

Bioakumulasi Logam Berat Pb oleh *Chlorella vulgaris*

Altysia Putriany, Widianingsih*, Hadi Endrawati, Retno Hartati

Departemen Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro
Jl. Prof. Jacub Rais, Tembalang, Semarang, Jawa Tengah 50275 Indonesia
Email: widia2506@gmail.com

Abstrak

Usaha untuk menghilangkan logam berat merupakan suatu proses pengolahan air limbah yang sangat penting. Beberapa metode telah dilakukan baik dengan metode kimia maupun fisika, namun perlakuan secara biologi dianggap lebih murah dan efektif. *Chlorella vulgaris* merupakan salah satu jenis mikroalga yang mempunyai kemampuan menyerap dan menghilangkan logam berat seperti timbal (Pb) di air limbah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh logam berat timbal (Pb) pada media pemeliharaan yang berbeda terhadap pertumbuhan dan bioakumulasinya pada *C. vulgaris*. Metode eksperimen laboratorium dengan lima perlakuan konsentrasi logam berat timbal (Pb) pada media budidaya *C. vulgaris* yang berbeda, yaitu 0, 25, 50, 75, dan 100 ppm. Setiap perlakuan dengan tiga ulangan. Mikroalga *C. vulgaris* dikultur selama 7 hari dan pada akhir penelitian kepadatannya dihitung dan kandungan Pbnya dianalisa dengan menggunakan *Atomic Absorption Spectrophotometer*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi Pb pada media, semakin menghambat pertumbuhan *C. vulgaris*. *C. vulgaris* mampu mengakumulasi logam Pb dengan efisiensi penyerapannya sebesar 0,34% pada konsentrasi 100 ppm. Analisis varian memperlihatkan konsentrasi Pb memberikan pengaruh yang nyata ($p < 0,05$) pada pertumbuhan, dan kemampuan akumulasi Pb pada *C. vulgaris*.

Kata kunci: bioakumulasi, *Chlorella vulgaris*, mikroalga, logam Pb

Abstract

Pb Heavy Metal Bioaccumulation by Chlorella vulgaris

In the wastewater treatment process, the removal of heavy metals is very important. The process has applied various chemical and physical methods, and the biological method is believed to be the most efficient and cheapest. *Chlorella vulgaris* is one species of microalgae that has ability to absorb and accumulate heavy metals such as lead (Pb). *Chlorella* can grow in extreme environments and withstand outside influences, better than other types of microalgae. This study aims to determine the influence of lead (Pb) in the culture media on the growth and bioaccumulation of *C. vulgaris*. The laboratory experiment method was applied with several Pb concentrations in the culture media of *C. vulgaris*, i.e. 0, 25, 50, 75, and 100 ppm. The treatments were triplicated. The *C. vulgaris* was cultured for seven days, and in the end of the experiment, the density was counted, and the Pb was analyzed using *Atomic Absorption Spectrophotometer*. The results showed that the higher concentrations of Pb in the culture media gave the most inhibiting growth of *C. vulgaris*. *C. vulgaris* accumulate Pb at a concentration of 100 ppm in the culture media with an absorption efficiency of 0.34%. It revealed that the difference in Pb concentration give significant effect ($p < 0.05$) on the growth and Pb accumulation capability of *C. vulgaris*.

Keywords: bioaccumulation, *Chlorella vulgaris*, microalgae, Pb

PENDAHULUAN

Mikroalga berperan sebagai produsen primer dalam tingkatan rantai makanan (Miller,

2010). Ukurannya yang relatif kecil membuatnya dapat secara efektif berinteraksi dengan unsur-unsur yang terkandung di perairan seperti logam berat (Haryoto dan Wibowo, 2004). Logam berat

*Corresponding author

DOI:10.14710/buloma.v12i3.39205

<http://ejournal.undip.ac.id/index.php/buloma>

Diterima/Received : 23-06-2022

Disetujui/Accepted : 30-08-2023

esensial dan non esensial dapat ditemukan di perairan. Logam berat yang dalam jumlah tertentu sangat dibutuhkan oleh organisme disebut logam berat esensial. Sedangkan, logam berat yang keberadaannya kurang dibutuhkan dan cenderung bersifat racun disebut logam berat non esensial (Irhamni *et al.*, 2017). Contoh logam berat esensial yang dapat ditemukan di perairan seperti Cu, Cr, dan Zn. Sedangkan, logam berat non esensial yang dapat ditemukan seperti Pb, Cd, dan Hg (Syaifulah *et al.*, 2018).

Kemampuan mikroalga dalam mengadsorpsi ion-ion logam berbeda-beda tergantung pada jenisnya (Nisak *et al.*, 2013). Beberapa jenis mikroalga yang dapat menyerap ion-ion logam seperti *Chaetoceros calcitrans* (Hala *et al.*, 2012), *Skeletonema costatum* (Liwun *et al.*, 2020), *Chlorella vulgaris* (Purnamawati *et al.*, 2015), *C. pyrenoidosa* (Syahputra, 2012), *Phormidium ambiguum*, *Pseudochlorococcum typicum*, dan *Scenedesmus quadricauda* (Shanab *et al.*, 2012). *Chlorella* sp. memiliki kemampuan penyerapan logam berat timbal (Pb) yang hampir sama dengan *Nannochloropsis* sp. yakni pada perlakuan awal Pb dengan konsentrasi 0,9 ppm jumlah Pb yang tersisa pada media masing-masing sebesar 0,7825 dan 0,7973 (Nisak *et al.*, 2013). Namun, *Chlorella* sp. dapat tumbuh pada kondisi yang ekstrem dan juga dapat bertahan terhadap pengaruh dari luar lebih baik dibandingkan dengan jenis mikroalga lainnya (Kurniawan dan Aunurohim, 2014). *Chlorella* sp. mampu tumbuh di lingkungan perairan yang tercemar logam berat karena memiliki polyamine untuk beradaptasi pada lingkungan perairan tersebut. Polyamine ini berperan melindungi dari resiko tekanan dalam lingkungan tercemar (Hunter dan Burrit, 2012).

Chlorella sp. mampu menurunkan kadar logam berat timbal (Pb) lebih besar dibandingkan dengan logam berat kadmium (Cd). Perbedaan kemampuan ini kemungkinan disebabkan terdapat toksin yang lebih kuat pada ion Cd dibandingkan dengan ion Pb, sehingga terjadi kerusakan sisi adsorpsi dinding sel dan kerusakan lebih besar terjadi akibat ion Cd. Hal ini menyebabkan ion Cd lebih sedikit teradsorpsi dibandingkan dengan ion Pb (Purnamawati *et al.*, 2015). Pb termasuk salah satu logam berat yang paling umum di perairan (Saghali *et al.*, 2013). Pb dapat terakumulasi dengan mudah pada *Chlorella* serta dapat memberikan pengaruh toksik (Pawlik-Skowroska, 2002). Toksin yang terkandung di dalam Pb dapat menimbulkan respons fisiologis dan morfologis

pada mikroalga (Shin *et al.*, 2013). Efek dari paparan logam berat seperti Pb yakni penekanan pembelahan sel, penghambatan laju pertumbuhan, dan berkurangnya aktivitas fotosintesis (HuiLing *et al.*, 2012). Laju fotosintesis pada sel *C. sorokiniana* mengalami penurunan setelah diberi perlakuan dengan penambahan Pb. Laju fotosintesis sel *C. sorokiniana* setelah 2 jam dan setelah 24 jam mengalami penurunan secara progresif serta menunjukkan penghambatan laju fotosintesis sebesar 77% setelah paparan Pb selama 24 jam (Carfagna *et al.*, 2013).

Struktur dinding sel *Chlorella* mendukung kemampuannya dalam meremediasi logam berat, sehingga lebih baik daripada kemampuan penyerapan jamur dan beberapa mikroba (Pena-Castro *et al.*, 2004). Salah satu jenis *Chlorella* yang mempunyai kemampuan dalam penyerapan logam berat seperti timbal (Pb) adalah *C. vulgaris* (Niczyporuk *et al.*, 2012). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh logam berat timbal (Pb) dalam media budidaya dengan konsentrasi yang berbeda pada pertumbuhan dan kemampuan bioakumulasi *C. vulgaris*.

MATERI DAN METODE

Materi penelitian ini adalah *C. vulgaris* yang diperoleh dari Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara, Jawa Tengah. Media kultur disesuaikan dengan kebutuhan pertumbuhan *C. vulgaris*, dengan kisaran suhu media 25-30°C; salinitas 15-35 ppt; dan pH 8-11 (Aprilliyanti *et al.*, 2016). Sumber cahayanya berasal dari lampu TL 18watt untuk membantu proses fotosintesis. Kultur *C. vulgaris* dilakukan dengan menggunakan wadah toples plastik 5.000 ml, dimana total volumenya sebanyak 3.000 ml dengan kepadatan awal sel $\pm 2.000.000$ sel/ml. Pupuk Walne kemudian ditambahkan pada kultur sebanyak 1 ml/l (Widiatmono *et al.*, 2018). Kultur dilakukan selama 3 hari agar *C. vulgaris* dapat beradaptasi dengan lingkungan barunya (Purnamawati *et al.*, 2015). *Haemocytometer* dan *handcounter* digunakan untuk menghitung kepadatan dari *C. vulgaris*.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan konsentrasi Pb yaitu 0, 25, 50, 75, dan 100 ppm (Teoh dan Wong, 2018). Sumber timbal (Pb) untuk pengujian didapatkan dari $Pb(NO_3)_2$. Pengujian dilakukan pada kultur hari ke-4 hingga ke-7 (Kurniawan dan Aunurohim, 2014). Pengulangan penelitian ini dilakukan 3 kali. Pemanenan

dilakukan dengan teknik sentrifugasi pada 4.000 rpm selama 10 menit (Wulandari *et al.*, 2019). Bagian supernatannya dibuang dan kemudian pelet dikeringkan di oven dengan suhu 100°C selama 1 jam (Jawa *et al.*, 2014). Kandungan logam berat timbal (Pb) dianalisa dengan AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometer*). Data dianalisis dengan uji statistik menggunakan *One Way ANOVA*. Perhitungan efisiensi penyerapan logam (Ep) dilakukan dengan rumus (Kurniawan dan Aunurohlim, 2014).

$$E_p = \left(\frac{C_s}{C_o} \times 100\% \right)$$

Keterangan: Ep = efisiensi penyerapan (%); Cs = logam Pb yang terserap (ppm); Co = logam Pb awal (ppm)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian, kepadatan *C. vulgaris* tertinggi terdapat pada konsentrasi Pb 0 ppm ($528,86 \times 10^4$ sel/ml). Sedangkan, kepadatan terendah terdapat pada konsentrasi Pb 100 ppm sebesar $341,06 \times 10^4$ sel/ml (Gambar 1 dan 2). Pada penelitian ini, kepadatan sel tertinggi pada fase stasioner hari ke-7 terjadi pada konsentrasi Pb 0 ppm dibandingkan dengan kepadatan sel pada pemberian konsentrasi logam Pb 25, 50, 75, dan 100 ppm. Hal ini terjadi karena adanya pengaruh dari pemberian logam berat timbal (Pb).

Berdasarkan analisa anova satu arah bahwa terdapat pengaruh pemberian konsentrasi logam berat timbal (Pb) terhadap pertumbuhan *C. vulgaris* ($p < 0,05$). Menurut Dewi dan Nuravivah (2018), bahwa dalam konsentrasi logam berat timbal (Pb) tertentu unsur ini diperlukan, tetapi akan menghambat pertumbuhan apabila konsentrasinya tinggi. Dimana ion-ion logam berat melakukan pertukaran dengan ion monovalen dan ion divalen seperti Mg, Na, dan Ca yang termasuk mikronutrien bagi organisme (Purnamawati *et al.*, 2015). Pada penelitian ini kepadatan sel mikroalga yang diberikan perlakuan logam berat timbal (Pb) lebih rendah dibandingkan dengan kontrol. Sehingga, dapat dikatakan pada konsentrasi Pb tersebut cenderung menghambat pertumbuhan mikroalga. Secara umum mikroalga mempunyai mekanisme perlindungan dari logam beracun untuk tetap bertahan hidup. Namun, jika konsentrasi logamnya begitu tinggi, maka proses akumulasi yang dilakukan oleh mikroalga dapat menghambat pertumbuhannya (Hala *et al.*, 2012).

Pada penelitian ini kelima perlakuan tersebut mengalami fase lag (adaptasi) ± 1 hari, dan setelahnya langsung terjadi penambahan jumlah sel. Kemampuan adaptasi pada mikroalga dapat berbeda-beda. Hal ini tergantung pada jenis mikroalga maupun perubahan kondisi lingkungan dari habitat asalnya seperti perubahan salinitas. Apabila perbedaan salinitas media dengan habitat asal semakin tinggi maka akan semakin berat adaptasi yang dilakukan oleh mikroalga, begitupun sebaliknya (Widianingsih *et al.*, 2011). Perbedaan lamanya fase adaptasi diduga karena adanya perbedaan kepekaan antara media dengan cairan di dalam sel, pemulihan kembali enzim dan konsentrasi substrat pada tingkat yang dibutuhkan untuk pertumbuhan, serta proses difusi unsur hara ke dalam sel akibat adanya perbedaan konsentrasi media dengan cairan tubuh sel (Halima *et al.*, 2019).

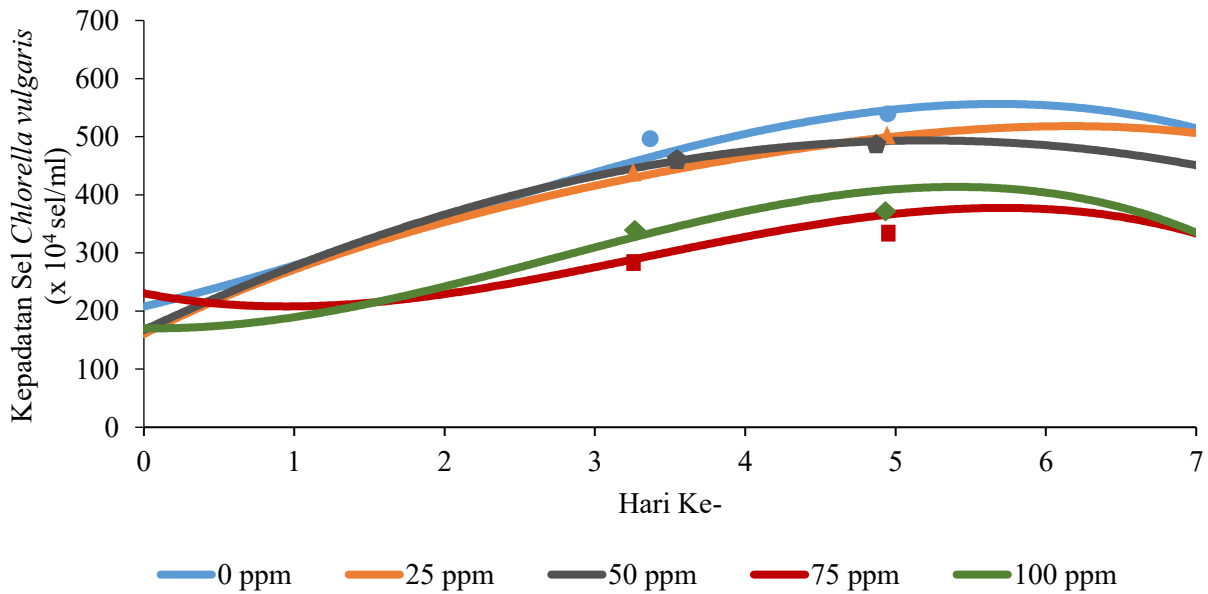
Konsentrasi ion logam berat yang tinggi dapat memberikan pengaruh yang besar pada fungsi fisiologis seperti pertumbuhan dan pembelahan sel (Teoh dan Wong, 2018). Penurunan tingkat pertumbuhan mikroalga yang terjadi dimungkinkan karena interaksi ion logam dengan lapisan lemak yang terdapat pada permukaan sel (Chu dan Hashim, 2007). Terdapat sejumlah kelompok fungsional di permukaan sel mikroalga yang terpapar seperti $-NH_2$, $-COO$, dan $-SH$ yang mana berfungsi sebagai situs pengikatan ion logam berat. Ion yang terikat kemudian dapat melewati membran sel untuk masuk ke dalam sitoplasma. Hal ini dapat menyebabkan adanya gangguan pada struktur intraseluler mikroalga serta mengganggu proses biokimia dan fisiologisnya (Kumar *et al.*, 2014). Pada saat mikroalga terpapar logam berat timbal (Pb) pasokan energi menjadi berkurang dan berdampak buruk pada sistem enzim intraseluler seperti lipase dan selulosa. Dampak yang ditimbulkan tersebut dapat menekan laju pembelahan sel atau menyebabkan rusaknya membran sel. Apabila membran sel rusak, masuk atau keluarnya elektrolit maupun ion vital menjadi tidak terkendali yang menyebabkan kelebihan atau kekurangan dalam sitoplasma, sehingga mempengaruhi pertumbuhan (Awasthi dan Das, 2005). Lingkungan juga dapat memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan mikroalga *C. vulgaris* yang terpapar logam berat timbal (Hermanto *et al.*, 2011).

Berdasarkan data perhitungan persentase bioakumulasi oleh *C. vulgaris*, persentase bioakumulasi tertinggi terdapat pada konsentrasi

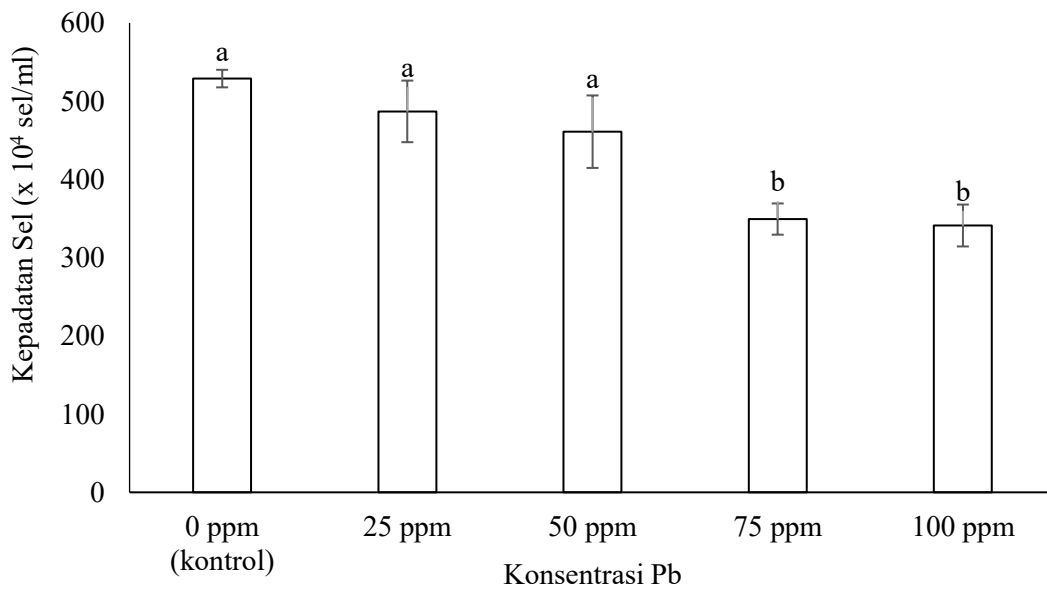
Pb 25 ppm sebesar 1,70%. Sedangkan, untuk hasil persentase bioakumulasi terendah terdapat pada konsentrasi Pb 0 ppm sebesar 0% (Tabel 1).

Berdasarkan hasil penelitian, nilai akumulasi tertinggi pada konsentrasi Pb 25 ppm (1,70%) dan terendah pada konsentrasi Pb 100 ppm sebesar 0,34% (Gambar 3). Pada penelitian ini semakin tinggi konsentrasi timbal, maka bioakumulasi

semakin menurun. Perlakuan perbedaan konsentrasi logam berat timbal (Pb) berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap kemampuan bioakumulasi *C. vulgaris* (Gambar 3). Naik turunnya persentase efisiensi kapasitas penyerapan logam diduga berhubungan dengan kemampuan desorpsi *C. vulgaris*. Desorpsi ini sebagai bentuk dari pertahanan diri mikroalga, dimana terjadi pelepasan



Gambar 1. Kepadatan Sel *Chlorella vulgaris* pada Perlakuan Pemberian Konsentrasi Logam Berat Pb yang berbeda.



Gambar 2. Pengaruh Konsentrasi Pb (ppm) yang Berbeda terhadap Kepadatan Sel *C. vulgaris* Fase Stasioner Hari Ke-7

kembali molekul atau ion yang berikatan dengan gugus aktif dari adsorben. Selain itu, luas permukaan dinding sel mikroalga dan aerasi juga mempengaruhi besarnya penyerapan logam tersebut (Kurniawan dan Aunurohim, 2014).

Faktor lingkungan abiotik dan biotik juga sangat mempengaruhi kemampuan mikroalga *C. vulgaris* dalam mengurangi kandungan logam berat timbal (Pb). Faktor lingkungan abiotik meliputi pH, temperatur, cahaya, dan kandungan nutrisi. Sedangkan, faktor lingkungan biotik meliputi sifat karakteristik dan kepadatan sel (Fitri *et al.*, 2021). Faktor lingkungan abiotik berkaitan dengan kondisi lingkungan yang menunjang pertumbuhan dan perkembangan *C. vulgaris*, sehingga penyerapan Pb dapat berlangsung optimal. Pertumbuhan *Chlorella* sp. yang optimal dapat dicapai pada pH 7-8 (Mufidah *et al.*, 2017). Temperatur yang optimal bagi pertumbuhan mikroalga berkisar antara 20-30°C (Maresi *et al.*, 2015). Intensitas cahaya yang dibutuhkan untuk mikroalga berkisar antara 2.500-5.000 lux (Sasmita *et al.*, 2012). Sedangkan, ketersediaan nutrisi yang cukup bagi pertumbuhan sel membantu mikroalga mencapai kondisi paling optimal, sehingga proses penyerapan Pb menjadi maksimal (Kurniawan dan Aunurohim, 2014). Ada kemungkinan lain bahwa sebagian ion logam berikatan dengan ion lain sehingga membentuk garam yang terendapkan (Purnamawati *et al.*, 2015).

Pada penelitian ini konsentrasi 25 ppm memiliki nilai akumulasi yang paling tinggi, hal ini diduga *C. vulgaris* masih dapat menoleransi konsentrasi Pb pada tingkat tersebut. Penurunan jumlah dan kualitas populasi sel menyebabkan pengurangan daya adsorpsi dan akumulasi logam (Purnamawati *et al.*, 2015). Sel yang berukuran lebih kecil memiliki luas permukaan yang relatif lebih luas, sehingga menyediakan situs yang lebih banyak untuk pengikatan logam dibandingkan dengan sel yang berukuran lebih besar. Hal ini

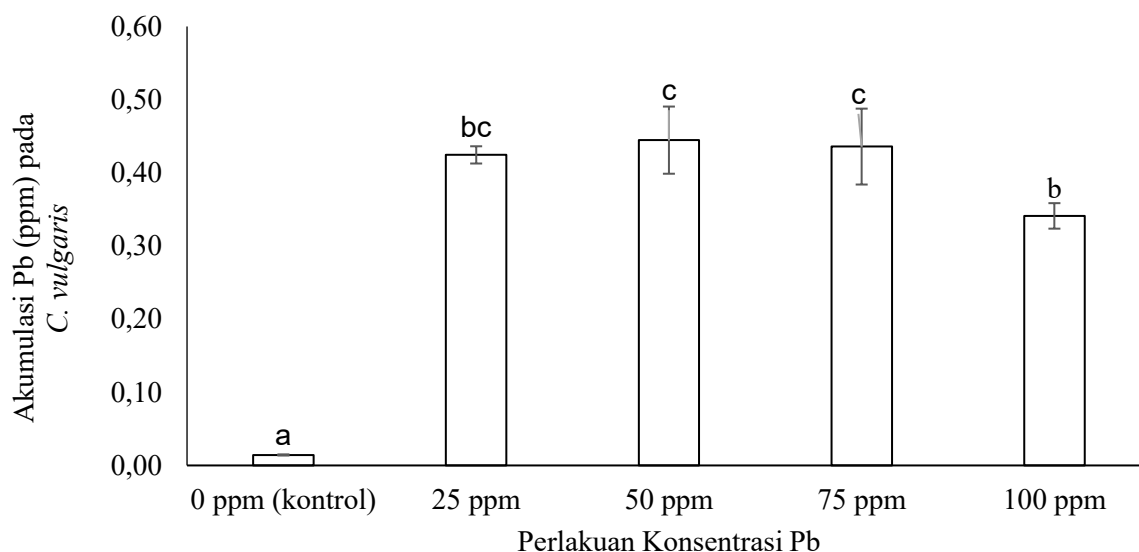
menyebabkan akumulasi logam Pb pada sel yang lebih besar hasilnya lebih rendah dibandingkan dengan sel yang lebih kecil (Jaiswar dan Chauhan, 2017). Penyerapan dan akumulasi logam dari lingkungan berlangsung selama pertumbuhan mikroalga, baik secara proses non metabolik (adsorpsi) ataupun proses metabolik (absorpsi) (Kumar *et al.*, 2015).

Paparan bahan toksik secara terus menerus menyebabkan bioakumulasi pada sel. Akumulasi logam berat timbal (Pb) yang terjadi merupakan hasil dari penyerapan timbal dari lingkungan. Mikroalga *C. vulgaris* membentuk protein pengikat logam seperti metallothionein dan fitokelatin yang berperan dalam proses penyerapan (Dewi dan Nuravivah, 2018). Melalui proses metabolisme sel dapat mensintesis protein fitokelatin pengikat logam. Fitokelatin ini disintesis dari turunan tripeptida (glutathione) dan jika terpapar timbal (Pb) membentuk fitokelatin glutathione. Fitokelatin kemudian akan membentuk ikatan fitokelatin-Pb dan ikatan yang terbentuk akan diteruskan ke bagian vakuola. Pengikatan logam berat ini dapat terjadi karena protein memiliki gugus sulfhidril (-SH) dan melalui proses enzimatis akan terakumulasi di vakuola (Nelson dan Cox, 1993). Gugus sulfhidril (-SH) ini memudahkan dalam pengikatan ion logam yang masuk ke dalam tubuh (Palar, 2008). Metallothionein (MT) memiliki peran penting dalam pengangkutan logam beracun ke organel lainnya (Ziller dan Fraissinet-Tachet, 2018). Sistein yang tinggi menyebabkan MT memiliki daya afinitas yang kuat terhadap logam (Balzano *et al.*, 2020). Melalui transpor aktif, ion logam dapat menembus membran sel yang mengikat salah satu pembawa ion dengan berat molekul rendah seperti sistein (Narula *et al.*, 2015).

Dinding sel yang dapat mengikat ion logam Pb. Pada saat ion logam Pb tersebar di sekitar sel, ion ini akan terikat dengan elemen yang ada di dinding

Tabel 1. Persentase Bioakumulasi Pb oleh *C. vulgaris*

Konsentrasi Pb (ppm) pada media	Persentase Bioakumulasi i(Ep) (%) oleh <i>C. vulgaris</i>
0 (kontrol)	0
25	1,70
50	0,89
75	0,58
100	0,34



Gambar 3. Kandungan Pb pada *Chlorella vulgaris* dengan perlakuan Konsentrasi Pb pada media kultur yang Berbeda

sel sesuai dengan kemampuan daya afinitas kimia sel. Dinding sel mikroalga ini memiliki berbagai macam polisakarida dan protein dengan sejumlah sisi aktif yang dapat berikatan dengan ion logam. Pada dinding sel ion-ion logam berat melakukan pertukaran dengan ion monovalen dan ion divalen seperti Mg, Na, dan Ca. Kemudian, antara ion logam berat dengan kelompok fungsional seperti hidroksi-karboksil, fosfat, hidroksi, tiol, amino, dan karbonil akan terbentuk formasi kompleks. Proses penyerapan ini cepat terjadi dan berlangsung bolak-balik. Penyerapan ion logam dapat terjadi pada sel hidup maupun sel mati (Purnamawati *et al.*, 2015). Struktur dinding sel *C. vulgaris* tersusun dari selulosa. Gugus OH di dalam selulosa yang bersifat polar ini juga membantu dalam proses penyerapan Pb (Dewi dan Nuravivah, 2018).

KESIMPULAN

Terdapat pengaruh yang signifikan konsentrasi logam berat Pb yang berbeda pada media terhadap kepadatan sel *C. vulgaris* dan jumlah akumulasi logam berat Pb pada *C. vulgaris*. Mikroalga *C. vulgaris* memiliki kemampuan bioakumulasi tertinggi (1,70%) pada konsentrasi logam berat timbal (Pb) 25 ppm sebesar dan terendah (0,34%) pada konsentrasi Pb media sebesar 100 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Aprilliyanti, S., T.R. Soeprbowati & B. Yulianto, 2016. Hubungan Kemelimpahan *Chlorella* sp dengan Kualitas Lingkungan Perairan pada Skala Semi Masal di BBPBAP Jepara. *Jurnal Ilmu Lingkungan*, 14(2):77-81.
- Awasthi, M. & D.N. Das, 2005. Impact of Ni, Zn and Cd on Growth Rate, Photosynthetic Activity, Nitrate Reductase and Alkaline Phosphatase Activity of Free and Immobilized *Scenedesmus quadricauda*. *Algological Studies*, 115(1):53-64.
- Balzano, S., A. Sardo, M. Blasio, T.B. Chahine, F.D. Anno, C. Sansone & C. Brunet, 2020. Microalgal Metallothioneins and Phytochelatins and Their Potential Use in Bioremediation. *Frontiers in Microbiology*, 11(517):1-16.
- Carfagna, S., N. Lanza, G. Salbitani, A. Basile, S. Sorbo & V. Vona, 2013. Physiological and Morphological Responses of Lead or Cadmium Exposed *Chlorella sorokiniana* 211-8K (Chlorophyceae). *SpringerPlus*, 2(147):1-7.
- Chu, K.H. & M.A. Hashim, 2007. Copper Biosorption on Immobilized Seaweed Biomass: Column Breakthrough Characteristics. *Journal of Environmental Sciences*, 19(8):928-932.

- Dewi, E.R.S. & R. Nuravivah, 2018. Potential of Microalgae *Chlorella vulgaris* as Bioremediation Agents of Heavy Metal Pb (Lead) on Culture Media. Proceeding of The 2nd International Conference on Energy, Environmental and Information System, 15-16 Agustus 2018. 31, 05010, 1-4.
- Fitri, W.E., C. Rahmatika & A. Putra, 2021. Bioremediasi Logam Berat Pb (II) dan Cu(II) pada Air Lindi Menggunakan *Chlorella vulgaris*. *Dalton: Jurnal Pendidikan Kimia dan Ilmu Kimia*, 4(1):58-69.
- Hala, Y., E. Suryati & P. Taba, 2012. Biosorpsi Campuran Logam Pb²⁺ dan Zn²⁺ oleh *Chaetoceros calcitrans*. *Chemistry Progress*, 5(2):86-92.
- Halima, A., Nursyirwani, I. Effendi & H. Ambarsari, 2019. Potential Microalga *Chlorella vulgaris* for Bioremediation of Heavy Metal Pb. *Asian Journal of Aquatic Sciences*, 2(3):224-234.
- Haryoto & A. Wibowo, 2004. Kinetika Bioakumulasi Logam Berat Kadmium oleh Fitoplankton *Chlorella* sp. Lingkungan Perairan Laut. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi*, 5(2):89-103.
- Hermanto, M.B., Sumardi, L.C. Hawa & S.M. Fiqtinovri, 2011. Perancangan Bioreaktor untuk Pembudidayaan Mikroalga. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 12(3):153-162.
- HuiLing, O., K. XiangZhen, H. Wei, Q. Ning, H. QiShuang, W. Yan, W. Rong & X. FuLiu, 2012. Effects of Five Heavy Metals at Sub-Lethal Concentrations on The Growth and Photosynthesis of *Chlorella vulgaris*. *Chinese Science Bulletin*, 57(25):3363-3370.
- Hunter, C.D. & D.J. Burritt, 2012. Polyamines of Plant Origin - An Important Dietary Consideration for Human Health. Intech Open Access Publisher, New Zealand.
- Irhamni, S. Pandia, E. Purba & W. Hasan, 2017. Serapan Logam Berat Esensial dan Non Esensial pada Air Lindi TPA Kota Banda Aceh dalam Mewujudkan Pembangunan Berkelanjutan. *Serambi Engineering*, 2(3):134-140.
- Jaiswar, S. & P.S. Chauhan, 2017. Applied Aspect of Microalgae in Monitoring of Heavy Metals. *Mining of Microbial Wealth and MetaGenomics*, 431-442.
- Jawa, I.U., A. Ridlo & A. Djunaedi, 2014. Kandungan Total Lipid *Chlorella vulgaris* yang Dikultur dalam Media yang Diinjeksi CO₂. *Journal of Marine Research*, 3(4):578-585.
- Kumar, D., P. Santhanam, S. Ananth, A.S. Devi, R. Nandakumar, B.B. Prasath, S. Jeyanthi, T. Jayalakshmi & P. Ananthi, 2014. Effect of Different Dosages of Zinc on The Growth and Biomass in Five Marine Microalgae. *International Journal of Fisheries and Aquaculture*, 6(1):1-8.
- Kumar, K.S., H.-U. Dahms, E.-J. Won, J.-S. Lee & K.-H. Shin, 2015. Microalgae - A Promising Tool for Heavy Metal Remediation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 113:329-352.
- Kurniawan, J.I. & Aunurohim, 2014. Biosorpsi Logam Zn²⁺ dan Pb²⁺ oleh Mikroalga *Chlorella* sp. *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 3(1):1-6.
- Liwun, R.R., L.I.M. Yulianti & B.R. Sidharta, 2020. Potensi *Skeletonema costatum* (Greville) sebagai Fikoremediator Logam Berat Timbal (Pb) Limbah Batik. *Biota: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, 5(1):16-24.
- Maresi, S.R.P., Priyanti & E. Yunita, 2015. Fitoplankton sebagai Bioindikator Saprobitas Perairan di Situ Bulakan Kota Tangerang. *Jurnal Biologi*, 8(2):113-122.
- Miller, R.J., H.S. Lenihen, E.B. Muller, N. Tseng, S.K. Hanna & A.A. Keller, 2010. Impact of Metal Oxide Nanoparticles on Marine Phytoplankton. *Environment Science Technology*, 44(19):7329-7334.
- Mufidah, A., Agustono, Sudarno & D.D. Nindarwi, 2017. Teknik Kultur *Chlorella* sp. Skala Laboratorium dan Intermediet di Balai Perikanan Budidaya Air Payau (BPBAP) Situbondo Jawa Timur. *Journal of Aquaculture and Fish Health*, 7(2):50-56.
- Narula, P., A. Mahajan, C. Gurnani, V. Kumar & S. Mukhija, 2015. Microalgae as an Indispensable Tool against Heavy Metals Toxicity to Plants: A Review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 31(1):86-93.
- Nelson, D. L. & M. M. Cox, 1993. Lehninger Principles of Biochemistry, Ed. 2. Worth Publishers, New York.
- Niczyporuk, A.P., A. Bajguz, E. Zambrzycka, & G.B. Zylkiewicz, 2012. Phytohormones as Regulators of Heavy Metal Biosorption and Toxicity in Green Alga *Chlorella vulgaris* (Chlorophyceae). *Plant Physiology and Biochemistry*, 52:52-65.

- Nisak, K., B.S. Rahardja & E.D. Masithah, 2013. Studi Perbandingan Kemampuan *Nannochloropsis* sp. dan *Chlorella* sp. sebagai Agen Bioremediasi terhadap Logam Berat Timbal (Pb). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 5(2):175-180.
- Palar, H., 2008. Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat. PT Rineka Cipta, Jakarta.
- Pawlik-Skowroska, B., 2002. Correlations Between Toxic Pb Effects and Production of Pb-Induced Thiol Peptides in The Microalga *Stichococcus bacillaris*. *Environmental Pollution*, 119:119-127.
- Pena-Castro, J.M., F. Martinez-Jeronimo, F. Esparza-Garcia & R.O. Canizares-Villanueva, 2004. Heavy Metals Removal by The Microalga *Scenedesmus incrassatulus* in Continuous Cultures. *Bioresource Technology*, 94:219-222.
- Purnamawati, F.S., T.R. Soeprbowati & M. Izzati, 2015. Potensi *Chlorella vulgaris* Beijerinck dalam Remediasi Logam Berat Cd dan Pb Skala Laboratorium. *Bioma*, 16(2):102-113.
- Saghali, M., R. Baqraf, P.N. Manavi, S.A. Hosseini & R. Patymar, 2013. Assignment of Concentration of Heavy Metals (Cr, Zn, Cd, Pb) in Sediments of Gorgan Bay and South East TheCaspian Sea (Golestan Province-Iran) 2010-2011. *Environment and Ecology Research*, 1(2):27-31.
- Sasmita, A.E., A.S. Mubarak & B.S. Rahardja, 2012. Pengaruh Konsentrasi Pupuk Daun Turi (*Sesbania grandiflora*) terhadap Populasi *Chaetoceros* sp. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Airlangga, Surabaya.
- Shanab, S., A. Essa & E. Shalaby, 2012. Bioremoval Capacity of Three Heavy Metals by Some Microalgae Species (Egyptian Isolates). *Plant Signaling & Behavior*, 7(3):1-8.
- Shin, M.-Y., Y.-E. Cho, C. Park, H.-Y. Sohn, J.-H. Lim & I.-S. Kwun, 2013. The Contents of Heavy Metals (Cd, Cr, As, Pb, Ni, and Sn) in the Selected Commercial Yam Powder Products in South Korea. *Preventive Nutrition and Food Science*, 18(4):249-255.
- Syahputra, B., 2012. Pemanfaatan Algae *Chlorella pyrenoidosa* untuk Menurunkan Tembaga (Cu) pada Industri Pelapisan Logam. *Jurnal Lingkungan Sultan Agung*, 2(2):1-9.
- Syaifulah, M., Y.A. Candra, A. Soegianto & B. Irawan, 2018. Kandungan Logam Non Esensial (Pb, Cd dan Hg) dan Logam Esensial (Cu, Cr dan Zn) pada Sedimen di Perairan Tuban, Gresik dan Sampang Jawa Timur. *Jurnal Kelautan*, 11(1):69-74.
- Teoh, M. & S. Wong, 2018. Influence of Lead on Growth and Physiological Characteristics of A Freshwater Green Alga *Chlorella* sp. *Malaysia Journal of Science*, 37(2):82-93.
- Widianingsih, R. Hartati, H. Endrawati & M. Hilal, 2011. Kajian Kadar Total Lipid dan Kepadatan *Nitzschia* sp. yang Dikultur dengan Salinitas yang Berbeda. *Metana*, 7(1):29-37.
- Widiatmono, B.R., F. Anugroho & F.A.T. Munaf, 2018. Pengaruh Kepadatan Mikroalga *Chlorella* sp. terhadap Bioremediasi Logam Krom pada Limbah Cair Industri Penyamakan Kulit. *Jurnal Sumberdaya Alam dan Lingkungan*, 5(3):6-14.
- Wulandari, R., A. Dharma & Syafrizayanti, 2019. Pengaruh Pemberian Variasi pH terhadap Produksi Trigliserida Total dan Komposisi Asam Lemak dari *Chlorella vulgaris* Air Tawar. *Jurnal Riset Kimia*, 10(2):66-74.
- Ziller, A. & L.M. Fraissinet-Tachet, 2018. Metallothionein Diversity and Distribution in The Tree of Life: A Multifunctional Protein. *Metallomics*, 10:1549-1559.