

UJI AKUMULASI LOGAM TIMBAL (Pb) MENGGUNAKAN *Chlorella* sp.

SKRIPSI

Oleh:
DYTA KURNIAWATININGRUM
NIM. 14620003



JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN) MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2019

UJI AKUMULASI LOGAM TIMBAL (Pb) MENGGUNAKAN *Chlorella* sp.

SKRIPSI

**Diajukan Kepada: Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang untuk
Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam Memperoleh
Gelar Sarjana Sains (S. Si)**

**Oleh:
DYTA KURNIAWATININGRUM
NIM. 14620003**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN) MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2019**

UJI AKUMULASI LOGAM TIMBAL (Pb) MENGGUNAKAN *Chlorella* sp.

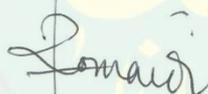
SKRIPSI

Oleh:

**DYTA KURNIAWATININGRUM
NIM. 14620003**

**telah diperiksa dan disetujui untuk diuji
tanggal: 25 April 2019**

Dosen pembimbing I,



**Romaidi, M. Si, D. Sc
NIP. 19810201 200901 1 019**

Dosen pembimbing II,



**M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I
NIPT. 201402011409**

**Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi**




**Romaidi, M. Si, D. Sc
NIP. 19810201 200901 1 019**

UJI AKUMULASI LOGAM TIMBAL (Pb) MENGGUNAKAN *Chlorella* sp.

SKRIPSI

Oleh:
DYTA KURNIAWATININGRUM
NIM. 14620003

telah dipertahankan
di depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima sebagai
salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal : 25 April 2019

| | | |
|---------------------|--|---------|
| Penguji Utama: | Dr. Evika Sandi Savitri, M.P NIP. 19741018 200312 2 002 | (.....) |
| Ketua Penguji: | Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si NIP. 19650509 199903 2 002 | (.....) |
| Sekretaris Penguji: | Romaidi, M. Si, D.Sc NIP. 19810201 200901 1 019 | (.....) |
| Anggota Penguji: | M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I NIPT. 201402011409 | (.....) |

Mengesahkan,
Ketua Jurusan Biologi



Romaidi
Romaidi, M.Si, D.Sc
NIP. 19810201 200901 1 019

HALAMAN PERSEMBAHAN

Assalamualaikum, Wr. Wb

Saya sembah puji syukur kita panjatkan kepada kehadirat Allah SWT yang mana dengan rahmat, hidayah-Nya, karunia-Nya yang masih memberikan kesempatan kepada saya untuk mengabdikan kepada-Nya, berfikir, berdzikir dan beramal shaleh yang merubah diri saya menjadi lebih baik lagi dan lagi dimasa depan. Shalawat serta salam saya haturkan kepada Baginda Rasulullah SAW yang telah membawa umatnya ke zaman pencerahan yang penuh keridhoan.

Saya persembahkan karya ini kepada orang-orang yang sangat saya cintai yaitu keluarga terutama kedua orang tua, yang selalu memberi dukungan sampai saat ini, hingga pendidikan yang saya tempuh selesai hingga saya bias menyelesaikan penulisan skripsi.

Saya persembahkan juga karya ini kepada orang tua, teman-teman, tim 14 (Zulfikar dan Anida) dan Mifta yang telah membantu saya dalam penelitian ini, serta kepada *Ecology Research and Adventure Team* (Izzah, Farhan, Dika, Mbak Lailatul, Riza, Rizqu dan yang lainnya) sahabat-sahabat saya seperjuangan, Rifki, Hari, Rina, Ely, Yoda, Eva, Nurul, Ajeng, Mey Woelan, Kromosom A dan Telomer 2014 yang menjadi penyemangat saya dalam menyelesaikan skripsi.

Wassalamualaikum, Wr. Wb

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Dyta Kurniawatiningrum

NIM : 14620003

Jurusan : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Skripsi : Uji Akumulasi Logam Timbal (Pb) Menggunakan
Chlorella sp.

menyatakan dengan sebenarnya bahwa tugas akhir/skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan tugas akhir/skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 25 April 2019
Yang membuat pernyataan,



Dyta Kurniawatiningrum
NIM. 14620003

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.



UJI AKUMULASI LOGAM TIMBAL (Pb) MENGGUNAKAN *Chlorella* sp.**ABSTRAK**

Dyta Kurniawatiningrum., Romaidi., M. Mukhlis Fahrudin

Pencemaran lingkungan yang diakibatkan oleh logam berat timbal tidak hanya berdampak pada ekosistem perairan saja, tetapi juga dapat memberi efek toksik pada kesehatan manusia. Untuk mengatasi masalah pencemaran timbal ini dapat dilakukan dengan menggunakan teknologi bioremediasi menggunakan mikroorganisme, salah satunya adalah mikroalga *Chlorella* sp. Tujuan dalam penelitian ini untuk mengetahui pengaruh konsentrasi logam timbal yang berbeda terhadap pertumbuhan *Chlorella* sp., kemampuan *Chlorella* sp. dalam mengakumulasi konsentrasi timbal yang berbeda, dan mengetahui perubahan warna morfologi pada organel sel *Chlorella* sp. yang mengakumulasi logam timbal tersebut. Rancangan penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap dengan 5 perlakuan (0, 10, 20, 50, dan 100ppm) dengan 3 kali ulangan. Media ekstrak taugé digunakan untuk kultur *Chlorella* sp. Pengamatan pertumbuhan *Chlorella* sp. dilakukan selama 10 hari kemudian dilanjutkan uji analisis AAS dalam mengetahui akumulasi logam timbal oleh *Chlorella* sp. dan analisis secara mikroskopis dalam melihat perubahan warna morfologi *Chlorella* sp. yang dapat mengakumulasi logam timbal. Pengaruh konsentrasi logam timbal yang berbeda terhadap pertumbuhan *Chlorella* sp. dan akumulasi logam timbal dianalisis dengan *Anova* dilanjutkan dengan uji dengan uji BNT signifikansi 95%. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian konsentrasi logam timbal yang berbeda menyebabkan penurunan pertumbuhan *Chlorella* sp., dimana semakin tinggi konsentrasi logam timbal yang diberikan terhadap kultur sel *Chlorella* sp., menyebabkan semakin rendah pertumbuhan sel *Chlorella* sp. *Chlorella* sp. mampu mengakumulasi logam timbal sampai pada konsentrasi 100ppm sebesar 41,45%. Pemberian konsentrasi logam timbal yang berbeda menyebabkan indikator perubahan warna morfologi pada organel sel *Chlorella* sp. Oleh karena itu, *Chlorella* sp. berpotensi untuk dapat dimanfaatkan sebagai agen bioremediasi logam berat salah satunya logam timbal.

Kata kunci: *bioremediasi, media ekstrak taugé, Chlorella sp., logam timbal, pertumbuhan, bioakumulasi, morfologi*

ACCUMULATION TEST OF LEAD METAL (Pb) by USING *Chlorella sp.***ABSTRACT**

Dyta Kurniawatiningrum., Romaidi., M. Mukhlis Fahrudin

Environmental pollution that is caused by lead heavy metals not only affects the aquatic ecosystem, but also can have a toxic effect on human health. To solve the problem of lead pollution can use bioremediation technology by using microorganisms, one of which is microalgae of *Chlorella sp.* The purpose of the research is to determine the effect of different lead metal concentrations against the growth of *Chlorella sp.*, the ability of *Chlorella sp.* in accumulating different lead concentrations, and determine morphological color changes in *Chlorella sp.* cell organelles which accumulate lead metal. The design of the research used a completely randomized design with 5 treatments (0, 10, 20, 50, and 100 ppm) with 3 replications. Bean sprouts extract media was used for *Chlorella sp.* culture. Observation of the growth of *Chlorella sp.* was carried out for 10 days then followed by the AAS analysis test to determine the accumulation of lead metal by *Chlorella sp.* and microscopic analysis to see the morphological discoloration of *Chlorella sp.* which can accumulate lead metal. The effect of different lead metal concentrations on the growth of *Chlorella sp.* and the accumulation of lead metal was analyzed by ANOVA followed by BNT test with 95% significance. Based on the results of the research, it can be concluded that the administration of different lead metal concentrations causes a decrease in the growth of *Chlorella sp.*, the higher in the concentration of lead metal that is given to cell culture of *Chlorella sp.* *Chlorella sp.* is able to accumulate lead metal till a concentration of 100 ppm, namely 41.45%. Giving different lead metal concentrations causes an indicator of morphological color change in *Chlorella sp.* cell organelles. Therefore, *Chlorella sp.* has potential to be used as a bioremediation agent for heavy metals; one of it is lead metal.

Keywords: bioremediation, bean sprout extract media, *Chlorella sp.*, Lead metal, growth, bioaccumulation, morphology

اختبار تراكم المعادن الرصاص (Pb) باستخدام *Chlorella sp.*

ملخص البحث

ديتا كورنياواتي نغروم، رميدي، محمد مخلص فخر الدين

التلوث البيئي الذي يسبب عن المعادن الثقيلة الرصاص لايؤثر على النظام البيئي المائي فقط، ولكن يكون له أيضًا تأثير سام على صحة البشر. للتغلب على هذه المشكلات يمكن أن يستخدم تقنية المعالجة البيولوجية باستخدام الكائنات الحية الدقيقة، واحد من الطحالب الصغيرة *Chlorella sp.* الأهداف هذا البحث هي لتحديد تأثير تراكيز معادن الرصاص المختلفة على نمو *Chlorella sp.*، قدرة *Chlorella sp.* في تراكيز تركيزات الرصاص المختلفة، ومعرفة تغيرات اللون المورفولوجية في عضيات خلايا *Chlorella sp.* الذي يتراكم المعادن الرصاص. استخدم تصميم هذا البحث تصميمًا عشوائيًا كاملاً مع 5 علاجات (0، 10، 20، 50، و 100 جزء في المليون) مع 3 مكررات. وسيلة الاستخراج لبرعم الفاصوليا الوسطي يستخدم لثقافة *Chlorella sp.* مراقبة نمو *Chlorella sp.* نفذت لمدة 10 أيام، ثم تبعها اختبار تحليل AAS لتحديد تراكم معادن الرصاص بواسطة *Chlorella sp.* والتحليل مجهرًا في رؤية تلون المورفولوجية *Chlorella sp.* الذي يمكن أن يتراكم المعادن الرصاص. تأثير تركيزات المعادن الرصاص المختلفة على نمو *Chlorella sp.* حلل تراكم المعادن الرصاص بواسطة أنوفا الذي يتبع باختبار BNT بالأهمية 95%. بناء على نتائج البحث أن إعطاء تركيزات مختلفة من معادن الرصاص يؤدي إلى انخفاض في نمو *Chlorella sp.*، و أعلى التركيزات من معادن الرصاص في ثقافة الخلية *Chlorella sp.* تسبب إلى انخفاض في نمو الخلايا *Chlorella sp.* يقدر *Chlorella sp.* على تجميع المعادن الرصاص إلى تركيز 100 جزء في المليون بنسبة 41.45%. يؤدي إعطاء تركيزات مختلفة من المعادن الرصاص إلى حدوث تغير في الشكل المورفولوجي في عضيات خلايا *Chlorella sp.* لذلك، *Chlorella sp.* له إمكانية الذي يستخدم كعامل علاج حيوي المعادن الثقيلة، يعنى معادن الرصاص.

الكلمات الرئيسية: المعالجة البيولوجية، وسيلة الاستخراج لبرعم الفاصوليا، *Chlorella sp.*، معادن الرصاص، النمو، التراكم الأحيائي، المورفولوجي

MOTTO

“Boleh jadi kamu membenci sesuatu, padahal ia amat baik bagi kamu. Dan boleh jadi kamu mencintai sesuatu, padahal ia amat buruk bagi kamu. Allah Maha mengetahui sedangkan kamu tidak mengetahui” (Al-Baqarah: 216).

“Happiness is not something you postpone for the future, it is something you design for the present” (Jim Rohn).



KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah yang telah dilimpahkan-Nya sehingga skripsi dengan judul “Uji Akumulasi Logam Timbal (Pb) Menggunakan *Chlorella* sp.” ini dapat diselesaikan dengan baik. Sholawat serta salam semoga tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW yang telah mengantarkan manusia ke jalan kebenaran.

Penyusunan skripsi ini tentu tidak lepas dari bimbingan, bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. Abdul Haris, M. Ag, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M. Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Romaidi, M. Si, D. Sc selaku Ketua Jurusan Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Romaidi, M. Si, D. Sc dan M. Muhlis Fahrudin, M.S.I, selaku dosen pembimbing yang dengan penuh keikhlasan, dan kesabaran telah memberikan bimbingan, pengarahan dan motivasi dalam penyusunan skripsi ini.
5. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P, dan Dr. Hj. Ulfah Utami, M, Si selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran yang membangun sehingga membantu terselesainya skripsi ini.
6. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si, selaku dosen wali yang telah memberikan saran, nasehat dan dukungan sehingga penulisan skripsi dapat terselesaikan.

7. Bapak Drs. M. Fatoni, M.S dari Balai Penelitian dan Konsultasi Industri (BPKI) Surabaya, Jawa Timur yang telah membantu saya dalam konsultasi dan evaluasi dalam penulisan skripsi ini.
8. Kedua orang tua dan seluruh keluarga tercinta yang senantiasa memberikan do'a dan restunya kepada penulis dalam menuntut ilmu.
9. Teman-teman semua terima kasih atas semua dukungannya dalam membantu menyelesaikan skripsi ini baik berupa materil maupun non materil.
10. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberi manfaat bagi penulis khususnya, dan bagi para pembaca pada umumnya. Semoga Allah Subhanahu wa Ta'ala senantiasa memberikan ilmu yang bermanfaat dan melimpahkan Rahmat dan Ridho-Nya. Amin.

Malang, 6 Maret 2019

Penulis

DAFTAR ISI

| | |
|---|-------|
| HALAMAN JUDUL..... | ii |
| HALAMAN PERSETUJUAN..... | iii |
| HALAMAN PENGESAHAN..... | iv |
| HALAMAN PERSEMBAHAN | v |
| HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN | vi |
| HALAMAN PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI..... | vii |
| ABSTRAK | viii |
| ABSTRACT | ix |
| مستخلص البحث..... | x |
| MOTTO | xi |
| KATA PENGANTAR | xii |
| DAFTAR ISI..... | xiv |
| DAFTAR TABEL..... | xvi |
| DAFTAR GAMBAR | xvii |
| DAFTAR LAMPIRAN..... | xviii |
| | |
| BAB I PENDAHULUAN | |
| 1.1 Latar belakang..... | 1 |
| 1.2 Rumusan masalah..... | 7 |
| 1.3 Tujuan penelitian..... | 7 |
| 1.4 Hipotesis penelitian..... | 8 |
| 1.5 Manfaat penelitian..... | 8 |
| 1.6 Batasan masalah..... | 9 |
| | |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA | |
| 2.1 Kajian pemanfaatan mikroalga dengan bioremediasi logam berat dalam pandangan islam..... | 11 |
| 2.2 Deskripsi mikroalga <i>Chlorella</i> sp. | 13 |
| 2.2.1 Klasifikasi <i>Chlorella</i> sp. | 13 |
| 2.2.2 Habitat <i>Chlorella</i> sp..... | 13 |
| 2.2.3 Karakteristik <i>Chlorella</i> sp..... | 14 |
| 2.2.4 Struktur morfologi dan ultrastruktur <i>Chlorella</i> sp. | 15 |
| 2.2.5 Reproduksi <i>Chlorella</i> sp. | 18 |
| 2.2.6 Fase pertumbuhan populasi <i>Chlorella</i> sp..... | 19 |
| 2.3 Deskripsi logam timbal (Pb) | 21 |
| 2.4 Pencemaran dan toksisitas timbal (Pb) | 23 |
| 2.5 Bioremediasi | 25 |
| 2.6 Pemanfaatan mikroalga dalam bioremediasi logam berat | 26 |
| 2.7 Mekanisme <i>Chlorella</i> sp dalam akumulasi logam timbal..... | 28 |
| | |
| BAB III METODE PENELITIAN | |
| 3.1 Jenis dan rancangan penelitian..... | 32 |
| 3.2 Waktu dan tempat penelitian..... | 32 |
| 3.3 Alat dan bahan penelitian..... | 32 |
| 3.3.1 Alat..... | 32 |

| | |
|--|----|
| 3.3.2 Bahan | 33 |
| 3.4 Prosedur penelitian..... | 33 |
| 3.4.1 Sterilisasi alat dan bahan..... | 33 |
| 3.4.2 Pembuatan media ekstrak tauge..... | 34 |
| 3.4.3 Kultur <i>Chlorella</i> sp | 35 |
| 3.4.4 Uji pengaruh perbedaan konsentrasi logam timbal terhadap pertumbuhan <i>Chlorella</i> sp. | 35 |
| 3.4.5 Uji kemampuan <i>Chlorella</i> sp. dalam mengakumulasi konsentrasi logam timbal yang berbeda di <i>Atomic Absorption Spectrophotometer</i> (AAS) | 37 |
| 3.4.6 Uji perubahan warna morfologi di dalam organel sel <i>Chlorella</i> sp. yang mengakumulasi logam timbal secara mikroskopis | 39 |
| 3.5 Analisa data..... | 39 |
| 3.6 Analisis integrasi islam dan sains | 39 |
| BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN | |
| 4.1 Pengaruh perbedaan konsentrasi logam timbal terhadap pertumbuhan populasi sel <i>Chlorella</i> sp..... | 40 |
| 4.2 Uji kemampuan <i>Chlorella</i> sp. dalam mengakumulasi konsentrasi logam timbal yang berbeda | 53 |
| 4.3 Perubahan warna morfologi di dalam organel sel <i>Chlorella</i> sp. yang mengakumulasi logam timbal..... | 59 |
| 4.4 Dialog hasil penelitian dalam integrasi sains dan islam..... | 66 |
| BAB V PENUTUP | |
| 5.1 Kesimpulan | 73 |
| 5.2 Saran..... | 73 |
| DAFTAR PUSTAKA | 74 |
| LAMPIRAN-LAMPIRAN | 84 |

DAFTAR TABEL

| No | Judul | Halaman |
|-----|--|---------|
| 4.1 | Persentase bioakumulasi ion logam timbal (Pb) oleh <i>Chlorella</i> sp | 41 |



DAFTAR GAMBAR

| No | Judul | Halaman |
|-----|--|---------|
| 2.1 | Sel <i>Chlorella</i> sp..... | 15 |
| 2.1 | Fase yang berbeda dari pembentukan dinding sel anak di <i>Chlorella vulgaris</i> | 18 |
| 2.3 | Fase-fase pertumbuhann <i>Chlorella</i> sp..... | 21 |
| 2.4 | Peyerapan ion logam..... | 29 |
| 3.1 | Pembacaan pada <i>Haemacytometer</i> | 37 |
| 4.1 | Kepadatan populasi sel <i>Chlorella</i> sp. selama 10 hari pada variasi konsentrasi logam timbal (Pb) | 44 |
| 4.2 | Rata-rata pertumbuhan <i>Chlorella</i> sp. (mg/l) selama 10 hari dengan konsentrasi timbal (Pb) yang berbeda. Notasi huruf yang berbeda pada gambar menunjukkan adanya perbedaan signifikan antar perlakuan ($P < 0.05$)..... | 49 |
| 4.3 | Rata-rata bioakumulasi timbal (Pb) oleh <i>Chlorella</i> sp. (mg/l) dengan konsentrasi Pb yang berbeda selama 10 hari. Notasi huruf yang berbeda pada gambar menunjukkan adanya perbedaan signifikan antar perlakuan ($P < 0,05$)..... | 53 |
| 4.4 | Karakteristik perubahan warna pada sel <i>Chlorella</i> sp. dengan konsentrasi berbeda secara mikroskopis dengan perbesaran 40x dan literatur menggunakan mikroskop transmisi elektron (TEM) | 60 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | |
|---|----|
| 1. Diagram alir | 84 |
| 2. Perhitungan | 86 |
| 3. Kepadatan populasi sel <i>Chlorella</i> sp. pada konsentrasi logam timbal (Pb) | 88 |
| 4. Perhitungan ANAVA tentang kemampuan pertumbuhan <i>Chlorella</i> sp. terhadap konsentrasi logam timbal (Pb)..... | 89 |
| 5. Nilai absorbansi akumulasi <i>Chlorella</i> sp. dengan AAS..... | 91 |
| 6. Perhitungan ANAVA tentang akumulasi logam timbal (Pb) oleh <i>Chlorella</i> sp | 92 |
| 7. Dokumentasi | 94 |

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi telah meningkatkan tumbuhnya berbagai macam industri, terutama dikota-kota besar (Kumar, 2004; Direktorat Jendral Kelautan, 2009). Dampak dari pertumbuhan industri ini adalah munculnya permasalahan baru terutama produk samping berupa limbah. Peningkatan volume limbah merupakan sumber utama pencemaran di lingkungan. Industri kimia, yang menggunakan bahan kimia dalam produk umumnya dapat menghasilkan limbah dalam jumlah sangat besar, dan umumnya berakhir di lingkungan. Hal ini menyebabkan gangguan seperti kualitas air dan menyebabkan pencemaran air pada perairan (Kumar, 2004).

Pencemaran air merupakan suatu peristiwa dimasukkannya atau masuknya zat, energi dan/atau komponen lain ke dalam air oleh aktivitas kegiatan manusia, sehingga kualitas air menurun sampai ke tingkat tertentu yang menyebabkan air tidak dapat berfungsi sesuai dengan peruntukannya (Perpem RI No. 82, 2001). Pencemaran air terjadi akibat pembuangan limbah hasil pabrik seperti logam, yang dibuang oleh industri di perairan (danau, laut dan sungai) ataupun udara, yang akhirnya menyebar ke lingkungan (Hirt & Shinozaki, 2004). Pencemaran air menimbulkan kerusakan oleh aktivitas manusia pada penggunaannya yang terjadi di muka bumi dengan dampak yang ditimbulkannya dalam setiap kegiatannya yang sesuai dalam QS. Ar Rum ayat 41, firman Allah SWT:

ظَهَرَ الْفَسَادُ فِي الْبَرِّ وَالْبَحْرِ بِمَا كَسَبَتْ أَيْدِي النَّاسِ لِيُذِيقَهُمْ بَعْضَ الَّذِي عَمِلُوا لَعَلَّهُمْ
يَرْجِعُونَ ٤١

Artinya: “Telah nampak kerusakan di darat dan di laut disebabkan karena perbuatan tangan manusia, supaya Allah merasakan kepada mereka sebahagian dari (akibat) perbuatan mereka, agar mereka kembali (ke jalan yang benar)”.

Ayat di atas menunjukkan bahwa Allah SWT. menyampaikan agar manusia menjaga keseimbangan ekosistem beserta isinya untuk memanfaatkan dan menjaga sumber daya alam dengan sebaik-baiknya dengan melestarikan lingkungan tanpa harus merusaknya. Kerusakan alam ditimbulkan adanya setiap kegiatan yang dilakukan oleh perilaku manusia yang tidak semestinya. Perbuatan ini menimbulkan kerusakan yang mengganggu keseimbangan ekosistem yang berada di darat maupun di laut (Yusuf, 2000). Hal ini memicu pada permasalahan yang terjadi di lingkungan seperti pencemaran logam akibat perbuatan manusia yang membuang limbah industri dan rumah tangga, sehingga menyebabkan pencemaran air yang merusak keseimbangan ekosistem di perairan. Logam berat didefinisikan sebagai logam dengan densitas, berat atom atau nomor atom yang tinggi dan sangat elektronegatif. Salah satu logam berat adalah timbal yang mempunyai densitas $11,34 \text{ g/cm}^3$, berat atom $207,2 \text{ g/mol}$, dan nomor atomnya 82 (Hirt & Shinozaki, 2004).

Logam timbal merupakan logam berat berwarna kelabu dan beracun (Fardiaz, 1992; Palar, 1994). Sumber timbal yang terdapat di lingkungan dapat dihasilkan oleh industri dan kendaraan bermotor. Pada industri seperti cat, baterai, bahan bakar dan masih banyak lainnya (Singh, 2005). Pada kendaraan bermotor seperti pemakaian bahan bakar yang digunakan, emisi debu dan gas yang dikeluarkan dari knalpot (Hirt & Shinozaki, 2004).

Berbagai upaya telah dilakukan untuk mengatasi masalah logam timbal, baik menggunakan proses secara fisik, kimia maupun biologi. Proses secara fisik

untuk mengatasi pencemaran timbal dilakukan dengan cara sedimentasi, sementara dengan cara kimiawi yakni dengan pengendapan atau presipitasi (Sudarja & Caroko, 2012). Adapun secara biologis, pencemaran timbal diatasi dengan memanfaatkan tumbuhan dan mikroorganisme, seperti pemanfaatan bakteri, jamur dan mikroalga (Tosepu, 2012).

Beberapa jenis dari mikroalga yaitu *Chlorella* sp, dilaporkan dapat meminimalisir kandungan ion logam berat di lingkungan, seperti timbal (Purnamawati, *et al.*, 2013; Mazidah, 2014; Purnamawati, *et al.*, 2015; Goher, *et al.*, 2016; Soeprbowati dan Hariyati, 2017; Dewi dan Nuravivah, 2018), kadmium (Soeprbowati dan Hariyati 2017), dan tembaga (Soeprbowati dan Hariyati, 2012), serta dapat mengakumulasi dalam selnya yang lebih lanjut disebut dengan dengan proses bioremediasi. Bioremediasi adalah proses penghilangan atau mengikat polutan (bahan pencemar) seperti logam berat timbal yang terdapat dalam lingkungan dengan bantuan organisme seperti tumbuhan dan mikroorganisme (alga, bakteri dan jamur) (Waluyo, 2018).

Kriteria organisme yang digunakan untuk proses remediasi adalah memiliki kecepatan tumbuh, mudah dipelihara, mempunyai toleransi tinggi terhadap polutan dan mampu meremediasi lebih dari satu jenis polutan (Waluyo, 2018). Menurut Nakayama (1992) *Chlorella* sp. mudah dibudidayakan dan mudah berkembang biak dengan cepat. Berdasarkan penelitian Purnamawati, *et al.* (2013) menyatakan bahwa *Chlorella vulgaris* merupakan bioakumulator logam timbal yang lebih baik daripada kadmium. Didukung pada Purnamawati, *et al.* (2015) bahwa *Chlorella vulgaris* tergolong akumulator logam, dimana mikroorganisme yang dapat menyerap beberapa logam berat ke dalam tubuh selnya.

Berdasarkan penelitian Liang, et al. (2017) menyatakan *Chlorella sorokiniana* menunjukkan toleransi yang tinggi terhadap timbal dibandingkan dengan tembaga dan kadmium. Analisis distribusi timbal yang terakumulasi di dinding sel ganggang sebesar 73,40% hingga 98,15%. Hal ini didukung penelitian Soeprbowati dan Hariyati (2012) bahwa *Chlorella* sp. memiliki populasi tertinggi pada perlakuan timbal dan mengurangi konsentrasi logam berat pada media kultur sebesar 90%. Didukung pula dengan penelitian Goher, et al. (2016) menyatakan *Chlorella vulgaris* mampu menghilangkan logam timbal sebesar 99,4% dari larutan campuran 50mg dm⁻³. Selain itu, *Chlorella pyrenoidosa* pula memiliki kinerja yang sangat baik pada penghilangan logam Pb dan Cd lebih dari 80% dan memiliki *Bio Concentration Factor* (BCF) lebih tinggi daripada *Arthrospira platensis* dan *Chaetoceros calcitrans*.

Chlorella sp. mampu hidup di media ekstrak taube menurut Imelda et al., (2018) bahwa penambahan ekstrak taube mampu mendorong pertumbuhan mikroalga *Chlorella* sp. pada hari ke-1 hingga hari ke-3 dengan kerapatan sebesar $7,4 \times 10^8$ sel/mL. Namun, menurut Prihantini et al. (2005) bahwa nilai derajat keasaman (pH) awal medium ekstrak taube berpengaruh pada kerapatan sel *Chlorella* sp. tertinggi saat *peak* (puncak) sebesar 5.677.625 sel/mL dengan pH 7 pada pengamatan hari ke-10. Pada uji pendahuluan selama empat hari, kepadatan sel *Chlorella* sp. mencapai $48,5 \times 10^5$ sel/ml.

Berdasarkan penelitian Simamora, et al. (2017) bahwa laju pertumbuhan mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* mengalami kenaikan pada kepadatan selnya pada hari pertama dan menurun pada hari kedua, setelah itu mengalami sedikit kenaikan pada hari keempat, namun pada hari kelima hingga hari kesepuluh

mengalami penurunan kepadatan selnya yang menunjukkan mikroalga tersebut mendekati fase kematian. Berdasarkan penelitian Hala, *et al.* (2012) bahwa secara alami pertumbuhan dari mikroalga akan menurun setelah mencapai kondisi yang optimum, karena jumlah nutrisi pada medium menurun dengan bertambahnya kepadatan mikroalga. Berdasarkan penelitian Carfagna, *et al.* (2013) bahwa paparan Pb ke alga dapat mengganggu laju pertumbuhan sel yang menyebabkan penurunan tingkat pertumbuhan selnya dalam menghambat laju pertumbuhan spesifik sel *Chlorella sorokiniana*. Penurunan pertumbuhan ini dapat berasal dari pengurangan aktivitas fotosintesis. Paparan timbal menurunkan total klorofil sel *Chlorella sorokiniana* sebesar 59% dalam 2 jam paparan hingga 77% setelah paparan 24 jam. Penelitian Shanab, *et al.* (2012) menyatakan logam timbal dengan konsentrasi 5-20mg/l akan meningkatkan pertumbuhan alga sedangkan 40-100mg/l akan menyebabkan pertumbuhan alga terhambat.

Logam timbal dengan variasi konsentrasi yang berbeda digunakan untuk melihat seberapa toleransi sel *Chlorella sp.*, dimana kisaran kondisi yang dapat ditahan oleh *Chlorella sp.* dalam mengakumulasi logam timbal dengan pengaruhnya yang sesuai Shanab, *et al.* (2012) selama 10 hari karena *Chlorella sp.* tidak dapat memproduksi selnya akibat kurangnya kandungan nutrisi pada media kultur yang sesuai pada Simamora, *et al.* (2017). Cara penyerapan logam berat ke sel *Chlorella sp.* terdapat dua macam proses yakni adsorpsi dan absorpsi. Proses pertama, adsorpsi merupakan proses penyerapan dan pengikatan ion logam pada dinding sel yang tersusun atas selulosa yang merupakan suatu polisakarida dan kelompok-kelompok fungsional (Crist, *et al.*, 1981; Volesky, 1990). Proses kedua, absorpsi merupakan proses penyerapan dan pengikatan ion,

dimana melibatkan energi yang bergantung pada penyerapan logam berat ke dalam interior sel (Wang, *et al.* 2010). Berdasarkan penelitian Dewi dan Nuravivah (2018) *Chlorella vulgaris* yang menyerap ion logam timbal dalam media kultur pada konsentrasi 5 ppm sebesar 0,5305 atau sebesar 4,4695.

Berdasarkan hasil penelitian Cahya (2015) bahwa *Chlorella* sp. mampu menurunkan nilai kandungan logam berat Cr dan Pb mencapai 90%. Berdasarkan penelitian Kurniawan dan Aunurohim (2014) bahwa hasil pengukuran efisiensi kapasitas penyerapan logam timbal meningkat pada waktu 60, 120, dan 180 menit berturut-turut sebesar 42,1%, 43,5% dan 43,8%; sedangkan pada konsentrasi 50mg/l terlihat menurun efisiensi kapasitas penyerapan berturut-turut sebesar 60,5%, 59,7% dan 54,8%.

Berdasarkan penelitian Kusuma dan Zulaika (2014) menyatakan logam kadmium yang berlebihan akan menyebabkan sel *Chlorella* sp. terganggu dan akhirnya mati dengan bentuk yang tidak utuh, pecah (lisis) dan berwarna pudar (bening) karena tidak mengandung kloroplas. Penelitian Goher, *et al.* (2016) menunjukkan bahwa morfologi *Chlorella vulgaris* yang menggunakan teknik *Scanning Electron Microscope* (SEM) menunjukkan perubahan morfologi setelah biosorpsi karena paparan logam Cd, Cu, dan Pb. Ia menjelaskan bahwa ion-ion logam berat diserap di situs aktif sel *Chlorella vulgaris*. Penelitian Shanab, *et al.* (2012) melaporkan bahwa penumpukan pati berlebihan disekitar pirenoid dan kerusakan organel sel alga yang terpapar logam Pb^{2+} .

Berdasarkan latar belakang di atas, maka penelitian ini difokuskan untuk mengetahui pengaruh pertumbuhan sel *Chlorella* sp., dan mengetahui kemampuan sel *Chlorella* sp., dalam menurunkan konsentrasi logam timbal dengan

konsentrasi berbeda. Di samping itu, dalam penelitian ini, keberadaan timbal dalam organel seperti pada dinding sel (Smith, *et al.*, 2013; Chandra, *et al.*, 2017), vakuola (Esser, 2007; Ashraf, *et al.*, 2010; Shanab, *et al.*, 2012), pirenoid (Shanab, *et al.*, 2012) dan kloroplas (Kusuma dan Zulaika, 2014) pada sel *Chlorella* sp. diamati dengan menggunakan mikroskop mikroskopis untuk mengetahui perubahan morfologi sel *Chlorella* sp. dalam mengakumulasi logam timbal. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang pemanfaatan *Chlorella* sp. dalam bioremediasi logam berat seperti timbal dan mengatasi toksisitasnya.

1.2 Rumusan masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Adakah pengaruh konsentrasi logam timbal yang berbeda terhadap pertumbuhan *Chlorella* sp.?
2. Bagaimanakah kemampuan *Chlorella* sp. dalam mengakumulasi konsentrasi timbal yang berbeda ?
3. Adakah perubahan morfologi pada organel sel *Chlorella* sp. yang mengakumulasi logam timbal?

1.3 Tujuan penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui pengaruh konsentrasi logam timbal yang berbeda terhadap pertumbuhan *Chlorella* sp.
2. Untuk mengetahui kemampuan *Chlorella* sp. dalam mengakumulasi konsentrasi timbal yang berbeda.

3. Untuk mengetahui perubahan warna morfologi pada organel sel *Chlorella* sp. yang mengakumulasi logam timbal.

1.4 Hipotesis penelitian

Hipotesis penelitian ini adalah:

1. Terdapat pengaruh konsentrasi logam timbal yang berbeda terhadap pertumbuhan *Chlorella* sp.
2. Terdapat kemampuan *Chlorella* sp. dalam mengakumulasi konsentrasi logam timbal yang berbeda.
3. Terdapat perubahan warna morfologi pada sel *Chlorella* sp. dalam mengakumulasi logam timbal dibagian organel seperti kloroplas dan pirenoid.

1.5 Manfaat penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah:

1. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi dan wawasan kepada pembaca mengenai pengaruh konsentrasi logam timbal yang berbeda terhadap pertumbuhan *Chlorella* sp.
2. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi dan wawasan kepada pembaca mengenai kemampuan *Chlorella* sp. dalam mengakumulasi konsentrasi logam timbal yang berbeda.
3. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi dan wawasan kepada pembaca mengenai perubahan warna morfologi pada organel sel *Chlorella* sp.

4. Hasil penelitian diharapkan dalam pengaplikasiannya untuk meminimalisir limbah logam timbal di area perairan baik perkotaan maupun industri, karena peran *Chlorella* sp. adalah sebagai salah satu bioremediator logam timbal.
5. Hasil penelitian diharapkan berguna bagi lembaga-lembaga lingkungan, akademis dan masyarakat yang terkait dalam hal meminimalisir limbah logam timbal di perairan (danau, sungai dan laut).

1.6 Batasan masalah

Adapun batasan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Media yang digunakan untuk kultivasi mikroalga *Chlorella* sp. adalah media ekstrak tauge (MET) 5% yang mengacu pada prosedur Prihantini *et al.* (2005); Prihantini, *et al.* (2007); dan Imelda *et al.* (2018).
2. *Chlorella* sp. yang digunakan dalam penelitian ini merupakan hasil sub kultur dari biakan murni yang diperoleh dari *Surfactant and Bioenergy Research Center* (SBRC) LPPM Institut Pertanian Bogor.
3. Logam timbal yang digunakan meliputi: 0 ppm, 10 ppm, 20 ppm, 50 ppm, dan 100 ppm yang mengacu pada Shanab, *et al.* (2012) dan edris, *et al.* (2013).
4. Untuk mengetahui pengaruh pemberian konsentrasi logam timbal yang berbeda terhadap pertumbuhan *Chlorella* sp. selama 10 hari yang mengacu pada Simamora, *et al.* (2017).
5. Untuk mengetahui kemampuan *Chlorella* sp. dalam mengakumulasi kandungan konsentrasi logam timbal yang berbeda dilakukan dengan menggunakan *Atomic Absorption Spectrofotometer* (AAS) di Balai Penelitian dan Konsultasi Industri Surabaya, Jawa Timur.

6. Untuk mengetahui perubahan warna morfologi pada organel sel *Chlorella* sp. yang mengakumulasi timbal dilakukan dengan menggunakan mikroskop inverted di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kajian pemanfaatan mikroalga dengan bioremediasi logam berat dalam pandangan islam

Kerusakan banyak terjadi di muka bumi seperti kerusakan lingkungan (daratan, lautan dan udara) akibat dari manusia yang tidak menjaga ekosistem lingkungan, seperti pencemaran logam (Hirt & Shinozaki, 2004). Maka dari itu perlu diadakan perbaikan dalam segala aspek untuk menanggulangi limbah industri dengan cara bioremediasi (Sikdar & Irvine, 1998). Manfaatnya adalah pengolahan dan/atau mengubah limbah menjadi ramah lingkungan (Nugroho & Rahayu, 2017). Adapun ayat yang menjelaskan perbaikan terhadap kerusakan-kerusakan yang ditimbulkan oleh manusia dengan memperbaikinya, agar meminimalisir dampak kerugian yang terdapat pada QS. Al Baqarah (2:11) berbunyi:

وَإِذَا قِيلَ لَهُمْ لَا تُفْسِدُوا فِي الْأَرْضِ قَالُوا إِنَّمَا نَحْنُ مُصْلِحُونَ ۝ ١١

Artinya: “Dan bila dikatakan kepada mereka: “Janganlah kamu membuat kerusakan di muka bumi”. Mereka menjawab: “Sesungguhnya kami orang-orang yang mengadakan perbaikan”.

Allah mempertegas dalam ayat di atas bahwa apabila orang-orang yang munafik tersebut diberi nasihat untuk meninggalkan perbuatan buruk. Karena perbuatan ini merupakan sumber kerusakan di muka bumi. Mereka mendustakannya dengan mengatakan bahwa mereka melakukan semua itu demi kebaikan dan manfaat untuk semua orang. Demikianlah sikap dan perilaku setiap orang yang bertindak kerusakan (Al-Qarni, 2007). Setiap kerusakan yang dilakukan oleh manusia harus memperbaikinya. Untuk meminimalisir dampak yang terjadi di lingkungan seperti menghilangkan limbah secara ramah

lingkungan. Salah satu caranya dengan bioremediasi dengan menggunakan mikroorganisme, seperti pemanfaatan fitoplankton atau mikroalga dalam mengatasi permasalahan lingkungan seperti limbah logam (Monteiro, *et al.*, 2010). Manusia mempunyai tanggung jawab moral tentang alam dan semua makhluk hidup, yang berada dibawah kekuasaanya dari ciptaan Allah seluruhnya. Artinya tidak bertindak mengeploitasi dan merusak alam semesta demi memenuhi kebutuhan pokok secara tidak terukur (Keraf, 2010). Mengelola bumi dengan rasa tanggung jawab untuk keharmonisan manusia dan alam terdapat pada QS. Al-An'am (6:165), Allah berfirman:

وَهُوَ الَّذِي جَعَلَكُمْ خَلَائِفَ الْأَرْضِ وَرَفَعَ بَعْضَكُمْ فَوْقَ بَعْضٍ دَرَجَاتٍ لِّيُبْلُوَكُمْ فِي مَا آتَاكُمْ إِنَّ رَبَّكَ سَرِيعُ الْعِقَابِ وَإِنَّهُ لَغَفُورٌ رَّحِيمٌ ١٦٥

Artinya: “Dan Dialah yang menjadikan kamu penguasa-penguasa di bumi dan Dia meninggikan sebahagian kamu atas sebahagian (yang lain) beberapa derajat, untuk mengujimu tentang apa yang diberikan-Nya kepadamu. Sesungguhnya Tuhanmu amat cepat siksaan-Nya dan sesungguhnya Dia Maha Pengampun lagi Maha Penyayang”.

Berdasarkan firmannya bahwa Allah memerintahkan rasul-Nya untuk menyampaikan sebagian kalian menggantikan sebahagian lainnya; apabila seseorang mati kemudian ia mewariskan, dan apabila yang mewarisi mati kemudian mewariskan kepada yang lain. Allah juga menjelaskan dalam firman-Nya ada yang kaya, ada juga yang miskin, cerdas dan bodoh. Kemudian Allah memberikan alasan untuk ketentuannya dalam firman-Nya untuk menguji kalian agar terlihat siapa yang bersyukur dan siapa yang kufur, dan setiap ujian pasti akan berakhir dengan keberhasilan ataupun kegagalan. Oleh karena itu, Allah menjelaskan dalam firman-Nya, maka Dia akan menyiksa siapa yang kafir, dan menyayangi siapa yang bersyukur (Hatim & Mukti, 2007). Manusia yang ditugaskan Allah sebagai khilafah, tidak sesuai apa yang dikehendaki oleh-Nya.

Kebanyakan manusia sebagai faktor perusak bumi melalui eksploitasi alam secara tidak bertanggung jawab. Eksploitasi bumi ini tidak hanya memenuhi kebutuhan yang sewajarnya tetapi untuk memenuhi kerakusan manusia (Abdullah, 2010).

2.2 Deskripsi mikroalga *Chlorella* sp.

2.2.1 Klasifikasi *Chlorella* sp.

Menurut Bold & Wynne (1985) klasifikasi dari *Chlorella* sp. yaitu:

Kingdom: Protista

Division: Chlorophyta

Class: Chlorophyceae

Order: Chlorococcales

Family: Oocystaceae

Genus: *Chlorella*

Species: *Chlorella* sp.

2.2.2 Habitat *Chlorella* sp.

Keberadaan *Chlorella* sp. berada di bumi sekitar 2.500.000.000 tahun lalu (Wirosaputro & Sumarlina, 2018). *Chlorella* sp. berada disetiap tempat seperti pada air tawar, air payau dan air laut. Beberapa spesies *Chlorella* sp. hidup sebagai simbiosis pada invertebrata seperti Hydra, Paramecium dan spons dan digambarkan sebagai Zoochlorella. Selain itu, *Chlorella* sp. juga bersimbiosis dengan lumut dan protozoa. Sel-sel *Chlorella* sp. ini memiliki kemampuan untuk melepaskan diri dari pencernaan. Zoochlorellae memanfaatkan pelepasan CO₂ selama respirasi jaringan hewan, berfotosintesis dan oksigen dilepaskan. Beberapa spesies umum *Chlorella* termasuk *C. vulgaris*, *C. variegata*, *C. lobophora*, *C.*

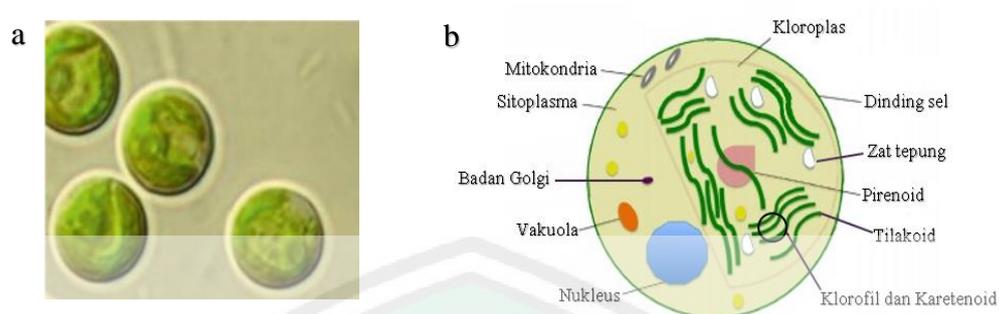
parasitica, *C. conglomerata*, dan *C. conductrix* (Sahoo & Seckbach, 2015; Posten & Chen, 2016).

2.2.3 Karakteristik *Chlorella* sp.

Nama genus *Chlorella* berasal dari kata Yunani "*Chloros*" (hijau) + "*ella*" (menit). *Chlorella* sp. adalah alga yang berwarna hijau yang sangat sederhana, mudah untuk dibudidayakan, tumbuh dengan cepat, ukurannya kecil, berbentuk bulat (*coccoloid*) dan berwarna hijau (Sahoo & Seckbach, 2015). *Chlorella* sp. memiliki ciri- ciri diantaranya hidup di perairan, organisme uniseluler, memiliki inti sejati, dan termasuk dalam golongan kelas Chlorophyceae (Wirosaputro & Sumarlini, 2018).

Chlorella sp. umumnya digunakan dalam penelitian fisiologis terutama dalam fotosintesis dan respirasi. Sel-sel ini kaya akan asam amino, mineral dan vitamin. Oleh karena itu, mikroalga ini memiliki nilai makanan yang sangat tinggi. Spesies *Chlorella* sp. mampu tumbuh secara autotropik, dan juga , dengan memanfaatkan glukosa sebagai sumber karbon organik (Sahoo & Seckbach, 2015). *Chlorella* sp. mendapatkan namanya karena tingginya jumlah klorofil didalamnya, hingga 10x lipat dari *Spirulina* sp., yang sangat tinggi dalam klorofil. Ciri khas lainnya adalah faktor pertumbuhan *Chlorella* sp. atau *Chlorella growth factor* (CGF), 3 persen dari sel *Chlorella* sp. bertanggung jawab atas kemampuannya untuk melipat gandakan kuantitas setiap dua puluh jam. *Chlorella* sp. merupakan alga terbaik untuk menarik logam berat dari sistem, seperti timbal, merkuri, kadmium, uranium dan arsenik (Cousens & Rainoshek, 2008).

2.2.4 Struktur morfologi dan ultrastruktur *Chlorella* sp.



Gambar 2.1. Sel *Chlorella* sp. (a) Sel *Chlorella* sp. dibawah mikroskop cahaya (Sahoo & Seckbach (2015)). (b) Ultrastruktur *Chlorella vulgaris* yang mewakili organel berbeda dengan modifikasi (Safi, *et al.*, 2014)

Chlorella vulgaris adalah jenis spesies dari genus yang pertama kali dijelaskan oleh M.W Beijerinck pada tahun 1890. Sel-sel tersebut non-motil, kecil berukuran diameter selnya berkisar 2-10 μm , ($1\mu = 0,001\text{mm}$), bulat ke ellipsoidal, soliter atau kadang-kadang dalam koloni kecil dengan bentuk tidak beraturan (Gambar 2.1.a) (Sahoo & Seckbach, 2015; Posten & Chen, 2016).

Ada tiga bentuk macam dari *Chlorella* sp. yaitu bulat, oval, dan bulat panjang (Wirosaputro & Sumarlina, 2018). *Chlorella* sp. memiliki banyak elemen struktural (organel) yang mirip dengan tumbuhan (Gambar 2.1.b). Setiap sel dikelilingi oleh dinding sel selulosa. Protoplas sel diapit oleh membran sel. *Chlorella* sp. memiliki kloroplas berbentuk cangkir yang terletak di sekeliling sitoplasma dan hadir dengan atau tanpa pirenoid (tempat penyimpanan cadangan makanan). Tilakoid-tilakoid terdapat pada tumpukan 2-6. Pati dan beberapa butiran kecil elektron padat menumpuk di antara tumpukan tilakoid. Sebuah nukleus tunggal terdapat diinti sitoplasma. Stigma dan vakuola kontraktil, retikulum endoplasma dan badan lipid terdapat di sitoplasma (Sahoo & Seckbach, 2015; Posten & Chen, 2016).

Organel-organel pada *Chlorella* sp. adalah sebagai berikut (Safi, *et al.*, 2014):

1. Dinding sel

Dinding sel pada *Chlorella* sp. sangat tipis, agak keras, padat dan tebal (Kuncoro, 2004). Dinding luar yang keras ini memiliki fungsi untuk melindungi dari berbagai kondisi lingkungan yang tidak baik atau mengalami cekaman (Kasim, 2016).

2. Sitoplasma

Sitoplasma merupakan bagian yang menyebar pada sel yang mengelilingi nukleus, organel-organel didalam sel, dan tempat gen untuk mengatur kehidupan. Sitoplasma merupakan zat seperti gel yang berada didalam pembungkus membran sel dan terdiri dari air, protein dan mineral larut. Sejumlah besar sitoplasma mengelilingi organel internal seperti mitokondria, nukleus, vakuola (Kuchitsu *et al.*, 1987), kloroplas dan badan golgi (Solomon, *et al.*, 1999).

3. Mitokondria

Mitokondria mengandung beberapa materi genetik, alat pernapasan, dan lapisan ganda, membran luar yang mengelilingi seluruh organel dan terdiri dari rasio protein dan fosfolipid yang sama. Namun demikian, membran bagian dalam terdiri tiga kali lebih banyak protein daripada fosfolipid; ini merupakan yang mengelilingi ruang internal yang disebut matriks, berisi sebagian besar protein mitokondria (Solomon, *et al.*, 1999).

4. Vakuola

Vakuola merupakan daerah-daerah yang bening atau jernih dan berada didalam sel. Vakuola mengandung air dan zat-zat yang terlarut. Vakuola berfungsi

sebagai tempat penyimpanan cairan dan garam, yang mengganggu proses-proses metabolisme dalam sitoplasma apabila tidak disimpan dalam vakuola. Vakuola juga berperan untuk mencegah akumulasi cairan dalam organisme yang hidup di air tawar (Fried & Hademenos, 2006).

5. Kloroplas, pirenoid dan tilakoid

Kloroplas tunggal dengan membran pembungkus ganda yang terdiri dari fosfolipid, membran luar *permeable* terhadap metabolit dan ion, tetapi membran dalam memiliki fungsi yang spesifik pada transpor protein. Kloroplas pada *Chlorella* sp. berbentuk bola berwarna hijau dan memiliki butir-butir pirenoid. Granula pati terdiri dari amilosan dan amilopektin yang terbentuk didalam kloroplas. Pirenoid mengandung kadar tinggi ribulose-1,5-bifosfat karboksilase oksigenase (RuBisCO) dan merupakan pusat fiksasi karbondioksida. Kloroplas menyimpan sekelompok tilakoid yang menyatu dengan pigmen klorofil yang dominan disintesis menutupi warna pigmen lain seperti lutein (Hoek, *et al.*, 1995). Klorofil merupakan zat yang menyebabkan warna hijau dan berbentuk mangkuk. Klorofil menangkap energi cahaya matahari untuk proses fotosintesis (Wirosaputro & Sumarlina, 2018). Karetonoid pada *Chlorella* sp. memiliki α -karoten, β -karoten, astaxantin, lutein, neoxantin dan zeaxantin (Kusmiati, *et al.*, 2010).

6. Aparatus golgi

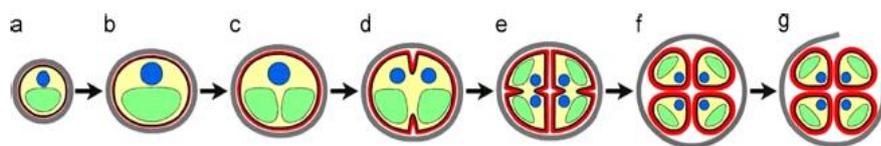
Apparatus golgi terdiri dari setumpuk kantong pipih yang tersusun dari membran seperti membran sel. Fungsi apparatus golgi adalah untuk transportasi protein keluar-masuk sel yang berasal dari luar sel, perbaikan membran sel, dan sekresi (Sumadi & Marianti, 2007; Juwono & Juniarto, 2012).

7. Nukleus

Bentuk nukleus *Chlorella* sp. menyerupai bentuk sel-nya yang berbentuk bulat dan terletak di inti sel. Nukleus memiliki fungsi utama yakni mengatur aktivitas setiap sel dalam melaksanakan dan pekerjaan sesuai fungsinya didalam sel. Fungsi lainnya nukleus adalah dalam pembentukan ribosom dengan cara perakitan protein dan r-RNA (Sumadi & Marianti, 2007; Juwono & Juniarto, 2012).

2.2.5 Reproduksi *Chlorella* sp.

Chlorella sp. bereproduksi secara eksklusif dengan aseksual yaitu, formasi autospora. Hubungan autospora haploid yang akhirnya berkembang menjadi sel dewasa yang tidak motil. *Chlorella* sp. bersifat non-motil dan tidak menghasilkan zoospora atau gamet, yaitu sel motil. Setiap sel menghasilkan pembelahan berturut-turut, 2, 4, 8 atau 16 anak protoplas. Setiap anak protoplas berputar untuk membentuk autospora (spora non-motil). Autospora ini lepas karena pecahnya dinding sel induk. Setiap autospora tumbuh menjadi individu baru (Sahoo & Seckbach, 2015). Gambar 2.2 menunjukkan fase berbeda dari pembentukan dinding sel anak di *Chlorella vulgaris*: (a) fase pertumbuhan sel awal; (b) fase pertumbuhan sel akhir; (c) fase pemisah kloroplas; (d) fase pemisah protoplas awal; (e) fase pemisah protoplas akhir; (f) fase pematangan sel anak, dan (g) fase penetasan (Yamamoto, *et al.*, 2005).



Gambar 2.2. Fase yang berbeda dari pembentukan dinding sel anak di *Chlorella vulgaris* dari Yamamoto, *et al.* (2005).

Siklus hidup *Chlorella* sp. menunjukkan bahwa tidak ada pergantian generasi yang berbeda. Empat fase telah dicatat dalam siklus hidup *Chlorella* sp.: (1) Fase pertumbuhan di mana autospora tumbuh lebih besar dalam ukuran. (2) Tahap matang ketika sel bersiap untuk pembelahan sel. (3) Sel mengalami pembelahan sel. (4) Dinding sel induk pecah dan melepaskan autospora (Sahoo & Seckbach, 2015). Jadi, *Chlorella* sp. mereproduksi dirinya sendiri melalui produksi autospora aseksual. Ketika dewasa, autospora secara simultan dilepaskan melalui pecahnya dinding sel induk. Jumlah autospora yang berasal dari sel induk tunggal dapat sangat bervariasi dari 2 hingga 16 (Posten & Chen, 2016).

2.2.6 Fase pertumbuhan populasi *Chlorella* sp.

Pertumbuhan *Chlorella* sp. mengikuti seperti pada Gambar 2.3, yang terdiri dari 6 fase meliputi: fase lag, fase akselerasi, fase logaritmik (*log phase*), fase deselerasi, fase stationer, dan fase kematian adalah sebagai berikut (Kabinawa, 2006).

1. Fase lag (adaptasi)

Fase ini merupakan fase inokulum yang baru dimasukkan ke dalam medium pengulturan dan mengalami proses penyesuaian diri (adaptasi) terhadap medium tumbuhnya. Proses ini berjalan sekitar 10 jam (Kabinawa, 2006) atau kurang dari 24 jam (Istirokhatun, *et al.*, 2017) setelah sel diinokulasikan. Fase ini akan berjalan dengan baik dan cepat tumbuhnya apabila sel inokulum dimasukkan ke dalam medium kultur harus sama dengan fase logaritmik (Kabinawa, 2006). Pada fase ini, konsentrasi substrat yang diperlukan untuk memenuhi pertumbuhan sel *Chlorella* sp. tersebut mampu mengalami proses adaptasi dengan masuknya unsur hara ke dalam sel melalui proses difusi (Lewaru, 2007). Fase pertumbuhan ini

merupakan fase dimana sel inokulum yang akan memanfaatkan nutrisi dalam medium tumbuh dan terjadi proses biosintesis sel. Sel yang mengalami proses biosintesis mampu tumbuh dan berproduksi menjadi lebih banyak dengan cara pembelahan.

2. Fase logaritmik (eksponensial)

Fase pertumbuhan ini merupakan fase dimana sel inokulum mengalami pembelahan maksimal yaitu menjadi dua kali lipat dari sebelumnya (*doubling time*, G). Pada fase ini merupakan perbanyakan sel, dimana jumlah sel berbanding lurus dengan proses fotosintesis dan proses biosintesis sel yang optimal. Fase ini terjadi sekitar 30-40 jam ke atas setelah pengulturan. Fase ini merupakan fase yang sangat tepat untuk memasukkan inokulum (biak) ke dalam medium pertumbuhan yang baru. Penelitian Istirokhatun, *et al.*, (2017) menunjukkan fase eksponensial pada hari ke-5 meningkatkan kepadatan sel rata-rata sekitar 9.850.00 sel/ml dengan penggunaan medium limbah cair tahu untuk pertumbuhannya.

3. Fase deselerasi atau deklinasi

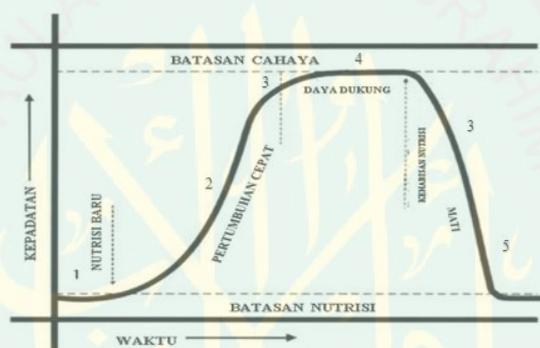
Fase ini merupakan fase pertumbuhan mulai terhambat dikarenakan keterbatasan medium pertumbuhan (habisnya nutrisi) mulai terjadi. Fase ini merupakan berkurangnya unsur hara seperti CO₂, N dan P, serta berkurangnya intensitas cahaya karena terjadi *self shading*, disebabkan oleh kultur yang memadat hingga menjadi seperti *self shading*. Lainnya seperti tidak meratanya pengocokan, pengendapan sel karena terhambatnya dan berkurangnya pembentukan oksigen, dan pH kultur yang meningkat.

4. Fase stasioner

Fase ini merupakan fase pertumbuhan sel inokulum konstan. Pada fase ini terjadi pertumbuhan maksimal pada konsentrasi biomassa. Namun, apabila konsentrasi parameter lainnya menunjukkan peningkatan atau penurunan (fluktuatif).

5. Fase kematian

Fase ini terjadi penurunan sel inokulum (sel *Chlorella* sp. menurun) secara drastis. Pada saat diamati dibawah mikroskop, sel-sel tampak pecah dan mati. Warna saat pada fase pertumbuhan adalah berwarna hijau lalu warna berubah menjadi hijau kekuningan dan memucat yang akhirnya mati.



Gambar 2.3. Fase-Fase Pertumbuhan *Chlorella* sp. (Kabinawa, 2006).

2.3 Deskripsi logam timbal (Pb)

Timbal dikenal dengan sebutan timah hitam (Palar, 1994), diberi lambang Pb dalam tabel periodik unsur, dari bahasa latin yaitu *plumbum*, dalam bahasa inggris yang dikenal dengan *lead* (Wikipedia, 2017). Timbal adalah logam berat yang lunak, bersifat beracun dan berwarna kelabu (Singh, 2005). Logam ini tergolong dalam kelompok IV-A pada tabel periodik unsur kimia. Logam ini memiliki nomor atom 82 dan 207,2 g/mol berat atom logamnya (Palar, 1994). Logam ini merupakan logam lunak, namun terasa sangat berat karena memiliki kepadatan. Kepadatan timbal lebih dari 11 kali lipat dari air dan sekitar 1,5 kali

dari logam biasa lainnya, seperti besi (Watt, 1958). Logam ini memiliki kelebihan tahan akan korosi, dan memiliki konduktivitas lemah (Sembel, 2015).

Logam timbal (Pb) memiliki sifat-sifat kimia yang khusus yang digunakan untuk berbagai macam keperluan antara lain sebagai berikut (Fardiaz, 1992; Palar, 1994):

1. Merupakan jenis logam yang lunak sehingga dapat dibentuk dengan mudah.
2. Mempunyai titik cair atau titik lebur rendah sekitar $327,5^{\circ}\text{C}$ sehingga apabila digunakan dalam bentuk cair maka dibutuhkan teknik yang sederhana dan tidak mahal.
3. Mempunyai sifat kimia tahan terhadap korosi atau karat, sehingga logam timbal digunakan sebagai bahan *coating* apabila kontak dengan udara lembab.
4. Mempunyai densitas atau kerapatan lebih besar daripada logam-logam lainnya, kecuali emas dan merkuri.
5. Merupakan penghantar listrik yang tidak baik.
6. Dapat membentuk *alloy* dengan unsur logam lainnya, dan *alloy* sendiri yang terbentuk memiliki sifat yang berbeda dengan timbal murni.

Penggunaan timbal banyak digunakan di industri baterai dalam memproduksi baterai untuk mobil (Fardiaz, 1992). Produk-produk logam lainnya seperti amunisi, bahan kimia, solder (Sembel, 2015), bahan pengkilap keramik, insektisida, komponen aktif tenaga panas, bahan bakar kendaraan bermotor (Palar, 1994), dan pewarna (pembuatan cat) dikarenakan kelarutannya dalam air rendah (Sembel, 2015). Penggunaan timbal yang bukan *alloy* digunakan produk-produk yang harus tahan karat seperti pipa-pipa, pelapis tempat-tempat basah untuk menghindari korosif dan pelapis kabel listrik (Faridiaz, 1992). Penggunaan timbal

sudah mulai dikurangi di Amerika Serikat, dikarenakan sangat membahayakan bagi kesehatan anak-anak (Sembel, 2015).

2.4 Pencemaran dan toksisitas timbal (Pb)

Masalah utama dalam keracunan timbal berasal dari kontaminasi makanan dan minuman, cat pada bangunan, penambangan dan peleburan timbal (Goyer & Clarkson, 2001). Logam timbal memiliki toksik langsung terhadap kesehatan lingkungan dan kesehatan manusia (Lu, 1985), yaitu:

1. Toksisitas pada lingkungan

Dampak timbal bagi lingkungan seperti udara, air, dan tanah. Dampaknya yakni hilangnya keanekaragaman hayati, perubahan komposisi lingkungan, berkurangnya kemampuan reproduksi tumbuhan dan hewan (Lu, 1985). Pada pemeriksaan di area anak sungai, dijelaskan bahwa kandungan logam berat seperti timbal, kadmium dan zink banyak dikeluarkan oleh banyak industri. Logam-logam yang terlepas di dalam air dapat berkontribusi terhadap peningkatan logam berat di lingkungan perairan. Hal ini dikarenakan kelarutan yang tinggi mengakibatkan logam berat dapat dengan mudah diserap oleh organisme hidup, dan toksisitasnya terhadap bentuk kehidupan telah digolongkan sebagai kontaminan anorganik utama di permukaan dan perairan tanah (Glanze, 1996).

Timbal merupakan logam berat yang bersifat bioakumulatif memiliki pengaruh dari bahan pencemar udara yang berbahaya bagi manusia, hewan dan tumbuhan pada konsentrasi yang berlebihan (Machdar, 2018). Timbal berpengaruh di tanah yang menyebabkan pengaruh buruk bagi tanaman mulai dari morfologi dalam terbentuknya morfologi yang abnormal, pertumbuhan yang

menghambat perpanjangan akar, batang, dan daun; dan proses fotosintesis yang mempengaruhi fotosintesis melalui penghambatan aktivitas enzim karboksilasi, ketidak-seimbangan air, perubahan permeabilitas membran dan mengganggu ketersediaan berbagai unsur hara oleh tanaman (Handayanto, *et al.*, 2017). Sumber logam berat yang terlepas ke lingkungan seperti pada kendaraan bermotor, pembuangan sampah, emisi debu, aerosol, limbah lumpur, gas dan limbah dari industri yang menyebabkan penyebaran logam berat ke seluruh kota (Hirt & Shinozaki, 2004).

2. Toksisitas pada manusia

Paparan logam timbal dapat mengancam kesehatan manusia. Ia menyebabkan toksisitas akut atau kronis (keracunan) yang mengakibatkan syaraf yang rusak, berkurangnya fungsi syaraf mental, merusak ginjal, hati dan organ vital lainnya (Wang, *et al.*, 2009). Logam ini juga berefek pada sistem saraf hematopoietik, ginjal, fungsi reproduksi, dan ensefalopati (Lu, 1985).

Paparan dalam waktu jangka panjang mengakibatkan proses degeneratif fisik, otot, dan neurologis dengan perlahan seperti penyakit Alzheimer. Keracunan timbal dapat menimbulkan alergi yang tidak biasa dan menyebabkan kanker (IOSHIC, 1999). Timbal dapat masuk ke tubuh manusia melalui air, udara dan makanan, atau diserap melalui kulit saat mereka berhubungan dengan manusia seperti pada bidang manufaktur, farmasi, pemukiman, industri dan pertanian (Wang, *et al.*, 2009).

2.5 Bioremediasi

Bioremediasi adalah detoksifikasi polutan yang terdapat dalam lingkungan dengan bantuan tumbuhan dan mikroorganisme (alga, bakteri dan jamur), atau biokatalisator (enzim) baik enzim mikroba atau enzim tumbuhan. Detoksifikasi merupakan proses penurunan atau mengurangi kadar beracun didalam tubuh. Bioremediasi diartikan juga sebagai proses degradasi biologis dari sampah organik pada kondisi terkontrol menjadi suatu bahan yang tidak berbahaya atau konsentrasinya dibawah batas yang ditentukan oleh lembaga yang berwenang. Menurut United States Environmental Protection Agency, bioremediasi adalah suatu proses alami untuk membersihkan bahan-bahan kimia berbahaya. Ketika mikroba mendegradasi bahan berbahaya tersebut akan dihasilkan air dan gas tidak berbahaya seperti CO₂ (Waluyo, 2018).

Bioremediasi adalah teknologi baru dibidang mikrobiologi terapan untuk remediasi lingkungan yang terkontaminasi. Bioremediasi merupakan area intensif untuk penelitian dan pengembangan dibidang akademis, pemerintah dan industri. (Crawford & Crawford, 1996). Penggunaan bioremediasi adalah teknologi yang ramah lingkungan, hemat biaya, efisien dan alami untuk menghilangkan atau meminimalisir logam berat seperti Pb (Singh & Tripathi, 2007).

Bioremediasi adalah penggunaan metabolisme tumbuhan dan mikroorganisme (jamur, bakteri, mikroalga, dan ragi) untuk menghilangkan polutan. Kemajuan terbaru ini telah terbukti berhasil melalui penambahan strain mikroba yang cocok ke media untuk meningkatkan kemampuan populasi mikroba untuk memecah kontaminan. Mikroorganisme yang digunakan untuk melakukan fungsi bioremediasi dikenal sebagai bioremediator (Sharma, 2012). Bioremediasi

sangat penting karena sebagai alat untuk mengurangi dampak pencemaran dari cairan, padatan, dan gas yang tidak diinginkan pada lingkungan. Bioremediasi merupakan pengobatan yang paling efektif terhadap pemulihan lingkungan yang tercemar, limbah, dan reklamasi (Sikdar & Irvine, 1998).

2.6 Pemanfaatan mikroalga dalam bioremediasi logam berat

Beberapa organel-organel didalam *Chlorella* sp. dan mikroalga lainnya yang dapat mengakumulasi logam berat antara lain dinding sel (Smith, *et al.*, 2013), sitoplasma (Violante, *et al.*, 2002), mitokondria (Shanab, *et al.*, 2012), vakuola (Ashraf, *et al.*, 2010), kloroplas dan pirenoid (Carfagna, *et al.*, 2013).

1. Dinding sel dan sitoplasma

Pada tumbuhan, hambatan fisiknya berada pada pertahanan pertama terhadap logam. Peran dinding sel dan sifat pengikatannya ada hubungan dengan toleransi logam (Chandra, *et al.*, 2017). Penelitian menurut Heumann (1987) bahwa kadmium dan timah anorganik menyebabkan gangguan pada mikrofibril dinding sel yang menghasilkan tonjolan pada dinding lokal. Menurut Smith, *et al.*, (2013) melaporkan bahwa sebagian besar akumulasi logam terjadi antara dinding sel dan membran sel dalam pengikatan ion secara adsorpsi. Komponen dari dinding sel adalah pektin, yang terdiri dari kelompok karboksil. Dibawah tekanan logam, ion logam berat akan berikatan dengan gugus karboksil. Menurut Violante, *et al.*, (2002) menjelaskan penyerapan logam diseluruh membran sel diikuti oleh akumulasi dalam sitoplasma.

2. Mitokondria

Menurut Andosch dalam Miazek, *et al.* (2015) melaporkan bahwa mitokondria dalam *Desmidiium swartzii* menjadi besar dan membengkak, setelah

paparan logam Zn. Penelitian menurut Heumann (1987) bahwa merkuri menyebabkan pelebaran retikulum endoplasma dan tubuli mitokondria.

3. Vakuola

Penelitian Shanab, *et al* (2012) melaporkan bahwa tubuh padat yang berbentuk bulat tampak berwarna gelap terakumulasi di sel vakuola. Menurut Ashraf, *et al.* (2010) bahwa sebagian besar ion logam terakumulasi dalam vakuola didalam sel dan dinding sel. Dinding sel dan vakuola bersama-sama menyerap logam hingga 96%. Ion logam disimpan dalam vakuola dalam bentuk yang kompleks dan bergaram, eliminasi dengan skala besar dari sitoplasma yang sedang terjadi ini berfungsi sebagai mekanisme detoksifikasi logam. Menurut Esser (2007) bahwa penyerapan ion logam dalam vakuola dianggap sebagai mekanisme untuk detoksifikasi ion logam. Menurut Ashraf, *et al.* (2010) langkah-langkah dalam mekanisme pengangkutan logam adalah sebagai berikut:

- a. Ion logam berat dapat masuk dari larutan eksternal ke ER dan akan terhubung ke apoplas.
- b. Akumulasi senyawa afinitas tinggi untuk logam berat, seperti asam organik dan senyawa yang membentuk kompleks larut rendah dengan logam berat. Di vakuola menghasilkan pengendapan logam dalam bentuk kompleks dan bergaram.
- c. Penyerapan logam dapat bergantung pada sintesis fitotoksin dalam sitoplasma, yang mengikat menjadi senyawa yang bertahan lama.

4. Kloroplas dan pirenoid

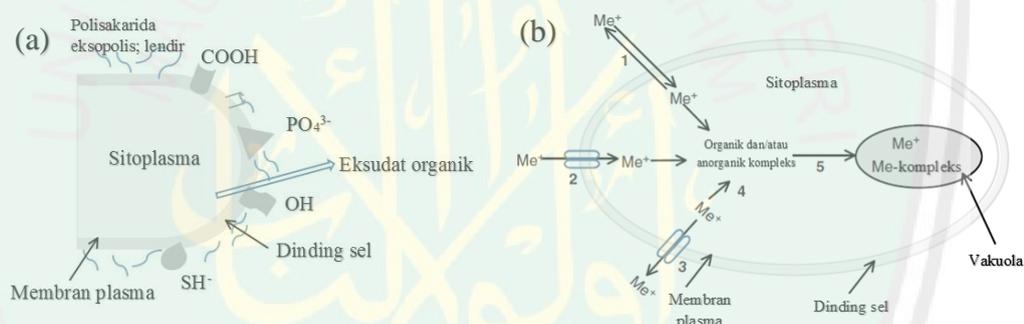
Apabila terjadi cekaman nitrogen, globula lipid akan terakumulasi dalam sitoplasma dan kloroplas (Hoek, *et al.*, 1995). Penelitian menurut Heumann

(1987) bahwa merkuri mempengaruhi kloroplas dan menunjukkan peningkatan tumpukan grana. Timbal organik merusak sistem membran kloroplas, tilakoid berbentuk lembaran atau tubular yang tidak beraturan. Penelitian Carfagna, *et al.*, (2013) melaporkan bahwa terdapat perubahan ultrastruktur sel yang disebabkan logam berat (Cd dan Pb), mereka mempengaruhi ultrastruktur kloroplas dari keseluruhan alga. *Chlorella sorokiniana* lebih baik untuk mentoleransi konsentrasi Pb lebih tinggi daripada ion Cd yang lebih sensitif. Penelitian Shanab, *et al.* (2012) melaporkan bahwa penumpukan pati berlebihan disekitar pirenoid dan kerusakan organel sel alga yang terpapar logam Hg^{2+} , Cd^{2+} , dan Pb^{2+} .

2.7 Mekanisme *Chlorella* sp. dalam akumulasi logam timbal

Mekanisme pada fase pertama adalah penyerapan pasif (*Passive uptake*) atau adsorpsi oleh bahan yang terkait sel ekstraseluler, misalnya, dinding sel yang tersusun atas selulosa yang merupakan suatu polisakarida dan lendir (Kaplan, 1988; Mishra, *et al.*, 2011), dan dinding sel komponen, misalnya, karboksil dan gugus hidroksil, serta sulfat dan fosfat yang terlihat pada Gambar 2.4 (Crist *et al.*, 1981, 1999; Volesky, 1990; Naja & Volesky, 2011). Ini adalah proses non-metabolik, cepat, terjadi di kedua sel hidup dan tak hidup, berlangsung sangat cepat, bolak-balik, tidak bergantung pada faktor kinetik jika dikaitkan dengan penyebaran sel dan terjadi disekitar dinding sel (ekstraseluler) (Ting, *et al.*, 1989; Ernst, 1998). Hal ini tergantung pada sejumlah parameter: pH (Das, *et al.*, 2008; Naja & Volesky, 2011), jenis logam berat (Naja & Volesky, 2011), jenis alga (De-Philippis, *et al.*, 2007), dan konsentrasi biomassa (Naja & Volesky, 2011).

Penyerapannya berawal ketika logam berat berinteraksi dengan dinding sel. Dinding sel mengandung enzim ekstraseluler yang berfungsi dalam penyerapan unsur-unsur yang dibutuhkan oleh sel. Pada prosesnya, pertama-tama terjadi pertukaran ion logam Pb yang berada disekitar sel dengan ion monovalen maupun bivalen (misal: Na) dan yang terakhir adalah pembentukan senyawa kompleks antara ion Pb dengan gugus fungsional yang terdapat dalam sel seperti gugus karbonil ($-CO$), gugus hidrosil ($-HCO$), sulfhydryl ($-SH$), karboksil ($-COOH$), ion sulfat SO_4^{2-} , dan ion phospat (PO_4^{3-}). Faktor yang mempengaruhi proses biosorpsi ada proses mekanisme ini adalah pengadukan, konsentrasi biomassa, pH, temperatur dan waktu (Adi dan Dyah. 2010).



Gambar 2.4. Penyerapan ion logam: (a) Serapan ion logam (adsorpsi) di dinding sel. (b) Serapan ion logam dan proses detoksifikasi (absorpsi) terjadi di dalam sel-sel hidup. 1) Difusi (proses tidak aktif); 2) pengambilan aktif melalui pengangkut ion; 3) penghabisan aktif ion logam bebas; 4) Pembentukan ion logam bebas dengan berbagai senyawa organik dan/atau anorganik yang kompleks dalam sitoplasma; 5) transportasi ke vakuola dan disimpan baik sebagai ion logam bebas atau sebagai kompleks (Kaplan, 2013).

Proses selanjutnya, fase kedua adalah dengan cara penyerapan aktif (*Active uptake*) atau absorpsi yang berlangsung lambat, dimana proses penyerapan, detoksifikasi, dan akumulasi yang terjadi di dalam sel *Chlorella* sp. yang hidup (Gambar 2.4). Ini adalah proses lambat yang melibatkan transpor aktif melalui membran sel ke interior dan mengikat protein dan komponen intraseluler lainnya.

Ini adalah mekanisme pada metabolisme yang dihambat oleh suhu rendah, tidak adanya sumber energi, inhibitor metabolik, serta hanya terjadi di sel-sel hidup (Wilde & Benemann, 1993). Memahami mekanisme yang menyampaikan resistansi logam diberbagai mikroalga prokariotik dan eukariotik dapat memberikan strategi untuk penghapusan mereka dari lingkungan.

Pada prosesnya logam berat akan ditransportasikan melalui membran sel menuju sitoplasma (Ting, *et al.*, 1989) dan terjadi sel simultan yang sejalan dengan konsumsi ion logam berat untuk pertumbuhan (biomass) atau akumulasi intraseluler ion logam. Logam berat akan diendapkan pada proses metabolisme (Adi dan Dyah. 2010). Untuk dapat melintasi membran sel, ion logam berat akan mengalami proses difusi terfasilitasi dengan bantuan enzim *permease* didalam membran sel (Kimball, 1998) yang dalam prosesnya, ion logam berat bergerak searah dengan gradien konsentrasi dan membran sel juga mampu memompa ion logam berat berlawanan dengan gradien konsentrasi dengan prosesnya disebut transport aktif dengan menggunakan energi berupa ATP dari hasil metabolisme sel (Darnell, *et al.*, 1986). Setelah itu, ion logam berat akan melewati membran sel, enzim-enzim dan organel sel dalam sitoplasma akan menjadi tujuan ion logam berat (Ernst, 1998).

Penyerapannya diawali dengan pengikatan ion logam berat pada gugus sulfur (S) dari asam amino sistein pada dinding sel. Setelah protein reseptor mengenali adanya logam asing (non esensial) gen akan mengkode pembentukan metallothioenin (MT). Protein MT merupakan protein pengikat logam yang mengandung 30% asam amino. Kandungan sistein ini tertinggi yang menyebabkan protein tersebut memiliki daya afinitas yang kuat terhadap logam.

Selanjutnya ion logam akan berikatan dengan MT didalam sel dengan mekanisme transport pasif. Logam berat akan berikatan dengan 2 atom S pada sistein kemudian struktur MT akan membentuk seperti jepit rambut dan logam berat akan terdetoksifikasi dalam strukturnya. MT yang berikatan dengan logam berat akan ditransport ke vakuola yang berfungsi sebagai tempat penyimpanan ion-ion dan metabolit. Di dalam sel akan membentuk MT secara terus-menerus selama ion logam berat masih ada dalam larutan yang terikat pada gugus S dari protein dinding sel sampai pada saat tertentu sel akan mengalami kejenuhan dan berada pada fase kematian (Adi dan Dyah, 2010).



BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan rancangan penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL). Variabel bebas (*independent*) adalah konsentrasi logam timbal (Pb) yang berbeda dan variabel terikatnya (*dependent*) adalah akumulasi timbal (Pb) pada populasi *Chlorella* sp. Perlakuan dalam penelitian ini berupa konsentrasi logam berat timbal (Pb) yang berbeda yakni 0 ppm, 10 ppm, 20 ppm, 50 ppm dan 100 ppm dengan 3 kali pengulangan.

3.2 Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan November 2018 sampai dengan Februari 2019. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biokimia, Fisiologi Hewan, Mikrobiologi di Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Selanjutnya akumulasi timbal (Pb) dalam sel *Chlorella* sp. dengan menggunakan *Atomic* (AAS) dilakukan di Balai Penelitian dan Konsultasi Industri (BPKI) Surabaya, Jawa Timur.

3.3 Alat dan bahan penelitian

3.3.1 Alat

Alat-alat yang digunakan adalah sebagai berikut: erlemeyer, gelas kultur 250 ml, gelas ukur, gelas beker, labu ukur 1000 ml, labu takar 100 ml, spatula, pengaduk kaca, autoklaf, selang, batu aerasi, tube 15 ml, sentrifug, alat aerator, lampu, lux meter, pH-meter, pipet tetes, *haemocytometer*, *cover glass*, mikroskop

olympus, alat tulis, timbangan analitik, mikropipet, kertas label, oven, *Atomic Absorption Spectrophotometer* (AAS), dan mikroskop inverted.

3.3.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah sebagai berikut: kantong plastik, sabun pencuci perabotan gelas, detergen, air, alkohol 70%, taugé, akuades, tisu, kapas, kain kasa steril, plastik wrap, bibit mikroalga *Chlorella* sp. yang berasal dari biakan murni yang diperoleh dari *Surfactant and Bioenergy Research Center* (SBRC) LPPM Institut Pertanian Bogor, timbal nitrat $\{Pb(NO_3)_2\}$, kertas label, asam nitrat (HNO_3^-) dan aluminium foil.

3.4 Prosedur penelitian

3.4.1 Sterilisasi alat dan bahan

Sterilisasi dimulai dengan memasukkan alat-alat kaca termasuk di dalamnya botol kultur yang sudah ditutup dengan kertas aluminium foil dan plastik ke dalam autoklaf dengan rapi. Autoklaf ditutup rapat dan dioperasikan dengan suhu $121^\circ C$ selama 15 menit dengan tekanan 1 atm. Setelah proses autoklaf selesai, alat-alat kaca tersebut dikeluarkan dan diletakkan pada tempat yang bersih. Gelas kultur ditempatkan di ruangan dengan suhu ($20^\circ - 25^\circ C$).

Sterilisasi peralatan lainnya seperti batu aerasi, selang dan tabung eppendorf dilakukan dengan cara dicuci dan direndam terlebih dahulu dengan detergen serta dibilas dengan air tawar yang mengalir. Setelah itu dikeringkan dan disemprot dengan alkohol 70%. Selanjutnya bahan yang digunakan seperti media ekstrak taugé (MET) disterilisasi dengan autoklaf dengan suhu $121^\circ C$ selama 15 menit sebelum digunakan dalam proses kultur *Chlorella* sp.

3.4.2 Pembuatan media ekstrak tauge

Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah media ekstrak tauge (MET) sebesar 5% dan prosedur pembuatannya mengacu pada Prihantini *et al.* (2005); Prihantini, *et al.* (2007); dan Imelda *et al.*, (2018). Perhitungan untuk membuat media ekstrak tauge (MET) 5% (lampiran 2) menggunakan rumus sebagai berikut:

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

Dimana:

C_1 = konsentrasi zat mula-mula (molaritas awal) (%), V_1 = volume awal (ml), C_2 = konsentrasi zat setelah pengenceran (molaritas setelah pengenceran) (%). V_2 = volume setelah pengenceran ($V_1 + \text{Pengencer}$) (ml).

Untuk pembuatan media ekstrak tauge (MET) ini, pertama-tama dipilih tauge yang masih segar dan bagus. Kemudian ditimbang 100g dan dicuci dengan air mengalir hingga bersih. Selanjutnya disiapkan panci ukuran kecil dan dimasukkan akuades sebesar 500ml. Tauge dimasukkan ke dalam panci dan dimasak dengan menggunakan api kecil selama 1 jam. Setelah 1 jam, tauge dibuang dan di ambil air ekstraknya. Ekstraknya disaring menggunakan kapas yang dibungkus dengan kasa yang ditempatkan pada erlenmeyer 100 ml. kemudian bibir elenmeyer ditutup dengan plastik wrap dan diautoklasf selama 1 jam. Setelah di autoklaf, ekstrak tersebut didinginkan. Untuk membuat media ekstrak tauge sebesar 5%, media di ambil 5 ml dan kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml. Selanjutnya diberi penambahan akuades hingga tanda batas dan dihomogenkan (Prihantini, *et al.*, 2007). Setelah tercampur, media dipindahkan dan ditutup dengan plastik wrap. Selanjutnya di autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C (Hermawan, 2012).

3.4.3 Kultur *Chlorella* sp.

Sebanyak 5 ml ($3,2 \times 10^5$ sel/ml) bibit *Chlorella* sp. dimasukkan ke dalam tabung eppendorf dan disentrifugasi dengan kecepatan 5000rpm selama 15-20 menit. Supernatan hasil sentrifugasi tersebut kemudian dibuang, sementara peletnya dicuci dengan akuades steril sebanyak 5 ml selama 2 sampai 3 kali dengan cara sentrifugasi pula. Selanjutnya pelet bibit *Chlorella* sp. tersebut siap dimasukkan ke dalam botol kultur yang sudah berisi media ekstrak tauge (MET) dengan volume total setiap botol 100 ml. Selanjutnya botol kultur yang berisi bibit sel *Chlorella* sp. tersebut diletakkan pada rak kultur dan diinkubasi selama 10 hari, dengan pemberian fotoperiodisitas selama 14 jam terang dan 10 jam gelap dengan penyinaran menggunakan lampu 40 watt (Hermawan, 2012; Putri, *et al.*, 2013), karena cahaya digunakan sebagai sumber energi bagi mikroalga untuk proses fotosintesis, dalam pembelahan dan pertumbuhan selnya (Muchammad, *dkk.*, 2013).

3.4.4 Uji pengaruh perbedaan konsentrasi logam timbal terhadap pertumbuhan *Chlorella* sp.

Untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh logam timbal (Pb) terhadap pertumbuhan sel *Chlorella* sp, dalam penelitian ini juga dilakukan beberapa variasi konsentrasi logam timbal pada perlakuan kultur. Pada perlakuan I dilakukan dengan kultur *Chlorella* sp. tanpa logam timbal (Pb), sementara pada perlakuan selanjutnya (II, III, IV dan V) dilakukan penambahan timbal (Pb) sebanyak masing-masing 10, 20, 50 dan 100 ppm. Masing-masing perlakuan diulangi sebanyak tiga kali ulangan.

Pengukuran kepadatan pertumbuhan populasi *Chlorella* sp. dibawah mikroskop dilakukan dengan bantuan *haemocytometer*, untuk menghitung sel secara cepat dan mudah dengan ukuran luas kotak kecil $0,0025 \text{ mm}^2$ dan volume kotak kecil $2,5 \times 10^{-7} \text{ mL}$ pada kotak hitung. Kotak hitung (kotak paling kecil) yang berfungsi sebagai tempat untuk mempermudah perhitungan sel *Chlorella* sp, yang berada di 25 kotak berukuran volume 0.0001 mL dan terletak di tengah-tengah kedua *chamber* yang berukuran 1 mm^2 pada *haemocytometer* (Gambar 3.1). Sampel $50\text{-}100 \text{ }\mu\text{L}$ bibit *Chlorella* sp. diteteskan pada *haemocytometer* dengan menggunakan pipet tetes. Kemudian *haemocytometer* ditutupi dengan *cover glass* dan diamati dengan mikroskop *Olympus* pada perbesaran $100\times$ sampai $400\times$ selama 10 hari setiap pukul 10.00 WIB. Penghitungan kepadatan populasi *Chlorella* sp. dihitung pada kelima kotak hitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Darley, 1982).

$$\text{Kepadatan (sel/ml)} = \frac{n(A+B+C+D+E)}{5 \times 4 \times 10^{-6}}$$

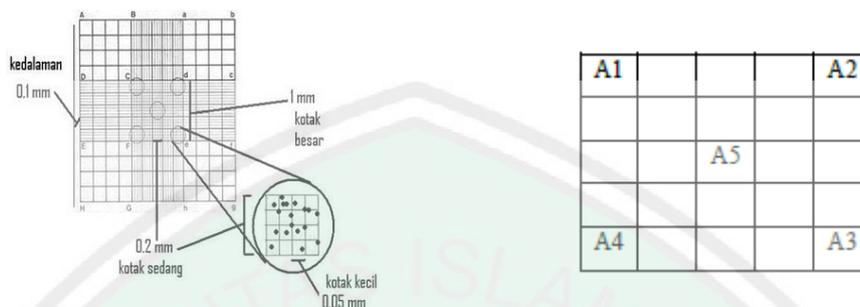
Keterangan:

- $n(A,B,C,D,E)$ = jumlah sel mikroalga pada kotak A, B, C, D, E
- 5 = jumlah kotak yang dihitung
- 4×10^{-6} = luas kotak pada A, B, C, D, E

Selanjutnya untuk menghitung persentase penghambatan (%) berdasarkan pertumbuhan spesifik (μ) *Chlorella* sp. dari kontrol dan perlakuan dengan menggunakan persamaan sebagai berikut (Teoh dan Wong, 2018):

$$I_{\mu i} = \frac{\mu_c - \mu_i}{\mu_c}$$

Dimana $I_{\mu i}$ = persentase penghambatan untuk konsentrasi uji i , μi = rata-rata laju pertumbuhan spesifik untuk konsentrasi uji i , dan μc = rata-rata laju pertumbuhan spesifik untuk konsentrasi uji i .



Gambar 3.1 Pembacaan pada *Haemocytometer* (Tim Asisten, 2014).

3.4.5 Uji kemampuan *Chlorella* sp. dalam mengakumulasi konsentrasi logam timbal yang berbeda di *Atomic Absorption Spectrophotometer* (AAS)

Untuk pengujian akumulasi logam timbal (Pb) oleh *Chlorella* sp. dilakukan pada media ekstrak tauge (MET) dengan volume total 100 ml dengan konsentrasi 0 ppm, 10 ppm, 20 ppm, 50 ppm, dan 100 ppm (Lampiran 2). Konsentrasi timbal (Pb) yang menggunakan 0 ppm merupakan perlakuan kontrol, sedangkan 10 ppm; 20 ppm; 50 ppm; dan 100 ppm merupakan konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini untuk mengukur tingkat toleransi mikroalga *Chlorella* sp. dalam mengakumulasi logam timbal (Pb).

Pada hari ke-10, setiap sampel dari tiga ulangan tersebut diambil pada setiap perlakuan, dan dimasukkan ke dalam tube 15 mL dan kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 15-20 menit untuk memisahkan bibit *Chlorella* sp. dengan media kultur (Langan, *et al.*, 2014). Setelah disentrifugasi, supernatan dibuang dan diambil pelletnya. Kemudian masing-masing perlakuan dikeringkan pada oven dengan suhu 65°C selama 24 jam. Kemudian ditambahkan HNO_3 1N sebanyak 5 mL, dan selanjutnya di oven selama 24 jam. Setelah itu,

masing-masing sampel disentrifugasi dengan kecepatan 5000rpm selama 15 menit (Romaidi dan Ueki, 2016). Selanjutnya diambil supernatan pada masing-masing sampel perlakuan untuk dianalisa dengan menggunakan *Atomic Absorption Spectrophotometer* (AAS) dengan panjang gelombang untuk logam timbal sebesar 217,0nm (Shanab, *et al.*, 2012; Arifah, 2014). Prinsip *Atomic Absorption Spectrophotometer* (AAS) bahwa sampel ion logam diatomisasi dengan atomizer sehingga membentuk atomnya, kemudian diabsorpsi dengan energi pada panjang gelombang tertentu, sehingga elektronnya mengalami penyerapan (eksitasi) ke orbital yang lebih tinggi (Christian, 2004; Lestari, 2007).

Selanjutnya hasil akumulasi digunakan untuk menghitung persentase absorbansi akumulasi *Chlorella* sp. menggunakan *Atomic Absorption Spectrophotometer* (AAS) dengan modifikasi rumus efisiensi (Sigiro, *et al.*, 2016):

$$\text{Efisiensi akumulasi timbal (Pb)} = \frac{C}{D} \times 100\%$$

Dimana C = rata-rata akumulasi untuk konsentrasi uji i, D = persentase total konsentrasi logam timbal yang digunakan untuk membuat larutan stok.

3.4.6 Uji perubahan warna morfologi pada organel sel *Chlorella* sp. yang mengakumulasi logam timbal secara mikroskopis

Pada akhir percobaan, sampel pada masing-masing perlakuan (0, 10, 20, 50, dan 100 ppm) diambil 50-100 µl dan ditetaskan pada alat *haemocytometer*. Kemudian masing-masing sampel dalam perlakuan diamati dengan menggunakan mikroskop inverted dengan perbesaran 40x hingga 100x di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana

Malik Ibrahim Malang. Selanjutnya masing-masing sampel diamati perubahan warna organel sel *Chlorella* sp.

3.5 Analisa data

Data untuk mengetahui pertumbuhan populasi *Chlorella* sp. dalam kelima perlakuan (0, 10, 20, 50, dan 100 ppm) menggunakan kurva pertumbuhan dengan *Microsoft Excel* 2013. Kemudian data untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh konsentrasi timbal (Pb) yang berbeda terhadap pertumbuhan dan akumulasi timbal (Pb) dalam *Chlorella* sp. dianalisis menggunakan *One Way Anova*. Uji BNT digunakan sebagai analisis lanjutan untuk mengetahui konsentrasi terbaik dalam akumulasi timbal (Pb) oleh *Chlorella* sp. Selanjutnya analisis pada pengujian morfologi pada organel didalam sel *Chlorella* sp. dalam mengakumulasi logam timbal (Pb) secara mikroskopis dengan menggunakan mikroskop inverted berupa gambar dan dijelaskan secara deskriptif.

3.6 Analisis integrasi islam dan sains

Hasil penelitian yang diperoleh dianalisis dengan analisis nalar spiritual islam, yaitu pada nilai-nilai Islam berdasarkan Hadist dan Al Quran. Oleh karena itu, hasil data yang diperoleh berhubungan dengan manfaat dari penelitian ini yang bersifat ilmiah (sains) dan sekaligus nilai-nilai ke-Islaman. Tugas manusia yang sebagai khalifah dibumi untuk menjaga, melestarikan dan merawat dengan baik.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh perbedaan konsentrasi logam timbal terhadap pertumbuhan populasi sel *Chlorella* sp.

Dalam penelitian ini dilakukan percobaan untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh perbedaan konsentrasi logam berat timbal (Pb) terhadap pertumbuhan sel *Chlorella* sp. Pengamatan pertumbuhan *Chlorella* sp. dilakukan setiap hari selama 10 hari budidaya, dengan tujuan untuk mengetahui fase-fase pertumbuhan *Chlorella* sp. tersebut. Hasil data setiap perlakuan (sebagaimana lampiran 3) ditabulasi dan disajikan dalam Gambar 4.1. Berdasarkan Gambar 4.1 menunjukkan bahwa fase pertumbuhan dalam setiap perlakuan menunjukkan adanya perbedaan antara satu dengan yang lainnya.

Pada perlakuan 0 ppm, fase adaptasi pada penelitian ini kemungkinan terjadi sangat cepat yaitu sebelum 24 jam yang dapat dilihat dari pengamatan hari ke-0 setelah pemberian bibit sebesar 3×10^5 sel/ml dan mengalami peningkatan jumlah sel *Chlorella* sp. pada hari ke-1 sebesar $7,5 \times 10^5$ sel/ml, yang ditandai terjadinya penambahan jumlah sel *Chlorella* sp. Fase lanjutan yakni fase logaritmik yang terjadi pada hari ke-1 sel *Chlorella* sp. yang mengalami peningkatan jumlah selnya hingga hari ke-4 sebesar $55,5 \times 10^5$ sel/ml. Kemudian fase puncak terjadi pada hari ke-5 dengan jumlah kepadatan sel *Chlorella* sp. sebesar $99,7 \times 10^5$ sel/ml yang ditunjukkan pada Gambar 4.1 (sebagaimana Lampiran 3). Selanjutnya, fase stationer belum dapat teramati dikarenakan perhitungan pertumbuhan kepadatan sel *Chlorella* sp. dilakukan setiap hari selama 1 hari (setiap 24 jam sekali) dan diperkirakan terjadi diantara hari ke-5 hingga hari ke-6, dikarenakan pada rentan ini tidak terjadi penambahan kepadatan sel *Chlorella* sp. karena fase ini terjadi

sangat singkat yang membutuhkan waktu kurang dari 24 jam. Fase terakhir pada penelitian ini yakni fase kematian, dimana fase ini terjadi pada hari ke-6, yang ditandai penurunan jumlah sel *Chlorella* sp. pada hari ke-6 ini sebesar $89,5 \times 10^5$ sel/ml hingga pada hari ke-10 sebesar $53,8 \times 10^5$ sel/ml.

Pada perlakuan 10 ppm, fase adaptasi pada penelitian ini kemungkinan terjadi sangat cepat yaitu sebelum 24 jam yang dapat dilihat pada pengamatan hari ke-0 setelah pemberian bibit sebesar $3,2 \times 10^5$ sel/ml dan mengalami peningkatan jumlah sel *Chlorella* sp. pada hari ke -1 sebesar $5,3 \times 10^5$ sel/ml, yang ditandai terjadinya pertambahan jumlah sel *Chlorella* sp. Fase lanjutan yakni fase logaritmik yang terjadi pada hari ke-1 sel *Chlorella* sp. yang mengalami peningkatan jumlah selnya hingga hari ke-4 sebesar $11,2 \times 10^5$ sel/ml. Kemudian fase puncak terjadi pada hari ke-5 dengan jumlah kepadatan sel *Chlorella* sp. sebesar $18,3 \times 10^5$ sel/ml yang ditunjukkan pada Gambar 4.1 (sebagaimana Lampiran 3). Selanjutnya, fase stationer belum dapat teramati dikarenakan perhitungan pertumbuhan kepadatan sel *Chlorella* sp. dilakukan setiap hari selama 1 hari (setiap 24 jam sekali) dan diperkirakan terjadi diantara hari ke-5 hingga hari ke-6, dikarenakan pada rentan ini tidak terjadi penambahan kepadatan sel *Chlorella* sp. karena fase ini terjadi sangat singkat yang membutuhkan waktu kurang dari 24 jam. Fase terakhir pada penelitian ini yakni fase kematian, dimana fase ini terjadi pada hari ke-6, yang ditandai penurunan jumlah sel *Chlorella* sp. pada hari ke-6 ini sebesar $14,5 \times 10^5$ sel/ml hingga pada hari ke-10 sebesar 6×10^5 sel/ml.

Pada perlakuan 20 ppm, fase adaptasi pada penelitian ini kemungkinan terjadi sangat cepat yaitu sebelum 24 jam yang dapat dilihat dari pengamatan hari

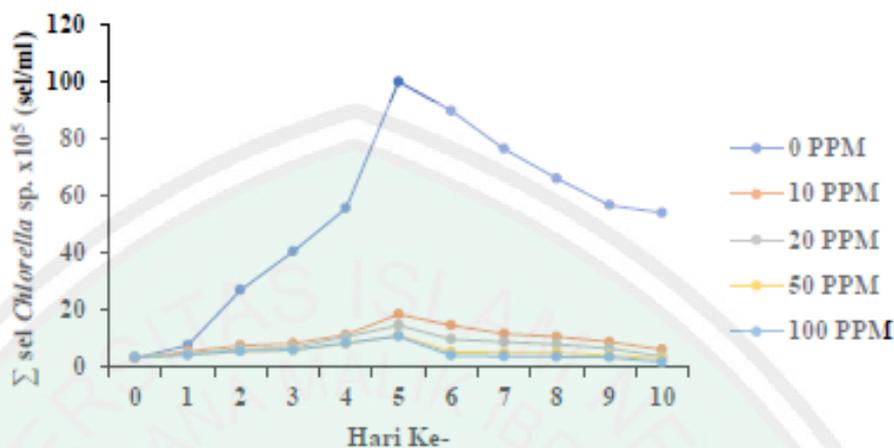
ke-0 setelah pemberian bibit sebesar 3×10^5 sel/ml dan mengalami peningkatan jumlah sel *Chloellas* sp. pada hari ke-1 sebesar $4,5 \times 10^5$ sel/ml, yang ditandai terjadinya penambahan jumlah sel *Chlorella* sp. Fase lanjutan yakni fase logaritmik yang terjadi pada hari ke-1 sel *Chlorella* sp. yang mengalami peningkatan jumlah selnya hingga hari ke-4 sebesar $10,5 \times 10^5$ sel/ml. Kemudian fase puncak terjadi pada hari ke-5 dengan jumlah kepadatan sel *Chlorella* sp. sebesar $14,5 \times 10^5$ sel/ml yang ditunjukkan pada Gambar 4.1 (seperti Lampiran 3). Selanjutnya, fase stationer belum dapat teramati dikarenakan perhitungan pertumbuhan kepadatan sel *Chlorella* sp. dilakukan setiap hari selama 1 hari (setiap 24 jam sekali) dan diperkirakan terjadi diantara hari ke-5 hingga hari ke-6, dikarenakan pada rentang ini tidak terjadi penambahan kepadatan sel *Chlorella* sp. karena fase ini terjadi sangat singkat yang membutuhkan waktu kurang dari 24 jam. Fase terakhir pada penelitian ini yakni fase kematian, dimana fase ini terjadi pada hari ke-6, yang ditandai penurunan jumlah sel *Chlorella* sp. pada hari ke-6 ini sebesar $9,7 \times 10^5$ sel/ml hingga pada hari ke-10 sebesar $3,7 \times 10^5$ sel/ml.

Pada perlakuan 50 ppm, fase adaptasi pada penelitian ini kemungkinan terjadi sangat cepat yaitu sebelum 24 jam yang dapat dilihat dari pengamatan hari ke-0 setelah pemberian bibit sebesar $3,3 \times 10^5$ sel/ml dan mengalami peningkatan jumlah sel *Chloellas* sp. pada hari ke-1 sebesar $4,3 \times 10^5$ sel/ml, yang ditandai terjadinya penambahan jumlah sel *Chlorella* sp. Fase lanjutan yakni fase logaritmik yang terjadi pada hari ke-1 sel *Chlorella* sp. yang mengalami peningkatan jumlah selnya hingga hari ke-4 sebesar 8×10^5 sel/ml. Kemudian fase puncak terjadi pada hari ke-5 dengan jumlah kepadatan sel *Chlorella* sp. sebesar

11×10^5 sel/ml yang ditunjukkan pada Gambar 4.1 (sebagaimana Lampiran 3). Selanjutnya, fase stationer belum dapat teramati dikarenakan perhitungan pertumbuhan kepadatan sel *Chlorella* sp. dilakukan setiap hari selama 1 hari (setiap 24 jam sekali) dan diperkirakan terjadi diantara hari ke-5 hingga hari ke-6, dikarenakan pada rentan ini tidak terjadi penambahan kepadatan sel *Chlorella* sp. karena fase ini terjadi sangat singkat yang membutuhkan waktu kurang dari 24 jam. Fase terakhir pada penelitian ini yakni fase kematian, dimana fase ini terjadi pada hari ke-6, yang ditandai penurunan jumlah sel *Chlorella* sp. pada hari ke-6 ini sebesar $5,2 \times 10^5$ sel/ml hingga pada hari ke-10 sebesar $2,8 \times 10^5$ sel/ml.

Pada perlakuan 100 ppm, fase adaptasi pada penelitian ini kemungkinan terjadi sangat cepat yaitu sebelum 24 jam yang dapat dilihat dari pengamatan hari ke-0 setelah pemberian bibit sebesar $3,3 \times 10^5$ sel/ml dan mengalami peningkatan jumlah sel *Chlorellas* sp. pada hari ke-1 sebesar $4,2 \times 10^5$ sel/ml, yang ditandai terjadinya penambahan jumlah sel *Chlorella* sp. Fase lanjutan yakni fase logaritmik yang terjadi pada hari ke-1 sel *Chlorella* sp. yang mengalami peningkatan jumlah selnya hingga hari ke-4 sebesar $8,3 \times 10^5$ sel/ml. Kemudian fase puncak terjadi pada hari ke-5 dengan jumlah kepadatan sel *Chlorella* sp. sebesar $10,7 \times 10^5$ sel/ml yang ditunjukkan pada Gambar 4.1 (sebagaimana Lampiran 3). Selanjutnya, fase stationer belum dapat teramati dikarenakan perhitungan pertumbuhan kepadatan sel *Chlorella* sp. dilakukan setiap hari selama 1 hari (setiap 24 jam sekali) dan diperkirakan terjadi diantara hari ke-5 hingga hari ke-6, dikarenakan pada rentan ini tidak terjadi penambahan kepadatan sel *Chlorella* sp. karena fase ini terjadi sangat singkat yang membutuhkan waktu kurang dari 24 jam. Fase terakhir pada penelitian ini yakni fase kematian, dimana

fase ini terjadi pada hari ke-6, yang ditandai penurunan jumlah sel *Chlorella* sp. pada hari ke-6 ini sebesar 4×10^5 sel/ml hingga pada hari ke-10 sebesar 2×10^5 sel/ml.



Gambar 4.1 Kepadatan populasi sel *Chlorella* sp. selama 10 hari pada variasi konsentrasi logam timbal (Pb).

Kurva pertumbuhan ini dibuat berdasarkan kepadatan jumlah populasi sel *Chlorella* sp. selama 10 hari (hari ke-0 sampai hari ke-10) pada Gambar 4.1 terbagi menjadi empat fase pertumbuhan yaitu fase lag (adaptasi), fase logaritma (eksponensial), fase stationer dan fase kematian. Fase lag (adaptasi) diketahui terjadi pada hari ke-0. Pada fase lag ini, terjadi proses penyesuaian (adaptasi) pada lingkungannya untuk memanfaatkan nutrisi dalam pertumbuhannya yang ditunjukkan pada Lampiran 7 (Pengamatan Hari Ke-0). Hal ini didukung Selvika, *et al.* (2016) pada fase ini pertumbuhan selnya belum tumbuh sempurna karena masih dalam tahap adaptasi atau penyesuaian diri dengan media kultur, jumlah populasi sel *Chlorella* sp. masih belum memiliki kecenderungan untuk naik secara eksponensial, sedangkan menurut Fadilla (2010) bahwa fase lag belum terlalu memanfaatkan nutrisi yang ada untuk pertumbuhannya. Pada fase ini, fitoplankton sangat aktif dan terjadi proses sintesis protein. Sel-sel *Chlorella* sp.

belum terjadi pembelahan sel yang signifikan sehingga kepadatan selnya belum terlalu mengalami peningkatan.

Pada fase logaritmik (eksponensial) dimana fase dalam kondisi pertumbuhan sel *Chlorella* sp. mengalami peningkatan dari jumlah awal, terjadi pada hari ke-1 hingga mencapai puncaknya pada hari ke-5 yang mana merupakan pertumbuhan optimal yang paling besar. Pada fase ini terjadi peningkatan jumlah kepadatan sel *Chlorella* sp. dengan memanfaatkan nutrisi dari awal kultur untuk tumbuh dalam jangka yang besar. Hal ini didukung menurut Musa, *et al.*, (2013) bahwa nutrisi dimanfaatkan oleh masing-masing fitoplankton untuk proses pertumbuhannya. Menurut Richmond (1986) kandungan nutrisi pada media ekstrak tauge seperti protein, karbohidrat, lemak dan vitamin yang dibutuhkan oleh mikroalga *Chlorella* sp. untuk berkembang biak, sedangkan menurut Wulandari, *dkk.* (2010) mengatakan senyawa-senyawa pada nutrisi media kultur dibutuhkan mikroalga untuk mengaktifkan fotosintesis yang berlangsung didalam selnya.

Pada fase stasioner diperkirakan terjadi diantara hari ke-5 hingga hari ke-6 pada semua perlakuan. Namun, hasil dalam penelitian ini terjadi sangat singkat dan cepat, serta ditambah pengamatan dalam perhitungan pertumbuhan kepadatan sel *Chlorella* sp. yang dilakukan setiap 24 jam setiap hari selama 10 hari. Diperkirakan diantara hari ke-5 hingga hari ke-6 terdapat beberapa sejumlah selnya yang ada yang masih tumbuh meskipun sedikit dan sebagian lainnya ada beberapa sel yang mati akibat memperebutkan nutrisi yang dibutuhkan untuk menunjang pertumbuhan populasi sel *Chlorella* sp., hal ini jumlah sel menjadi konstan. hal ini dapat dilihat bahwa rentan waktu hari ke-5 hingga hari ke-6 hampir tidak terjadi penambahan jumlah selnya. Hal ini didukung oleh Rieny

(2012) kandungan nutrisi pada media tumbuh mulai habis dan mengakibatkan terjadinya kompetisi untuk memperebutkan makanannya, sehingga ada beberapa sel yang hidup dan yang lainnya ada yang mati. Hal ini menjadikan jumlah sel *Chlorella* sp. relatif konstan atau seimbang. Hal ini diperkuat oleh Fadilla (2010) penambahan dan pengurangan jumlah sel fitoplankton relatif sama atau seimbang, sehingga kepadatan selnya tetap konstan. Fase pertumbuhan sel *Chlorella* sp. berhenti secara total atau tidak dapat mengalami penambahan jumlah selnya, dikarenakan adanya keseimbangan diantara laju pertumbuhan dan kematian. Hal ini menurut Subekti (2010) fitoplankton memanfaatkan nutrisi yang berasal dari pupuk dalam media ekstrak tauge (pada konsentrasi 0 ppm) dan logam timbal (pada konsentrasi 10, 20, 50 dan 100 ppm) secara optimum untuk pertumbuhan selnya.

Pada fase terakhir, fase kematian terjadi pada semua perlakuan. Perlakuan kontrol (0 ppm), 10 ppm, 20 ppm, 50 ppm dan 100 ppm terjadi pada hari ke-6 hingga ke-10. Fase ini merupakan fase pertumbuhan mulai terhambat dikarenakan keterbatasan medium pertumbuhan (habisnya nutrisi) mulai terjadi. Hal ini menyebabkan sel-sel *Chlorella* sp. banyak yang mati. Pada pengamatan Hari ke-10 (Lampiran 7) bahwa terjadi perubahan warna yang terjadi pada konsentrasi 10, 20, 50 dan 100 ppm yang berwarna putih keruh sedangkan pada kontrol warnanya berubah menjadi hijau. Hal ini didukung Gandjar dkk. (2006) pada fase ini, pertumbuhan pada sel-sel *Chlorella* sp. mulai banyak yang melambat dan mulai mati (tidak aktif sama sekali) lebih banyak daripada sel-sel yang hidup. Diperkuat Kabinawa (2006) fase ini merupakan berkurangnya unsur hara seperti CO₂, N dan P, serta berkurangnya intensitas cahaya karena terjadi *self shading*, disebabkan

oleh kultur yang memadat hingga menjadi seperti *self shading*. Diperkuat Prihantini, *dkk* (2005) intensitas cahaya dapat mempengaruhi jumlah kerapatan populasi *Chlorella* sp. Karena intensitas cahaya yang ditangkap oleh populasi sel didalam media kultur berkurang yang diakibatkan populasi sel yang memadat. Apabila cahaya yang ditangkap oleh sel *Chlorella* sp. rendah maka laju fotosintesis berjalan dengan lambat, dan menyebabkan pertumbuhan populasi sel yang menurun.

Menurut Kabinawa (2006) lainnya seperti tidak meratanya pengocokan, pengendapan sel karena terhambatnya dan berkurangnya pembentukan oksigen, dan pH kultur yang meningkat. Hal ini sesuai saat pengukuran pH dari awal kultur dengan pH 5 yang meningkat pada hari ke-5 menjadi pH 7 dan meningkat lagi hingga hari ke-10 dengan pH 8. Hal ini sesuai penelitian Rini (2012) bahwa pH dalam perlakuan kultur *Chlorella* sp. yang mengalami peningkatan pH. Ia menjelaskan bahwa dari awal perlakuan kultur pH yang didapatkan adalah 5 (asam), pH 6 saat hari ke-2 dan hari ke-3, pH 7 (netral) saat fase eksponensial, pH 8 saat hari ke-7 hingga hari ke-10.

Hal ini didukung Cho dan Kim dalam Ratnawati, *et al.* (2010) bahwa pH dari medium sangat berpengaruh pada kemampuan biosorpsi karena sangat mempengaruhi ketersediaan logam berat dalam medium dan kereaktifan gugus fungsional yang berperan dalam pengikatan ion logam berat. Hal ini juga didukung dengan penelitian Yulis (2018) bahwa pH mempengaruhi kelarutan logam dalam air. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa pH 6,46 didapatkan logam merkuri sebesar 13 ppb sedangkan pH 6,50 didapatkan logam merkuri sebesar 1-2 ppb. Dimana kenaikan pH air akan menurunkan kelarutan logam

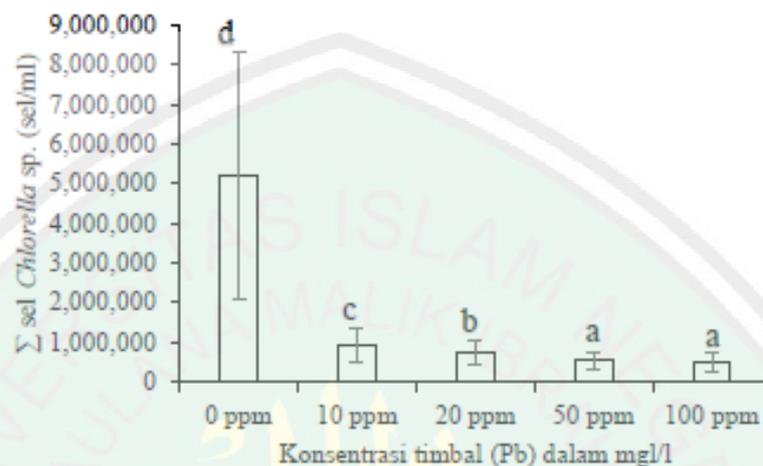
dalam air, sementara penurunan pH air akan meningkatkan kelarutan logam dalam air.

Berdasarkan penelitian Tangio (2013) bahwa pH 5 merupakan pH optimum adsorpsi timbal sebesar 134,87 ppb. Hal ini juga didukung Adi dan Dyah (2010) bahwa pH optimum dalam proses biosorpsi sebesar 4,0-5,0. Jika pH naik (diatas 7,0) proses biosorpsi tidak efektif karena pada pH 6,0 telah terjadi presipitasi, dan ketika pH turun (dibawah 4,0) maka akan terjadi kompetisi antara ion logam berat dengan ion hidrogen sehingga ion logam berat yang terhambat untuk diserap oleh dinding sel biomassa.

Menurut Prabowo (2009) bahwa terjadinya peningkatan pH dikarenakan adanya fotosintesis. Pada keadaan pH netral sangat mendukung kepadatan sel *Chlorella* sp, perubahan pH ini kemungkinan karena adanya aktifitas fotosintesis yang merubah kelarutan CO₂ dan mineral didalam media pertumbuhan, hal ini mengalami peningkatana pH yang signifikan. Hal ini juga didukung dalam penelitian Prihantini (2005) bahwa ada lingkungan dengan pH netral, CO₂ yang dalam bentuk bebas dapat berdifusi dengan mudah ke dalam sel mikroalga. Karena CO₂ merupakan sumber karbon utama bagi proses fotosintesis bagi mikroalga yang cukup tersedia ehingga dalam proses metabolisme dapat berlangsung cepat dan kerapatan sel meningkat. sehingga CO₂ dapat berdifusi dengan mudah ke dalam sel mikroalga. Karena CO₂ merupakan sumber karbon utama bagi proses fotosintesis bagi mikroalga yang cukup tersedia sehingga dalam proses metabolisme dapat berlangsung cepat dan kerapatan sel meningkat.

Penelitian tentang pengaruh konsentrasi ion logam timbal (Pb) yang berbeda terhadap pertumbuhan populasi sel *Chlorella* sp. yang diperoleh menunjukkan

bahwa F hitung = 1824,637766 dan F tabel = 3,48 pada taraf signifikan 5%, F hitung > F tabel. Hal ini menandakan bahwa terdapat perbedaan yang nyata tentang pengaruh penambahan konsentrasi ion logam timbal (Pb) terhadap pertumbuhan populasi sel *Chlorella* sp. (Lampiran 4).



Gambar 4.2. Rata-rata pertumbuhan *Chlorella* sp (mg/l) selama 10 hari dengan konsentrasi timbal (Pb) yang berbeda. Notasi huruf yang berbeda pada gambar menunjukkan adanya perbedaan signifikan antar perlakuan ($P < 0.05$).

Selanjutnya analisis yang digunakan untuk mengetahui konsentrasi yang terbaik dalam akumulasi timbal (Pb) oleh *Chlorella* sp maka dilakukanlah uji lanjut menggunakan uji beda nyata terkecil (BNT) atau *least significance different* (LSD) 0,05. Berdasarkan hasil uji BNT 0,05 dari rata-rata kepadatan populasi *Chlorella* sp. maka didapatkan notasi BNT yang disajikan pada Lampiran 4.

Pada Gambar 4.2 (Lampiran 4) diketahui bahwa pertumbuhan populasi *Chlorella* sp. ada perbedaan antara konsentrasi logam timbal 0, 10, dan 20ppm yang menunjukkan pengaruh yang signifikan atau berbeda nyata, sedangkan 50 dan 100 ppm menunjukkan pengaruh yang sama atau tidak berbeda nyata. Pertumbuhan yang dihasilkan dengan urutan konsentrasi 0 ppm > 10 ppm > 20 ppm > 50 ppm > 100 ppm. Rerata kepadatan masing-masing perlakuan didapatkan

pada konsentrasi 0 ppm sebesar 5.224.242,3 sel/ml ($52,2 \times 10^5$), 10 ppm sebesar 953.030,3 sel/ml ($9,53 \times 10^5$), 20 ppm sebesar 743.939,3 sel/ml ($7,44 \times 10^5$), 50 ppm sebesar 540.909,3 sel/ml ($5,41 \times 10^5$), dan 100 ppm sebesar 490.909,0 sel/ml ($4,91 \times 10^5$). Ion logam timbal dari konsentrasi 10, 20, 50 dan 100 ppm pada medium meningkatkan jumlah populasi *Chlorella* sp. hingga hari ke-5, dan kemudian menurunkan populasi *Chlorella* sp. pada hari ke-6 hingga hari ke-10 pengamatan. Persentase penghambatan (*Growth of inhibitions*, %) pertumbuhan sel *Chlorella* sp. yang tumbuh pada konsentrasi timbal yang berbeda yaitu 0ppm sebesar 0%, 10ppm sebesar 81,8%, 20ppm sebesar 85,8%, 50ppm sebesar 89,6% dan 100ppm sebesar 90,6% (Tabel 3. Lampiran 4).

Menurut Teoh dan Wong (2018) bahwa peningkatan konsentrasi timbal mempengaruhi karakteristik fisiologis dalam penurunan laju pertumbuhan spesifik (μ). Meskipun pada laju pertumbuhan spesifik (μ) kontrol dan konsentrasi 10 mg/L tidak berbeda secara signifikan, namun ada penurunan pertumbuhan yang terbatas tetapi tidak signifikan dengan peningkatan konsentrasi timbal. *Chlorella* sp. dapat mentolerir toksisitas timbal hingga pada konsentrasi tinggi (100 mg/L).

Konsentrasi timbal yang berlebihan juga berpengaruh terhadap molekul plastoquinone yang terkandung dalam membran tilakoid, yang berperan sebagai pembawa elektron dalam reaksi kimia pada proses fotosintesis. Jadi, ketika logam berat timbal masuk ke dalam sel maka akan menyebabkan terganggunya kerja molekul plastoquinone sebagai pembawa elektron yang sangat penting dalam reaksi kimia fotosintesis dalam menyediakan tenaga untuk pembentukan ATP dan NADPH (Krupa dan Basynski, 1995) sehingga akhirnya mempengaruhi ketersediaan ATP dan NADPH bagi aktivitas fotosintesis (Greger dan Oegren,

1991). Apabila tidak adanya ketersediaan ATP maka proses transport aktif dalam mekanisme biosorpsi yang terjadi di membran sel juga akan terganggu (Darnell, *et al.*, 1986).

Logam berat timbal juga dapat menghambat kerja enzim yang berperan dalam proses fotosintesis karena ion logam berat timbal yang berinteraksi dengan gugus sulfhydryl (-SH) metalotionein pada enzim tersebut (Lasut, 2002). Pengaruh logam berat timbal pada aktivitas enzim antara lain: (a) *Ribulosa 1,5 bifosfat karboksilase (Rubisco)* yang berperan pengikatan CO₂ dalam fiksasi CO₂. Jadi ketika awal siklus Calvin, logam berat timbal berpengaruh pada enzim tersebut. Dimana penggantian logam Mg yang dibutuhkan enzim tersebut oleh logam berat timbal dapat menghambat proses fiksasi CO₂ yang mana mengurangi sintesis ATP dan NADPH, dan berdampak pada laju fotosintesis (Ernest, 1998). (b) *Carbonic Anhydrase (CA)* yang berperan dalam merubah asam karbonat (HCO₃) menjadi CO₂. Adanya logam berat didalam sel *Chlorella* sp. seperti Cd, dan Pb dapat mempengaruhi aktivitas nitrat reduktase dan alkalin fosfatase, serta menyebabkan terjadinya perubahan pada struktur protein enzim dan menyebabkan gangguan pada perangkat fotosintesis (Assche dan Clijsters, 1990). Apabila Zn diganti dengan logam berat timbal maka akan mengakibatkan aktivitas enzim terganggu atau rusak (Darmono, 1995). Terganggunya aktivitas fotosintesis ini menyebabkan kemampuan memperbanyak diri menjadi berkurang sehingga menyebabkan pertumbuhan *Chlorella* sp. tidak optimal dengan penambahan jumlah selnya menjadi terhambat (Rachlin, *et al.*, 1982; Assche dan Clijsters, 1990).

Mikroalga *Chlorella* sp. merupakan salah satu teknik alternatif yang murah, efisien dan cepat berkembang di lingkungan. Penggunaan *Chlorella* sp. ini diharapkan meminimalisir pencemaran logam berat timbal (Pb) dan menjaga keseimbangan lingkungan. Maka dari itu, untuk menjadikan lingkungan seimbang perlunya peran mikroalga seperti *Chlorella* sp. untuk meminimalisir ion logam timbal yang sesuai pada QS. Ar Rahman (55:7-10) yang berbunyi:

وَالسَّمَاءَ رَفَعَهَا وَوَضَعَ الْمِيزَانَ ۗ أَلَّا تَطْغَوْا فِي الْمِيزَانِ ۚ ۸ وَأَقِيمُوا الْوَزْنَ بِالْقِسْطِ وَلَا تُخْسِرُوا الْمِيزَانَ ۚ ۹ وَالْأَرْضَ وَضَعَهَا لِلْأَنَامِ ۚ ۱۰

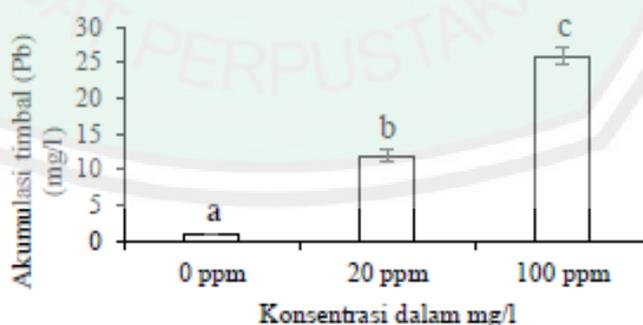
Artinya: “Dan Allah telah meninggikan langit dan Dia meletakkan neraca (keadilan). Supaya kamu jangan melampaui batas tentang neraca itu. Dan tegakkanlah timbangan itu dengan adil dan janganlah kamu mengurangi neraca itu. Dan Allah telah meratakan bumi untuk makhluk(Nya)”.

Berdasarkan firman Allah SWT. pada ayat-ayat di atas bahwa Allah SWT. telah meninggikan langit di atas bumi dan meletakkannya di bumi, untuk menegakkan keadilan (keseimbangan) yang Dia perintahkan dan syariatkan untuk para hamba-hamba-Nya. Agar kalian tidak melampaui batas dan mengkhianati orang yang kalian beri timbangan dengan adil. Kalian tidak berbuat aniaya dalam setiap perkara yang ditimbang, dan janganlah kalian mengurangi timbangan (keseimbangan) tersebut yang ditimbang. Karena Allah telah meletakkan bumi dan menghamparkannya untuk tempat tinggal bagi makhluk-Nya, Allah menetapkan untuk jin, manusia dan selain mereka. Oleh karena itu, Allah menunjuk manusia yang bertugas sebagai khalifah untuk menjaga bumi dan seisinya, karena Allah tidak menciptakan sesuatu dengan sia-sia (Al-Mahalli dan As-Suyuthi, 2008b; Basyir, *et al.*, 2011). Pada hal ini, timbal memang diciptakan oleh Allah SWT namun pada standar keamanan yang baik dan dalam bentuk bijih-bijih. Allah memerintahkan bahwa dilarang melampaui batas dalam hal timbangan

untuk merubah keseimbangan tersebut. Apabila terjadi perubahan keseimbangan (konsentrasi timbal yang tinggi) maka akan menyebabkan kerusakan dan berpengaruh pada makhluk hidup, seperti pada penelitian ini dimana semakin tingginya konsentrasi maka jumlah kepadatan sel *Chlorella* sp. selama 10 hari akan semakin menurun.

4.2 Uji kemampuan *Chlorella* sp. dalam mengakumulasi konsentrasi logam timbal yang berbeda

Berdasarkan hasil penelitian tentang uji akumulasi *Chlorella* sp. terhadap logam berat timbal (Pb) dengan konsentrasi yang berbeda didapatkan hasil bahwa terdapat perbedaan yang signifikan akumulasi timbal oleh *Chlorella* sp. tersebut. Pada konsentrasi 20 ppm jumlah timbal yang terakumulasi sebesar 12,00 mg/l (19,20%) dan 100 ppm sebesar 25,91 mg/l (41,45%) pada Gambar 4.3 (Lampiran 5). Tingginya konsentrasi ion logam yang diserap oleh *Chlorella* sp. sesuai pada penelitian Dewi dan Nuravivah (2018) dan Siwi, *et al.* (2018) bahwa peningkatan penyerapan (biosorpsi) akan berbanding lurus dengan peningkatan jumlah konsentrasi ion logam.



Gambar 4.3 Rata-rata bioakumulasi timbal (Pb) oleh *Chlorella* sp (mg/l) dengan konsentrasi Pb yang berbeda selama 10 hari. Notasi huruf yang berbeda pada gambar menunjukkan adanya perbedaan signifikan antar perlakuan ($P < 0.05$).

Penelitian tentang kemampuan akumulasi *Chlorella* sp terhadap beberapa konsentrasi ion logam timbal (Pb) yang berbeda yang diperoleh menunjukkan bahwa F Hitung = 528,97 dan F Tabel = 9,55, pada taraf signifikansi 5%. F hitung > F tabel. Hal ini menandakan bahwa terdapat perbedaan yang nyata tentang kemampuan akumulasi *Chlorella* sp terhadap beberapa konsentrasi logam timbal (Pb) yang berbeda (Lampiran 6, Tabel 2).

Selanjutnya analisis yang digunakan untuk mengetahui konsentrasi yang terbaik dalam akumulasi timbal (Pb) oleh *Chlorella* sp. maka dilakukanlah uji lanjut menggunakan uji beda nyata terkecil (BNT) atau *least significance different* (LSD) 0,05. Berdasarkan hasil uji BNT 0,05 dari hasil rata-rata akumulasi timbal (Pb) oleh *Chlorella* sp. maka didapatkan notasi yang disajikan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Persentase bioakumulasi ion logam timbal (Pb) oleh *Chlorella* sp.

| Konsentrasi Timbal (Pb) | Jumlah timbal (Pb) terakumulasi (mg/l \pm SE) | Persentase bioakumulasi timbal (Pb) |
|-------------------------|---|-------------------------------------|
| 0 ppm | 1,02 mg/l \pm 0 (a) | 0% |
| 20 ppm | 12,00 mg/l \pm 0,707 (b) | 19,20% |
| 100 ppm | 25,91 mg/l \pm 1,124 (c) | 41,45% |

Pada Tabel 4.1 diketahui bahwa akumulasi timbal (Pb) oleh *Chlorella* sp. bahwa ada perbedaan nyata antara 0, 20 dan 100 ppm. Urutan akumulasi ion logam timbal (Pb) oleh *Chlorella* sp. adalah 100 ppm > 20 ppm > 0 ppm. Akumulasi yang didapatkan tertinggi pada 100 ppm sebesar 41,45% dan 20 ppm sebesar 19,20% (Lampiran 5). Pada penelitian Dewi dan Nuravivah (2018) bahwa *Chlorella vulgaris* yang menyerap ion logam timbal (Pb) memiliki kadar rata-rata dalam media kultur pada konsentrasi 5 ppm sebesar 0,5305 atau sebesar 4,4695. Pada penelitian Kurniawan dan Aunurohim (2014) bahwa hasil pengukuran efisiensi kapasitas penyerapan logam timbal oleh *Chlorella* sp. pada perlakuan

sistem tunggal dengan konsentrasi 25mg/l terlihat meningkat pada waktu 60,120, dan 180 menit berturut-turut sebesar 42,1%, 43,5% dan 43,8%; sedangkan pada konsentrasi 50mg/l terlihat menurun efisiensi kapasitas penyerapan berturut-turut sebesar 60,5%, 59,7% dan 54,8%.

Ada banyak mekanisme penyerapan ion logam timbal oleh *Chlorella vulgaris*, seperti adsorpsi dan absorpsi. Secara adsorpsi, struktur dinding sel *Chlorella vulgaris* dari selulosa. Pada struktur kimia selulosa memiliki gugus OH^- . Selulosa ini berpotensi sebagai penangkap ion logam karena gugus OH^- terikat untuk berinteraksi dengan adsorbat, yakni timbal. Kelompok OH^- menyebabkan sifat polar dari adsorben, yakni selulosa yang terkandung dalam dinding sel *Chlorella vulgaris*. Maka dari itu, gugus OH^- dalam selulosa dapat menyerap zat polar lebih kuat dari zat tersebut lebih sedikit polar. Kehadiran gugus OH^- menyebabkan ion logam pada mekanisme adsorpsi Pb menyebabkan interaksi antara selulosa di dinding sel *Chlorella vulgaris* dengan ion timbal, ini adalah mekanisme detoksifikasi ekstraseluler atau mekanisme toleransi. Detoksifikasi adalah proses konversi logam berat menjadi bentuk tidak beracun. Hal ini dapat dilihat pada mekanisme penyerapan timbal dengan konsentrasi 1, 3 dan 5 ppm merupakan penyerapan ion logam dengan selulosa di dinding sel *Chlorella vulgaris* (Dewi dan Nuravivah, 2018).

Pada gugus fungsi yang terdapat di dinding sel seperti tiol, karboksil, dan beberapa enzim yang mengandung unsur anorganik (Zn, Fe, Cu) dapat berinteraksi dengan ion logam melalui ikatan kovalen atau pertukaran ion (Liljas, *et al.*, 1972). Pada kaitan dengan nutrisi yang dibutuhkan oleh sel *Chlorella* sp. yang membutuhkan unsur anorganik seperti N, P, K, Mg, Ca, S, Fe, Cu, Mn, dan Zn

untuk pertumbuhannya (O'Kelly, 1968). Ion logam Zn juga akan terikat kuat oleh gugus C=O dan S-H yang merupakan basa-lunak. Pada setiap sel fitoplankton, kurang lebih terdapat 260 jenis enzim yang membutuhkan ion logam seperti Zn, yang dapat digantikan dengan ion logam berat lainnya seperti Pb dan Cd sehingga dapat merusak kinerja enzim dan mengganggu jaringan sel pada fitoplankton (Liljas, *et al.*, 1972) yang bertugas untuk fotosintesis hingga menghambat laju pertumbuhan sel *Chlorella* sp.

Pada mikroalga, seperti *Chlorella vulgaris* dilaporkan dapat menurunkan kadar timbal dalam media kultur melalui pembentukan protein pengikat logam, yaitu metalotionein dan fitokelatin (Dewi dan Nuravivah, 2018). Pada sel-sel *Chlorella* sp. dari proses metabolisme dapat mensintesis protein pengikat logam fitokelatin untuk merespon efek negatif logam berat. Protein tersebut dapat berikatan dengan logam berat dikarenakan memiliki gugus sulfhidril (-SH) dan akan terakumulasi dalam vakuola melalui proses enzimatik (Lehniger, *et al.*, 1993). Gugus sulfhidril akan dengan mudah mengikat ion logam berat dan masuk ke dalam tubuh organel dan berfungsi sebagai detoksifikasi (Cobbet, 2000).

Beberapa senyawa organik yang ada dalam fitoplankton, seperti klorofil mampu mengikat ion logam berat dan membentuk senyawa kompleks melalui gugus-gugus sulfhidril dan amina. Ikatan kompleks ini akan menyebabkan ion logam berat menjadi stabil dan terakumulasi dalam sel fitoplankton. Kandungan senyawa organik ini berperan sebagai ligand yang tidak sama pada jenis fitoplankton dan juga tergantung pada fisiologisnya (Purnamawati, *et al.*, 2015). Fitokelatin yang disintesis dari turunan tripeptida (*glutathione*). Jadi apabila pada lingkungan tercemar logam timbal maka, ia akan membentuk fitokelatin

glutathione. Kemudian fitokelatin ini akan membentuk fitokelatin-Pb yang akan diteruskan ke vakuola (Lehniger, *et al.*, 1993).

Untuk mempertahankan kehidupannya, mikroalga memiliki mekanisme khusus yang melibatkan pembentukan kompleks ion logam dengan protein didalam membran sel, sehingga logam akan terakumulasi dalam sel tanpa mengganggu pertumbuhan. Namun, apabila konsentrasi ion logam tinggi, akumulasi akan menghambat laju pertumbuhan sel dikarenakan pada sistem perlindungan organisme tidak mampu untuk mengimbangi efek logam berat yang sangat tinggi. Selain itu, ukuran sel *Chlorella vulgaris* juga mempengaruhi daya tampung biosorpsi (Khoshmanesh *et al.*, 1997; Muhaemin, 2004) dan juga setelah terjadinya sintesis nanopartikel dengan proses aglomerasi yang mengakibatkan ukuran sel tidak dapat mempertahankan ukurannya (Tervonen, *et al.* dalam Jeevanandam, *et al.*, 2018). Pada mekanisme absorpsi, *Chlorella vulgaris* akan memindahkan ion logam yang terikat pada dinding sel ke organel sel yang lebih dalam. Bioakumulasi terjadi akibat dari paparan bahan ion logam seperti timbal yang berlangsung secara terus-menerus ke dalam sel. Pada prosesnya, ion logam secara terus-menerus akan cenderung menetap didalam sel. Karena laju pelepasan ion logam yang jauh lebih kecil daripada laju penyerapannya ke dalam sel. Proses penyerapan dan akumulasi ion logam oleh sel *Chlorella vulgaris* akan dipecah dan diekskresikan, disimpan dan dimetabolisme yang bergantung pada konsentrasi dan potensial bahan kimianya. Bahan kimia yang hidrofilik seperti Pb lebih mudah diekskresikan daripada logam yang lipofilik (Purnamawati, *et al.* 2015).

Penyerapannya secara biosorpsi diawali dengan pengikatan ion logam berat pada gugus sulfur (S) dari asam amino sistein pada dinding sel. Setelah protein reseptor mengenali adanya logam asing (non esensial) gen akan mengkode pembentukan metallothioenin (MT). Protein metallothioenin memiliki kandungan sistein tinggi yang menyebabkan protein tersebut memiliki daya afinitas yang kuat terhadap logam. Selanjutnya ion logam akan berikatan dengan metallothioenin didalam sel dengan mekanisme transport pasif dan akan berikatan dengan 2 atom S pada sistein, kemudian struktur MT akan membentuk seperti jepit rambut dan logam berat akan terdetoksifikasi dalam strukturnya. MT yang berikatan dengan logam berat akan ditransport ke vakuola yang berfungsi sebagai tempat penyimpanan ion-ion dan metabolit. Di dalam sel akan membentuk MT secara terus-menerus selama ion logam berat masih ada dalam larutan yang terikat pada gugus S dari protein dinding sel sampai pada saat tertentu sel akan mengalami kejenuhan dan berada pada fase kematian (Adi dan Dyah, 2010).

Konsentrasi ion logam yang terakumulasi ke dalam sel *Chlorella* sp, didalam sel *Chlorella* sp. ini terjadi secara absorpsi dan dapat meminimalisir kandungan ion logam yang berada di lingkungan medium kultur yang sesuai pada firman Allah SWT. pada QS. Al A'la (87:3) yang berbunyi:

وَالَّذِي قَدَّرَ فَهَدَىٰ ۝۳

Artinya: “dan yang menentukan kadar (masing-masing) dan memberi petunjuk”

Berdasarkan ayat di atas bahwa kata *qaddara* memiliki makna untuk seluruh skema perkembangan ke arah tujuan untuk apa makhluk hidup diciptakan, sedangkan kata *hada* sebagai “petunjuk illahih” dalam bentuk naluri yang mendominasi setiap makhluk (tanpa memandang itu bermotif kejiwaan atau jasmani) (Faqih, 2006). Pada tafsir jalalain (Al-Mahalli dan As-Suyuti, 2008)

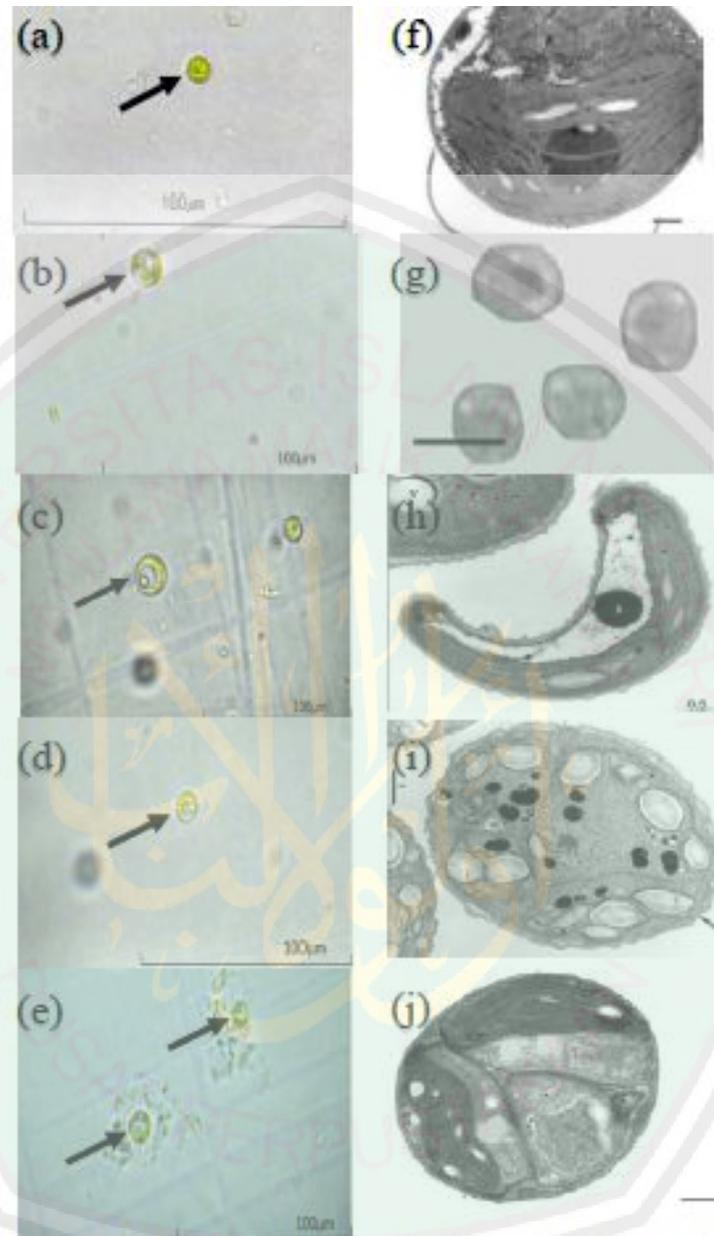
menjelaskan bahwa dan yang menentukan kadar akan masing-masing atas sekehendak-Nya dan memberi petunjuk kepada apa yang Dia tentukan dari kebaikan dan keburukan. Agar kalian memperhatikan ukuran atau kadar-kadar yang ditentukan oleh Allah SWT. agar lingkungan tetap seimbang. Apabila kadar-kadar (konsentrasi ion logam timbal) tersebut melebihi batas ambang akan menyebabkan dampak buruk bagi lingkungan sekitar yang menyebabkan terganggunya lingkungan hingga menjadi lingkungan yang tidak seimbang, seperti terganggunya pertumbuhan *Chlorella* sp. dalam penelitian ini. Namun penggunaan *Chlorella* sp. ini dapat meminimalisir kadar ion logam timbal ke dalam selnya demi memperbaiki kadar yang melebihi batas ambang. Maka dari itu, pertanggung jawaban sebagai manusia yang telah diberi tugas khalifah oleh Allah menurut Abdullah (2010) bahwa manusia merupakan khalifah yang ditunjuk oleh Allah dalam menjaga semua makhluk hidup dalam kekuasaannya yang tidak berlebihan di alam (bumi beserta isinya).

4.3 Perubahan warna morfologi pada organel sel *Chlorella* sp. yang mengakumulasi logam timbal

Dalam penelitian ini, dilakukan pengamatan ada tidaknya perubahan morfologi *Chlorella* sp. yang dikultur dalam konsentrasi timbal (Pb) yang berbeda. Berdasarkan Gambar 4.4 didapatkan hasil bahwa semakin tinggi konsentrasi logam berat timbal yang digunakan maka akan semakin banyak pula indikasi kerusakan di dalam sel *Chlorella* sp. dimana terdapat perubahan warna pada masing-masing sel *Chlorella* sp. dengan konsentrasi yang berbeda.

Peningkatan konsentrasi timbal mempengaruhi karakteristik fisiologis, menurunkan pertumbuhan spesifik, klorofil, karotenoid Teoh dan Wong, 2018)

dan protein (Carfagna, *et al.*, 2013). Konsentrasi logam berat seperti timbal menyebabkan sel *Chlorella* sp. menjadi abnormal (Nacorda, *et al.*, 2007).



Gambar 4.4 Karakteristik perubahan warna pada sel *Chlorella* sp. dengan konsentrasi berbeda secara mikroskopis dengan perbesaran 40x dengan literatur menggunakan mikroskop transmisi elektron (TEM). (a) 0 ppm (kontrol) (8,50 μ m), (b) 10 ppm (6,10 μ m), (c) 20 ppm (9,53 μ m), (d) 50 ppm (5,44 μ m), (e) 100 ppm (5,44 μ m; 5,78 μ m), (f) *Chlorella sorokiniana* tanpa logam berat dengan menggunakan mikroskop transmisi elektron (TEM) (Carfagna, *et al.*, 2013). (g) *Chlorella vulgaris* yang terpapar logam Pb (Nacorda, *et al.*, 2007), (h) *Chlorella vulgaris* yang terpapar Cd (El-Naggar dan Sheikh, 2014), (i) *Chlorella vulgaris* yang terpapar Zn (El-Naggar dan Sheikh, 2014), dan (j) *Chlorella sorokiniana* yang diberi paparan Pb (Carfagna, *et al.*, 2013).

Gambar 4.4 menunjukkan bahwa pada perlakuan kontrol (0ppm), ultrastruktur sel *Chlorella* sp. berbentuk bulat yang mengandung kloroplas yang tersusun didalam organel tersebut secara utuh yang berwarna hijau. Hal ini sesuai dengan penelitian Kusuma dan Zulaika (2014) sel *Chlorella* sp. yang hidup berbentuk bulat, utuh dan berwarna hijau. Hal ini juga didukung dalam penelitian Carfagna, *et al.* (2013) pada pengamatan dengan mikroskop transmisi elektron (TEM), perlakuan kontrol menunjukkan ultrastruktur yang memiliki karakteristik seperti kloroplas yang berbentuk cangkir yang mengandung tilakoid yang tersusun pada sumbu utama organel, terdapat pirenoid sentral, dan butiran pati bening.

Gambar 4.4 juga menunjukkan bahwa pada masing-masing konsentrasi mengalami perbedaan struktur organel didalam sel. Hal ini dikarenakan tingginya konsentrasi logam timbal yang dimasukkan ke dalam media kultur yang mengakibatkan sel *Chlorella* sp. mengalami kerusakan organel didalam sel itu sendiri. Pada kultur *Chlorella* sp. yang diberi perlakuan 10, 20, 50 dan 100ppm selama 10 hari, menampilkan organel sel *Chlorella* sp. yang berbeda dengan kontrol dimana ada indikasi kerusakan pada organelnya. Indikasi kerusakan ini seperti perubahan warna pada sel *Chlorella* sp., dimana sel *Chlorella* sp. pada konsentrasi 0ppm (kontrol) warna pada sel tersebut berwarna hijau dan sedikit kekuningan sedangkan pada perlakuan pada perlakuan yang diberi paparan logam berat timbal dengan konsentrasi 10 hingga 100ppm terdapat perubahan warna, dimana terdapat warna bening. Paparan timbal tersebut mengakibatkan warna hijau pada kloroplas semakin lama menjadi berwarna bening dan tidak mengandung kloroplas. Meskipun konsentrasi timbal yang diberikan didalam perlakuan tinggi, *Chlorella* sp. mampu mentolerir konsentrasi timbal tersebut dan bertahan hidup

dengan jumlah yang sedikit. Menurut Kusuma dan Zulaika (2014) melaporkan organel pada sel *Chlorella* sp. ini terganggu dan lama-kelamaan mati mejadi bentuk yang tidak utuh, berwarna pudar (bening) yang tidak mengandung kloroplas, dan pecah (lisis).

Menurut Nacorda, *et al.* (2007) bahwa terjadi deformitas kloroplas atau perubahan bentuk tubuh yang awalnya normal menjadi abnormal (kelainan bentuk) pada sel *Chlorella vulgaris* dengan paparan logam berat Cd, Cr, Cu, dan Pb. Menurut (El-Naggar dan Sheikh, 2014) bahwa paparan logam Cd mengakibatkan invaginasi dalam sel yang mengarah ke bentuk sel yang berubah, disentrigrasi dalam membran tilakoid, kerusakan parah pada protooplas dan peningkatan ukuran badan inklusi di dalam vakuola, sedangkan sel *Chlorella vulgaris* yang rusak akibat terpapar logam Zn sebesar 50ppm menunjukkan pembentukan plastoglobuli (Pg) dengan ukuran yang berbeda dan lapisan pada elektron menjadi gelap dengan aspek amorf pada permukaan sel.

Carfagna, *et al.* (2013) logam berat mempunyai muatan ion positif sehingga berikatan dengan protein atau enzim didalam sel yang mempunyai ion muatan negatif. Sistein yang merupakan salah satu asam amino dari enzim yang berfungsi mengikat radikal bebas. Jadi kehadiran ion logam berat yang bermuatan positif yang menyebabkan kelompok sulfhidril sistein harus mengikat radikal bebas dan ion logam berat, sehingga ion logam berat yang berlebihan didalam sitoplasma akan menyebabkan keseimbangan menjadi terganggu didalam sel *Chlorella* sp.

Konsentrasi logam berat timbal yang berlebihan didalam sel akan berdampak buruk atau berpengaruh pada struktur kloroplas dan proses metabolisme dalam sel *Chlorella* sp. (Ernst, 1998). Ketika aktivitas enzim

galaktolipase meningkat oleh pengaruh logam berat timbal yang berlebihan maka akan memicu hidrolisis molekul monogalaktolipid yang menyusun membran tilakoid sehingga menyebabkan degradasi membran tilakoid (Krupa dan Baszynski, 1995). Logam berat timbal yang berpengaruh pada fotosintesis (Stobart, *et al.*, 1985) pada organel kloroplas, dimana organel ini merupakan yang paling sensitif terhadap logam berat (Ernst, 1998), yang menyebabkan klorosis. Dimana klorosis disebabkan oleh logam berat timbal akibat penghambatan langsung terhadap enzim *5-asam aminolevulinat dehidratase* yang berperan dalam sintesis klorofil dan melalui penggantian logam Fe dan Mg yang terlibat dalam sintesis klorofil (Stobart, *et al.*, 1985).

Rosko dan Rachlin (1977) melaporkan bahwa $32,0 \text{ mg/l/sup}^{-1}$ Pb menurunkan konsentrasi klorofil per sel. Teoh dan Wong (2018) melaporkan bahwa paparan konsentrasi timbal 100 mg/L menghasilkan pengurangan jumlah klorofil-a sekitar 64%. Hal ini juga sesuai dengan studi lain, Shanab, *et al.* (2012) dan Zhang, *et al.* (2013) bahwa peningkatan konsentrasi timbal menghasilkan penurunan laju fotosintesis dengan penurunan konsentrasi klorofil-a pada *Chlorella sp.*

Aktivitas fotosintesis yang terhambat hingga menyebabkan penurunan laju pertumbuhan merupakan akibat kondisi lingkungan yang tercekam oleh logam berat. Aktivitas fotosintesis dapat terhambat dikarenakan terjadi penghancuran pigmen-pigmen didalam kloroplas, yang berfungsi untuk menyerap cahaya dan penghambatan enzim kunci yang terlibat dalam fiksasi CO_2 (De-Filippis dan Pallaghy, 1994).

Kandungan pigmen fotosintesis yang berkurang dapat digunakan untuk memantau kerusakan akibat logam berat pada sel *Chlorella vulgaris*. Logam berat dapat menghambat sintesis klorofil dan/atau merangsang kerusakan klorofil karena peningkatan aktivitas klorofilase (Drazkiewicz, 1994). Penghambatan dalam akumulasi pigmen fotosintesis dalam menanggapi stres logam berat mungkin juga merupakan konsekuensi dari peroksidasi membran kloroplas melalui peningkatan laju produksi H₂O₂ dan peroksidasi lipid dalam membran kloroplas. Menurut Qiu *et al.* (2006) penurunan klorofil-a berkorelasi dengan peningkatan konsentrasi logam berat (Cu dan Cd). Penurunannya ini disertai dengan degradasi struktur kloroplas pada *Chlorella* sp. yang tercemar logam berat yang menunjukkan peralatan fotosintesis didalam sel-sel ini dapat terganggu.

Hasil yang terkait pada penelitian Carfagna, *et al.* (2013) bahwa keracunan timbal menurunkan kadar total klorofil sel *Chlorella sorokiniana* menjadi 15.89 µg mL⁻¹ PCV pada paparan 2 jam dan 8.77 µg mL⁻¹ PCV pada paparan 24 jam. Selain itu, tingkat protein dalam sel juga ikut menurun pada paparan 2 jam dan 24 jam sebesar 35% dan 61%. Setelah paparan 24 jam, fotosintesis dihambat hingga 77%. Pada sel alga, paparan timbal menginduksi penurunan kandungan klorofil total dan kadar protein terlarut hingga mempengaruhi keseluruhan kloroplas dan pertumbuhan pada sel alga. Kemungkinan, untuk menjaga pertumbuhan sel alga, klorofil dan protein, bahkan protein kloroplas mewakili sumber darurat nitrogen dan sulfur. Selain itu, pengurangan kadar protein dikaitkan dengan kekurangan kerangka karbon yang dihasilkan dari tingkat fotosintesis yang rendah. Menurut Fathi, *et al.* (2005) akumulasi asam amino dalam menanggapi konsentrasi logam dapat menyebabkan asumsi bahwa biosintesis protein yang ditekan akan

mendorong akumulasi asam amino bebas, atau kemungkinan karena beberapa mekanisme *chelating* yang menangkal terhadap toksisitas logam berat.

Kadar timbal yang berada di lapisan bumi sekitar 0,0002% dari jumlah kerak bumi, dalam bentuk bijih-bijih yang bergabung dengan logam-logam seperti perak, seng, arsen, stibi, dan bismut (Palar, 1994). Timbal di lingkungan dapat membahayakan kesehatan manusia dan lingkungan. Maka dari itu, perlunya untuk meminimalisir kandungan ion logam yang berada di lingkungan agar tetap seimbang, perlu adanya perbaikan untuk mengatasinya. Akumulasi ion logam timbal menggunakan *Chlorella* sp. ini perlu mendapatkan perhatian karena dengan cara bioremediasi selain murah dan efisien juga dapat mengakumulasi ion logam timbal ke dalam sel *Chlorella* sp. Namun dalam skala besar di alam, populasi *Chlorella* sp. ada yang mampu meminimalisir kandungan ion logam dengan mekanismenya sendiri dan ada yang tidak dapat bertahan dalam kandungan ion logam, karena tingginya konsentrasi di lingkungan dan menyebabkan lingkungan tidak seimbang. Lingkungan yang tidak seimbang ini seperti pada penelitian Pramesthy, *et al.* (2014) di Danau Lido telah mengalami pencemaran logam timbal yang cukup tinggi, yaitu 0,08-0,19 mg/L. Pencemaran ini menyebabkan deformitas ligula yaitu terjadinya respon morfologi pada larva Tanypodinae. Deformitas ligula berupa kecacatan pada tubuh, untuk Tanypodinae terjadi ada struktur gigi yang tidak lengkap bahkan tumbuh melebihi jumlah normal (abnormal) hingga mencapai 15 gigi. Baku mutu untuk kandungan timbal sebesar 0,03 mg/l. Selain itu, kandungan timbal sebesar 2,4 -5,02 µg/l, sudah membuat biota perairan mengalami kecacatan. Oleh karena itu, seminimal

mungkin kandungan ion logam timbal harus segera ditangani. Hal ini sesuai pada QS. Al A'raf (7:56), Allah berfirman:

وَلَا تُفْسِدُوا فِي الْأَرْضِ بَعْدَ إِصْلَاحِهَا وَادْعُوهُ خَوْفًا وَطَمَعًا إِنَّ رَحْمَتَ اللَّهِ قَرِيبٌ مِّنَ الْمُحْسِنِينَ
٥٦

Artinya: “Dan janganlah kamu membuat kerusakan di muka bumi, sesudah (Allah) memperbaikinya dan berdoalah kepada-Nya dengan rasa takut (tidak akan diterima) dan harapan (akan dikabulkan). Sesungguhnya rahmat Allah amat dekat kepada orang-orang yang berbuat baik”.

Kandungan ayat menurut Al-Mahalli dan As-Suyuti (2008a) dan Basyir, *et al.* (2011), dan janganlah kalian membuat kerusakan di bumi dalam bentuk apapun dengan perbuatan kemusyrikan dan maksiat, setelah Allah memperbaiki (keadaan) dunia dengan mengutus para Rasul (semoga keselamatan menyertai mereka) dan memakmurkannya dengan ketaatan kepada-Nya. Berdoalah kepada-Nya dengan penuh keikhlasan, disertai rasa takut akan siksa-Nya dan berharap pahala dari-Nya. Sesungguhnya rahmat Allah sangat dekat kepada orang-orang yang berbuat kebaikan, yakni orang-orang yang taat kepada Allah. Orang-orang yang menjauhi laranganNya seperti merusak lingkungan. Allah SWT. memberikan tugas kepada manusia menjadi khalifah untuk menjaga bumi dan seisinya. Pada hal ini, manusia dilarang untuk berbuat merusak seperti penggunaan alam secara berlebihan dan tidak bersyukur terhadap anugerah Allah SWT yang telah diberikanNya, karena manusia mendapatkan balasan yang berdampak buruk dan kembali lagi kepada manusia itu sendiri.

4.4 Dialog hasil penelitian dalam integrasi sains dan islam

Penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulka bahwa (a) pemberian konsentrasi logam timbal yng berbeda menyebabkan penurunan pertumbuhan

Chlorella sp., dimana semakin tinggi konsentrasi logam timbal yang diberikan terhadap kultur sel *Chlorella* sp. menyebabkan semakin rendah pertumbuhan sel *Chlorella* sp. (b) *Chlorella* sp. mampu mengakumulasi logam timbal sampai pada konsentrasi 100ppm sebesar 41,45%. Dimana semakin tinggi konsentrasi timbal yang digunakan maka semakin tinggi pula konsentrasi timbal yang diserap sel *Chlorella* sp. Namun, dilihat dari nilai persentase yang semakin tingginya konsentrasi timbal yang digunakan maka akan semakin rendah nilai persentase dari daya serap bioakumulasi konsentrasi timbal oleh *Chlorella* sp. (c) Pemberian konsentrasi logam timbal yang berbeda menyebabkan indikator perubahan warna pada organel sel *Chlorella* sp. dari hasil penelitian tersebut, dapat dihubungkan dengan ayat-ayat Al-Quran bahwa konsentrasi logam timbal yang berada di alam dapat diserap oleh tumbuhan dan mikroorganisme yang khususnya mikroalga seperti *Chlorella* sp. logam timbal di alam yang berlebihan di alam merupakan salah satu kerusakan lingkungan yang Allah SWT benci.

Kerusakan lingkungan banyak diakibatkan oleh tindakan-tindakan manusia seperti dalam segi pencemaran lingkungan. Pencemaran lingkungan dapat terjadi pada tanah, udara dan air. Pencemaran tersebut mengganggu kesehatan lingkungan dan manusia, salah satu contohnya adalah pencemaran logam berat seperti logam timbal (Pb), yang sesuai dengan firman Allah SWT. Pada QS. Al Baqarah (2: 205) yang berbunyi:

وَإِذَا تَوَلَّى سَعَىٰ فِي الْأَرْضِ لِيُفْسِدَ فِيهَا وَيُهْلِكَ الْحَرْثَ وَالنَّسْلَ ۗ وَاللَّهُ لَا يُحِبُّ الْفٰسٰدَ ۚ ٢٠٥

Artinya: “Dan apabila ia berpaling (dari kamu), ia berjalan di bumi untuk mengadakan kerusakan padanya, dan merusak tanam-tanaman dan binatang ternak, dan Allah tidak menyukai kerusakan.”

Berdasarkan ayat di atas dalam tafsir Jalalayn bahwa (*Dan apabila ia berpaling*) dari hadapanmu (*ia berjalan di muka bumi untuk membuat kerusakan*

padanya dan membinasakan tanam-tanaman dan binatang ternak) untuk menyebut beberapa macam kerusakan itu (*sedangkan Allah tidak menyukai kerusakan*), artinya tidak rida padanya (Al-Mahalli dan As-Suyuti, 2008a). Kerusakan dalam hal ini adalah pencemaran logam berat seperti timbal yang sering ditemukan di industri-industri (baterai, keramik, pelapisan logam, kabel, cat dan tinta) dan penggunaan bahan bakar minyak bumi sebagai bahan campuran untuk sebagai zat aditif.

Konsentrasi atau kadar logam timbal yang berada di lingkungan akibat pembuangan limbah dari industri, rumah tangga dan bahan bakar harus segera ditangani. Karena apabila kesehatan manusia seperti toksisitas akut atau kronis (keracunan) (Wang, *et al.*, 2009), sedangkan kesehatan lingkungan seperti hilangnya keanekaragaman hayati, perubahan komposisi lingkungan, berkurangnya kemampuan reproduksi tumbuhan dan hewan (Lu, 1985). Hal ini sesuai pada firman Allah SWT. dalam QS. Hud (11: 85) yang berbunyi:

وَيَقُومَ أَوْفُوا الْمِكْيَالَ وَالْمِيزَانَ بِالْقِسْطِ وَلَا تَبْخَسُوا النَّاسَ أَشْيَاءَهُمْ وَلَا تَعْتُوا فِي الْأَرْضِ
مُفْسِدِينَ ٨٥

Artinya: “Dan Syu'aib berkata: "Hai kaumku, cukupkanlah takaran dan timbangan dengan adil, dan janganlah kamu merugikan manusia terhadap hak-hak mereka dan janganlah kamu membuat kejahatan di muka bumi dengan membuat kerusakan.”

Berdasarkan ayat di atas menurut tafsir Jalalyn bahwa (*Dan Syuaib berkata, "Hai kaumku!*) (*Cukupkanlah takaran dan timbangan*) sempurnakanlah keduanya (*dengan adil*) secara tetap (*dan janganlah kalian merugikan manusia terhadap hak-hak mereka*) janganlah kalian mengurangi hak-hak mereka sedikit pun (*dan janganlah kalian membuat kejahatan di muka bumi dengan membuat kerusakan*) dengan melakukan pembunuhan dan kejahatan lainnya. Lafal *ta'tsau* berasal dari

fi'il madhi`atsiya, artinya mengadakan kerusakan. Sedangkan lafal *mufsiidiina* berkedudukan menjadi hal atau keterangan yang mengukuhkan makna amilnya yaitu *ta'tsau* (Al-Mahalli dan As-Suyuti, 2008a). Baku mutu yang digunakan pada industri berbeda-beda dan tergantung jenis usahanya, sebagai contoh baku mutu timbal di industri pelapisan logam yaitu 0,1 mg/l sedangkan untuk industri cat dan tinta yaitu 0,30 mg/l dan industri keramik yaitu 1,0 mg/l (PerGub Jatim No. 52 Th. 2014). Oleh karena itu, konsentrasi logam timbal yang berada dibawah baku mutu untuk lingkungan tidak menjadi masalah namun apabila konsentrasi logam timbal di atas baku mutu (ambang batas kadar maksimal) untuk lingkungan, maka hal ini harus segera ditangani. Karena permasalahan ini cukup serius yang harus dianalisis, dievaluasi dan ditangani untuk mengatasi hal tersebut. Dari berbagai macam cara fisik, kimia dan biologi. Proses secara fisik dengan sedimentasi, proses secara kimia dengan pengendapan dengan penambahan bahan kimia atau presipitasi, dan proses secara biologi dengan bioremediasi. Penggunaan dengan cara bioremediasi ini sesuai dengan firman Allah SWT, dalam QS. Hud (11: 88) yang berbunyi:

قَالَ يَقَوْمِ أَرَأَيْتُمْ إِنْ كُنْتُ عَلَىٰ بَيِّنَةٍ مِّن رَّبِّي وَرَزَقَنِي مِنْهُ رِزْقًا حَسَنًا وَمَا أُرِيدُ أَنْ أُخَالِفَكُمْ إِلَىٰ مَا أَنهَلَكُم عَنْهُ إِنْ أُرِيدُ إِلَّا الْإِصْلَاحَ مَا اسْتَطَعْتُ وَمَا تَوْفِيقِي إِلَّا بِاللَّهِ عَلَيْهِ تَوَكَّلْتُ وَإِلَيْهِ أُنِيبُ
٨٨

Arinya: "Syu'aib berkata: "Hai kaumku, bagaimana pikiranmu jika aku mempunyai bukti yang nyata dari Tuhanku dan dianugerahi-Nya aku dari pada-Nya rezeki yang baik (patutkah aku menyalahi perintah-Nya)? Dan aku tidak berkehendak menyalahi kamu (dengan mengerjakan) apa yang aku larang. Aku tidak bermaksud kecuali (mendatangkan) perbaikan selama aku masih berkesanggupan. Dan tidak ada taufik bagiku melainkan dengan (pertolongan) Allah. Hanya kepada Allah aku bertawakkal dan hanya kepada-Nya-lah aku kembali."

Berdasarkan ayat di atas pada tafsir Jalalyn bahwa (Syuaib berkata, "Bagaimana pikiran kalian jika aku mempunyai bukti yang nyata dari Rabbku

dan dianugerahi-Nya aku daripada-Nya rezeki yang baik) rezeki yang halal lalu apakah patut jika aku mencampurinya dengan barang yang haram hasil mengurangi takaran dan timbangan (*Dan aku tidak berkehendak menyalahi kalian*) melakukan (*apa yang aku larang kalian daripadanya*) kemudian aku mengerjakannya. (*Aku tidak*) aku tiada (*bermaksud kecuali mendatangkan perbaikan*) bagi kalian supaya menegakkan keadilan (*selama aku masih berkesanggupan. Dan tidak ada taufik bagiku*) berkemampuan untuk melakukan hal tersebut dan perkara ketaatan lainnya (*melainkan dengan pertolongan Allah. Hanya kepada Allah aku bertawakal dan hanya kepada-Nyalah aku kembali.*) mengembalikan semua perkara (Al-Mahalli dan As-Suyuti, 2008a). Penelitian tentang bioremediasi ini digunakan untuk meminimalisir kandungan konsentrasi logam timbal. Agar lingkungan yang tercemar logam berat jenis ini dapat teratasi dengan baik. Penggunaan bioremediasi merupakan salah satu cara untuk memperbaiki pencemaran logam yang terjadi di lingkungan. Karena bioremediasi merupakan teknologi ramah lingkungan, murah dan efisien. Penggunaannya dengan cara menggunakan mikroorganisme seperti mikroalga, *Chlorella* sp yang sesuai pada firman Allah SWT. pada QS. Asy Syu'ara (26: 7) yang berbunyi:

أَو لَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ رَوْحٍ كَرِيمٍ ۚ

Artinya: “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?”

Berdasarkan ayat di atas menurut tafsir Jalalyn bahwa (*Dan apakah mereka tidak memperhatikan*) maksudnya tidak memikirkan tentang (*bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu*) alangkah banyaknya (*dari bermacam-macam tumbuh-tumbuhan yang baik*) jenisnya (Al-Mahalli dan As-Suyuti, 2008b). Kata yang menunjukkan arti “*tumbuhan-tumbuhan yang baik*” merupakan

tumbuhan yang tumbuh subur dan memiliki manfaat. Dijelaskan didalam tafsir al misbah (Shihab, 2001), betapa banyaknya Allah menumbuhkan di bumi berbagai macam tumbuhan baik dan berguna, yang dapat dimanfaatkan oleh manusia dan binatang ternak. Pada ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah SWT. menciptakan tumbuh-tumbuhan yang baik untuk dimanfaatkan sebagai akumulasi logam berat timbal, seperti *Chlorella* sp untuk menghilangkan pollutan atau memecah kontaminan, seperti timbal di lingkungan.

Penelitian tentang uji akumulasi logam timbal (Pb) menggunakan *Chlorella* sp. dapat disimpulkan bahwa konsentrasi logam timbal (Pb) yang berbeda dapat mempengaruhi penurunan pertumbuhan *Chlorella* sp. selama 10 hari, *Chlorella* sp. mampu mengakumulasi logam timbal (Pb) sebesar 41,45%, dan konsentrasi 100ppm, dan paparan logam timbal (Pb) dapat merubah warna pada organel sel *Chlorella* sp. Oleh karena itu, penggunaan *Chlorella* sp. ini bermanfaat dalam remediasi logam berat timbal di lingkungan. Penggunaan *Chlorella* sp. ini merupakan salah satu cara untuk memperbaiki lingkungan, menjaga dan melestarikan lingkungan seperti danau, sungai dan laut merupakan kewajiban khalifah untuk tidak berbuat kerusakan.

Manusia banyak berbuat kerusakan, dan hal ini merupakan yang dibenci oleh Allah SWT. Karena Allah SWT menciptakan segala sesuatu tidak dengan sia-sia. Agar manusia memperhatikan segala sesuatu yang memiliki manfaat dengan ukuran yang sesuai. Apabila manusia melanggar larangan Allah SWT. seperti mengurangi dan melebihi ukuran-ukuran atau kadar logam timbal di lingkungan yang ditentukan oleh-Nya yang mengakibatkan pencemaran logam berat timbal, maka manusia akan mendapatkan akibat yang sesuai dari

perbuatannya seperti bencana alam dan penyakit. Maka dari itu, pertanggung jawaban sebagai manusia yang telah diberi tugas khalifah oleh Allah SWT dalam menjaga semua makhluk hidup dalam kekuasaannya yang tidak berlebihan di alam.



BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan maka kesimpulan yang dapat diambil dalam penelitian ini adalah

1. Pemberian konsentrasi logam timbal (Pb) yang berbeda menyebabkan penurunan pertumbuhan *Chlorella* sp, dimana semakin tinggi konsentrasi logam timbal yang diberikan terhadap kultur sel *Chlorella* sp. menyebabkan semakin rendah pertumbuhan sel *Chlorella* sp.
2. *Chlorella* sp. mampu mengakumulasi logam timbal (Pb) sampai pada 100 ppm sebesar 41,45%.
3. Pemberian konsentrasi logam timbal (Pb) yang berbeda menyebabkan indikator perubahan warna morfologi pada organel sel *Chlorella* sp.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian maka saran-saran yang dapat diambil dalam penelitian ini adalah

1. Perlunya dilakukan penelitian kemampuan *Chlorella* sp. dalam mengakumulasi logam berat lainnya seperti Cd, Cu, dan Hg.
2. Perlunya mengetahui lebih mendalam tentang distribusi logam timbal di dalam sel *Chlorella* sp., perlunya dilakukan pengukuran dengan menggunakan *Scanning Electrone Microscope* (SEM).
3. Perlunya penelitian tentang lokalisasi yang mengakumulasi logam berat timbal di dalam organel sel *Chlorella* sp.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, M. 2010. **Al Qur'an dan konservasi lingkungan**. PT Dian Rakyat. Jakarta.
- Adi, S.E., dan N. Dyah S. 2010. Pengurangan konsentrasi ion Pb dalam limbah air elektroplating dengan proses biosorpsi dan pengadukan. *Jurnal Teknik Kimia*. 5(1): 373-379.
- Al-Mahalli, I.J., dan I.J.As-Suyuti. 2008a. **Tafsir jalalain**. Jilid I. Sinar baru algensindo bandung. Bandung.
- Al-Mahalli, I.J., dan I.J.As-Suyuti. 2008b. **Tafsir jalalain**. Jilid II. Sinar baru algensindo bandung. Bandung.
- Al-Qarni, A.I.A.A. 2007. **Tafsir muyassar**. Jilid I. Cetakan I. Terjemahan Tim Qisthi. 2008. Qisthi Press. Jakarta.
- Arifah, S. 2014. Studi kemampuan *Nannochloropsis* sp. dan *Chlorella* sp. sebagai agen bioremediasi logam berat merkuri (Hg) dan pengaruhnya terhadap pertumbuhan. Universitas Airlangga Surabaya. Skripsi.
- Ashraf, M., M. Ozturk., dan M.S.A. Ahmad. 2010. **Plant adaptation and phytoremediation**. Springer. Netherlands.
- Assche, F.V., and H. Clijsters. 1990. Effects of metals on enzyme activity in plants. *Plant, Cell & Environment*. 13(3): 195-206.
- Basyir, H., H. Haidar, M. Muslim., dan A.A. Ismail. 2011. **At-tafsir al-muyassar**. Jilid I. Terjemahan I. Karimi., A. Saikhu., dan Habiburrahim. An-Naba'. Solo.
- Bold, H.C., dan M.J. Wynne. 1985. **Introduction to the algae: structure and reproduction**. Prentice-Hall. Englewood Cliffs, New Jersey.
- Cahya, P.M. 2015. Pengaruh konsentrasi logam Pb dan Cr dalam kapasitas penyerapan logam oleh *Chlorella* sp. Universitas Brawijaya. Skripsi.
- Carfagna, S., N. Lanza., G. Salbitani., A. Basile., S. Sorbo., dan V. Vona. 2013. Physiological and morphological responses of lead or cadmium exposed *Chlorella sorokiniana* 211-8K (Chlorophyceae). *Springerplus*. 2:1-7.
- Chandra, R., N.K Dubey., dan V. Kumar. 2017. **Phytoremediation of environmental pollutants**. CRC Press. Boca Raton.
- Crist, R.H., N. Shank., K. Oberholser., dan M. Nguyen. 1981. Nature of bonding between metallic ions and algal cell walls. *Environmental Science and Technology*. 15(10): 1212-1217.
- Crist, R. H., J.R. Martin., dan D.R Crist. 1999. Interaction of metal ions with acid sites of biosorbents peat mos and *Vaucheria* and model substances alginic and humic acids. *Environmental Science Technology*. 33: 2252-2256.

- Christian, G. D. 2004. **Analytical chemistry**. 9th Ed. John Wiley & Sons. Hoboken.
- Cobbet, C.S. 2000. Phytochelatin biosynthesis and function in heavy-metal detoxification. *Current opinion in plant biology*. 3(3): 211-216.
- Cousens, G., dan D. Rainoshek. 2008. **There is a cure for diabetes the tree of life 21-day+program**. North Atlantic Boks Publication. Berkeley, California.
- Crawford, R.L., dan D.L. Crawford. 1996. **Bioremediation principles and applications**. Cambridge University Press. New York.
- Darley, W.M. 1982. **Alga biology: a physiological approach**. Black Well Scientific Publication. London.
- Darmono. 1995. *Logam dalam sistem biologi makhluk hidup*. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Darnell, J., H. Lodish., an D. Baltimore. 1986. *Molecular cell biology*. Scientific American books, W H Freeman, Oxford. New York.
- Das, N., R. Vimala., dan P. Karthika. 2008. Biosorption of heavy metals –an overview. *Indian journal of biotechnology*. 7: 180-189.
- De-Filippis, L.F., dan C.Pallaghy. 1994. Heavy metals: sources and biological effects. *Health & Environmental Research Online (HERO)*. 42: 31-77.
- De-Philippis, R., R. Paperi., & C. Sili. 2007. Heavy metal sorption by released polysaccharides and whole cultures of two exopolysaccharide-producing cyanobacteria. *Biodegradation*. 18: 181–187.
- Dewi, E.R.S., dan R. Nuravivah. 2018. Potential of microalgae *Chlorella vulgaris* as bioremediation agents of heavy metal Pb (lead) on culture media. *E3S Web of Conferences. ICENIS 2017*. 31(05010): 1-4.
- Direktorat Jendral Kelautan, Pesisir dan Pulau-Pulau Kecil. 2009. **720 hari membangun kelautan, pesisir dan pulau-pulau kecil**. Kementrian Kelautan dan Perikanan, dan JICA. Jakarta.
- Drazkiewicz, M. 1994. Chlorophyll-occurrence, functions, mechanism of action, effects of internal and external Tractors. *Photosynthetica*. 30: 321-331.
- El-Naggar, A.H., dan H.M. Sheikh. 2014. Response of the green microalga *Chlorella vulgaris* to the oxidative stress caused by some heavy metals. *Life Science Journal*. 11(10): 1349-1357.
- Ernst, W.H.O. 1998. *Effects of heavy metals in plants at the cellular and organismic level*. John Wiley & Sons. Heidelberg.
- Esser, K. 2007. The mycota: a comprehensive treatise on fungi as experimental systems for basic and applied research. Volume Editors by R. J. Howard dan N. A. R. Gow. **Biology of the fugal cell VIII (2nd Ed.)**. Springer. Heidelberg, Germany.

- Edris, G., Y. Alhamed., dan A. Alzahrani. 2013. Biosorption of cadmium and lead from aqueous solutions by *Chlorella vulgaris* biomass: equilibrium and kinetic study. *Arab J.Sci Eng. Springer.* -: 1-7.
- Fadilla, Z. 2010. Pengaruh konsentrasi limbah cair tau terhadap pertumbuhan mikroalga *Scenedesmus* sp. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta. Skripsi.
- Faqih, A.K. 2006. **Tafsir nurul quran**. Al-Huda. Jakarta.
- Fardiaz, S. 1992. **Polusi air dan udara**. Kanisius. Yogyakarta.
- Fathi, A.A., F.T Zaki., dan H.A Ibraheim. 2005. Response of tolerant and wild type strains of *Chlorella vulgaris* to copper with special references to copper uptake system. *Protistology.* 4(1): 73-78
- Fried, G.H., dan G.J. Hademenos. 2006. **Schaum's outlines biologi**. Edisi Kedua. Erlangga. Jakarta.
- Gandjar, I., W. Sjamsuridzal., dan A. Oetari. 2006. **Mikologi dasar dan terapan**. Yayasan Obor Indonesia. Jakarta.
- Glanze, W.D. 1996. **Mosby medical encyclopedia**. Revised Edition. V.V. Mosby. St Louis, MO.
- Goher, M.E., A.M. Abd El-Monem., dan A.M. Abdel-Satar. 2016. Biosorption of some toxic metals from aqueous solution using non-living algal cells of *Chlorella vulgaris*. *Journal of Elementology.* 21(3): 703-714.
- Goyer, R.A., dan T. Clarkson. 2001. Toxic effect of metals. In Klaassen, C.D. **Casarett and doull's toxicology: the basic science of poisons**. 6th Ed. MacGrall-Hill. New York.
- Greger, M., dan E. Oegren. 1991. Direct and indirect effects of Cd²⁺ on photosynthesis in sugar beet (*Beta vulgaris*). *Physiol. Plant.* 83(1): 129-135.
- Hala, Y., E. Suryati., dan P. Taba. 2012. Bisorpsi campuran logam Pb²⁺ dan Zn²⁺ oleh *Chaetoceros calcitrans*. *Chem. Prog.* 5(2): 86-92.
- Handayanto, E., Y. Nuraini., N. Muddarisna., N. Syam., dan A. Fiqri. 2017. **Fitoremediasi dan phytomining logam berat pencemar tanah**. UB Press. Malang.
- Hatim, M.A., dan A. Mukti. 2007. **Aisar at-tafaasir li al-kalaami al-aliyyi al-kabiir**. Jilid 2. Darus Sunnah Press. Jakarta.
- Hermawan, A.V. 2012. Pemanfaatan air kelapa sebagai pengkaya media pertumbuhan *Tetraselmis* sp. Universitas Lampung. Skripsi.
- Heumann, H.G. 1987. Effects of heavy metals on growth and ultrastructure of *Chara vulgaris*. *Protoplasma by Springer-Verlag.* 136(1):37-48.

- Hirt, H., dan K. Shinozaki. 2004. **Plant responses to abiotic stress**. Springer. Germany.
- Hoek, C., H.V.D. Hoeck., D. Mann, dan H.M. Jahns. 1995. **Algae: an introduction to phycology**. Cambridge University Press. Cambridge, UK.
- Imelda, S., C. Claudia., O. Lambui., dan I.N. Suwastika. 2018. Kultivasi mikroalga isolat lokal pada medium ekstrak tauge. *Natural Science: Journal of Science and Technology*. 7(2); 148-157.
- [IOSHIC] International Occupational Safety And Health Information Centre. 1999. **Metals: in basic of chemical safety**. Chapter 7. International Labour Organization. Geneva.
- Istirokhatun, T., M. Aulia., dan Sudarno. 2017. Potensi *Chlorella* sp. untuk menyetor COD dan nitrat dalam limbah cair tahu. *Jurnal Presipitasi: Media Komunikasi dan Pengembangan Teknik Lingkungan*. 14(2):88-96.
- Jeevanandam, J., A. Barhoum., Y.S. Chan., A. Dufresne., dan M.K. Danquah. 2018. Review on nanoparticles and nanostructured materials: history, sources, toxicity and regulations. *Beilstein Journal of Nanotechnology*. 9: 1050-1074.
- Juwono., dan A.Z. Juniarto. 2012. **Biologi sel**. Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Kabinawa, I.N.K. 2006. **Spirulina: ganggang pengempur aneka penyakit**. PT Agro Media Pustaka. Jakarta.
- Kaplan, D. 1988. **Algal polysaccharides as natural metal chelators**. BARD & north carolina biotechnology center. Beaufort, South Carolina.
- Kaplan, D. 2013. Absorption and Adsorption of heavy metals by microalgae. **Handbook of microalgal culture: applied phycology and biotechnology**. Second edition. John Wiley & Sons Ltd. Hoboken, New Jersey.
- Kasim, M. 2016. **Makro alga**. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Keraf, A.S. 2010. **Etika lingkungan hidup**. PT Kompas Media Nusantara. Jakarta.
- Khoshmanesh, A., F. Lawson., dan L.G. Pribnce. 1997. Cell surface areas as a major parameter in the uptake of cadmium by unicellular green microalgae. *The Chemical Engineering Journal*. 65(1): 13-19.
- Kimball, J.W. 1998. *Biologi*. Edisi Kelima. Jilid I. Erlangga. Jakarta.
- Krupa, Z., dan Baszynski. 1995. Some aspect of heavy metals toxicity towards photosynthesis apparatus-direct and indirect effects on light and dark reactions. *Acta Physiol. Plant*. 17(2): 177-190.
- Kuchitsu, K., T. Oh-hama., M. Tsuzuki., dan S. Miyachi. 1987. Detection and characterization of acidic compartments (vacuoles) in *Chlorella vulgaris*

- 11 h cells by ³¹P-in vivo NMR spectroscopy and cytochemical techniques. *Arch Microbiol.* 148(2): 83-87.
- Kumar, A. 2004. **Industrial pollution & management.** APH Publishing Corporation. India.
- Kuncoro, E.B. 2004. **Akuarium laut.** Kanisius. Yogyakarta.
- Kurniawan, J.I dan Aunurohim. 2014. Biosorpsi logam Zn²⁺ dan Pb²⁺ oleh mikroalga *Chlorella* sp. *Jurnal Sains dan Seni Pomits.* 3(1): 1-6.
- Kusmiati., N.W.S. Agustini., S.R. Tamat., dan M.Irawati. 2010. Ekstraksi dan purifikasi senyawa lutein dari mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* galur lokal ink. *Jurnal Kimia Indonesia.* 5(1): 30-34.
- Kusuma, R.W.A., dan E. Zulaika. 2014. Potensi *Chlorella* sp. sebagai bioakumulator logam berat kadmium. *Jurnal Sains dan Seni Pomits.* 3(2): 71-74.
- Langan, F.R., Y. Hala., dan P. Taba. 2014. Biosorpsi campuran logam Ni²⁺, Cu²⁺, dan Zn²⁺ oleh *Nannochloropsis salina* dalam medium terkontrol. Universitas Hasanuddin.
- Lasut, M.T. 2002. Metallotionein: suatu parameter kunci yang penting dalam penetapan baku mutu air laut (BMAL) Indonesia. *Ekoton.* 2(1): 61-68.
- Lehninger, A.L., D.L. Nelson., dan M.M. Cox. 1993. **Principles of biochemistry.** 2nd Ed. Worth Publishers. New York.
- Lestari, F. 2007. **Bahaya kimia: sampling & pengukuran kontaminan kimia di udara.** Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Lewaru, M.W. 2007. Pengaruh pemberian zat pengatur tumbuh pada media kultur PHM terhadap kandungan protein *Chlorella* sp. *Jurnal Akuakultur Indonesia.* 6(1): 37-42.
- Liang, S., Y. Kang., L. Zeng., Y. Qin., L. Wang., *et al.* 2017. How *Chlorella sorokiniana* and its high tolerance to Pb might be a potential Pb biosorbent. *Pol. J. Environ. Stud.* 26(3): 1139-1146.
- Liljas, A., K.K Kannan., dan P.C Bergsten. 1972. Crystal structure of human carbonic anhydrase C. *Nature new biology.* 235; 131-137.
- Lu, F.C. 1985. **Toksikologi dasar: asas, organ sasaran, dan penilaian risiko.** Terjemhan E. Nugroho., Z.S. Bustami., dan I. Darmansjah. Edisi 2. Cetakan I. 1995. UI Press. Jakarta.
- Machdar, I. 2018. **Pengantar pengendalian pencemaran: pencemaran air, udara, dan kebisingan.** Deepublish. Yogyakarta.
- Mazidah, R. 2014. **Pemanfaatan mikroalga *Chlorella* sp. sebagai bioremediator logam berat timbal (Pb) dari lumpur lapindo.** Jurusan Biologi. Fakultas Sains dan Teknologi. UIN Maulana Malik Ibrahim Malang. Malang. Skripsi.

- Miazek, K., W.Iwanek., C.Remacle., A.Richel., D.Goffin. 2015. Effect of metals, metalloids and metallic nanoparticles on microalgae growth and industrial product biosynthesis: A Reviw. *Int. J. Mol. Sci.* 16:23929-23969.
- Mishra, A., K. Kavita., dan B. Jha. 2011. Characterization of extracellular polymeric substances produced by microalgae *Dunaliella salina*. *Carbohydrate Polymers*. Elsevier. 83(2): 852-857.
- Monteiro, C.M., P.M.L. Castro., dan F.X. Malcata. 2010. Cadmium removal by two strain of *Desmodesmus pleimorphus* cells. CBQF. Escola Superior de Biotecnologia. Universidade Catolica Portuguesa.
- Muchammad, A., E.Kardena., dan A.Rinanti. 2013. Pengaruh intensitas cahaya terhadap penyerapan gas karbondiokida oleh mikroalga tropis *Ankistrodesmus* sp. dalam fotobioreaktor. *Jurnal Teknik Lingkungan*. 19(2): 103-116.
- Muhaemin, M. 2004. Toxicity and bioaccumulation of lead in *Chlorella* and *Dunaliella*. *Journal of Coastal Development*. 8(1): 27-33.
- Musa, B., I. Raya., dan S. Dali. 2013. Pengaruh penambahan ion Cu^{2+} terhadap laju pertumbuhan fitoplankton *Chlorella vulgaris*. Jurusan Kimia. FMIPA. Universitas Hasanuddin Makassar.
- Nacorda, J.O., M.R. Martinez-Goss., N.K. Torreta., dan F.E. Merca. 2007. Metal resistance and removal by two strains of the green alga, *Chlorella vulgaris* Beijerinck, isolated from Laguna de Bay, Philippines. *J. Appl Phycol.* 19: 701-710.
- Naja, G., dan B.Volesky. 2011. The mechanism of metal action and anion biosorption. In P. Kotrba, M. Mackova & T. Macek (Eds.). **Microbial biosorption of metals**. Springer Science+Business Media B.V. Dordrecht, Netherlands.
- Nakayama.1992. **Scientific report on *Chlorella* in Japan**. Silpaque Publishing Inc. Kyoto.
- Nugroho, E.D., dan D.A. Rahayu. 2017. **Pengantar bioteknologi (teori dan aplikasi)**. Deepublish Publisher CV Budi Utama. Yogyakarta.
- O'Kelly, J.C. 1968. Mineral nutrition of algae. *Annual Review of Plant Physiology*. 19: 89-112.
- Palar, H. 1994. **Pencemaran dan toksikologi logam berat**. Rineka Cipta. Jakarta.
- [PerGub Jatim] Peraturan Gubernur Jawa Timur No. 52 Tahun 2014 tentang perubahan atas Peraturan Gubernur Jawa Timur Nomor 72 Tahun 2013 tentang baku mutu air limbah bagi industri dan/atau kegiatan usaha lainnya.
- [Perpem] Peraturan Pemerintah Republik Indonesia No. 82 Tahun 2001 tentang pengelolaan kualitas air dan pengendalian pencemaran air. Jakarta

- Posten, C., dan S.F. Chen. 2016. **Microalgae biotechnology**. Springer International Publishing. Switzerland, Swiss.
- Prabowo, A.D. 2009. Optimasi pengembangan media untuk pertumbuhan *Chlorella* sp. pada skala laboratorium. Ilmu teknologi kelautan. Fakultas dan ilmu kelautan. Institut Pertanian Bogor. Skripsi.
- Pramesthy, T.D., Y. Wardiatno., dan M. Krisanti. 2014. Deformitas ligula larva Tanypodinae sebagai indikator pencemaran logam berat di anau Lido, Jawa Barat. *Jurnal ilmu pertanian Indonesia (JIPI)*. 19 (2): 74-79.
- Prihantini, N.B., D. Damayanti., dan R. Yuniati. 2005. Pertumbuhan *Chlorella* spp. dalam medium ekstrak tauge (MET) dengan variasi pH awal. *Makara*. 9(1):1-6.
- Prihantini, N.B., D. Damayanti., dan R. Yuniati. 2007. Pengaruh konsentrasi medium ekstrak tauge (MET) terhadap pertumbuhan *Scenedesmus* isolat Subang. *Makara*. 1(1):1-9.
- Purnamawati, F.S., T.R. Soeprbowati., dan M. Izzati. 2013. Pertumbuhan *Chlorella vulgaris* Beijerinck dalam medium yang mengandung logam berat Cd dan Pb skala laboratorium. *Seminar Nasional Biologi*. -:104-116.
- Purnamawati, F.S., T.R. Soeprbowati., dan M. Izzati. 2015. Potensi *Chlorella vulgaris* Beijerinck dalam remediasi logam berat Cd dan Pb skala laboratorium. *Bioma*. 16(2): 102-113.
- Putri, B., A.V. Hermawan., dan H.W. Maharani. 2013. pemanfaatan air kelapa sebagai pengkaya media pertumbuhan mikroalga *Tetraselmis* sp. *Prosiding Semirata FMIPA*. Universitas Lampung. -: 135-142.
- Qiu, C.E., Q.J Kuang., Y.H Bi., G.X Liu., and Z.Y Hu. 2006. Response of *Chlorococcum* sp. AZHB to copper and cadmium stress. *Bull Environ Contam Toxicol*. 77(5): 772-778.
- Rachlin, J.W., B. Warkentine., dan T.E. Jensen. 1982. The growth responses of *Chlorella saccharophila*, *Navicula insecta* and *Nitzshia closterium* to selected concentrations of cadmium. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*. 109(2): 129-135.
- Ratnawati, E., R. Ermawati dan S. Naimah. 2010. Teknologi biosorpsi oleh mikroorganisme, solusi, alternatif untuk mengurangi pencemaran logam berat. *Jurnal Kimia Dan Kemasan*. 32(1): 34-40.
- Rieny, S.S. 2012. Potensi filtrate *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4796 sebagai biopreservatif pada rebusan daging ikan tongkol. *IJAS*. 2(2): 58-63.
- Richmond, A.E. 1986. **Microalga culture**. CRC Press. Tokyo.
- Rini, I.S. 2012. Pengaruh konsentrasi limbah cair tahu terhadap pertumbuhan dan kadar lipid *Chlorella* sp. Jurusan Biologi. Fakultas Sains dan Teknologi. UIN Maliki Malang. Skripsi.

- Romaidi., dan T. Ueki. 2016. Bioaccumulation of vanadium by vanadium-resistant bacteria isolated from the intestine of *Ascidia sydneiensis samea*. *Mar Biotechnol.* 18: 359-371.
- Rosko, J.J., and Rachlin, J.W. 1977. Effect of cadmium, copper, mercury, zinc and lead on cell division, growth, and chlorophyll a content of the chlorophyte *Chlorella vulgaris*. *Bulletin of Torrey Botanical Club*. United States: 104(3): 226-233. <https://www.osti.gov/>. Diakses 25 Februari 2019.
- Safi, C., B. Zebib., O. Merah., P.Y. Pontalier., dan C.V. Garcia. 2014. Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: a review. *Elsevier: Renewable and Sustainable Energy Reviews.* 35:265-278.
- Sahoo, D., dan J. Seckbach. 2015. **The algae world**. Springer Science+Business Media Dordrecht. Dordrecht, Belanda.
- Selvika, Z., A.B. Kusuma., N.E. Herliany., B.F.S.P Negara. 2016. Pertumbuhan *Chlorella* sp. pada beberapa konsentrasi limbah batubara. *Depik.* 5(3): 107-112.
- Sembel, D.T. 2015. **Toksikologi lingkungan**. CV Andi Offset. Yogyakarta.
- Shanab, S., A. Essa., dan E. Shalaby. 2012. Bioremoval capacity of three heavy metals by some microalgae species (Egyptian isolates). *Plant Signaling & Behaviour.* 7(3):1-8.
- Sharma, S. 2012. Bioremediation: features, strategies and applications. *Asian Journal of Pharmacy and Life Science.* 2(2):202-213.
- Shihab, Q. 2001. **Tafsir Al-mishbah pesan dan keserasian Al-Qur'an**. Lenter Hati. Jakarta.
- Sigiro, E.R.P.S., A.W.N. Jati., dan L.I. Murwani. 2016. Efektivitas penyerapan timbal (Pb) menggunakan penambahan mikoriza dan EDTA pada bunga matahari (*Helianthus annuus* Linn.). Jurusan Biologi Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya. *E-Journal UAJY.* -: 1-10.
- Sikdar, S.K., dan R.L. Irvine. 1998. **Bioremediation: principles and practice. bioremediation technologies**. Volume III. Technomic Publishing Company Inc. Switzerland.
- Simamora, L.A., Sudarno., dan T. Istirokhatun. 2017. Kultivasi mikroalga sebagai metode pengolahan dalam menyisihkan kadar COD dan amonium pada limbah cair tahu. *Jurnal Teknik Lingkungan.* 6(1): 1-14.
- Singh, V.P. 2005. **Toxic metals and environmental issues**. First Edition. Sarup and Sons. India.
- Singh, S.N., dan R.D. Tripathi. 2007. **Environment bioremediation technologies**. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Berlin.
- Siwi, W.P., A. Rinanti., M.D.S. Silalahi., R. Hadisoebroto., dan M.F. Fachrul. 2018. Effect of immobilized biosorbents on the heavy metals (Cu²⁺)

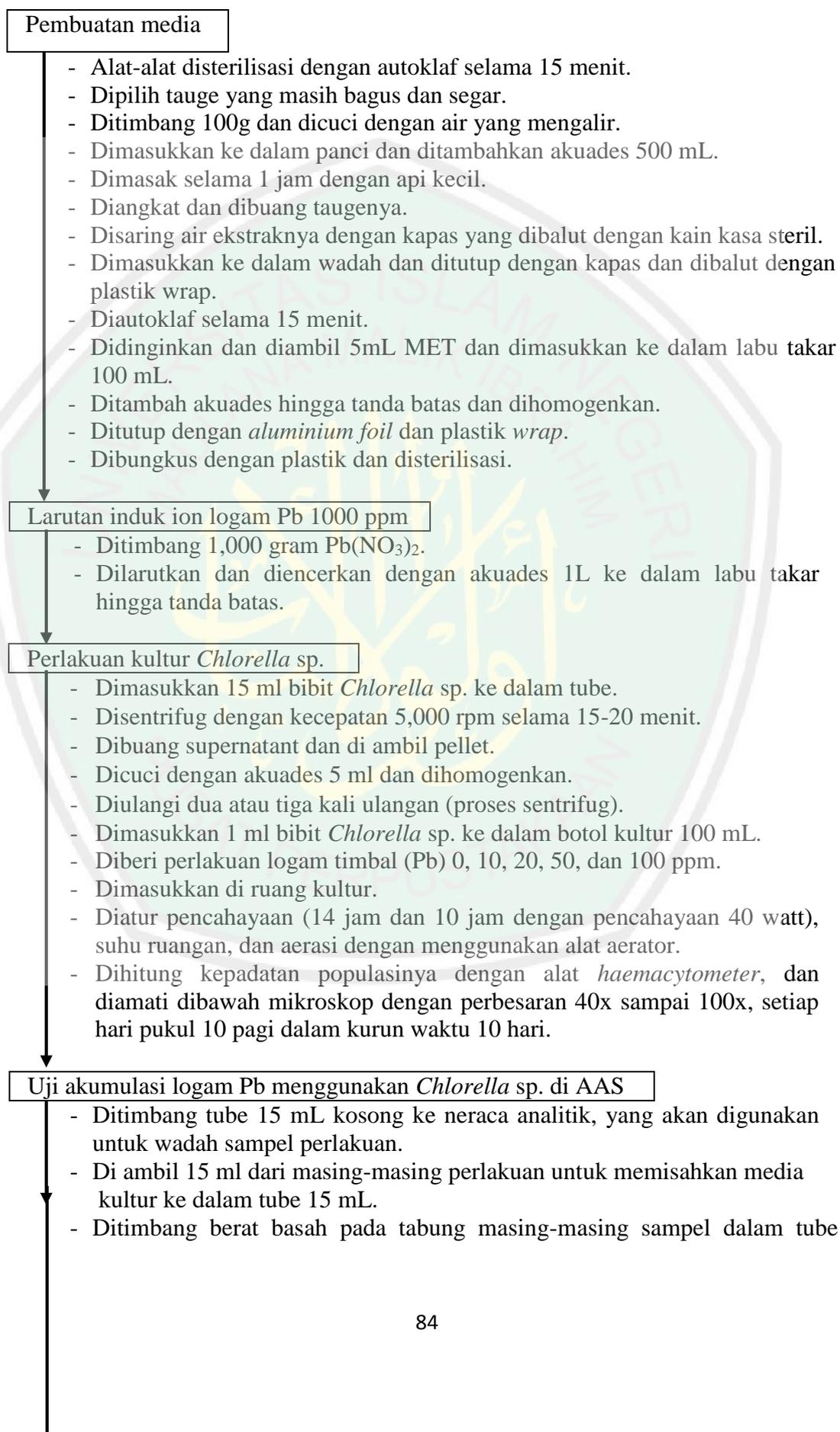
- biosorption with variations of temperature and initial concentration of waste. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*. 106: 1-6.
- Smith, M.M., K. Nkongolo., dan E. Cholewa. 2013. Coping mechanisms of plants to metal contaminated soil. *Intechopen Source: Environmental Change and Sustainability*. 3:53-90.
- Soeprbowati T.R., dan R. Hariyati. 2012. The potential used of microalgae for heavy metals remediation. *Proceeding Isnpinsa*. -: 274-278.
- Soeprbowati T.R., dan R. Hariyati. 2017. Bioaccumulation of Pb, Cd, Cu, and Cr by *Porphyridium cruentum* (S.F. Gray) Nageli. *International Journal of Marine Science*. 3(27): 212-218.
- Solomon, E.P., L.R.Berg., D.W.Martin. 1999. **Biology**. 5th Ed. Saunders College Publishing. Fort Worth, TX.
- Stobart, A.K., W.T. Griffiths., K.A. Bukhari., dan R.P. Sherwood. 1985. The effects of Cd²⁺ on the biosynthesis of Chlorophyll in leaves of Barley. *Physiol. Plant*. 63(3): 293-298.
- Subekti, D.A., P. Sukardi., dan T. Winanto. 2010. Pengaruh berbagai komposisi tingkat konsentrasi media pupuk urea terhadap kandungan glukosaa *Nannochloropsis* sp. sebagai alternative bahan baku bioethanol. Jurusan perikanan dan kelautan fakultas sains dan teknik Universitas Jenderal Soedirman.
- Sudarja., dan N.Caroko. 2012. Kaji eksperimental efektifitas penyerapan limbah cair industri batik taman sari Yogyakarta menggunakan arang aktif mesh 80 dari limbah gergaji kayu jati. *Jurnal Ilmiah Semesta Teknika*. 14(1):50-58.
- Sumadi., dan A.Marianti. 2007. **Biologi sel**. Graha Ilmu. Yogyakarta.
- Tangio, J.S. 2013. Adsorpsi logam timbal (Pb) dengan menggunakan biomassa enceng gondok (*Eichhorniacrassipes*). *Jurnal entropi*. VIII (1): 500-506.
- Teoh, M., dan 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.
- Tim Asisten. 2014. **Pratikum Plankton Budidaya**. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Padjadjaran.
- Ting, Y.P., F. Lawson., dan I.G. Prince. 1990. The uptake of heavy metal ions by alga. *Australian Journal of Biotechnology*. 4(3): 197-200.
- Tosepu, R. 2012. Laju penurunan logam berat *Plumbum* (Pb) dan cadmium (Cd) oleh *Eichornia crassipes* dan *Cyperus papyrus*. *Jurnal Manusia dan Lingkungan*. 19(1):37-45.
- Violante, A., P.M. Huang., J.M. Bollag., dan L. Gianfreda. 2002. **Soil mineral-organic matter-microorganism interaction and ecosystem health:**

dynamics, mobility and transformation of pollutants and nutrients. Elsevier Science B. V. Amsterdam, Belanda.

- Volesky, B. 1990. **Biosorption of heavy metals.** CRC Press Inc. Boca Raton, Florida, USA.
- Waluyo, L. 2018. **Bioremediasi limbah.** UMM Malang. Malang.
- Wang, L. K., J.P. Chen., Y.T. Hung., dan N.K. Shammas. 2009. **Heavy metals in the environment.** CRC Press. USA.
- Wang, L., Y. Li., dan P. Chen. 2010. Anaerobic digested dairy manure as a nutrient supplement for cultivation of oil-rich green microalgae *Chlorella* sp. *Bioresource Technology. Elsevier.* 101(8): 2623-2628.
- Watt, S. 1958. **The elements lead.** Benchmark Books Marshall Cavendish. New York.
- Wikipedia. 2017. Timbal. <https://id.m.wikipedia.org/>. Diakses 18 April 2018.
- Wilde, E.W., & J.R. Benemann. 1993. Bioremoval of Heavy metals by the use of microalgae. *Biotechnol Adv.* 11(4): 781–812.
- Wirosaputro, S., dan T. Sumarlini. 2018. **Chlorella: makanan kesehatan global alami.** Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Wulandari, A.P., N. Frida., E.P Annisa., dan R.P Dilaekha. 2010. Identifikasi Mikroalgae di Sekitar Pantai Pangandaran dan Potensi Pertumbuhannya pada Formulasi Medium Ekstrak Tauge (MET). *Prosiding seminar Nasional Limnologi V.*
- Yamamoto, M., I. Kurihara., dan S. Kawano. 2005. Late type of daughter cell wall synthesis in one of the Chlorellaceae, *Parachlorella kessleri* (Chlorophyta, Trebouxiophyceae). *Planta.* 221(6): 766-775.
- Yusuf, A. 2000. **Fiqh praktis bagi kehidupan modern.** Terjemahan A.H. Al-Kattani, *et al.* 2002. Gema Insni Press. Jakarta.
- Zhang, W., B. Xiong., dan L. Chen. 2013. Toxicity assessment of *Chlorella vulgaris* and *Chlorella protothecoides* following exposure to Pb(II). *Environmental Toxicology and Pharmacology.* 36: 51-57.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram alir



- dengan neraca analitik.
- Disentrifug 5,000 rpm selama 15-20 menit dan diambil pellet.
 - Dibungkus tube 15 mL dengan *aluminium foil*.
 - Dimasukkan masing-masing sampel ke dalam inkubator dengan suhu 65°C selama sehari-semalam.
 - Ditimbang berat kering pada tabung masing-masing sampel dalam tube dengan neraca analitik.
 - Diambil masing-masing sampel dari inkubator dan diberi HNO₃ 1N sebanyak 5 mL, dibungkus *aluminium foil* dan dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 65°C selama sehari semalam.
 - Diambil masing-masing sampel dari inkubator.
 - Disentrifug 5,000 rpm selama 15-20 menit, dan diambil supernatan.
 - Diambil supernatan.
 - Dianalisis AAS di Balai Penelitian dan Konsultasi Industri Surabaya, Jawa Timur.

Uji akumulasi logam pb pada organel dalam sel *Chlorella* sp. secara mikroskopis

- Di ambil 50-100 µl dari masing-masing perlakuan.
- Diamati sel *Chlorella* sp pada masing-masing perlakuan dengan menggunakan mikroskop inverted di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Hasil

Lampiran 2. Perhitungan

1. Perhitungan untuk membuat media ekstrak tauge (MET).

$$\begin{aligned}
 V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\
 V_1 \times 100\% &= 100 \text{ ml} \times 5\% \\
 V_1 &= \frac{5 \times 100}{100} \\
 V_1 &= 5 \text{ ml}
 \end{aligned}$$

Untuk membuat media ekstrak tauge 5%, diperlukan 5ml ekstrak tauge yang kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml dan dimasukkan akuades steril hingga tanda batas dan dihomogenkan. Kemudian didapatkan larutan media ekstrak tauge 5%.

2. Menghitung Larutan Stok Pb 1000 ppm dalam 1000 ml

$$\text{Pb(NO}_3)_2 \rightarrow \frac{\text{Mr Pb(NO}_3)_2 \times 100}{\text{Ar Pb} \times 99} = \frac{331,21 \text{ g/mol} \times 100}{207,19 \text{ g/mol}} = \frac{331,121}{20,493} = 1,6 \text{ gram.}$$

Jadi, cara untuk membuat larutan stok 1000 mg/L (1000 ppm), maka ditimbang 1,6 g $\text{Pb(NO}_3)_2$, yang kemudian dilarutkan dalam akuades 1 L dan dihomogenkan.

3. Membuat Larutan Pb 0 ppm, 10 ppm, 20 ppm, 50 ppm, dan 100 ppm
Diketahui:

- Larutan logam Pb 0 ppm

$$\begin{aligned}
 V_1 \times C_1 &= V_2 \times C_2 \\
 V_1 \times 1000 \text{ ppm} &= 100 \text{ ml} \times 0 \text{ ppm} \\
 V_1 &= \frac{100 \text{ ml} \times 0 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \\
 V_1 &= 0 \text{ ml}
 \end{aligned}$$

Jadi untuk membuat larutan stok 0 ppm atau kontrol hanya penambahan media campuran dan bibit *Chlorella* sp. dengan volume total 100 ml.

- Larutan logam Pb 10 ppm

$$\begin{aligned}
 V_1 \times C_1 &= V_2 \times C_2 \\
 V_1 \times 1000 \text{ ppm} &= 100 \text{ ml} \times 10 \text{ ppm} \\
 V_1 &= \frac{100 \text{ ml} \times 10 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \\
 V_1 &= 1 \text{ ml}
 \end{aligned}$$

Jadi untuk membuat larutan stok 10 ppm diambil 1 ml dari larutan induk 1000 ppm. Kemudian untuk membuat medium dengan volume 100 ml, maka 1 ml dari 1000 ppm yang dibutuhkan dalam percampuran media kultur.

➤ Larutan logam Pb 20 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \times C_1 &= V_2 \times C_2 \\ V_1 \times 1000 \text{ ppm} &= 100 \text{ ml} \times 20 \text{ ppm} \\ V_1 &= \frac{100 \text{ ml} \times 20 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \\ V_1 &= 2 \text{ ml} \end{aligned}$$

Jadi untuk membuat larutan stok 20 ppm diambil 2 ml dari larutan induk 1000 ppm. Kemudian untuk membuat medium dengan volume 100 ml, maka 2 ml dari 1000 ppm yang dibutuhkan dalam percampuran media kultur.

➤ Larutan logam Pb 50 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \times C_1 &= V_2 \times C_2 \\ V_1 \times 1000 \text{ ppm} &= 100 \text{ ml} \times 50 \text{ ppm} \\ V_1 &= \frac{100 \text{ ml} \times 50 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \\ V_1 &= 5 \text{ ml} \end{aligned}$$

Jadi untuk membuat larutan stok 50 ppm diambil 5 ml dari larutan induk 1000 ppm. Kemudian untuk membuat medium dengan volume 100 ml, maka 5 ml dari 1000 ppm yang dibutuhkan dalam percampuran media kultur.

➤ Larutan logam Pb 100 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \times C_1 &= V_2 \times C_2 \\ V_1 \times 1000 \text{ ppm} &= 100 \text{ ml} \times 100 \text{ ppm} \\ V_1 &= \frac{100 \text{ ml} \times 100 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \\ V_1 &= 10 \text{ ml} \end{aligned}$$

Jadi untuk membuat larutan standar 100 ppm diambil 10 ml dari larutan induk 1000 ppm. Kemudian untuk membuat medium dengan volume 100 ml, maka 10 ml dari 1000 ppm yang dibutuhkan dalam percampuran media kultur.

Lampiran 3. Kepadatan populasi sel *Chlorella* sp. pada konsentrasi logam timbal (Pb)

| Hari Ke | Kontrol (0 ppm) | 10 ppm | 20 ppm | 50 ppm | 100 ppm |
|---------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| - | | | | | |
| 0 | 300000 | 316667 | 316667 | 333333 | 333333 |
| 1 | 750000 | 533333 | 450000 | 433333 | 416667 |
| 2 | 2683333 | 750000 | 616667 | 533333 | 550000 |
| 3 | 4033333 | 816667 | 666667 | 583333 | 583333 |
| 4 | 5550000 | 1116667 | 1050000 | 800000 | 833333 |
| 5 | 9966667* | 1833333* | 1450000* | 1100000* | 1066667* |
| 6 | 8950000 | 1450000 | 966667 | 516667 | 400000 |
| 7 | 7616667 | 1150000 | 866667 | 483333 | 366667 |
| 8 | 6583333 | 1050000 | 783333 | 483333 | 350000 |
| 9 | 5650000 | 866667 | 650000 | 400000 | 333333 |
| 10 | 5383333 | 600000 | 366667 | 283333 | 166667 |

Keterangan

* = Fase Puncak

Lampiran 4. Perhitungan ANAVA tentang kemampuan pertumbuhan *Chlorella* sp terhadap konsentrasi logam timbal (Pb)

Tabel 1. Rerata kurva pertumbuhan *Chlorella* sp pada masing-masing perlakuan

| Perlakuan | Ulangan | | | Jumlah | Rata-rata |
|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|-----------|
| | 1 | 2 | 3 | | |
| 0 ppm | 5.309.091 | 5.090.909 | 5.272.727 | 15.672.727 | 5.224.242 |
| 10 ppm | 968.182 | 1.050.000 | 840.909 | 2.859.091 | 953.030,3 |
| 20 ppm | 854.545 | 686.364 | 690.909 | 2.231.818 | 743.939,3 |
| 50 ppm | 545.455 | 545.455 | 531.818 | 1.622.728 | 540.909,3 |
| 100 ppm | 490.909 | 477.273 | 504.545 | 1.472.727 | 490.909 |
| Total | | | | 23.859.091 | |

$$X = \frac{\sum}{r \times t} = \frac{23.859.091}{15} = 1.590.606,067$$

$$\text{Faktor koreksi (FK)} = \frac{\sum T^2}{r \times t} = \frac{23.859.091^2}{15} = 37.950.414.889.752$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah kuadrat total (JKT)} &= \sum y_{ij}^2 - \text{FK} \\ &= 5.309.091^2 + \dots + 504.545^2 - 37.950.414.889.752 \\ &= 49.981.958.613.555 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah kuadrat perlakuan (JKP)} &= \frac{\text{Total perlakuan}^2}{\text{Ulangan}} - \text{FK} \\ &= \frac{15.672.727^2 + \dots + 1.472.727^2}{3} - 37.950.414.889.752 \\ &= 49.913.570.285.730,3 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah kuadrat galat (JKG)} &= \text{JKT} - \text{JKP} \\ &= 49.981.958.613.555 - 49.913.570.285.730,3 \\ &= 68.388.327.825 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kuadrat tengah perlakuan (KTP)} &= \frac{\text{jumlah kuadrat perlakuan}}{t-1} \\ &= \frac{49.913.570.285.730,3}{5-1} = \frac{49.913.570.285.730,3}{4} \\ &= 12.478.392.571.432,5 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kuadrat tengah galat (KTG)} &= \frac{\text{jumlah kuadrat galat}}{t(r-1)} \\ &= \frac{68.388.327.825}{5(3-1)} = \frac{68.388.327.825}{10} = 6.838.832.782 \end{aligned}$$

$$F \text{ Hitung} = \frac{KTP}{KTG}$$

$$= \frac{12.478.392.571.432,5}{6.838.832.782} = 1824,637766$$

Tabel 2. Ringkasan hasil *One Way Anova* tentang pengaruh perbedaan konsentrasi logam timbal (Pb) terhadap populasi sel *Chlorella* sp.

| SK | DB/DF | JK | KT/MS | F hitung/FC | F TABEL 5% |
|-----------|-------|----------------------|----------------------|-------------|------------|
| Perlakuan | 4 | 49.913.570.285.730,3 | 12.478.392.571.432,5 | 1824,637766 | 3,48 |
| Galat | 10 | 68.388.327.825 | 6.838.832.782 | | |
| Total | 14 | 49.981.958.613.555,3 | | | |

Kesimpulan: karena F hitung (1824,637766) > F table (3,48) maka H1 diterima

Jadi, ada pengaruh konsentrasi logam timbal (Pb) terhadap pertumbuhan populasi *Chlorella* sp.

Karena ada pengaruh, maka dilakukanlah uji lanjut BNT 0.05

$$BNT_{0.05} = (t_{\alpha, df_c}) \times \sqrt{\frac{2 \times KTG}{Ulangan}}$$

$$= (t_{0.05, 10}) \times \sqrt{\frac{2 \times 6.838.832.782}{3}} = 150448,414$$

Tabel 3. Ringkasan BNT 0,05 tentang pengaruh perbedaan konsentrasi ion logam timbal (Pb) terhadap populasi sel *Chlorella* sp.

| Perlakuan | Rata-rata± Standar Deviasi | Notasi BNT 0.05 | Persentase penghambatan (%) |
|-----------------|----------------------------|-----------------|-----------------------------|
| 100 ppm | 490.909,0 ± 257807,37 | a | 90,6% |
| 50 ppm | 540.909,3 ± 230140,584 | a | 89,6% |
| 20 ppm | 743.939,3 ± 331768,9862 | b | 85,8% |
| 10 ppm | 953.030,3 ± 432423,20 | c | 81,8% |
| Kontrol (0 ppm) | 5.224.242,3 ± 3104784,6 | d | 0% |

Lampiran 5. Nilai Absorbansi akumulasi *Chlorella* sp dengan AAS

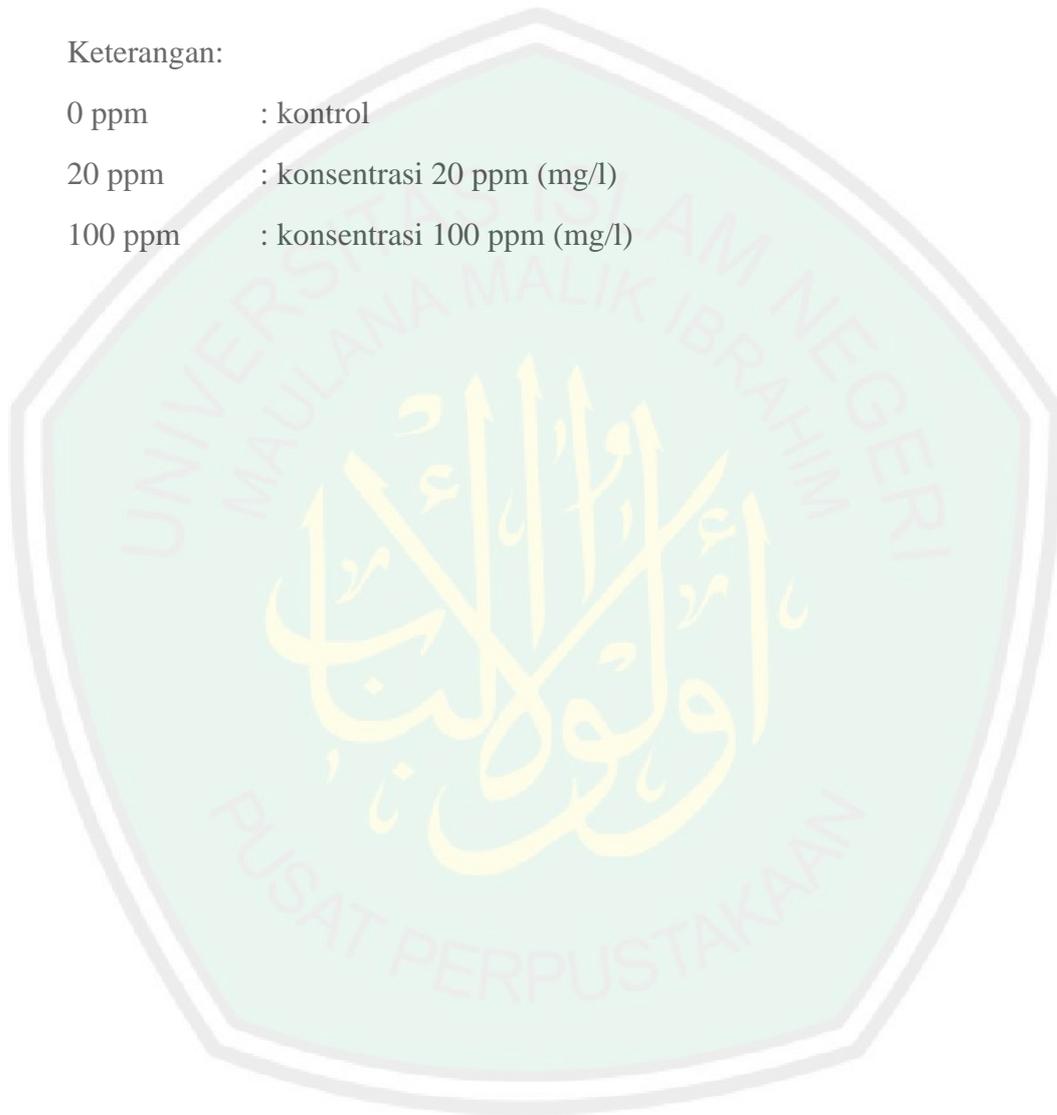
| Nama sampel | Ulangan (mg/l) | | | Rata-rata | Standar deviasi | Persentase (%) |
|-------------|----------------|-------|--------|-----------|-----------------|----------------|
| | 1 | 2 | Jumlah | | | |
| 0 ppm | 1,02 | 1,02 | 1,02 | 1,02 | 0 | 0 |
| 20 ppm | 11,50 | 12,50 | 24,00 | 12,00 | 0,707107 | 19,20% |
| 100 ppm | 25,11 | 26,70 | 51,81 | 25,91 | 1,1243 | 41,45% |

Keterangan:

0 ppm : kontrol

20 ppm : konsentrasi 20 ppm (mg/l)

100 ppm : konsentrasi 100 ppm (mg/l)



Lampiran 6. Perhitungan ANAVA tentang akumulasi logam timbal (Pb) oleh *Chlorella* sp.

Tabel 1. Rerata kurva pertumbuhan *Chlorella* sp pada masing-masing perlakuan

| Nama sampel | Ulangan (mg/l) | | | Rata-rata | Standar deviasi |
|-------------|----------------|------|--------|-----------|-----------------|
| | 1 | 2 | Jumlah | | |
| 0 ppm | 1,02 | 1,02 | 2,04 | 1,02 | 0 |
| 20 ppm | 11,5 | 12,5 | 24 | 12,00 | 0,70711 |
| 100 ppm | 25,11 | 26,7 | 51,81 | 25,91 | 1,1243 |
| Total | | | 77,85 | | |

- $$X = \frac{\sum}{r \times t} = \frac{77,85}{6} = 12,975$$
- Faktor koreksi (FK)
$$= \frac{\sum T^2}{r \times t} = \frac{77,85^2}{6} = 1010,104$$
- Jumlah kuadrat total (JKT)
$$= \sum y_{ij}^2 - FK$$

$$= 1,02^2 + \dots + 26,7^2 - 1010,104 = 623,8789$$
- Jumlah kuadrat perlakuan (JKP)
$$= \frac{\text{Total perlakuan}^2}{\text{Ulangan}} - FK$$

$$= \frac{1,02^2 + 12^2 + 25,91^2}{2} - 1010,104 = 622,1151$$
- Jumlah kuadrat galat (JKG)
$$= JKT - JKP$$

$$= 623,8789 - 622,1151$$

$$= 1,7641$$
- Kuadrat tengah perlakuan (KTP)
$$= \frac{\text{jumlah kuadrat perlakuan}}{t-1}$$

$$= \frac{622,1148}{3-1} = \frac{622,1148}{2} = 311,0574$$
- Kuadrat tengah galat (KTG)
$$= \frac{\text{jumlah kuadrat galat}}{t(r-1)}$$

$$= \frac{1,7641}{3(2-1)} = \frac{1,7641}{3} = 0,588033$$
- F Hitung
$$= \frac{KTP}{KTG}$$

$$= \frac{311,0575}{0,588033} = 528,979$$

Tabel 2. Ringkasan hasil *One Way Anova* tentang pengaruh perbedaan konsentrasi ion logam timbal (Pb) terhadap populasi sel *Chlorella* sp.

| SK | db/df | JK | KT/MS | F hitung/FC | F TABEL 5% |
|-----------|-------|----------|----------|-------------|------------|
| Perlakuan | 2 | 622,1148 | 311,0574 | 528,97 | 9,55 |
| Galat | 3 | 1,7641 | 0,588033 | | |
| Total | 5 | 623,8789 | | | |

Kesimpulan: karena F hitung (528,97) > F table (9,55) maka H1 diterima.

Jadi, ada pengaruh konsentrasi logam timbal (Pb) terhadap pertumbuhan populasi *Chlorella* sp.

Karena ada pengaruh, maka dilakukanlah uji lanjut BNT 0.05

$$\begin{aligned}
 \text{BNT}_{0.05} &= (t_{\alpha, df}) \times \sqrt{\frac{2 \times \text{KTG}}{\text{Ulangan}}} \\
 &= (t_{0.05, 3}) \times \sqrt{\frac{2 \times 0,588033}{2}} = 2,440405
 \end{aligned}$$

Tabel 3. Tabel Uji Nyata Kecil

| Perlakuan | Rata-rata | Notasi BNT 0.05 |
|-----------|-----------|-----------------|
| 0 ppm | 1,02 | A |
| 20 ppm | 12,00 | B |
| 100 ppm | 25,91 | C |

Lampiran 7. Dokumentasi

Pengamatan Hari Ke-0 dan Ke-10 pada masing-masing sampel perlakuan



Pengamatan Hari Ke-0



Pengamatan Hari Ke-10





**KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI**

Jalan Gajayana No. 50 Malang 65144
Telepon 551354/ Faksimile (0341) 572533
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id>
Email: biologi@uin-malang.ac.id

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Dyta Kurniawatingrum
NIM : 14620003
Program : S1 Biologi
Semester : Genap TA 2018/2019
Pembimbing : Romaidi, M. Si., D. Sc
Judul Skripsi : Uji Akumulasi Logam Timbal (Pb) Menggunakan *Chlorella* sp.

| No | Tanggal | Uraian Materi Konsultasi | Ttd Pembimbing |
|----|-------------------|--------------------------|--|
| 1 | 07 Mei 2018 | Konsultasi Judul |  |
| 2 | 28 Mei 2018 | Konsultasi Bab I-III | |
| 3 | 30 Mei 2018 | Revisi Bab I-III | |
| 4 | 17 September 2018 | Revisi Bab I-III | |
| 5 | 19 Februari 2019 | Konsultasi Bab IV-V | |
| 6 | 5 April 2019 | Revisi Bab IV | |
| 7 | 10 April 2019 | Revisi Bab I-V | |

Pembimbing Skripsi


Romaidi, M. Si., D. Sc
NIP. 19810201 200901 1 019

Malang, 25 April 2019
Ketua Jurusan




Romaidi, M. Si., D. Sc
NIP. 19810201 200901 1 019



**KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI**

Jalan Gajayana No. 50 Malang 65144
Telepon 551354/ Faksimile (0341) 572533
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id>
Email: biologi@uin-malang.ac.id

BUKTI KONSULTASI INTEGRASI ISLAM DAN SAINS

Nama : Dyta Kurniawatingrum
NIM : 14620003
Program : S1 Biologi
Semester : Genap TA 2018/2019
Pembimbing : M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I
Judul Skripsi : Uji Akumulasi Logam Timbal (Pb) Menggunakan *Chlorella* sp.

| No | Tanggal | Uraian Materi Konsultasi | Ttd Pembimbing |
|----|----------------|--------------------------------|----------------|
| 1 | 6 Juni 2018 | Konsultasi Integrasi Bab I-III | |
| 2 | 8 Juni 2018 | Revisi Bab I-III | |
| 3 | 8 Agustus 2018 | Revisi Bab I-III | |
| 4 | 15 Maret 2019 | Konsultasi Integrasi Bab I-IV | |
| 5 | 29 Maret 2019 | Revisi Bab I-IV | |
| 6 | 21 Mei 2019 | Revisi Bab I-IV | |

Pembimbing Skripsi

M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I
NIPT. 201402011409



Romaidi, M. Si, D. Sc

NIPT. 19810201 200901 1 019