

Potensi *Chlorella vulgaris* Beijerinck Dalam Remediasi Logam Berat Cd Dan Pb Skala Laboratorium.

Florensia Setyaningsih Purnamawati¹, Tri Retnaningsih Soeprobowati², Munifatul Izzati³

¹ Magister Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Undip

^{2,3} Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Undip

Jl. Prof Soedharto, Tembalang, Semarang – 50275

Telepon (024) 7474754; Fax. (024) 76480690

Abstrak

Salah satu dampak negatif modernisasi dan industrialisasi adalah pencemaran lingkungan. Perairan merupakan salah satu lingkungan yang paling terbebani bahan pencemar karena banyaknya limbah rumah tangga maupun industri yang akhirnya masuk ke lingkungan perairan. Salah satu bahan pencemar perairan yang paling membahayakan adalah logam berat karena bersifat *non-biodegradable*. Oleh karena itu perlu upaya penanganan maupun pencegahan terhadap bahan pencemar tersebut. Pengolahan limbah secara fisiko-kimiawi dinilai mahal, menurunkan biodiversitas, banyak lumpur yang dihasilkan, dan kurang efektif pada konsentrasi logam di bawah 50 mg/l. Bioremediasi merupakan salah satu metode perbaikan lingkungan yang lebih ramah lingkungan karena menggunakan agen hayati seperti bakteri, jamur, protista, dan tanaman. *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. Penelitian ini bertujuan untuk menguji potensi *C. vulgaris* sebagai agen bioremediasi terhadap cemaran logam berat Cd dan Pb skala laboratorium. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). *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. Hal yang diamati dalam penelitian ini adalah pola pertumbuhan populasi *C. vulgaris*, persentase penurunan logam Cd dan Pb oleh *C. vulgaris*, besarnya akumulasi logam dalam *C. vulgaris*, serta nilai *Bioconcentration Factor* (BCF). Berdasarkan penelitian tersebut terbukti bahwa *C. vulgaris* terbukti mampu menurunkan konsentrasi ion Cd dan Pb dalam perairan. Prosentase penurunan konsentrasi ion Pb dalam media kontrol, 1 ppm, 3 ppm, dan 5 ppm berturut-turut 70%, 80%, 62%, dan 52% sedangkan dalam media Cd pada konsentrasi serupa berturut-turut 67%, 79%, 56%, dan 51%. *C. vulgaris* mampu mengakumulasi Cd lebih besar daripada Pb. Berdasarkan nilai BCF terhadap Cd maupun Pb, *C. vulgaris* tergolong akumulator logam.

Kata kunci : logam berat, bioremediasi, *Chlorella vulgaris*, bioakumulasi.

PENDAHULUAN

Pengembangan metode pengolahan limbah yang lebih efektif, efisien, dan ramah lingkungan terus diupayakan seiring meningkatnya kesadaran masyarakat untuk memperbaiki kualitas lingkungan. Penggunaan agen hayati untuk memperbaiki kualitas lingkungan yang tercemar, atau bioremediasi, dewasa ini dikembangkan untuk mengatasi masalah pencemaran tersebut. Bioremediasi mulai diterapkan untuk mengatasi pencemaran oleh limbah berbahaya, termasuk senyawa-senyawa logam berat. Berbagai jenis agen hayati seperti tumbuhan dan mikrobia (alga, jamur, serta bakteri) dapat digunakan sebagai

adsorben alternatif untuk penyerapan ion logam dalam air limbah.

Bioremediasi menggunakan mikroalga banyak digunakan untuk mengatasi pencemaran limbah di perairan karena ketersediaannya yang banyak di perairan, cepat reproduksinya, rentang toksisitas mikroalga yang lebar, banyak limbah yang dapat diremediasi, dan bersifat non patogen. Mikroalga menggunakan limbah sebagai sumber nutrisi dan pendegradasi polutan secara enzimatik. Nitrogen dan fosfor yang terkandung dalam limbah tersebut digunakan sebagai sumber karbonnya (Muthukumar *et al.*, 2005; Olguin, 2003). Mikroalga mampu menurunkan konsentrasi

logam dari medium biasanya melalui biosorpsi, adsorpsi dan bioakumulasi (Gin *et.al.*, 2002; Boswell *et.al.*, 2002; Rehman and Shakoori, 2003; Davis *et.al.*, 2003; Chojnacka *et.al.*, 2004). Beberapa mikroalga seperti *Scenedesmus*, *Synechocystis*, *Gleocapsa*, *Chroococcus*, *Anabaena*, *Lyngbya*, *Oscillatoria*, dan *Spirulina* telah digunakan sebagai agen bioremediasi.

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 (Akpor & Muchie, 2010).

Namun tidak semua jenis limbah logam berat ditemukan di setiap industri. Dalam lampiran PP MenLH no. 1 th 2010, beberapa jenis logam berat dianggap sebagai bahan pencemar di berbagai jenis industri yang berbeda, misalnya Cu, Cd, Ni, Cr, dan Zn ditemukan dalam limbah industri lapis logam. Pada limbah industri soda kaustik ditemukan logam berat jenis Cu dan Zn, selain Hg dan Pb. Pada limbah industri baterai kering terdapat Hg, Zn, Cr, Ni, dan mangan (Mn). Industri cat menghasilkan limbah jenis Hg, Zn, Cu,

Cd dan Cr. Logam berat tersebut ada di lingkungan dengan konsentrasi yang berbeda-beda sehingga dapat digunakan sebagai petunjuk tingkat pencemaran suatu lingkungan. 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 (Darmono, 1995).

Logam Cd, merupakan logam anorganik yang lebih toksik dibanding Pb. Logam berat Cd seringkali digunakan dalam industri logam, batere, 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, batere, 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 konsentrasinya dalam perairan perlu diupayakan agar tidak melebihi

ambang batas baku mutu air. Industri harus melakukan pengolahan air limbah, sehingga ketika air limbah dibuang ke perairan umum tidak lagi membahayakan makhluk hidup. Namun, kendala utama dari pengolahan limbah adalah tingginya biaya pengolahan sehingga banyak industri yang tidak optimal melakukan pengolahan limbah buangan pabriknya.

Upaya yang biasa dilakukan oleh industri untuk mengatasi pencemaran logam berat pada umumnya secara fisiko-kimiawi (misalnya : elektrolisa, elektrodialisa, pengendapan) (Fardias, 1992). Kelemahan pengolahan cara ini masih menimbulkan masalah di akhir pengolahan, selain menurunkan biodiversitas, menghasilkan lumpur yang cukup banyak, berbiaya mahal dan tidak efektif terutama bila konsentrasi logam berat dalam perairan dibawah 50 mg/l (Das *et.al.*, 2008).

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 bioremediator (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.

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). Penelitian Syahputra (2008) mendapatkan bahwa *Chlorella pyrenidosa* sebanyak 800 ml/l memiliki efektifitas menurunkan kadar Cu sebesar 0,29 mg/l dengan efisiensi penurunan mencapai 90,97%. Selanjutnya sel akan menyerap unsur logam tersebut sampai pada titik optimal, yang penyerapan ini dilakukan selama 7 hari. Namun *C. pyrenoidosa* punya keterbatasan yaitu tidak bisa bekerja pada suasana

basa atau pH di atas 7. Kadar pencemar yang terlalu tinggi menyebabkan algae ini mati. Kematian alga terjadi pada kadar logam maksimal, seperti Cu maksimal 18 mg/l, sedang Cd, Cr dan Zn maksimal 10 mg/l. *C.vulgaris* dalam penelitian Dominic, *et.al.* (2009) cukup efisien dalam memperbaiki kualitas air limbah industri yang terpolusi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *C.vulgaris* terbukti meningkatkan kadar pH limbah ke arah alkali (6-8) dibandingkan dua species lainnya, *Gleocapsa gelatinosa* dan *Synechosistis salina*. *C. vulgaris* menurunkan kandungan fosfat 69,23%, dan nitrat sebesar 84%. Dalam 5 hari, 52,8% nitrat terabsorpsi, sedangkan nitrit diserap 100%. Kenaikan nilai DO oleh *C. vulgaris* juga paling tinggi yaitu sebesar 247,83%. Strain *Chlorella* yang toleran terhadap logam mensekresikan material organik yang memicu penurunan konsentrasi ion logam bebas dalam medium (Prasad *et.al.*, 2004 dalam Rehman and Shakoori, 2004). Pada penelitian Afkar *et.al.* (2010), *C.vulgaris* mampu mengakumulasi logam $Cu^{2+}>Co^{2+}>Zn^{2+}$.

C.vulgaris laut dalam penelitian ini diteliti kemampuannya menurunkan konsentrasi logam berat Pb dan Cd dalam media kultur skala laboratorium dan akumulasinya dalam sel *C. vulgaris*.

BAHAN DAN 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 :

- 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. Kandungan logam berat Cd²⁺ dan Pb²⁺ dalam medium kultur hari ke-0 dan hari ke-76.
2. 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%

Faktor biokonsentrasi (*Bioconcentration Factor /BCF*) merupakan koefisien untuk mengelompokkan efisiensi akumulasi elemen toksik dalam biota dan mediumnya. Menurut Zayed *et.al.*, 1998 dalam Sekabira *et.al.* (2011) rumus BCF :

$$BCF = C_b/C_w$$

C_b : konsentrasi logam berat dalam biota

C_w : konsentrasi logam berat dalam medium

Nilai BCF < 1 : excluder; > 1 : akumulator logam; dan 1000 : akumulator logam yang baik (*good acumulator*)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kemampuan *C. vulgaris* dalam Penurunan Konsentrasi Logam

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).

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 terlarut yang diendapkan (Tortora, 2001 ; 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.

Dalam penelitian ini penurunan konsentrasi logam belum mencapai ambang baku mutu, yaitu 0,1 mg/l untuk Cd dan 1 mg/l untuk Pb. Baik pada kultur dengan penambahan 3 ppm dan 5 ppm Pb maupun penambahan ion Cd konsentrasi logam di akhir penelitian masih di atas ambang batas yang diijinkan. Hal ini mungkin karena konsentrasi ion logam yang ditambahkan sudah melebihi ambang batas atau karena jumlah sel *C. vulgaris* yang tidak mencukupi untuk terjadinya biosorpsi sehingga konsentrasi logam di akhir penelitian masih cukup tinggi. Kemungkinan yang lain karena lamanya perlakuan tanpa penambahan nutrisi maupun sel *C. vulgaris*. Pengujian kandungan logam di akhir perlakuan (76 hari) ketika populasi sel mengalami penurunan jumlah dan kualitas menyebabkan berkurangnya daya adsorpsi serta akumulasi logam.

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

Konsentrasi logam (mg/l)	konsentrasi dalam medium (mg/l)		Rata-Rata prosentase Penurunan Logam Dalam Medium (%)
	H0	H76	
Pb 1	1,01	0,20	80 ^a
3	3,01	1,13	62 ^c
5	5,01	2,39	52 ^d
Kontrol	0,010	0,003	70 ^b
Cd 1	1,009	0,21	79 ^e
3	3,009	1,33	56 ^f
5	5,009	2,45	51 ^f
kontrol	0,009	0,003	67 ^g

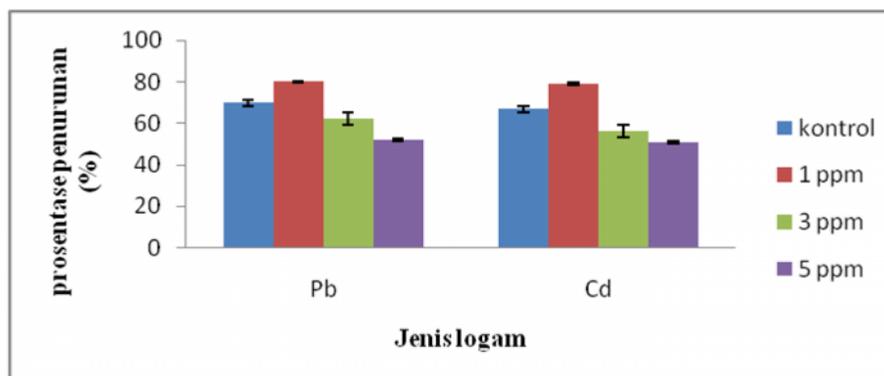
Huruf yang berbeda pada satu kolom menunjukkan perbedaan yang nyata

Prosentase penurunan konsentrasi logam dalam medium

Berdasarkan table 1, prosentase penurunan konsentrasi logam oleh *C. vulgaris* semakin menurun dengan meningkatnya konsentrasi logam yang dipaparkan dalam medium.

Pada Gambar 1 ditunjukkan bahwa besarnya penurunan konsentrasi logam Pb dari kelompok kontrol, 1 ppm, 3 ppm, 5 ppm berturut-turut sebesar 70%, 80%, 62%, 52% yang artinya

menunjukkan semakin tingginya konsentrasi logam yang ditambahkan prosentase penyerapan ion logam semakin rendah. Demikian juga pada kelompok perlakuan dengan penambahan ion Cd, berturut-turut prosentase penyerapannya 67% untuk kelompok kontrol, 79% untuk kelompok 1 ppm, 56% untuk kelompok 3 ppm, dan 51% untuk kelompok 5 ppm.



Gambar 1. Grafik Prosentase penurunan kandungan ion logam berat Pb dan Cd pada medium oleh *C. vulgaris* pada hari ke-76.

Hasil analisis ANOVA diketahui bahwa perbedaan konsentrasi menunjukkan beda nyata dalam prosentase penurunan ion logam Pb dan Cd. Medium dengan penambahan konsentrasi 1 ppm

paling banyak penurunannya dibanding medium dengan penambahan 3 ppm serta 5 ppm.

Hal ini agak serupa dengan penelitian yang dilakukan oleh Chen dan Pan (2005) yang

menyatakan bahwa konsentrasi ion Pb awal berpengaruh pada rata-rata adsorpsi logam tersebut oleh *Spirulina* sp. Ditemukan bahwa biosorpsi ion Pb meningkat sampai 95% pada medium yang berisi larutan ion Pb konsentrasi awal di bawah 10 mg/l, sedangkan pada medium yang berisi ion Pb konsentrasi di atas 10 mg/l rata-rata biosorpsinya menurun.

Pb terlarut dapat membentuk ikatan ligand organik dalam tubuh fitoplankton. Pb dapat membentuk ikatan yang cukup kuat dengan ligand organik yang mengandung N,O,S yaitu gugus-gugus rangkap yang terdapat dalam protein, lemak dan karbohidrat dan berperan sebagai donor atom (Darmono, 1995). Pada kondisi pH tinggi, potensial redoks akan rendah sehingga logam-logam akan lebih aktif membentuk kompleks dengan senyawa-senyawa organik dan dapat membentuk kelat yang lebih mudah larut dalam air.

Semakin lama *Chlorella* sp terpapar oleh logam maka prosentase penyerapan ion logam Ni^{2+} dan Cd^{2+} semakin tinggi. Setelah terpapar ion Cd^{2+} 5 $\mu\text{g/ml}$ selama 7 hari, *Chlorella* mampu menyerap 76% Cd^{2+} dari medium, 80% setelah 14 hari, 88% setelah 21 hari dan 96% setelah 28 hari. Pada penelitian ini paparan ion logam selama 76 hari didapatkan prosentase penurunan kelompok Pb 80%, 62%, 52% dalam konsentrasi 1 ppm, 3 ppm, dan 5 ppm. Sedangkan kelompok Cd 1 ppm, 3 ppm, dan 5 ppm : 76%, 56%, 51%. Tampak dalam penelitian ini besar prosentase penurunan logam Pb lebih besar dibandingkan besarnya prosentase penurunan Cd. Besarnya penurunan konsentrasi logam dalam penelitian tentang bioremoval selalu berbeda-beda sesuai dengan metode yang digunakan dan kondisi lingkungan maupun mikroalga yang dimanfaatkan. Namun sebagian besar penelitian menyebutkan bahwa penurunan konsentrasi Pb seringkali lebih besar dibandingkan penurunan konsentrasi Cd.

Seperti hasil penelitian Soeprbowati dan Haryati (2012) yang menunjukkan besarnya prosentase penurunan Pb oleh *Chlorella* 90% dengan populasi kurang dari 300×10^2 individu/ml sedangkan prosentase penurunan Cd 62% dengan populasi 350×10^2 individu/ml. Kemungkinan karena daya toksik ion Cd lebih kuat dibandingkan ion Pb sehingga kerusakan sisi adsorpsi dinding sel karena ion Cd lebih besar, akibatnya ion Cd tidak dapat teradsorpsi lebih banyak dibandingkan ion Pb.

Gugus fungsi pada dinding sel seperti karboksil, tiol dan beberapa enzim yang mengandung Zn dapat berinteraksi dengan ion logam Cd melalui ikatan kovalen atau melalui pertukaran ion. Gugus C=O dan S-H merupakan basa lunak yang akan terikat kuat oleh ion logam Zn, sedangkan dalam setiap sel terdapat 260 jenis enzim yang membutuhkan ion logam Zn yang dapat digantikan oleh ion logam Cd sehingga dapat merusak kerja enzim dan mengganggu jaringan sel fitoplankton. (Liljas, 1972). Pada kadar 0,01-0,1 mg/l $CdCl_2$ dapat mereduksi ATP, klorofil dan konsumsi O_2 oleh fitoplankton (Sanusi, 2006).

Dengan demikian tingginya konsentrasi ion logam Pb dan Cd dalam medium berpengaruh terhadap besarnya penurunan ion logam. *Chlorella vulgaris* Beijerinck mampu menurunkan ion logam Pb lebih baik dibandingkan kemampuannya menurunkan ion Cd.

Akumulasi logam dalam sel *Chlorella vulgaris*

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.

Tabel 2. Konsentrasi Rata-Rata Ion Logam Pb dan Cd Dalam Sel *C. vulgaris* Awal Dan Akhir Perlakuan Serta Nilai BCF

Konsentrasi logam (mg/l)	Konsentrasi dalam sel <i>Chlorella</i> (mg/l)		
	H0	H76	BCF
Pb1	0,02	2,15	10,75 ^a
3	0,02	4,08	3,61 ^b
5	0,02	6,02	2,51 ^b
Kontrol	0,02	0,034	11,33 ^a
Cd 1	0,013	1,23	5,85 ^c
3	0,013	2,78	2,09 ^d
5	0,013	4,02	1,64 ^d
kontrol	0,013	0,016	5,33 ^c

Huruf yang berbeda pada satu kolom menunjukkan perbedaan yang nyata

Berdasarkan tabel 2 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. Fitokelatase 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 fitokelatase-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)

Akumulasi Cd meningkatkan konsentrasi ion H⁺. Karena reaksi kesetimbangan maka kenaikan pH medium menyebabkan reaksi bergeser ke produksi ion H⁺ yang artinya makin banyak jumlah logam Cd terkomplekskan.

Proses akumulasi ion logam ini cenderung menetap dalam sel karena harga konstanta laju pelepasan logam lebih kecil dibandingkan laju penyerapannya. Proses penyerapan dan akumulasi bahan toksik dalam sel akan dipecah dan diekskresikan, disimpan atau dimetabolisme oleh organisme tergantung konsentrasi dan potensial kimia bahan tersebut. Bahan kimia yang hidrofilik seperti Pb, Cd, Hg, Cu dan Co biasanya lebih mudah diekskresikan dibandingkan logam yang bersifat lipofilik. Tetapi meskipun sifat logam tersebut hidrofilik dapat terikat erat pada tempat-tempat tertentu dari tubuh dan terakumulasi.

Chlorella pyrenidosa lebih banyak mengakumulasi ion Cd²⁺ 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.

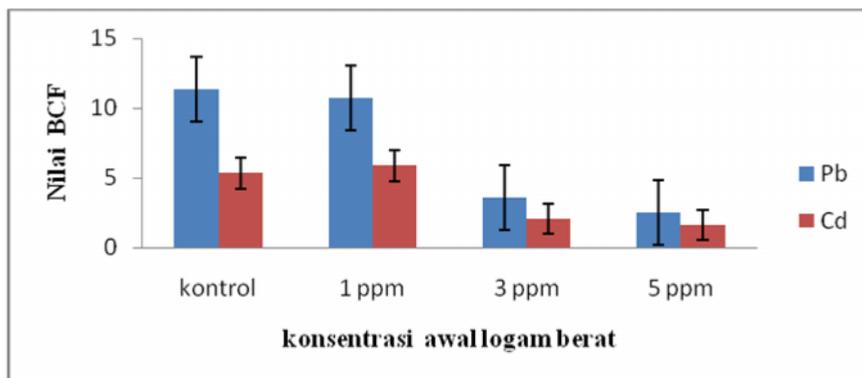
Pada penelitian yang dilakukan oleh Imani *et.al.* (2011) menyatakan bahwa peningkatan konsentrasi ion Pb, Cd dan Hg menghambat pertumbuhan sel *Dunaliella*. Namun *Dunaliella* merupakan salah satu alga yang cukup toleran dengan konsentrasi ion logam Pb, Cd dan Hg yang tinggi hingga 40 mg/l. *Dunaliella* 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 Ni^{2+} dan Cr^{6+} oleh sel *Chlorella vulgaris* dan *Anabaena doliolum* (Mallick and Rai, 1993). Penambahan Fe-EDTA dan $FeCl_3$ 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.

Nilai BCF (Bioconcentration Factor)

BCF merupakan koefisien untuk mengelompokkan efisiensi akumulasi elemen toksik dalam biota dan mediumnya. Berdasarkan rumus Zayed *et.al.* (1998) diketahui bahwa *C. vulgaris* merupakan akumulator logam Pb dan Cd karena nilai $BCF > 1$ (gambar 4.5). Berdasarkan uji ANOVA nilai BCF kelompok kontrol dan kelompok perlakuan 1 ppm pada medium Pb dan Cd tidak menunjukkan beda nyata meskipun nilai BCF kelompok tersebut lebih tinggi dibanding kelompok perlakuan 3 ppm dan 5 ppm. Uji ANOVA untuk kelompok perlakuan 3 ppm dan 5 ppm pada kedua jenis logam juga menunjukkan tidak ada beda nyata



Gambar 2. Grafik Nilai BCF *C. vulgaris*

Perbedaan nilai BCF pada berbagai penelitian tergantung pada strain dan kondisi strain seperti sumber strain, usia kultur, pH dan waktu terpapar (Inthorn *et al.*, 2002). *C. vulgaris* dalam penelitian ini merupakan kultur tunggal yang diperoleh dari BPAP Jepara yang kualitasnya cukup baik dan sering digunakan sebagai obyek penelitian. Strain ini merupakan strain yang sangat toleran dengan bahan pencemar bahkan dengan konsentrasi bahan pencemar yang tinggi. Usia kultur memang cukup lama 76 hari, namun ternyata *C. vulgaris* masih mampu tumbuh dan menyerap ion logam Pb dan Cd dengan kondisi nutrisi yang minim. Nilai pH medium di akhir penelitian yang ada pada level 8 belum cukup maksimal menyerap logam. Dengan demikian *C. vulgaris* layak digunakan sebagai agen biomonitoring logam Pb dan Cd perairan laut.

Penggunaan *C. vulgaris* hidup dalam proses remediasi perairan memang masih perlu ditingkatkan mengingat masih banyak kelemahan dalam proses ini. Penggunaan sel bebas ini cocok untuk kepentingan laboratorium tetapi untuk penggunaan di lapangan kurang aplikatif. Selnya yang relatif kecil, kekuatan mekanisnya yang rendah, tekanan hidostatik yang berlebihan mengurangi kemampuan sel untuk melakukan remediasi. Maka sistem ini perlu ditingkatkan mungkin dengan penambahan nutrisi dan sejumlah sel *C. vulgaris* pada fase stasioner. Pemanfaatan imobilisasi sel dengan menggunakan beberapa matriks dapat juga menjadi solusi yang baik namun berbiaya relatif lebih mahal. Imobilisasi sel dapat memuat lebih banyak biomassa,

meminimalkan penyumbatan, lebih tahan tekanan, tidak butuh perawatan dan nutrisi, dapat digunakan berulang-ulang, bahkan kemungkinan mampu menurunkan konsentrasi bahan pencemar lebih besar

DAFTAR PUSTAKA

- 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
- 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
[http://: www.academicjournals.org/IJPS](http://www.academicjournals.org/IJPS)
- Ariono, D., 1996. Bioremediasi Logam Berat di Lingkungan Perairan dengan Bantuan Mikroba. *Jurnal Biota* vol. I (2) : 23-27
- 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
- Boswel,C., N. C. Sharma dan S.V. Sahi. 2002. Cooper Tolerance and Accumulation Potential of *Chlamydomonas reinhardtii*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 69: 546-553
- Brown,P.A., S.A. Gill, S.J. Allen. 2000. Metal Removal from Wastewater Using Peat. *Water Res.* 34 :3907-3916.

- Chen dan S. Pan. 2005. Bioremediation potensial of *Spirulina* sp : Toxicity And Biosorption Studies Of Lead. *Journal of Zhejiang University Science*.
- Chojnacka,K., A. Chojnacki dan H. Gorecka. 2004. Trace Element Removal by *Spirulina* sp. From Copper Smelter and Refinery Effluent. *Hydrometallurgy*, 73 : 147-153
- Darmono. 1995. Logam dalam Sistem Biologi Makhluk Hidup. Universitas Indonesia Press. Jakarta
- Das, N., R. Vimala, and P. Karthika. 2008. Biosorption of Heavy Metals-An Overview. *Indian Journal of Biotechnology* vol. 7, pp 159-169.
- Davis, T.A., B. Volesky dan A. Mucci. 2003. A Review of The Biochemistry of Heavy Metal Biosorption by Brown Algae. *Water Res.*, 37 : 4311- 4330
- 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
- Droste, R. 2007. *Theory and Practice of Water and Wastewater Treatment*. John Wiley and Sons. New York. USA.
- Fardiaz, S. 1992. Polusi Air dan Udara. Kanisius. Yogyakarta. 190 hal
- Faryal, R., A. Hameed. 2005. Isolation and Characterization of Various Fungal Strains from Textile Effluent for Their Use in Bioremediation. *Pak. J. Bot.*, 37 : 1003-1008
- Faryal, R., A. Lodhi, A. Hameed. 2006. Isolation, Characterization and Biosorption of Zinc by Indigenous Fungal Strains *aspergillus fumigatus* RH05 and *Aspergillus flavus* RH07. *Pak. J. Bot.*, 38 : 817 - 831
- 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
- Gin, K.Y., Y.Z. Tang dan M.A. azis. 2002. Derivation and Application of a New Model for Heavy Metal Biosorption by algae. *Water Res.*, 36 : 1313 - 1323
- Glick, Bernard and Pasternak. 2001. *Molecular Biotechnology*. ASM Press. Washington DC. USA
- Gray,J.S. 2002. Biomagnification in Marine System : The Perpective of an Ecologist. *Marine Pollution Bulletin* 45: 46-52. <http://www.elsevier.com/locate/morpolbud>
- Hart,B.A., and B.D. Scafie. 1997. Toxicity dan Bioacumulation of Cadmium in *Chlorella pyrenidososa*. *Env. Research* 14 : 401 – 413.
- 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
- 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>
- Inthorn, D., N Sidititoun, S.Silapanuntakul dan A. Incharoensakdi. 2002. Sorption Of Mercury, Cadmium And Lead By Microalgae. *Science Asia* 28: 253-261
- 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. *Biorsour. Technol.*, 76. Pp.63-65.
- 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
- 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
- Liljas, A. 1972. Crystal Structure of Human Carbonic Anhydrase. *C. Nature New Biol* 235 : 131-137.

- 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
- 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
- Muthukumar, M., V.V. Subramanian dan V. Sivasubramanian. 2005. Utilization of algal Biomass For Colour Removal, pH Correction and Sludge reduction in Dyeing Effluent. Sustainable Utilization of Tropical Plant Biomass : 127-130
- Olguin, E.J. 2003. Phycoremediation : Key Issues for Cost effective Nutrient Removal Processes. *Biotechnol Adv.* 22(1-2) : 81-90
- Peraturan Menteri Negara Lingkungan Hidup nomor 03 Tahun 2010 Tentang Baku Mutu Air Limbah Bagi Kawasan Industri. 18 Januari 2010
<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>
- Phukan, M.M., R. S, Chutia, B.K. Konwar, R. Kataki. 2011. Microalgae *Chlorella* as A Potential Bio-Energy Feedstock. *Applied Energy*
<http://www.elsevier.com/locate/apenergy> diakses 12 Mei 2013
- 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
- Prasad, M.N.V, K.I. Draj, A. Skawinska dan K. Stralka. 1998. Toxicity of Cadmium and Copper in *Chlamydomonas reinhardtii* wild-type (WT2137) and Cell Wall Deficient Mutant Strain (CW15). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 60 : 306-311
- Rehman, A. dan A.R.Shakoori. 2003. Isolation, Growth, Metal Tolerance and Metal Uptake of The Green Alga, *Chlamydomonas* (Chlorophyta) and Its Role in Bioremediation of Heavy Metals. *Pakistan J Zool.*, 35 : 337 - 341
- 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
- Sekabira, K., H.O. Origa, T.A. Basamba, G. Mutumba, E. Kakudidi. 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
- Slamet, J.S. 1996. Kesehatan Lingkungan. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta : 35 hal
- Srihati dan Carolina. 1995. Kualitas Algae bersel tunggal *Chlorella* sp. Pada Berbagai Media. Seminar Ilmiah Hasil Penelitian dan Pengembangan Bidang Fisika Terapan.
- Soeprbowati, T.R. dan R. Hariyati. 2012. The Potential Used of Microalgae for Heavy Metals Remediation. Proceeding iSNPiNSA. Diponegoro University. Semarang
- Syahputra, B. 2008. Pemanfaatan Algae *Chlorella pyrenoidosa* untuk Menurunkan Tembaga (Cu) pada Industri Pelapisan Logam
<http://smk3ae.wordpress.com/2008/05/09/pe-manfaatan-algae-chlorella-pyrenoidosa-untuk-menurunkan-tembaga-cu-pada-industri-pelapisan-logam> diakses 15 Desember 2011
- Tortora, G.J. 2001. *Microbiology an Introduction*. 7TH ed. World Student Series. San Francisco. USA
- Tunali, S.C., A. Abuk., T. Afkar. 2006. Removal of Lead and Copper ions from aqueous Solutions by Bacterial Strain Isolated from Soil. *Chem.Eng.J.* 115, 203-211

