

Pertumbuhan *Chlorella Vulgaris* Beijerinck Dalam Medium Yang Mengandung Logam Berat Cd Dan Pb Skala Laboratorium.

Florensia Setyaningsih Purnamawati¹, Tri Retnaningsih Soeprbowati²,
Munifatul Izzati³

¹ Magister Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, UNDIP
Jl. Prof. Sudharto, SH Tembalang Semarang 50275

² Pascasarjana Prodi Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, UNDIP
Jl. Prof. Sudharto, SH Tembalang Semarang 50275

ABSTRACT

Chlorella vulgaris Beijerinck is a single-celled microalgae that grow in fresh and marine waters, has been used as the feed ingredients, supplements, biofuels and bioremediation. Growth of *C. vulgaris* in polluted waters is possible for hazardous waste such as heavy metals since last discharge waters is where various wastes. This study aims to assess the growth of *C. vulgaris* in media containing heavy metal contaminants Cd and Pb laboratory scale and the ability to accumulate heavy metals. *C. vulgaris* grown in a culture medium that had been fertilized Walne for 76 days. Culture medium plus Cd and Pb metal ions with 3 different concentrations are 1 ppm, 3 ppm and 5 ppm, respectively 3 replications. Culture medium without the addition of metal is considered as a control. Heavy metal content in the medium and in the cell *C. vulgaris* measured by AAS. Based on these studies proved that Cd Ion cell growth delay peak *C. vulgaris* and lead to chlorosis than Pb. The high concentration of metal ions in the medium does not necessarily reduce the number of cell *C. vulgaris*. *C. vulgaris* is a Pb bioaccumulator better than Cd.

Key word : heavy metal, *Chlorella vulgaris*, bioaccumulator

ABSTRAK

Chlorella vulgaris Beijerinck merupakan mikroalga bersel satu yang banyak tumbuh di perairan tawar dan laut, telah dimanfaatkan masyarakat sebagai bahan pakan, suplemen, biofuel dan bioremediasi. Pertumbuhan *C. vulgaris* di perairan sangat memungkinkan untuk tercemar limbah berbahaya seperti logam berat mengingat perairan merupakan tempat buangan terakhir berbagai limbah. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pertumbuhan *C. vulgaris* dalam media yang mengandung cemaran logam berat Cd dan Pb skala laboratorium dan kemampuannya dalam mengakumulasi logam berat. *C. vulgaris* ditumbuhkan dalam media kultur yang telah diberi pupuk Walne selama 76 hari. Media kultur ditambah ion logam Cd dan Pb dengan 3 konsentrasi yang berbeda yaitu 1 ppm, 3 ppm, dan 5 ppm, masing-masing 3 kali ulangan. Medium kultur tanpa penambahan logam dianggap sebagai kontrol. Kandungan logam berat dalam medium dan dalam sel *C. vulgaris* diukur dengan AAS. Berdasarkan penelitian tersebut terbukti bahwa Ion Cd menunda puncak pertumbuhan sel *C. vulgaris* dan memicu terjadinya klorosis dibandingkan Pb. Tingginya konsentrasi ion logam dalam medium tidak serta merta menurunkan jumlah sel *C. vulgaris*. *C. vulgaris* merupakan bioakumulator logam Pb yang lebih baik dibanding Cd.

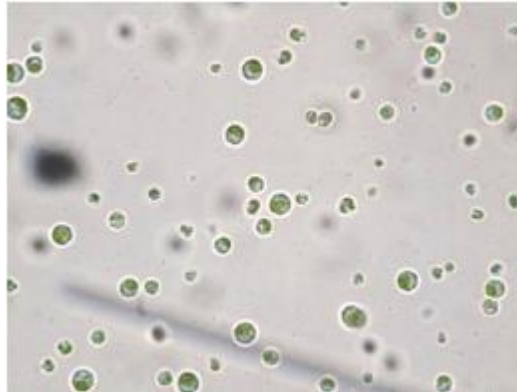
Kata kunci : logam berat, *Chlorella vulgaris*, bioakumulator

1. PENDAHULUAN

Chlorella vulgaris Beijerinck dimanfaatkan secara komersial karena tingginya nilai gizi yang dimiliki. Mikroalga ini mengandung protein, karbohidrat, lemak, vitamin, mineral, asam amino esensial, asam lemak esensial, enzim, beta karoten dan klorofil sehingga banyak digunakan sebagai pakan ikan, suplemen makanan, bahan penawar berbagai penyakit, bahan untuk biofuel dan bioremediasi (Srihati dan Carolina, 1994; Lim, *et.al.*, 2010; Phukan *et.al.*, 2011). Mikroalga uniseluler ini berbentuk simpel, fotosintetik, sehingga banyak dikembangkan dalam pengolahan

limbah. Mikroalga ini mudah diperoleh di tempat-tempat pembudidayaan sumber daya laut meskipun secara alami juga banyak terdapat di perairan.

Sel *Chlorella* berbentuk bulat, hidup soliter, berukuran 2-8 μm (Gambar 1). Dalam sel *Chlorella* mengandung 50% protein, lemak serta vitamin A, B, D, E dan K, disamping banyak terdapat pigmen hijau (klorofil) yang berfungsi sebagai katalisator dalam proses fotosintesis (Sachlan, 1982). Sel *Chlorella* umumnya dijumpai sendiri, atau kadang-kadang bergerombol. Protoplast sel dikelilingi oleh membran yang selektif, sedangkan di luar membran sel terdapat dinding yang tebal terdiri dari selulosa dan pektin. Di dalam sel terdapat suatu protoplast yang tipis berbentuk seperti cawan atau lonceng dengan posisi menghadap ke atas. Pirenoid-pirenoid stigma dan vakuola kontraktif tidak ada. Warna hijau pada alga ini disebabkan karena kandungan klorofil a dan b dalam jumlah yang besar, di samping karotin dan xantofil (Volesky, 1990).



Gambar 1. Sel *Chlorella* perbesaran 10 x 100

Chlorella sp membutuhkan beberapa faktor lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhannya di kultur terbuka antara lain : cahaya, temperatur, tekanan osmosis, pH, air, salinitas, kandungan oksigen, dan aerasi (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).

Cahaya dibutuhkan sebagai sumber energi untuk fotosintesis. Kisaran temperatur optimal bagi pertumbuhannya berada pada rentang suhu 25 – 30 $^{\circ}\text{C}$. Temperatur ini mempengaruhi proses-proses fisika kimia dan biologi yang berlangsung dalam sel mikroalga. Peningkatan temperatur hingga batas tertentu akan merangsang aktifitas molekul, meningkatnya laju difusi dan juga laju fotosintesis (Sachlan, 1982). Derajat keasaman (pH) media kultur merupakan faktor pengontrol yang menentukan kemampuan biologis mikroalga dalam memanfaatkan unsur hara. Prihantini *et al.*, 2005 dalam Prabowo (2009) menyatakan bahwa pH yang sesuai untuk pertumbuhan *Chlorella* berkisar antara 4,5 - 9,3. *Chlorella* sp memiliki toleransi kisaran salinitas yang tinggi. *Chlorella* air laut dapat tumbuh baik pada salinitas 15-35 ppt (Hirata, 1981 dalam Prabowo, 2009), salinitas optimal 25-28 ppt (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).

Chlorella membutuhkan nutrisi yang terdiri atas unsur-unsur hara makro (*macronutrients*) dan unsur hara mikro (*micronutrients*). Contoh unsur hara makro untuk pertumbuhan *Chlorella* adalah senyawa organik seperti N, K, Mg, S, P, dan Cl. Unsur hara mikro adalah Fe, Cu, Zn, Mn, B, dan Mo (Hama dan Miyachi, 1988). Unsur hara tersebut diperoleh dalam bentuk persenyawaan dengan unsur lain. Tiap unsur hara memiliki fungsi-fungsi khusus yang tercermin pada pertumbuhan dan kepadatan yang dicapai oleh organisme yang dikultur tanpa mengesampingkan pengaruh dari lingkungan. Kebutuhan nutrisi untuk tujuan kultur mikroalga harus tetap terpenuhi melalui penambahan media pemupukan guna menunjang pertumbuhan mikroalga. Unsur N, P, dan S penting untuk sintesa protein. Unsur K berfungsi dalam metabolisme karbohidrat. Unsur Cl dimanfaatkan untuk aktivitas kloroplas, unsur Fe dan Na berperan dalam pembentukan klorofil (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995; Hama dan Miyachi, 1988).

Reproduksi *Chlorella* secara aseksual dengan pembentukan autospora yang merupakan bentuk miniatur dari sel induk. Tiap satu sel induk (*parent cell*) akan membelah menjadi 4, 8, atau 16

autospore yang kelak akan menjadi sel-sel anak (*daughter cell*) dan melepaskan diri dari induknya (Bold dan Wynne, 1985 dalam Prabowo, 2009).

Selama pertumbuhannya mikroalga mengalami beberapa fase pertumbuhan

1. Fase lag (istirahat).

Sejak dari penambahan inokulum ke media kultur hingga beberapa saat sesudahnya, fase ini terjadi peningkatan paling signifikan ukuran selnya karena secara fisiologis mikroalga menjadi sangat aktif. Pada fase ini terjadi sintesis protein dan metabolisme berjalan tetapi pembelahan sel belum terjadi sehingga kepadatan sel belum meningkat karena mikroalga sedang beradaptasi dengan lingkungan barunya.

2. Fase logaritmik (log) atau eksponensial.

Pada fase ini terjadi pembelahan sel sehingga laju pertumbuhan meningkat secara intensif. Dalam kondisi yang optimum, laju pertumbuhan dapat mencapai nilai maksimal sehingga dapat dilakukan pemanenan untuk keperluan pakan ikan dan industri.

3. Fase penurunan laju pertumbuhan.

Pembelahan sel masih terjadi pada fase ini meskipun tidak seintensif fase log, sehingga laju pertumbuhan menurun dibandingkan fase sebelumnya.

4. Fase stasioner.

Laju reproduksi dan laju kematian relatif seimbang pada fase ini. Kepadatan mikroalga relatif tetap karena penambahan dan pengurangan jumlah mikroalga seimbang.

5. Fase kematian.

Jumlah sel pada fase ini mengalami penurunan karena laju kematian lebih besar daripada laju reproduksi.

Chlorella sp. mampu menurunkan konsentrasi logam Cd secara maksimal sebesar 30,61% pada perlakuan 1,5702 ppm pada skala laboratorium dengan menguji konsentrasi logam berat Cd air media di awal dan di akhir penelitian (Kusrinah, 2001). Kematian alga terjadi pada kadar logam maksimal, seperti Cu maksimal 18 mg/l, sedang Cd, Cr dan Zn maksimal 10 mg/l. Pada penelitian Afkar *et.al.* (2010), *C.vulgaris* mampu mengakumulasi logam $Cu_{2+} > Co_{2+} > Zn_{2+}$.

Logam berat merupakan salah satu komponen pencemar perairan yang cukup mendapat perhatian saat ini. Beberapa jenis logam berat berguna untuk metabolisme makhluk hidup dalam kadar rendah namun tidak demikian dalam kadar tinggi. Kadar logam berat yang tinggi bersifat toksik dan berbahaya bagi makhluk hidup. Logam berat sukar terdegradasi bahkan cenderung terakumulasi dalam tubuh makhluk hidup yang terpapar.

Logam berat menjadi polutan di udara, tanah dan perairan. Logam berat di udara berasal dari hasil pembakaran. Logam berat di tanah berasal dari hasil kegiatan antropogenik yang menggunakan bahan-bahan kimia seperti pupuk, pestisida, dan sebagainya. Kehadiran logam berat di perairan berasal dari buangan limbah rumah tangga, serapan air tanah, dan limbah industri. Penggunaan pupuk dan pestisida yang mengandung logam berat secara berlebihan serta lumpur-lumpur hasil pengolahan limbah industri meningkatkan kandungan logam berat di perairan. Logam berat yang telah teridentifikasi sebagai polutan dalam badan air antara lain adalah arsenik (Ar), copper (Cu), kadmium (Cd), timbal (Pb), kromium (Cr), nikel (Ni), merkuri (Hg), dan seng (Zn). Kurang lebih 20 jenis logam dikelompokkan sebagai senyawa toksik dalam konsentrasi tinggi dan berbahaya bagi kesehatan manusia (Akpore & Muchie, 2010).

Pemerintah telah menentukan batas baku mutu lingkungan dengan beberapa peraturan. Berdasarkan PP MenLH 3/2010, nilai maksimal yang diijinkan sebagai ukuran baku mutu air limbah bagi kawasan Industri: Cd sebesar 0,1 mg/l; Cu 2 mg/l; Pb 1 mg/l; Ni 0,5 mg/l; Zn 10 mg/l.

Logam berat Cd dan Pb merupakan 2 jenis logam yang kadar toksisitasnya cukup tinggi dan *non-biodegradable*. Kedua logam ini dipilih karena sering digunakan secara luas dalam proses komersial, industri logam, industri cat, tekstil, keramik, dan baterai (Kadirvelu *et.al.*, 2001). Logam berat Pb dan Cd termasuk logam transisi yang dalam perairan ditemui dalam bentuk ion-ion bebas, pasangan ion organik, dan ion kompleks. Kedua logam ini belum diketahui manfaatnya bagi tubuh organisme, sebaliknya justru menimbulkan penyakit (Slamet, 1996).

Logam Cd, merupakan logam anorganik yang lebih toksik dibanding Pb. Logam berat Cd seringkali digunakan dalam industri logam, baterai, bahan cat warna, plastik, percetakan dan tekstil atau kegiatan pertanian yang mengakibatkan penumpukan Cd pada sedimen dan lumpur. Konsentrasi logam berat di laut meningkat karena adanya masukan dari daratan secara terus menerus (Sanusi, 2006). Keracunan Cd menyebabkan gangguan tubuh yang akut dan kronis seperti penyakit Itai-itai, kerusakan ginjal, emfisema, hipertensi, atrofi testis (Leyva *et.al.*, 1997), kerusakan paru-paru dan hati (Bedoui *et.al.*, 2008) serta bersifat karsinogenik (Brown *et.al.*, 2000).

Timbal (Pb) dalam perairan dapat berasal dari kontaminasi pipa, solder, dan kran air, serta dari limbah industri yang dibuang ke sungai. Jenis industri yang menggunakan timbal dalam prosesnya antara lain industri pengolahan logam, kertas, baterai, elektronik, dan sebagainya. Keracunan timbal berdampak pada gangguan sistem syaraf, sistem sirkulasi, ginjal dan sistem reproduksi (Tunali *et.al.*, 2006).

Mengingat tingginya resiko cemaran logam Pb dan Cd terhadap kesehatan tubuh manusia dan biota yang lain, maka perlu kewaspadaan bila *C. vulgaris* akan digunakan sebagai bahan pangan, suplemen makanan, maupun obat. *C. vulgaris* laut dalam penelitian ini diteliti pertumbuhan dan kemampuannya mengakumulasi logam berat.

2. METODE

Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian skala laboratorium, dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Biosistematik, Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Matematika UNDIP, bulan Juni - Oktober 2012.

Sterilisasi Alat dan Media Kultur

Sterilisasi bertujuan menghilangkan atau meminimalkan keberadaan mikroorganisme atau zat pengganggu pada alat dan media kultur yang akan digunakan selama penelitian. Tahapan sterilisasi yang dilakukan merujuk pada Isnansetyo dan Kurniastuty (1995) sbb :

- a. Semua peralatan non elektronik dicuci dengan menggunakan sabun pencuci perabotan gelas, kemudian dibilas dengan air dingin yang telah dididihkan pada suhu 100 °C sebelumnya. Kemudian peralatan dibilas dengan larutan HCl 4 N yang telah diencerkan 10% dan dibilas kembali dengan air dingin hasil rebusan. Selanjutnya dibilas dengan larutan alkohol 70% dan terakhir dibilas dengan aquades hingga hilang bau alkoholnya. Peralatan ditiriskan di atas meja yang telah disemprot alkohol sebelumnya.
- b. Selang plastik aerator, gelas kultur, dan pengatur debit udara disterilkan terlebih dahulu dengan direndam larutan kaporit 10-15 menit. Kemudian dicuci dengan air dingin hasil rebusan dan ditiriskan seperti peralatan gelas.

Penyiapan Media Kultur.

Air laut disterilisasi dengan merebus hingga mendidih selama kurang lebih 2 jam, didinginkan sampai temperatur ruang. Air laut steril 1 l dimasukkan dalam bejana kaca volume 3 l kemudian ditambahkan pupuk Walne 0,5 ml sebagai nutrisi bagi mikroalga. Bibit *C. vulgaris* dimasukkan ke dalam bejana tersebut kurang lebih 10.000 sel/ml. Bibit tersebut diperoleh dari Laboratorium Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara. Guna memperoleh kepadatan awal tersebut digunakan rumus yang digunakan Kusrinah (2001) :

$$V_1N_1 = V_2N_2$$

V_1 = volume inokulum yang diinginkan

V_2 = volume medium kultur

N_1 = kepadatan stok (sel/ml)

N_2 = kepadatan sel yang diinginkan

Medium kultur berada pada rentang pH optimum untuk produktivitas perairan, yaitu 7,5 – 8,5 (Basmi *et al.*, 2004 dalam Prabowo, 2009). Salinitas medium berada pada konsentrasi tinggi, yaitu 34 ppt untuk menciptakan kondisi stress yang mampu mempercepat pertumbuhan mikroalga (Bosma dan Wijffels, 2003 dalam Prabowo, 2009). Sumber cahaya berasal dari cahaya lampu neon 36 watt

dan temperatur kultur dapat berada pada rentang 27-28 °C. Delapan belas bejana kultur disusun pada rak. Kemudian media kultur diukur kandungan logam Pb dan Cd total dengan AAS demikian juga kandungan kedua logam tersebut dalam sel *C. vulgaris*

Pada hari ke- 4, dalam kultur ditambahkan larutan logam CdSO₄ dengan konsentrasi 1 ; 3 ; 5 mg/l (ppm) masing-masing 3 kali ulangan. Bejana kultur yang lain diisi dengan larutan logam Pb(NO₃)₂ dengan 3 konsentrasi yang sama masing-masing 3 kali ulangan. Sebagai kontrol digunakan bejana kultur yang dibiarkan tanpa campuran logam berat. Faktor eksternal : intensitas cahaya, salinitas , pH dan suhu dipantau selalu dalam keadaan yang relatif konstan setiap harinya. Jumlah sel *Chlorella vulgaris* dihitung setiap harinya dengan rentang waktu 24 jam hingga 76 hari penelitian menggunakan *Haemocytometer Neubauer Improved* (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995) dengan 2 kali pengukuran untuk masing-masing kultur. Jumlah sel yang diamati dan dihitung pada kotak bujur sangkar yang mempunyai sisi 1 mm. Rumus yang digunakan :

$$\text{Kepadatan} = N \times 10^4 \text{ sel/ml}$$

(N = jumlah *Chlorella vulgaris* yang diamati)

Pengamatan Penelitian

Parameter yang diamati meliputi :

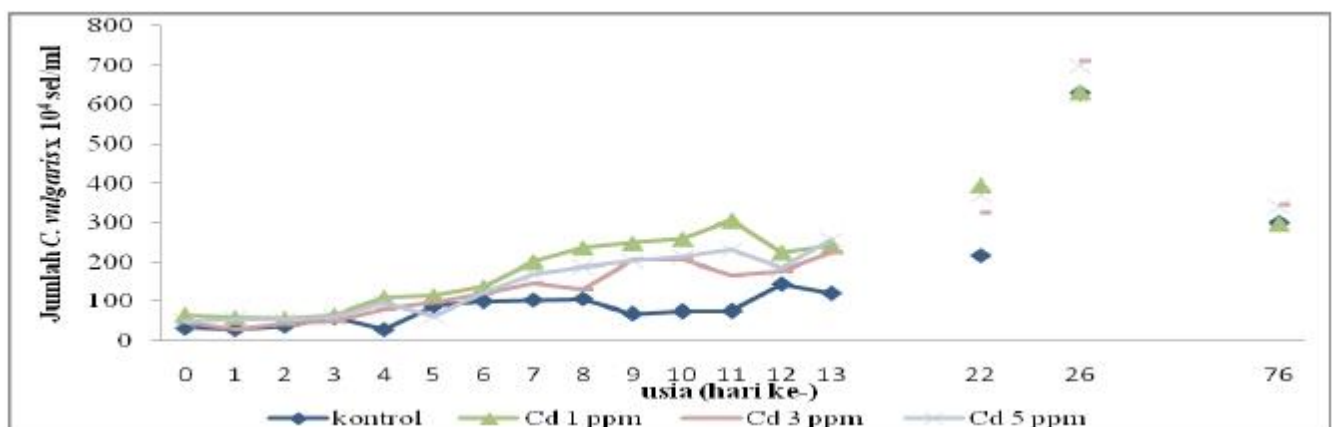
1. Jumlah sel *C.vulgaris* (sel/ml) setiap hari selama kultur 14 hari, hari ke- 22, 26, dan 76 penelitian
2. Kandungan logam berat Cd₂₊ dan Pb₂₊ dalam medium kultur hari ke-0 dan hari ke-76.
3. Kandungan logam berat total Cd₂₊ dan Pb₂₊ dalam *C.vulgaris* hari ke-0 dan hari ke-76.

Persentase penurunan konsentrasi logam berat Pb dan Cd dengan rumus :

- a. Penurunan konsentrasi logam berat = Konsentrasi logam berat awal – konsentrasi logam berat akhir
- b. Prosentase penurunan konsentrasi = (Penurunan konsentrasi logam berat / konsentrasi logam awal) x 100%

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan gambar 2, pola pertumbuhan *C. vulgaris* kelompok perlakuan (Cd 1 ppm, 3 dan 5 ppm) menunjukkan pola yang serupa. Jumlah sel meningkat hingga hari ke-10 dan 11, menurun sejak hari ke-11 dan 12, meningkat lagi hari ke-13 hingga hari ke- 26, lalu terus menurun hingga akhir perlakuan. Kelompok perlakuan memiliki pola pertumbuhan yang lebih baik dibandingkan kelompok kontrol, terutama pada hari ke 8 hingga hari ke-11.



Gambar 2. Pertumbuhan *C. vulgaris* dengan penambahan ion Cd.

Kelompok kontrol : fase adaptasi 3 hari, menurun pada hari ke-4, fase eksponensial dimulai pada hari ke-5 dan terus berlanjut hingga mencapai puncak pada hari ke-8. Jumlah sel *C. vulgaris*

menurun pada hari ke-9 sampai hari ke-11, kemudian jumlahnya meningkat lagi hingga hari ke-26, lalu menurun kembali hingga akhir perlakuan (hari ke-76).

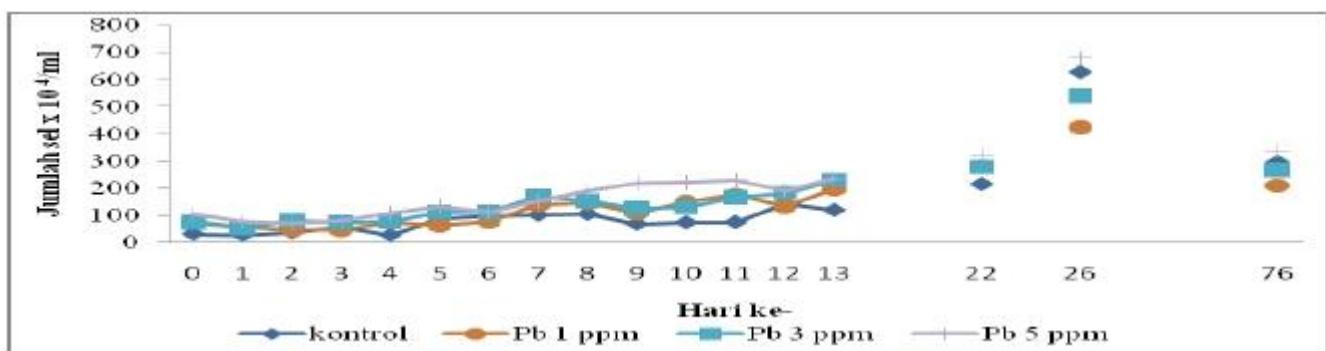
Pada medium yang ditambahkan ion Cd 1 ppm dan 5 ppm sel *C. vulgaris* mencapai masa puncak pada hari ke-11, sedangkan pada kelompok perlakuan 3 ppm tercapai pada hari ke-9, dan kelompok kontrol pada hari ke-7. Penurunan jumlah sel pada masing-masing kelompok pun terjadi pada hari yang bervariasi. Kelompok kontrol, jumlah sel menurun pada hari ke-8, sedangkan kelompok 1 ppm Cd dan 5 ppm Cd jumlahnya menurun pada hari ke-12, sedangkan kelompok 3 ppm Cd menurun pada hari ke-10.

Pada gambar 2. nampak bahwa pola pertumbuhan sel *C. vulgaris* dalam medium Cd kelompok perlakuan nyaris serupa, terutama kelompok perlakuan 1 ppm dan 5 ppm. Peningkatan jumlah sel hingga hari ke-11 menunjukkan bahwa pada penelitian ini ion Cd konsentrasi 1 ppm dan 5 ppm mampu memicu pertumbuhan sel. Sifat toksik ion logam pada konsentrasi yang lebih tinggi tidak nampak pada pola pertumbuhan sel *C. vulgaris* penelitian ini. Pertumbuhan sel justru terhambat pada kelompok 3 ppm. Kemungkinan justru sifat toksik Cd terjadi pada konsentrasi 3 ppm ini. Pada konsentrasi 3 ppm tersebut sel mencapai puncak pertumbuhan pertama pada hari ke-10 yang artinya lebih cepat dibandingkan kelompok 1 dan 5 ppm yang baru mencapai puncak pertumbuhan pada hari ke-11. Menariknya mengapa justru pada konsentrasi 5 ppm pola pertumbuhan sel lebih baik dibandingkan kelompok 3 ppm. Kemungkinan karena faktor lingkungan medium.

Dari gambar 2 ini tampak pula bahwa pola pertumbuhan kelompok perlakuan lebih baik dibandingkan kelompok kontrol. Pada penelitian ini kelompok kontrol mencapai puncak pertumbuhan pertama pada hari ke-7, puncak kedua pada hari ke-12, dan puncak ketiga pada hari ke-26. Pola pertumbuhan kelompok kontrol lebih rendah kemungkinan karena tidak ada penambahan ion Cd.

Sel *C. vulgaris* pada penelitian ini mencapai jumlah sel tertinggi pada hari ke-26 dan setelah itu jumlah sel mengalami penurunan. Jumlah sel yang terus menurun hingga akhir perlakuan kemungkinan karena berkurangnya nutrisi yang terdapat dalam medium. Nutrisi tersebut digunakan oleh sel *C. vulgaris* sebagai sumber energi untuk pertumbuhan sel dan mengatasi cekaman lingkungan. Rata-rata jumlah sel pada hari ke-26 dari yang tertinggi ke yang terendah berturut-turut adalah sel dalam medium dengan penambahan ion Cd 3 ppm > 5 ppm > 1 ppm > kontrol. Jumlah sel ini serupa dengan kondisi di akhir perlakuan (hari ke-76).

Pola pertumbuhan sel *C. vulgaris* pada medium dengan penambahan Pb menunjukkan hal yang serupa dengan kelompok Cd (gambar 3). Kelompok perlakuan lebih baik pertumbuhannya dibanding kelompok kontrol. Perbedaan pola pertumbuhan kelompok Pb dengan kelompok Cd adalah pada puncak pertumbuhan sel. Kelompok Pb mencapai puncak pertumbuhan pertama pada hari ke-7 (terutama pada kelompok 1 dan 3 ppm). Puncak pertumbuhan kedua sama dengan kelompok Cd yaitu hari ke-26. Puncak pertumbuhan pertama ini (hari ke-7) serupa dengan kelompok kontrol. Dengan demikian pola pertumbuhan pada kelompok Pb menyerupai pola pertumbuhan kelompok kontrol. Kelompok perlakuan dengan penambahan ion logam Pb 5 ppm bahkan paling baik pertumbuhannya dibanding kelompok yang lain. Kelompok perlakuan dg Cd mencapai puncak antara hari ke-9 sampai hari ke-11. Berdasarkan pola pertumbuhan sel tersebut tampak bahwa ion Cd mampu menunda puncak pertumbuhan dibandingkan ion Pb.



Gambar 3. Pertumbuhan *C. vulgaris* dengan penambahan ion Pb

Berdasarkan pertumbuhan populasi *C. vulgaris* pada hari ke- 26, pertumbuhan yang terbaik adalah *C. vulgaris* yang ditumbuhkan pada medium dengan penambahan ion Pb 5 ppm, diikuti oleh kontrol, kemudian perlakuan dengan penambahan 3 ppm dan terendah adalah perlakuan dengan penambahan ion Pb 1 ppm (5 ppm > kontrol > 3 ppm > 1 ppm). Sedangkan jumlah sel di akhir perlakuan berturut-turut Pb 3 ppm > 5 ppm > kontrol > 1 ppm.

Berdasarkan grafik tersebut (gambar 3) terlihat bahwa ion Pb menunda fase puncak populasi, terutama pada kelompok Pb 5 ppm. Seperti halnya pada penambahan ion Cd, penambahan ion Pb juga memicu pertumbuhan sel.

Chlorella vulgaris dan beberapa mikroalga seperti *Dunaliella tertiolecta*, *Scenedesmus acutus* memiliki toleransi tinggi terhadap pengambilan ion logam berat bahkan laju pertumbuhan mikroalga tersebut menurun tanpa hadirnya ion logam berat pada media kulturnya (Glick and Pasternak, 2001). Hal inilah yang mungkin menyebabkan mengapa pertumbuhan sel *C. vulgaris* kelompok kontrol lebih rendah dibanding kelompok perlakuan.

Pada beberapa penelitian dikatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi ion logam maka pertumbuhan sel semakin menurun seperti penelitian yang dilakukan oleh Afkar *et.al.* (2010) terhadap *C. vulgaris* yang dikultur pada media dengan penambahan ion logam Co, Cu dan Zn konsentrasi 10^{-6} - 10^{-9} M. Kandungan klorofil a dan klorofil b nya pun semakin rendah seiring dengan peningkatan konsentrasi logam yang ditambahkan. Pada penelitian ini tidak terjadi fenomena seperti itu. Pada akhir penelitian (hari ke- 76) jumlah sel pada konsentrasi 1 ppm justru menunjukkan jumlah yang paling rendah dibanding kelompok 3 dan 5 ppm. Kesulitan dalam penghitungan sel saat pengamatan cukup mempengaruhi keakuratan data penelitian karena pengulangan bahkan pengurangan saat penghitungan. Sel yang relatif kecil dan harus diamati di bawah mikroskop menjadi satu kendala tersendiri dalam penghitungan sel. Maka mungkin untuk mengetahui pertumbuhan sel dapat digunakan cara lain seperti pengukuran kandungan klorofilnya.

Malick dan Rai (1993) menyatakan bahwa faktor lingkungan mempengaruhi aktivitas mikrobia untuk mengatasi limbah logam berat. Sifat karakteristik mikrobia berbeda-beda dan secara langsung mempengaruhi aktivitasnya di lingkungan tertentu.

Chlorella sp membutuhkan beberapa faktor lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhannya antara lain : cahaya, temperatur, tekanan osmosis, pH air, salinitas, kandungan oksigen, dan aerasi (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995). Fluktuasi pertumbuhan sel *C. vulgaris* terjadi karena pengaruh lingkungan yang cukup besar meskipun beberapa faktor dapat dikontrol. Pengaruh pH terhadap aktivitas mikrobia mengatasi limbah cukup besar. Pada penelitian ini nilai pH berada pada rentang 7-8. Kondisi ini serupa dengan penelitian yang dilakukan Aarti *et. al.* (2008); Kotteswari *et.al.*(2007). *Chlorella vulgaris* dan *Anabaena doliolum* aktif mengakumulasi logam Ni^{2+} dan Cr^{6+} pada pH 7-8. Peningkatan nilai pH dari 7 ke 8 pada penelitian ini sesuai dengan penelitian Dominic *et.al.* (2009) yang menunjukkan perubahan pH medium ke arah alkali pada perlakuan dengan *Chlorella vulgaris*, *Synechocystis salina*, dan *Gleocapsa gelatinosa*. Karbondioksida yang dihasilkan dari proses respirasi tumbuhan atau hewan dalam perairan mempengaruhi penurunan pH. Karbondioksida dan bikarbonat hilang dari perairan karena proses fotosintesis tanaman air meningkatkan pH. Peningkatan pH pada penelitian ini mungkin juga akibat penguraian protein dan persenyawaan nitrogen yang lain. Nitrogen dalam penelitian ini diperoleh dari pupuk Walne yang menjadi nutrisi *C. vulgaris* dalam kultur. Amonium (NH_4^+), nitrat (NO_3^-) dan nitrit (NO_2^-) merupakan bentuk senyawa nitrogen organik yang telah mengalami penguraian . Umumnya alga menggunakan senyawa amonium yang merupakan hasil disosiasi amonium hidroksida (Darley, 1982). Goldman dan Horne (1983) menyatakan reaksi pembentukan amonium adalah sebagai berikut :



Bila reaksi bergerak ke kanan maka konsentrasi amonium dalam media meningkat dan pH menjadi basa. Nilai pH tidak meningkat lagi karena adanya gas CO_2 yang terlarut dalam media kultur sehingga digunakan sebagai *buffer* alami (Cole, 1994). Gas tersebut akan menjadi asam karbonat yang terurai menjadi ion-ion karbonat dan ion bikarbonat. Reaksi kesetimbangan antara CO_2 terlarut, asam karbonat, ion bikarbonat dan ion karbonat akan menyebabkan pH bergeser pada kisaran 6-9 dan tidak meningkat lagi (Sze, 1993)

Temperatur media kultur pada penelitian ini berada pada kisaran 26-28 °C, yang artinya masih dalam kisaran optimum bagi sel *C. vulgaris* untuk tumbuh yaitu 25-30 °C (Aksu *et.al.*,1992). Temperatur lingkungan mempengaruhi aktifitas enzim yang digunakan oleh *C. vulgaris* untuk metabolisme selnya termasuk untuk pertumbuhan. Temperatur yang rendah akan menghambat kerja metalloenzim yang digunakan untuk penyerapan logam.

Pengaruh cahaya terhadap pertumbuhan mikroalga sangat besar karena sifatnya yang fotoautotrof sehingga cahaya digunakan sebagai sumber energi untuk fotosintesis. Pada penelitian ini sumber cahaya diperoleh dari sinar lampu TL 36 watt yang diletakkan pada sisi belakang atas bejana perlakuan (kl 10 cm) selama 24 jam, meskipun pada siang hari mendapatkan tambahan sinar matahari dari sisi kiri rak. Bejana yang berisi medium kultur dengan penambahan ion Pb 1 ppm paling banyak mendapatkan tambahan cahaya ini dibandingkan perlakuan lain. Sedangkan kelompok perlakuan Cd 5 ppm berada pada deretan yang paling jauh dari jendela sehingga tambahan cahaya tidak maksimal. Namun ternyata sumber cahaya ini tidak terlalu berpengaruh terhadap jumlah selnya, terbukti dari tingginya jumlah sel pada kelompok Cd 5 ppm yang jauh dari jendela dibandingkan kelompok 1 ppm.

Aerasi yang diberikan selama 24 jam pada setiap bejana perlakuan berfungsi untuk menambah masukan CO₂ bebas yang diperlukan untuk fotosintesis sekaligus untuk mengaduk larutan sehingga nutrisi dapat tercampur merata. Namun kekuatan aerasi ini agak sulit diatur secara seragam, sehingga kemungkinan ada beberapa bejana yang tidak mendapatkan aerasi secara maksimal. Hal ini sangat berpengaruh terhadap proses fotosintesis yang secara langsung akan berpengaruh pada pertumbuhan selnya. Aerasi ini pun berfungsi mencegah pengendapan sel dan menjaga kestabilan pH (Srihati dan Carolina, 1995), mencegah stratifikasi suhu air, memberi kesempatan terjadinya pertukaran gas (Dianursanti, 2012).

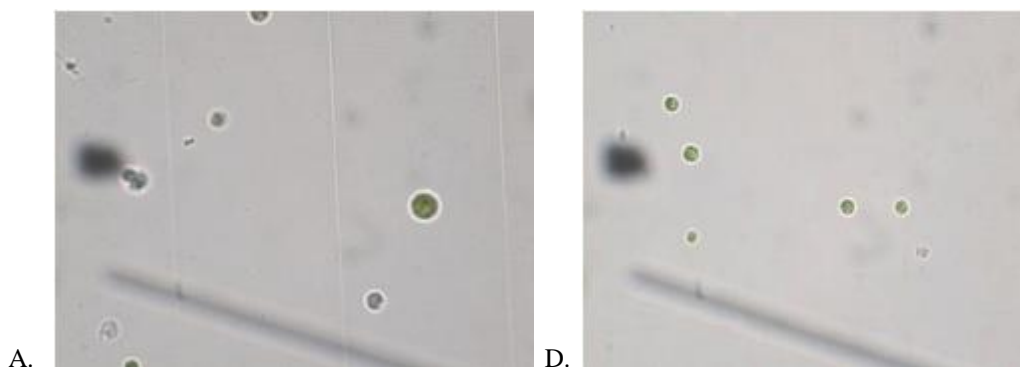
Salinitas merupakan faktor penting juga untuk pertumbuhan sel *C. vulgaris* dalam penelitian ini. *Chlorella* air laut dapat tumbuh baik pada salinitas 15-35 ppt (Hirata, 1981 dalam Rostini, 2007), salinitas optimal 25-28 ppt (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995). Pada penelitian ini media kultur sangat mudah mengalami kenaikan salinitas. Hal ini karena faktor metabolisme selnya sendiri yang mampu mengekskresikan garam-garaman dan juga faktor penguapan yang tinggi terhadap media kultur karena faktor pemanasan dari cahaya lampu TL yang digunakan sebagai sumber cahaya. Garam ini nampak di sekitar bejana penelitian sebagai butiran-butiran putih. Aerasi juga mempercepat terjadinya transpirasi sehingga meningkatkan salinitas pula. Penambahan aquades dilakukan untuk menurunkan kadar salinitas hingga mendekati kisaran 35 ppt. Upaya untuk menurunkan salinitas ini berakibat terjadi pengenceran nutrisi dan pengenceran larutan yang akhirnya berdampak pula pada pertumbuhan sel. Larutan EDTA yang terdapat dalam pupuk Walne memungkinkan ion logam tetap berada dalam larutan. Tetapi kemungkinan sebagian ion logam ini terendapkan bersama garam-garaman yang terbentuk, akibatnya sebagian konsentrasi ion logam juga menurun. Maka dapat dipahami mengapa pada bejana dengan penambahan ion Pb maupun Cd dengan konsentrasi yang lebih tinggi justru diperoleh jumlah sel yang lebih banyak dibandingkan pada konsentrasi rendah, seperti kelompok Pb 5 ppm dibandingkan dengan kelompok 1 ppm, kelompok Cd 5 ppm dengan kelompok 3 ppm.

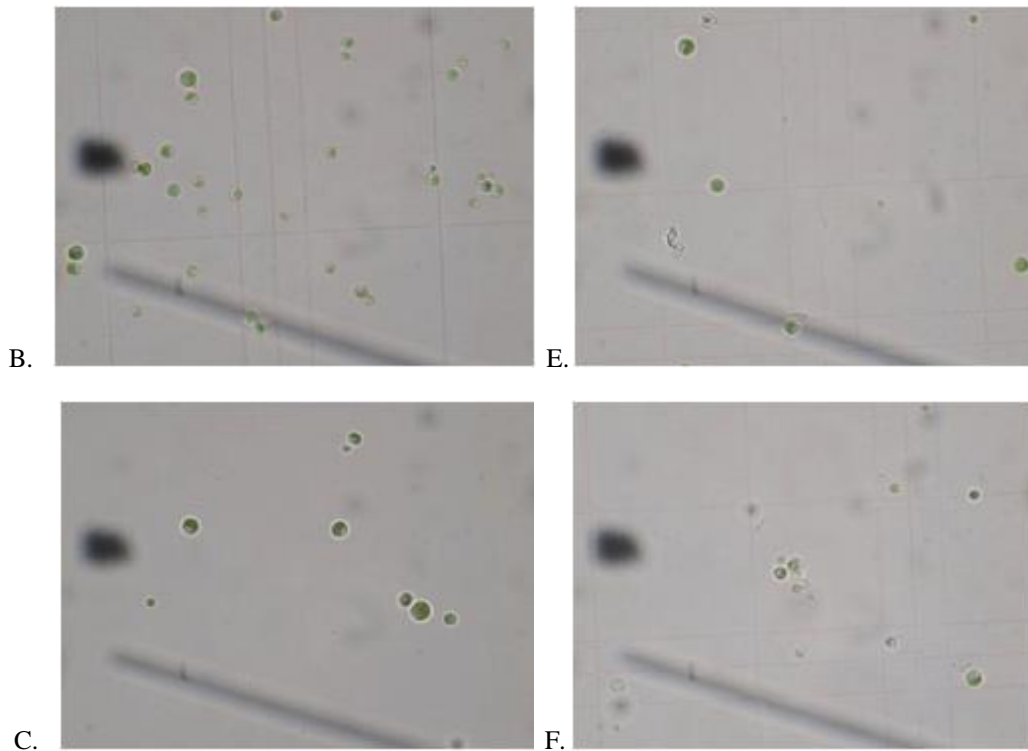
Faktor nutrisi juga merupakan faktor penting dalam pertumbuhan sel *C. vulgaris* . Media Walne dalam penelitian ini digunakan sebagai tambahan nutrisi bagi sel *C. vulgaris* untuk tumbuh. Meskipun larutan Walne bukanlah yang terbaik, namun pupuk ini paling sering digunakan dalam pemeliharaan kultur *C. vulgaris* karena mengandung berbagai macam nutrisi yang dibutuhkan sel *C. vulgaris*, sehingga sel mudah menyesuaikan dengan dengan kondisi intra selnya untuk proses penyerapan unsur hara secara difusi (Dianursanti, 2012). Dalam larutan Walne juga terdapat beberapa mineral lain seperti Na, Zn, Fe, Cu, Co, yang dibutuhkan untuk metabolisme sel. Boron merupakan salah satu mineral penting yang digunakan dalam fotosintesis. Mengingat penelitian ini dilakukan dalam rentang waktu yang cukup panjang, maka tentu nutrisi akan mengalami pengurangan. Jumlah sel *C. vulgaris* yang semakin meningkat hingga hari ke-26 jelas membutuhkan nutrisi yang besar. Besarnya konsumsi ini menyebabkan berkurangnya ketersediaan nutrisi sehingga jumlah sel semakin menurun. Namun yang menarik, dengan jumlah nutrisi yang semakin berkurang, jumlah sel *Chlorella* masih cukup tinggi. Kemungkinan sel *C. vulgaris* ini memanfaatkan logam-logam yang ditambahkan ini untuk bertahan hidup pada kondisi nutrisi yang minim.

Kualitas sel *C. vulgaris*

Rocchetta *et al.* (2006) menyatakan bahwa sel alga yang terpapar logam berat akan mengalami perubahan morfologi dan biokimia. Hasil penelitian menunjukkan bahwa efek penghambatan ataupun perangsangan sel alga terhadap penggunaan logam berat tergantung pada konsentrasi logam berat yang ada dalam mediumnya. Perubahan itu dapat berupa perubahan pigmen alga, jumlah selnya, kandungan lemak, protein maupun karbohidrat. Perubahan pigmen alga nampak pada medium yang ditambahkan ion Pb 3 ppm dan penambahan ion Cd 1, 3 dan 5 ppm. Jumlah sel memang cukup banyak, namun sel mengalami klorosis. Torresdey *et al.* (2005) menyatakan bahwa pengaruh logam berat Pb pada tanaman adalah mengurangi produksi klorofil dan pertumbuhan tanaman, menurunkan *superoksida dismutase* (SOD), sedangkan logam berat Cd menurunkan aktifitas enzim dan pertumbuhan tanaman, menyebabkan kerusakan membran, klorosis dan kerusakan akar. *Chlorella vulgaris* yang merupakan organisme fotosintetik uniseluler dalam penelitian ini kemungkinan mengalami hambatan pembentukan dan produksi klorofil. *Superoksida dismutase* merupakan kelompok metaloenzim yang terdapat dalam tubuh makhluk hidup. Enzim ini dapat berupa *Copper, Zink superoxide dismutase* (Cu, Zn SOD) yang terdapat dalam sitoplasma organisme eukariotik dan *Manganese superoxide dismutase* (Mn-SOD) yang banyak terdapat dalam mitokondria sel eukariotik aerobik (Choi, 1999). Kadar ion logam yang semakin tinggi menyebabkan gangguan pertumbuhan *C. vulgaris*, kemungkinan karena ion logam baik Pb maupun Cd menggantikan ion Zn dalam metaloenzimnya sehingga menghambat biosintesis klorofil sehingga terjadi klorosis. Pada penelitian yang dilakukan oleh El-Naggar *et al.* (1999) menyebutkan bahwa pertumbuhan *Nostoc muscorum* terpacu oleh kadar ion Co rendah (0,01 ppm) namun tidak berpengaruh secara signifikan pada pertumbuhan *Colotrix fusca*. Sedangkan pada kadar ion Co yang lebih tinggi pertumbuhan keduanya terhambat akibat ion Co menggantikan ion Zn dalam beberapa metaloenzim baik *in vitro* maupun *in vivo*. Ion Co menghambat biosintesis klorofil karena ion Co menggantikan ion Magnesium (Mg) yang terdapat pada molekul klorofil dan reduksi kandungan klorofil merupakan gejala umum keracunan logam berat. (El-Sheekh *et al.*, 2003; Osman *et al.*, 2004).

Hal tersebut nampak dalam gambar penelitian ini, terutama pada medium dengan penambahan ion logam Pb 3 ppm dan 5 ppm (Gambar 4.b dan c). Pada gambar tersebut penambahan ion Pb 1 ppm tidak berpengaruh besar pada morfologi maupun pigmentasinya, tetapi tidak pada konsentrasi 3 ppm dan 5 ppm yang menampakkan gejala klorosis. Pada gambar 4.4 dengan penambahan ion Cd 1, 3, 5 ppm terlihat bahwa semua sel menunjukkan gejala klorosis, bahkan kerusakan pada dinding selnya (Gb. 4. c). Konsentrasi sel yang semakin tinggi semestinya berbanding terbalik dengan jumlah selnya namun ternyata tidak selalu demikian. Kualitas sel yang justru cukup besar pengaruhnya terhadap peningkatan konsentrasi logam dalam medium. Berdasarkan kualitas sel *C. vulgaris* maka dapat dikatakan toksisitas Cd lebih tinggi daripada Pb karena pada kultur dengan penambahan ion Cd 1, 3 dan 5 ppm menampakkan gejala klorosis ini.





Gambar 4. Kondisi Sel *C. vulgaris* hari ke 76 pada medium dengan penambahan ion Pb 1 ppm (A); 3 ppm (B); 5 ppm (C); 1 ppm Cd (D); 3 ppm Cd (E); 5 ppm Cd (F), perbesaran 10 x 100

Kemampuan sel *C. vulgaris* dalam menurunkan kandungan logam berat sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan baik biotik dan abiotik. Faktor lingkungan biotik meliputi sifat karakteristik mikrobia dan kepadatan sel, sedangkan faktor abiotik meliputi pH, kandungan nutrisi, temperatur dan cahaya (Malick dan Rai, 1993).

Kepadatan sel *Chlorella vulgaris* dan *Anabaena doliolum* berpengaruh terhadap meningkatnya daya pengikatan logam berat di lingkungan, meskipun tidak sebanding dengan peningkatan kepadatan sel (Aarti *et.al.*, 2008). Berdasarkan uji kandungan ion logam berat Cd dan Pb dalam medium pada awal perlakuan dan akhir perlakuan penelitian ini menunjukkan terjadinya pengurangan konsentrasi ion logam baik Pb maupun Cd. Sel *C. vulgaris* telah melakukan biosorpsi (Tabel 1). Pada setiap kelompok perlakuan dengan penambahan ion logam Pb menunjukkan penurunan konsentrasi ion logam di akhir penelitian. Dinding sel *C. vulgaris* mampu mengikat ion Pb. Demikian pula yang terjadi pada kelompok dengan penambahan ion Cd. Imani *et.al.* (2011) menyatakan bahwa faktor kunci remediasi logam adalah bahwa logam bersifat *non-biodegradable* tetapi dapat melakukan transformasi melalui proses sorpsi, metilasi, kompleksasi dan mengubah nilai valensinya. Saat ion logam berat tersebar di sekitar sel, ion logam akan terikat pada elemen yang terdapat pada dinding sel berdasarkan kemampuan daya afinitas kimia yang dimiliki sel tersebut (Droste, 2007). Sebelum ion logam sampai ke membran sel dan sitoplasma sel, ion logam tersebut harus melalui dinding sel mikroalga yang mengandung berbagai macam variasi polisakarida dan protein yang memiliki sejumlah sisi aktif yang mampu berikatan dengan ion logam. Terjadi pertukaran ion monovalen dan divalen seperti Na, Mg, dan Ca yang terdapat pada dinding sel digantikan oleh ion-ion logam berat kemudian terbentuk formasi kompleks antara ion-ion logam berat dengan kelompok fungsional seperti karbonil, amino, thiol, hidroksi, fosfat dan hidroksi-karboksil. Proses biosorpsi ini berlangsung cepat dan bolak-balik dan terjadi baik pada sel mati maupun pada sel hidup. Proses ini berlangsung efektif dengan kehadiran pH tertentu dan kehadiran ion-ion lainnya dimana logam berat dapat menjadi garam tak larut yang diendapkan (Tortora, 2001 dan Glick and Pasternak, 2001). Maka dinding sel sering disebut sebagai bagian terpenting dari mekanisme pertahanan sel karena dinding sel merupakan penghalang pertama terhadap akumulasi logam berat yang bersifat toksik. Pada penelitian ini ion-ion logam baik Pb maupun Cd yang bervalensi 2 akan

menggantikan ion divalen ataupun monovalen yang terdapat pada dinding sel *C. vulgaris* sehingga ion logam di luar sel tentu akan berkurang. Di samping itu pH medium yang berkisar antara 7-8 masih memungkinkan terjadinya biosorpsi ini meskipun mungkin masih ada sebagian ion logam yang berikatan dengan ion lain sehingga menjadi garam yang terendapkan.

Tabel 1. Konsentrasi rata-rata ion logam Pb dan Cd dalam medium awal dan akhir perlakuan serta prosentase penurunan logam dalam medium

Jenis ion logam	Konsentrasi (mg/l)	konsentrasi dalam medium (mg/l)		Rata-Rata prosentase Penurunan Logam Dalam Medium (%)	Konsentrasi dalam sel <i>Chlorella</i> (mg/l)		
		H0	H76		H0	H76	BCF
Pb	1	1,01	0,20	80 ^a	0,02	2,15	10,75 ^a
	3	3,01	1,13	62 ^c	0,02	4,08	3,61 ^b
	5	5,01	2,39	52 ^d	0,02	6,02	2,51 ^b
	Kontrol	0,010	0,003	70 ^b	0,02	0,034	11,33 ^a
Cd	1	1,009	0,21	79 ^e	0,013	1,23	5,85 ^c
	3	3,009	1,33	56 ^f	0,013	2,78	2,09 ^d
	5	5,009	2,45	51 ^f	0,013	4,02	1,64 ^d
	kontrol	0,009	0,003	67 ^g	0,013	0,016	5,33 ^c

Setelah terjadi proses biosorpsi (*passive uptake*), mekanisme berikutnya adalah *active uptake* di mana sel *C. vulgaris* memindahkan ion logam yang telah terikat di dinding sel ke organel sel yang lebih dalam (bioakumulasi/absorpsi). Mekanisme ini terjadi sejalan dengan konsumsi ion logam untuk pertumbuhan sel dan akumulasi ion logam tersebut.

Berdasarkan tabel 1 nampak bahwa terjadi peningkatan konsentrasi ion logam Pb dan ion Cd dalam sel *C. vulgaris* dalam medium kultur di akhir penelitian. Berdasarkan hal tersebut maka dapat dinyatakan bahwa terjadi biokonsentrasi, yaitu peningkatan konsentrasi ion logam dalam biota yang nilainya lebih tinggi dibandingkan konsentrasi ion logam dalam medium. Apabila paparan bahan toksik berlangsung terus menerus sel akan mengalami bioakumulasi.

Fitoplankton dapat digunakan sebagai agen kelat bagi logam berat yang terlarut dalam badan air. Beberapa senyawa organik dalam tubuh fitoplankton, termasuk klorofil, mampu mengikat logam berat membentuk senyawa kompleks melalui gugus-gugus yang reaktif terhadap logam berat seperti sulfidril dan amina. Ikatan kompleks tersebut menyebabkan logam berat menjadi lebih stabil dan terakumulasi dalam sel fitoplankton. Namun kandungan senyawa organik yang berperan sebagai ligand tidak sama pada setiap jenis fitoplankton tergantung kondisi fisiologisnya. Melalui proses aktif *Chlorella* dapat mensintesis protein pengkelat logam. Fitokelatin disintesis dari turunan tripeptida (*glutathion*) yang tersusun dari glutamat, cystin dan glisin. *Glutathion* ini ada dalam seluruh sel. Jika terjadi pencemaran logam Cd misalnya *glutathion* akan membentuk fitokelatin-Cd selanjutnya diteruskan ke vakuola (Haryoto dan Agustono, 2004). Penyerapan logam Cd berkaitan dengan pH medium :



S = permukaan absorben

(Dasta & Tabati, 1992 dalam Haryoto & Agustono, 2004)

Chlorella pyrenidosa lebih banyak mengakumulasi ion Cd^{2+} pada pH 7 dibandingkan pada pH 8. Pada pH basa ion logam secara spontan akan bereaksi dengan ion hidroksida membentuk ikatan logam-hidroksida membentuk ikatan logam-hidroksida, sedangkan pada pH asam akan terjadi persaingan antara ion logam dengan ion H^{+} untuk berikatan dengan dinding sel mikrobia. Sehingga akumulasi logam dalam sel mikrobia pada pH netral lebih besar dibanding dengan pH asam maupun basa.

Berdasarkan hal di atas maka *C. vulgaris* mampu mengakumulasi ion logam Pb dan Cd dengan konsentrasi yang bervariasi dalam jangka waktu yang lebih lama dan bersifat menetap.

Penambahan ion Pb 1 ppm, 3 ppm, dan 5 ppm ke dalam medium, menunjukkan nilai biokonsentrasi yang semakin rendah dalam *C. vulgaris*. Demikian juga pada penambahan ion Cd terjadi akumulasi ion logam pada *C. vulgaris* yang nilainya semakin menurun seiring dengan peningkatan konsentrasi ion logam yang ditambahkan. Kecuali pada kelompok kontrol Cd, yang nilai biokonsentrasinya lebih rendah dibandingkan kelompok perlakuan.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Imani *et.al.* (2011) menyatakan bahwa peningkatan konsentrasi ion Pb, Cd dan Hg menghambat pertumbuhan sel *Dunaliella*. Namun *Dunaliella* merupakan salah satu alga yang cukup toleran dengan konsentrasi ion logam Pb, Cd dan Hg yang tinggi hingga 40 mg/l. *Dunaliella* mampu mengabsorpsi Pb, Cd dan Hg 65%, 72% dan 65% hingga 1 jam kontak. Setelah itu terjadi proses absorpsi yang konstan sampai 40 jam pada setiap eksperimen (Faryal and Hameed, 2005; Faryal *et.al.*, 2006; Fomina *et.al.*, 2005).

Jumlah dan macam nutrien yang terdapat di lingkungan mempengaruhi aktivitas mikrobia untuk mengatasi limbah logam berat. Penambahan asam-asam organik dan logam valensi 2 dapat menghambat pengikatan logam berat Ni²⁺ dan Cr⁶⁺ oleh sel *Chlorella vulgaris* dan *Anabaena doliolum* (Mallick and Rai, 1993). Penambahan Fe-EDTA dan FeCl₃ dan Mangan (0,2 mg/l) akan menghambat akumulasi kadmium dalam sel *Chlorella pyrenidosa* (Hart dan Scaife, 1997).

Jika bioakumulasi berlanjut maka dapat terjadi biomagnifikasi yang melibatkan rantai makanan sebagai penghubungnya. Biomagnifikasi merupakan kecenderungan peningkatan konsentrasi bahan pencemar seiring dengan peningkatan level tropik pada rantai makanan. Sehingga produsen mengakumulasi bahan toksik terendah dan konsumen terakhir mengakumulasi paling banyak. Meskipun pada beberapa penelitian tidak ditemukan biomagnifikasi pada rantai makanan di perairan laut. Hal ini karena logam mudah dieliminasi dan tidak terakumulasi bahkan di tingkat trofik di atas ikan biosorpsi logam menurun sesuai dengan peningkatan ukuran tubuh organisme (Gray, 2002). Tetapi mengingat besarnya logam yang tereliminasi lebih sedikit dibandingkan yang terakumulasi maka bioakumulasi ion logam dalam mikroalga, terutama *C. vulgaris*, perlu mendapat perhatian.

DAFTAR PUSTAKA

- [1]. N., P. Sumathi and V. Subrahmanian. 2008. Phycoremediation to Improve Algal Water Quality. *Indian Hydrobiology*. 11(1):173-184
- [2]. Afkar, E., H. Ababna dan A.A. Fathi. 2010. Toxicological Response of the Green Alga *Chlorella vulgaris*, to Some Heavy Metals. *American Journal of Environmental Sciences* 6 (3) : 230 – 237
- [3]. Akpor O.B and Muchie M. 2010. Remediation Of Heavy Metal In Drinking Water And Wastewater Treatment Systems : Processes And Applications. *International Joernal of Physical Sciences* vol. 5 (12) pp 1807-1817
- [4]. Aksu, Z., Y. Sag dan T. Kutsal..1992.The Biosorption of Copper by *C. vulgaris* and *Z. ramigera*. *Environ Technol*. 13 ; 579-586
- [5]. Bedoui,K., I.Bekri-Abbes, E.Srasra. 2008. Removal of Cadmium (II) from Aqueous Solution Using Pure Smectite and Lewatite S 100 : The Effect of Time and Metal Concentration, *Desalination*. 223, 269-273
- [6]. Brown,P.A., S.A. Gill, S.J. Allen. 2000. Metal Removal from Wastewater Using Peat. *Water Res*. 34 :3907-3916.
- [7]. Choi, JM., CH Pak, CW Lee. 1996. Micronutrient Toxicity in French Marigold. *Journal of Plant Nutrition*. 19 : 901-916
- [8]. [1]Cole. 1994. *Textbook of Limnology*. Waveland Press Inc., Illionis.
- [9]. Darmono. 1995. Logam dalam Sistem Biologi Makhluk Hidup. Universitas Indonesia Press. Jakarta
- [10]. Darley, W.M. 1982. *Alga Biology : A Physiological Approach*. Blackwell Scientific Publications, Oxford
- [11]. Dianursanti. 2012. Pengembangan Sistem Produksi Biomassa *Chlorella vulgaris* Dalam Reaktor Plat Datar Melalui Optimasi Pencahayaan Menggunakan Teknik Filtrasi Pada Aliran Kultur Media. Disertasi. Fakultas Teknik Universitas Indonesia. Program Studi Teknik Kimia. Depok
- [12]. Dominic VJ, S. Murali and MC Nisha. 2009. Phycoremediation Efficiency Of Three Micro Algae *Chlorella vulgaris*, *Synechocystis salina* and *Gloeocapsa gelatinosa*. *SB Academic Review* Vol. XVI: No.1 & 2 :138-146
- [13]. Droste, R. 2007. *Theory and Practice of Water and Wastewater Treatment*. John Wiley and Sons. New York. USA.
- [14]. El-Naggar, A.H., M.E.H. Osman, M.A. Dyab dan E.A. El-Mohsenawy. 1999. Cobalt and Lead Toxicities on *Colothrix fusca* and *Nostoc muscorum*. *J.Union Arab Biol.Cairo*,7:421-441
- [15]. El-Sheek,M.M., A.H. El-Naggar, M.E.H. Osman and E.El-Mazaly. 2003. Effect Cobalt On Growth, Pigmens And The Photosintetic Electron Transport In *Monoraphidium minutum* and *Nitzchia perminuta*.*Braz J.Plant Physiol.*, 15 : 159-166. DOI : 10.1590/S1677-04202003000300005
- [16]. Faryal, R., dan A. Hameed. 2005. Isolation and Characterization of Various Fungal Strains from Textile Effluent for Their Use in Bioremediation. *Pak. J. Bot.*, 37 : 1003-1008
- [17]. Fomina, M., S. Hiller, JM Charnock, K Melvillie, IJ Alexander, GM Gadd. 2005. Role of Oxalic Acid Over-Excretion in Toxic Metal Mineral Transformations by *Beauveria caledonica*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 7 (1) : 371 - 381
- [18]. Glick, Bernard and Pasternak. 2001. *Molecular Biotechnology*. ASM Press. Washington DC. USA

- [19]. Goldman dan Horne .1983. *Limnology*. McGraw-Hill, Inc. Auckland
- [20]. Gray,J.S. 2002. Biomagnification in Marine System : The Perspective of an Ecologist. *Marine Pollution Bulletin* 45: 46-52.
- [21]. <http://www.elsevier.com/locate/morpolbud>
- [22]. Hama, O.H. dan S. Miyachi. 1988. *Chlorella*. Microalgae Biotechnology 1 st edition. Cambridge University
- [23]. Hart,B.A., and B.D. Scafie. 1997. Toxicity dan Bioaccumulation of Cadmium in *Chlorella pyrenidosa*. *Env. Research* 14 : 401 – 413.
- [24]. Haryoto dan Agustono W. 2004. Kinetika Bioakumulasi Logam Berat Kadmium oleh Fitoplankton *Chlorella* sp Lingkungan Perairan Laut. *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi* vol. 5 no.2 : 89-103
- [25]. Imani, S, S.Rezael-Zarchi, A.M. Zand dan H.B. Abarg.Hashemi, H. Boma, A. Javid, A.M. Zand dan H.B. Abarghouei. 2011. Hg, Cd and Pb Heavy Metal Bioremediation by *Dunaliella* Alga. *Journal of Medicinal Plants Research*. Vol. 5 (13) pp. 2775-2780. <http://www.academicjournals.org/JMPR>
- [26]. Kadirvelu,K., K.Thamaraiselvi, C. Namasivayam. 2001. Removal of Heavy Metals from Industrial Wastewaters by Adsorption onto Activated Carbon Prepared from an Agricultural Solid Waste. *Bioresour. Technol.*, 76. Pp.63-65.
- [27]. Kotteswari, M., SJ Murugesan, Kamaleswari and M. Veeralakshmi. 2007. Biomangement of Diary Effluent by Using Cyanobacterium. *Indian Hydrology*. 10(1) : 109-116
- [28]. Kusrinah. 2001. Penurunan Konsentrasi Logam Berat Kadmium (Cd) Air Laut Oleh *Chlorella* Sp Pada Skala Laboratorium. [Skripsi]. Jurusan Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan alam. Universitas Diponegoro. Semarang
- [29]. Leyva, R.R., J.R.R. Mendez, J .M.Barron, L.F. Rubio, R.M.G. Coronado. 1997. Adsorption of Cadmium (II) from Aqueous Solution onto Activated Carbon. *Water Sci.Technol.*35 :205-211
- [30]. Lim,S.L, W.L.Chu, S.M.Phang. 2010. Use *Chlorella vulgaris* for Bioremediation of Textile Wastewater. *Biosource Technology* 101, 7314-7322.doi:10.1016/biotech.2010.04.092
- [31]. Mallick, N., and L.C. Rai. 1993. Influence of Culture Density, pH, Organic Acid and Divalent Cations on The Removal of Nutrients and Metals by immobilized *Anabaena doliolum* and *Chlorella vulgaris* . *World Journal of Microbiol & Biotech.*9 : 196 - 201
- [32]. Osman, M.E.h., M.M. El-Naggar, M.M. El-Sheekh dan E. El-Mazally. 2004. Differential Effect of Co 2+ and Ni 2+ on Protein Metabolism in *Scenedesmus obiquus* and *Nitzschia perminuta*. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 16 ; 169 – 178. DOI : 10.1016/i.etap.2003.12.004
- [33]. Peraturan Menteri Negara Lingkungan Hidup nomor 03 Tahun 2010 Tentang Baku Mutu Air Limbah Bagi Kawasan Industri. 18 januari 2010
- [34].<http://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=0CCYQFjAA&url=http%3A%2F%2Fjdih.menlh.go.id%2Fpdf%2Fdiakses%203%20Mei%202012>
- [35]. Phukan, M.M., R. S. Chutia, B.K. Konwar, R. Kataki. 2011. Microalgae *Chlorella* as A Potential Bio-Energy Feedstock. *Applied Energy*
- [36]. <http://www.elsevier.com/locate/apenergy> diakses 12 Mei 2013
- [37]. Prabowo, Danang A. 2009. Optimasi Pengembangan Media untuk Pertumbuhan *Chlorella* sp Pada Skala Laboratorium. Skripsi Program Studi Ilmu dan Teknologi Kelautan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB
- [38]. Rocchetta,I., V. Mazzuc dan M.R. Carmen. 2006. Effect of Chromium on The Fatty Acid Composition of Two strains of *Euglena gracili*. *Environ. Pollut.*, 141 : 353 – 358. DOI : 10.1016/j.envpol.2005.08.035
- [39]. Sachlan,M. 1982. Planktonologi. Jurusan Perikanan Universitas Diponegoro, Semarang
- [40]. Sanusi, H.S. 2006. Kimia Laut, Proses Fisik Kimia dan Interaksinya di Lingkungan. Departemen Ilmu dan Kelautan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. IPB. Bogor 188 hal
- [41]. Slamet, J.S. 1996. Kesehatan Lingkungan. Gajah Mada University Press. Yogyakarta : 35 hal
- [42]. Srihati dan Carolina. 1995. Kualitas Algae bersel tunggal *Chlorella* sp. Pada Berbagai Media. Seminar Ilmiah Hasil Penelitian dan Pengembangan Bidang Fisika Terapan.
- [44]. Torresdey, J.L., JRP Videia, GD Rosa dan J Parson. 2005. Phytoremediation of Heavy Metals and Study of The Metal Coordination By X-Ray Absorbtion Spectroscopy. *Coordination Chemistry Reviews*. 249 : 1797 – 1810
- [46]. Torresdey, J.L., JRP Videia, GD Rosa dan J Parson. 2005. Phytoremediation of Heavy Metals and Study of The Metal Coordination By X-Ray Absorbtion Spectroscopy. *Coordination Chemistry Reviews*. 249 : 1797 – 1810
- [48]. Tunali, S.C., A. Abuk., T. Akar. 2006. Removal of Lead and Copper ions from aqueous Solutions by Bacterial Strain Isolated from Soil. *Chem.Eng.J.* 115, 203-211
- [49]. Volesky, B. 1990. Biosorption and Biosorbents in *Biosorption of Heavy Metals*. Edited by B Volesky (CRC Press, Boca Raton, Florida) 3-5
- [50]. Wang, J dan VP Evangelou. 1995. Metal Tolerance Aspects of Plant Cell Wall and Vacuole. In : Pessaraki M (ed) *Handbook of Plant and Crop Physiology*. Marcel Dekker, Inc. New York

