridium cruentum</i> (S.F. Gray) Nägeli	International Journal of Marine Science 3(27): 212-218 doi: 10.5376/ijms.2013.03.0027 http://bio.sophiapublisher.com/index.php/ijms/article/view/797/830
2.	Seminar Internasional	Phycoremediation of Pb,Cd, Cr, and Cu by <i>Chaetoceros calcitran</i>	Proceeding International Conference on Chemical, Biological & Environmental Engineering, Bangkok 21-22 Nov 2013,
3.	Seminar Internasional	Phycoremediation of Cr, and Cu by <i>Chlorella vulgaris</i>	ISNPINSA 3, FSM UNDIP, Semarang, 24 September 2013
3.	Seminar Nasional oral	Fitoremediasi dalam menunjang ketahanan pangan: peluang dan tantangan (Tri Retnaningsih Soeprbowati)	Seminar Nasional Biologi 2013, Jurusan Biologi FSM UNDIP, 14 september 2013
		Pertumbuhan <i>Chlorella vulgaris</i> Beijerinck Dalam Medium Yang Mengandung Logam Berat Cd Dan Pb Skala Laboratorium. (F. Setyaningsih)	Seminar Nasional Biologi 2013, Jurusan Biologi FSM UNDIP, 14 september 2013
4.	Seminar Nasional (poster)	Pemanfaatan plasma lucutan pijar korona sebagai sumber nutrient alternative pada monokultur <i>Dunaliella salina</i> (Eko Bambang Fitriyanto)	Seminar Nasional Biologi 2013, Jurusan Biologi FSM UNDIP, 14 September 2013
		Pemanfaatan plasma lucutan pijar korona sebagai pupuk alternative pada kultur <i>Chlorella vulgaris</i> B. (Filemon Jalu)	Seminar Nasional Biologi 2013, Jurusan Biologi FSM UNDIP, 14 September 2013

Tabel 9. Mahasiswa Yang Terlibat Dalam Penelitian

NO	NAMA	JUDUL/Tanggungjawab penelitian
1	F. Ning Setyaningsih Purnamawati (S2, lulus September 2013)	Bioakumulasi Pb, dan Cd pada <i>Chlorella</i> laut
2	Hermawan (S1, lulus Feb 2013)	Populasi <i>Chlorella</i> laut pada kultur dengan penambahan Cu dan Cr
3	Danu Maulana Yusuf (target lulus 2013)	Penurunan konsentrasi logam berat Cu pada monokultur <i>Spirulina</i>
4	Eko Bambang Fitriyanto (S1, target lulus 2014)	Populasi monokultur <i>Chaetoceros</i> dengan penambahan logam berat
5	Filemon Jalu (S1, belum skripsi)	<i>Chlorella vulgaris</i> pada limbah industri tekstil
6	Kenanga Sari (S1, belum skripsi)	<i>Porphyridium cruentum</i> pada limbah industri
7	Her Nur Yoga (S2, penelitian thesis)	Pengembangan kultur mikroalga Danau Rawapening sebagai upaya penyediaan stok fikoremediasi

BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka mikroalga mampu tumbuh pada limbah industri plastik, tekstil, dan lindi namun pertumbuhan populasinya lebih rendah dibandingkan dengan kontrol. Setelah hari ke 7, ada kecenderungan kenaikan populasi seiring dengan penurunan konsentrasi logam berat.

Mikroalga mampu meremediasi logam berat Pb, Cd, Cr, dan Cu dari limbah industri plastik, tekstil, dan lindi. *Chlorella pyrenoidosa* mempunyai kemampuan bioremoval paling tinggi, khususnya pada Cd limbah plastik (91,28%), Cu limbah tekstil (84,07), Pb limbah plastik (83,08%), Pb limbah tekstil (80,08%). *Chaetoceros calcitrans* memiliki kemampuan bioremoval Cd 87,27% sedangkan *Spirulina platensis* kemampuan bioremoval terhadap logam berat < 80%.

C.pyrenoidosa, *P. cruentum*, *S. platensis* dan *C. calcitrans* merupakan bioakumulator logam berat. Ditinjau dari BCF, maka akumulasi tertinggi logam berat pada hari ke 15 pada *batch* limbah tekstil yang dijumpai pada *C. pyrenoidosa* adalah untuk Cd>Cu>Cr>Pb sedangkan pada *batch* plastik BCF mulai dari tertinggi adalah Pb, Cu, Cr, dan Cd.

Pengembangan penelitian lanjutan perlu memperhatikan jumlah sel inokulan yang diberikan di awal pengembangan *batch* kultur mikroalga agar perubahan populasi mikroalga yang terjadi lebih merefleksikan pengaruh logam berat pada limbah. Perubahan anatomi mikroalga setelah terpapar logam berat juga harus dianalisis untuk mengetahui dampak toksisitas logam berat.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Rub, F.A. Abu, El-Naas, M.H., Ashour, I., Al-Marzouqi, M. 2006. Biosorption of copper on *Chlorella vulgaris* Beyerinck from single, binary and ternary metal aqueous solutions. *Process Biochemistry* **41(2)**: 457-464. <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2005.07.018>
- Arnot, J. A. dan F. A. P. C. Gobas. 2006. A Review of Bioconcentration Factor (BCF) and Bioaccumulation Factor (BAF) Assessments for Organic Chemicals in Aquatic Organisms. *Environmental Review*, 14 : 257-297.
- Ayu KR, Tony H, Tadashi T, Yasuhiro T, Kazuhiro M. 2011. Bioremediation of crude oil by white rot fungi *Polyporus* sp. S133. *J Microbiol Biotechnol.* 21(9):995-1000.
- Banfalvi G. 2011. Cellular effects of heavy metals. Springer. London, pp. 364 <http://dx.doi.org/10.1007/978-94-007-0428-2>
- Barus, T.A. 2002. Pengantar Limnologi. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Jakarta.
- Bhatnagar, S. dan Kumari, R. 2013. "Bioremediation: A Sustainable Tool for Environmental Management – A Review", *Annual Review & Research in Biology* 3(4): 974-993, 2013. www.sciencedomain.org
- Bahar M.M.; Megharaj M. and Naidu R., 2012, Toxicity, transformation and accumulation of inorganic arsenic species in a microalga *Scenedesmus* sp. Isolated from soil. *Journal of Applied Phycology*, 25: 913-917 <http://dx.doi.org/10.1007/s10811-012-9923-0>
- Carvalho, K.M and Martin, D.F. 2001. Removal of Aqueous Selenium by Four Aquatic Plants. *J. Aquat. Plant Manage.* **39**: 33-36
- Chen J.Z., Tao X.C., Xu J., Zhang T., and Liu Z.L., 2005, Biosorption of lead, cadmium and mercury by immobilized *Microcystis aeruginosa* in a column, *Process Biochemistry* 40 (12): 3675-3679 <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2005.03.066>
- Chojnacka K., Chojnacka A., and Gorecka H., 2005, Biosorption of Cr³⁺, Cd²⁺ and Cu²⁺ ions by blue-green algae *Spirulina* sp.: kinetics, equilibrium and the mechanism of the process, *Chemosphere*, 59:75-84. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.10.005>
- Chojnacka, K. 2009. Biosorption And Bioaccumulation In Practice. Nova Science Publishers, Inc. New York
- Conti, M. E.; Cecchetti, G., (2003). A biomonitoring study: Trace metals in algae and molluscs from yrrhenian coastal areas. *Environ. Res.* **93 (1)**: 99-112. [http://dx.doi.org/10.1016/S0013-9351\(03\)00012-](http://dx.doi.org/10.1016/S0013-9351(03)00012-)
- Costa A.C.A., and Franca F.P., 2003, Cadmium Interaction with Microalgal Cells, Cyanobacterial Cells, and Seaweeds; Toxicology and Biotechnological

- Potential for Wastewater Treatment, *Marine Biotechnology* 5: 149-156.
<http://dx.doi.org/10.1007/s10126-002-0109-7>
- Cotteau. 1996. *Trends in ecology and evolution*. Doctor disertation, University of Rostock.
- Crawford, R.L. and Crawford, D.L. 2005. *Bioremediation: principles and applications*. Cambridge University Press. New York.
- Dwivedi S. 2012. Bioremediation of heavy metal by algae: current and future perspective. *J Adv Lab Res Biol.* 3(3):195-199.
- Effendi, H. 2003. *Telaah Kualitas Air bagi Pengelola Sumber Daya dan Lingkungan Perairan*. Kanisius, Yogyakarta.
- EPA Environment Protection Agency/600/R-99/107. February 2000. Introduction to Phytoremediation. National Risk Management Research Laboratory. Office of Research and Development. U.S. Environmental Protection Agency. Cincinnati, Ohio 45268 <http://www.il.ncrs.usda.gov/engineer/urban>
- Girard, J. 2010. *Principles of environmental chemistry*. 2nd ed. Jones & Bartlett Publishers, LLC
- Gupta VK, Shrivastava AK, Jain N. 2001. Biosorption of chromium (VI) from aqueous solutions by green algae *Spirogyra* species. *Water Res.* 35(17):4079-4085.
- Hariyati, R. 2008. Pertumbuhan dan Biomassa *Spirulina* sp. dalam Skala Laboratoris. *BIOMA* 10(1): 19-22.
- Haryoto dan Wibowo, 2004. Kinetika bioakumulasi logam berat Cadmium oleh phytoplankton *Chlorella* sp lingkungan perairan laut. *Jurnal Penelitian Sains & Terknologi* 5(2): 89-103
- Imani S., Rezaei-Zarchi S., Hashemi M., Borna H., Javid A., Zand A.M. and Abarghouei, H.B., 2011, Hg, Cd and Pb heavy metal bioremediation by *Dunaliella* alga, *Journal of Medicinal Plants Research* 5(13): 2775-2780
- Ivanciuc, T., O. Ivanciuc dan D. J. Klein. 2006. Modeling The Bioconcentration Factors and Bioaccumulation Factors of Polychlorinated Biphenyls with Posetic Quantitative Super Structure / Activity Relationship (QSSAR). *Molecular Diversity*, 10 : 133-145. <http://dx.doi.org/10.1007/s11030-005-9003-3>
- Jayashree R, Nithya SE, Rajesh PP, Krishnaraju M. 2012. Biodegradation capability of bacterial species isolated from oil contaminated soil. *J Academia Indust Res.*1(3):140-143.
- Kusrinah, 2001. Penurunan konsentrasi logam berat Kadmium air laut oleh *Chlorella* sp dalam skala laboratyorium. Skripsi Jurusan Biologi FMIPA UNDIP. Semarang.
- Lamai, C. Kruatrachue, M.; Pokethitiyook, P.; Upatham, E.S. and V. Soonthornsarathool. 2005. Toxicity and Accumulation of Lead and Cadmium in the Filamentous Green Alga *Cladophora fracta* (O.F. Muller ex Vahl) Kutzing: A Laboratory Study. In *Science Asia* 31: 121-127. <http://dx.doi.org/10.2306/scienceasia1513-1874.2005.31.121>
- Lehninger A.L., Nelson D.L., and Cox M.M. 2005. *Principles Of Biochemistry*, 4th ed. New York: Worth Publishers.

- Lim S.I., Chu W.L., and Phang S.M., 2010, Use of *Chlorella vulgaris* for bioremediation of textile wastewater, *Bioresource Technology* 101:7314-7322 <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2010.04.092>
- McGeer, J. C; K. V. Brix; J. M. Skeaff; D. K. Deforest; S. I Brigham; W. J. Adams; dan A. Green. 2003. Inverse Relationship Between Bioconcentration Factor and Exposure Concentration for Metals : Implications for Hazard Assessment of Metals in The Aquatic Environment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 22, No. 5 1017-1037. <http://dx.doi.org/10.1002/etc.5620220509>
- Miranda J., Krishnakumar G., and Gonsalves R., 2012, Cr6+ bioremediation efficiency of *Oscillatoria laete-virens* (Crouan and Crouan) Gomont and *Oscillatoria trichoides* Szafer: kinetics and equilibrium study, *Journal of Applied Phycology*, 24:1439-1454 <http://dx.doi.org/10.1007/s10811-012-9800-x>
- Olgun, E. J. Phycoremediation: key issues for costeffective nutrient removal processes. *Biotechnol.Adv.* 22: 81–91 (2003).
- Phytoremediation Resource Guide. EPA 542-B-99-003. June 1999. www.epa.gov/tiocluc-in.org
- Prihantini, N.B.; Putri B., dan Yuniati, R. 2005. Pertumbuhan *Chlorella* spp. dalam medium ekstrak tauge (MET) dengan variasi ph awal. *Makara Sains.* 9 (1): 1-6
- Purnamawati, F.S.; T.R. Soeprobawati, dan M. Izzati, 2013. “Pertumbuhan *Chlorella vulgaris* Beijerinck Dalam Medium Yang Mengandung Logam Berat Cd Dan Pb Skala Laboratorium”, Makalah dalam Seminar Biologi, Jurusan Biologi UNDIP Semarang 14 September 2013
- Reynold, C. 2006. Ecology of phytoplankton. Cambridge University Press. NY.
- Roger, K. 2011. Fungi, Algae, and Protists. Britanica education Publishing in association with Rosen, educational services. New York.
- Sekabira, K.; Origa, H.O.; Basamba, T.A; Mutumba, G.; dan Kakudidi, E. 2011. Application of algae in biomonitoring and phytoextraction of heavy metals contamination in urban stream water. *Int.J. Environ. Sci. Tech.*, 8 (1): 115-128.
- Selatnia A, Boukazoula A, Kechid BN, Bakhti MZ, Chergui A, Kerchich Y. 2004. Biosorption of lead (II) from aqueous solution by a bacterial dead *Streptomyces rimosus* biomass. *Biochem Eng J.*19:127-135.
- Setiyawati, M.D. 2009. Uji toksisitas kadmium dan timbal pada mikroalga *Chaetoceros gracilis*. Skripsi Departemen Ilmu dan Teknologi Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor
- Seufferheld MJ, Curzi MJ. 2010. Recent discoveries on the roles of polyphosphates in plants. *Plant Mol Biol Rep.*28:549-559.
- Sivasubramanian, V.; Subramanian, V. V., and Muthukumar, M. 2012. Phycoremediation of effluent from a soft drink manufacturing industry with a special emphasis on nutrient removal – a laboratory study *V J. Algal Biomass Utiln.* 2012, 3 (3): 21– 29

- Shamsuddoha ASM, Bulbul A, Huq SMI. 2006. Accumulation of arsenic in green algae and its subsequent transfer to the soil-plant system. *Bangladesh J Med Microbiology*. 22(2):148-151.
- Soeprbowati, T. R., 1996. Phytoplankton communities in South Creek, New South Wales, Australia. Thesis for degree of Master of Applied Science-Environmental Science, University of Western Sydney-Hawkesbury, Australia.
- Soeprbowati, T.R. 2013. Fikoremediasi dan ketahanan pangan: peluang dan tantangan. Prosiding Seminar Nasional Biologi FSM UNDIP, Semarang 4 September 2013.
- Soeprbowati, T. R.; H. Sugondo; I.B. Hendrarto; I. Sumantri; and B. Toha., 1999. Biomonitoring methods: diatoms as bioindicator of water quality. *Paper presented in the 2nd Germany-Indonesia Symposium and Workshop on Environmental Monitoring and Specimen Bank (EMSB)*. Research and development Centre of Advance technology, National Nuclear Energy Agency, Yogyakarta, 26-29 October 1999.
- Soeprbowati, T.R; H. Sugondo; I.B. Hendrarto; I. Sumantri; and B. Toha., 2001. Diatom and Ecological Changes of the River. *Seri Penelitian Fakultas Biologi 4(2): 72-97, edisi khusus Prociding Seminar Nasional Peranan Fungsi Ekologis dalam Pengelolaan Lingkungan*. Universitas Satya Wacana, Salatiga.
- Soeprbowati, T.R; S.W.A. Suedy; T.A. Rahardjo; dan K.A. Maryunani., 2007. Paleoreconstruction of ecological changes, in mangrove ecosystems based on diatom communities. *International Seminar Advances in Biological Science: Contribution towards a better human prosperity*, Faculty of Biology Gadjah Mada University, Yogyakarta, 7-8 September 2007.
- Soeprbowati, T.R. 2009. Variabilitas Diversitas dan Distribusi Vertikal Diatom di danau Rawapening. *Seminar Nasional Peran Biosistemika Dalam Pelestarian Sumberdaya Hayati*, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto, Desember 2009.
- Soeprbowati, T.R. 2010. The Standard Method Of Using Diatom As Earlier Warning Indicator Of Water Quality Changing. *Internasional/Nasional International Conference on Management and Inovation Technology*, UNDIP Semarang, Oktober 2009.
- Soeprbowati, T.R. ; Hadisusanto, S.; Gell, P. Zawatzki, A. 2010. Diatom for Recosntruction The Past Environmental Condition Of Rawa Pening Lake, Java, Indonesia. *International Conference on Environmental Pollutin, Restoration, and Management*. SETACAsia-Pacific, Ho Chi Minh, Vietnam
- Soeprbowati, T.R.; S. Hadisusanto, and P. Gell. 2012a. *The diatom stratigraphy of Rawapening Lake, Implying Eutrophication History American Journal of Environmental Science* 8 (3): 334-344. June 2012. DOI: [10.3844/Ajessp.2012.334.344](https://doi.org/10.3844/Ajessp.2012.334.344)
- Soeprbowati, T.R. and R. Hariyati, 2012b., "The Potential Used Of Microalgae For Heavy Metals Remediation". *Proceeding The 2nd International Seminar on New Paradigm and Innovation on natural Sciences and Its Application*, Diponegoro University, Semarang Indonesia, 72-87. 3 October 2012.

- Soeprbowati, T.R., and Hariyati, R. 2013a. "Bioaccumulation of Pb, Cd, Cu, and Cr by *Porphyridium cruentum* (S.F. Gray) Nägeli", *International R. Journal of Marine Science* 3(27): 212-218, doi: [10.5376/ijms.2013.03.0027](https://doi.org/10.5376/ijms.2013.03.0027)
- Soeprbowati, T.R.; Junaidi, W.D. Nugroho 2013b. "Pengembangan High Rate Alga Pond (HRAP) di Rawapening untuk remediasi nutrisi". Prosiding Workshop Penyelamatan ekosistem Danau Rawapening, penelitian ilmiah sebagai solusi teknis penyelamatan ekosistem danau Rawapening dalam skala super prioritas, 2013.
- Soeprbowati, T.R., and Hariyati, R. 2013c. Phycoremediation of Pb, Cd, Cr, and Cu by *Chaetoceros calcitrans*. Proceeding International Conference on Chemical, Biological & Environmental Engineering, Bangkok 21-22 Nov 2013,
- Steenblock, D. 2000. *Chlorella: Makanan Sehat Alami*, terjemahan, Muhilal dan U. L. Siagian, PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Sudarwin, 2008. Analisis spasial pencemaran logam berat (Pb dan Cd) pada sedimen aliransungai dari tempat pembuangan akhir (TPA) sampah Jatibarang Semarang. Thesismagister Kesehatan Lingkungan, Program Pascasarjana Universitas Diponegoro, Semarang.
- Suhendrayatna. 2001. Heavy metal bioremoval by microorganism: a literature study. <http://www.istecs.org/publicationjapan/010211>
- Trzeinska M., and Pawlik-Skowronska B., 2012, Differences in Zn and Pb resistance of two ecotypes of the microalga *Eustigmatos* sp. Inhabiting metal loaded calamine mine, *Journal of Applied Phycology*, 25: 277-284. <http://dx.doi.org/10.1007/s10811-012-9862-9>
- Velea S., Ilie L., and Filipescu L., 2011, Optimization Of *Porphyridium cruentum* (S.F. Gray) Nägeli *Purpureum* Culture Growth Using Two Variables Experimental Design: Light And Sodium Bicarbonate, *U.P.B. Sciences Bulletin Series B* 73(4): 81-94
- Volesky, B. 2007. "Biosorption and me", *Water Resources*, 41: 4017-4029,
- Wang J., B. Chen X.R., Huang J., and Li M., 2007, Optimization of culturing conditions of *Porphyridium cruentum* using uniform design, *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 23: 1345-1350. <http://dx.doi.org/10.1007/s11274-007-9369-8>
- Wang J., and Chen C., 2009, Biosorbents for heavy metals removal and their future. *Biotechnology Advanced*, 27: 195-226 <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.11.002>
- Wilde E.W., Radway J.C., Domingo J.S., Zingmark R.G., and Whitaker, M.J., 1988, Final Report for TTP# SR-16-PL-42 (Formerly SR-141019)- Bioremediation of Aqueous Pollutants Using Biomass Embedded in Hydrophilic Foam (U). DOE Contract No. DE-AC09-89SR18035. US of department Energy, pp. 262
- Woodward KB, Fellows CS, Conway CL, Hunter HM. 2009. Nitrate removal, denitrification and nitrous oxide production in the riparian zone of an ephemeral stream. *Soil Biol Biochem.* 41:671-680.