

# Potensi Sel *Chlorella* sp. Inaktif sebagai Biosorben Logam Berat Cd<sup>2+</sup>

Laily Hanifa dan Enny Zulaika

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS)

Jl. Arief Rahman Hakim, Surabaya 60111 Indonesia

*e-mail*: enny@bio.its.ac.id

**Abstrak**— Pencemaran logam berat Kadmium (Cd) di perairan dapat mengganggu kestabilan ekosistem di perairan karena logam sukar untuk didegradasi. Pencemaran logam berat secara tidak langsung dapat terakumulasi melalui rantai makanan. *Chlorella* sp. adalah mikroalga yang dapat digunakan sebagai agensia bioremediasi yang baik dan tidak banyak memiliki efek samping yang dapat merugikan lingkungan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya resistensi *Chlorella* sp. terhadap logam Cd<sup>2+</sup>. Penelitian ini menggunakan metode kultur *Chlorella* sp. Uji resistensi menggunakan konsentrasi 5 mg/L, 10 mg/L, 15 mg/L, 25 mg/L, dan 50 mg/L dimasukkan ke dalam bioreaktor yang berisi *Chlorella* sp. dan diamati dibawah mikroskop tiap jam selama 5 jam. Pengamatan sel hidup dengan menggunakan haemocytometer. Sel *Chlorella* sp. mampu resisten sampai dengan konsentrasi 15 mg/L.

**Kata Kunci**— *Chlorella* sp., daya resistensi, kadmium

## I. PENDAHULUAN

PENCEMARAN logam berat Kadmium (Cd) di perairan dapat mengganggu kestabilan ekosistem di perairan karena logam sukar untuk didegradasi [1]. Logam Cd sangat beracun dan berbahaya bagi siklus hidup beberapa organisme [2]. Logam berat merupakan salah satu ancaman yang serius bagi organisme di perairan karena dapat terakumulasi pada biota dan lingkungan sekitarnya [3]. Pencemaran logam berat secara tidak langsung dapat terakumulasi melalui rantai makanan karena sifat logam berat yang tidak dapat didegradasi [4].

Pengolahan limbah industri untuk menghilangkan atau mereduksi konsentrasi logam berat dapat dilakukan secara fisika kimia yang membutuhkan biaya mahal. Alternatif untuk menghilangkan logam berat dari lingkungan tercemar dapat digunakan suatu agen bioremediasi, salah satunya dengan menggunakan mikroalga [1]. Penggunaan mikroalga sebagai *bioremoval* seperti *Chlorella* dan *Spirogyra* dapat digunakan sebagai agen bioremediasi karena mudah dibudidayakan, tidak membutuhkan biaya mahal, lebih ramah lingkungan, lebih efektif, dan berpotensi sebagai material *biosorben* [5]. Bioakumulasi dan biosorpsi logam berat dengan mikroalga inaktif (mati) maupun hidup telah digunakan di bidang bioremediasi [2]. Mikroalga *Chlorella* mampu menghilangkan logam berat sampai 98,7% selama 12 jam dipapar logam [6]. Mikroalga inaktif mampu menyerap logam Cd sampai dengan 6,04 mg/g [4].

*Chlorella* dapat digunakan sebagai agensia bioremediasi yang baik dan tidak banyak memiliki efek samping yang dapat merugikan lingkungan. Penanganan logam berat dengan mikroorganisme atau mikrobia menjadi alternatif yang dapat dilakukan untuk mengurangi toksisitas logam berat di lingkungan perairan. Metode biosorben dengan *Chlorella* inaktif sangat menarik untuk diteliti dan dikembangkan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya resistensi *Chlorella* sp. terhadap logam Cd<sup>2+</sup>, mengetahui daya biosorpsi sel *Chlorella* sp. inaktif terhadap logam Cd<sup>2+</sup>, mengetahui efisiensi biosorpsi sel *Chlorella* sp. inaktif terhadap logam Cd<sup>2+</sup>. Manfaat dari penelitian ini adalah mendapatkan nilai biosorben logam Cd<sup>2+</sup> dari mikroalga *Chlorella* sp. inaktif sebagai agensia bioremediasi lingkungan yang tercemar logam berat Cd, dan dapat digunakan sebagai alternatif biosorben instan pada instalasi pengolahan limbah cair yang mengandung Cd.

## II. METODOLOGI

### A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian berlangsung dari bulan Desember 2013 - Maret 2014 di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi, jurusan Biologi, FMIPA ITS. Analisis logam kadmium dilakukan di Laboratorium Balai Penelitian dan Konsultasi Industri Surabaya.

### B. Sterilisasi Alat dan Pembuatan Media

Sterilisasi alat gelas dilakukan dengan menggunakan autoklaf, sedangkan alat non gelas dicuci dengan air mengalir dan direndam dengan kaporit. Media yang digunakan yaitu media air tawar, pupuk aqua walne dan, vitamin, dan larutan logam CdCl<sub>2</sub> yang digunakan untuk perlakuan. Media air tawar disaring dengan menggunakan filter bag dan kertas saring whatman kemudian dipanaskan. Komposisi pupuk aqua walne antara lain yaitu NaNO<sub>3</sub>, Na<sub>2</sub>EDTA, H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, FeCl<sub>2</sub>, MnCl<sub>2</sub> yang dilarutkan dalam 1 liter aquades. Vitamin yang digunakan yaitu vitamin B<sub>1</sub> dan B<sub>12</sub>. Pembuatan stok logam CdCl<sub>2</sub> dengan melarutkan sebanyak 500 mg CdCl<sub>2</sub> kedalam 500 mL aquades.

### C. Kurva Pertumbuhan *Chlorella* sp.

Kurva pertumbuhan diamati dengan cara mengukur kepadatan sel dengan *optical density* (OD) menggunakan

spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm. Pengukuran dilakukan setiap 2 jam dari jam ke 0 sampai jam ke 24 berikutnya. Umur inokulum ditentukan pada awal fase eksponensial

**D. Uji Resistensi *Chlorella* sp.**

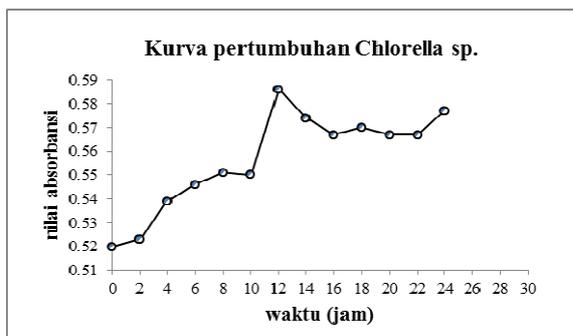
Uji resistensi *Chlorella* sp. dilakukan pada wadah kaca volume ± 250 ml, inokulum didapatkan dari awal fase pertumbuhan. Digunakan konsentrasi 5 mg/L, 10 mg/L, 15 mg/L, 25 mg/L, dan 50 mg/L untuk perlakuan uji resistensi. Pemaparan dilakukan selama 5 jam dan diamati tiap satu jam sekali. Pengamatan sel hidup menggunakan *haemocytometer*.

**III. HASIL DAN DISKUSI**

**A. Kurva Pertumbuhan *Chlorella* sp.**

Fase eksponensial pada kurva pertumbuhan *Chlorella* sp. dimulai jam ke 4 dan berakhir pada jam ke 14. Umur inokulum ditentukan pada awal fase eksponensial yaitu jam ke- 9 setelah kultur, sebab pada fase ini sel *Chlorella* sp. menunjukkan pertumbuhan sel yang cukup tinggi ditandai dengan kenaikan nilai absorbansi yang tinggi, seperti pada Gambar 1. Fase eksponensial ditandai dengan adanya penambahan jumlah sel yang cepat dan nilai OD terukur cukup tinggi.

Kultur mikroalga akan mengalami pertumbuhan secara cepat saat fase eksponensial, ditandai dengan penambahan jumlah sel yang sangat cepat melalui pembelahan sel alga dan apabila dihitung secara matematis membentuk fungsi logaritmik. Struktur sel normal, secara nutrisi terjadi keseimbangan antara nutrisi dalam media dan kandungan nutrisi dalam sel. Setelah melewati fase eksponensial, *Chlorella* sp. akan mengalami fase stasioner dan dilanjutkan dengan fase kematian [7].

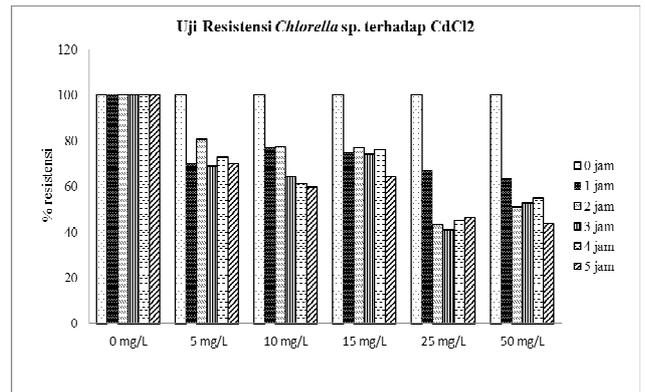


Gambar 1. Kurva pertumbuhan *Chlorella* sp.

**B. Uji Resistensi *Chlorella* sp.**

Uji resistensi dilakukan untuk mencari *range finding test* yang akan digunakan sebagai konsentrasi maksimal yang dapat ditolerir oleh *Chlorella* sp. Perhitungan % resistensi sel *Chlorella* sp. terhadap CdCl<sub>2</sub> dengan membandingkan jumlah sel hidup dengan jumlah sel total. Perhitungan jumlah sel dihitung menggunakan *Haemocytometer*. Berdasarkan penelitian [8], *Chlorella* sp. mampu resisten terhadap logam CdCl<sub>2</sub> sampai dengan 10 mg/L. Setelah dilakukan uji resistensi terhadap CdCl<sub>2</sub> sampai konsentrasi 50 mg/L, *Chlorella* sp. yang mempunyai resistensi > 50% hanya sampai pada

konsentrasi 15 mg/L (Gambar 2). Persentase sel hidup di bawah 50% dianggap kurang resisten terhadap logam [9]. Persentase *Chlorella* sp. yang mampu hidup lebih dari 64% setelah pemaparan CdCl<sub>2</sub> selama 5 jam hanya sampai dengan konsentrasi CdCl<sub>2</sub> 15 mg/L. Sedangkan pada pemaparan CdCl<sub>2</sub> konsentrasi 25 mg/L dan 50 mg/L setelah 5 jam, sel *Chlorella* sp. yang mampu bertahan hidup kurang dari 50%. Hal ini menunjukkan bahwa sel *Chlorella* sp. hanya mampu beradaptasi atau resisten terhadap logam CdCl<sub>2</sub> pada konsentrasi maksimal 15 mg/L.



Gambar 2. Grafik uji resistensi *Chlorella* sp. terhadap CdCl<sub>2</sub>

Pada pengamatan di bawah mikroskop, sel *Chlorella* sp. yang hidup berbentuk bulat, utuh, dan berwarna hijau sedangkan sel yang mati nampak gelap, pucat atau jernih. Sel *Chlorella* sp. hidup berwarna hijau terang dan sel mati terlihat pucat atau lisis [10].

Pada jam ke 0 (no), semua perlakuan konsentrasi CdCl<sub>2</sub> menunjukkan persen hidup *Chlorella* sp. sebesar 100%. Hal ini disebabkan sel *Chlorella* sp. belum mengalami cekaman akibat pemaparan logam Cd. Setelah 5 jam pemaparan logam CdCl<sub>2</sub>, persen hidup *Chlorella* sp. mengalami penurunan hingga 30% pada konsentrasi 5 mg/L, 40% pada konsentrasi 10 mg/L dan 15 mg/L. Pada konsentrasi CdCl<sub>2</sub> 25 mg/L dan 50 mg/L persen sel hidup *Chlorella* sp. mengalami penurunan ± 40%. Hal ini menunjukkan bahwa pada 5 jam setelah pemaparan logam CdCl<sub>2</sub>, sel *Chlorella* sp. mulai mengalami cekaman karena adanya logam berat CdCl<sub>2</sub> dilingkungannya. Sel yang mengalami cekaman akan rusak kemudian mati ditandai dengan bentuk sel yang tidak utuh, lisis dan berwarna pucat.

Keberadaan logam Cd di dalam sel dapat meningkatkan produksi *reactive oxygen species* (ROS) dan menghasilkan radikal bebas di dalam sel. Logam Cd dalam konsentrasi tinggi dapat menyebabkan ketidak seimbangan muatan ion protein [11], sebab salah satu gugus asam amino pada rantai polipeptida (protein) yaitu gugus karboksilnya bermuatan negatif akan mengikat logam Cd<sup>2+</sup> yang bermuatan positif membentuk ikatan ligan [12].

Menurut Wang dan Chen, sebagian besar dinding sel mikroalga berperan untuk pertukaran air, ion, gas, dan nutrisi [13]. Dinding sel *Chlorella* sp. mengandung selulosa, hemiselulosa, pektin, dan glikoprotein. Gugus fungsional yang terdapat pada selulosa, pektin, glikoprotein adalah gugus karboksilat, thiol, dan beberapa enzim yang mempunyai ikatan

kovalen sehingga mekanisme pelekatan logam banyak terjadi di dinding sel.

Mekanisme adsorpsi logam Cd pada *Chlorella* sp. dapat terjadi secara fisis yaitu dengan menempel di permukaan sel. Mekanisme yang lain adalah terbentuknya ikatan ligan antara logam Cd yang bermuatan positif dengan gugus hidroksil, karboksil, karbonil, atau gugus asam amino di permukaan sel *Chlorella* sp yang bermuatan negatif. Selain itu logam Cd dapat berada di dalam sel *Chlorella* sp. dengan cara pertukaran ion monovalen dan divalen seperti  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ , dan  $\text{Ca}^{2+}$  pada dinding sel yang digantikan oleh ion logam  $\text{Cd}^{2+}$  [13].

#### IV. KESIMPULAN/RINGKASAN

Kesimpulan dari penelitian yang berjudul potensi sel *Chlorella* sp. inaktif sebagai biosorben logam berat  $\text{Cd}^{2+}$  adalah *Chlorella* sp. resisten terhadap logam  $\text{CdCl}_2$  sampai dengan 15 mg/L pada pemaparan selama 5 jam dan pengamatan tiap jam.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada bapak Aunurohim, DEA atas kritik dan saran pembuatan penelitian, orang tua, teman-teman tercinta serta yayasan Karya Salemba Empat yang telah memberikan dukungan finansial melalui Beasiswa tahun 2012-2014”.

#### DAFTAR PUSTAKA

- [1] C.M Monteiro, Castro, P.M.L. dan Malcata, F.X. "Cadmium Removal by Two Strain of *Desmodesmus pleiomorphus* Cells". Water Air Soil Pollution. (2010) 208 17-27.
- [2] A.Fraile, Penche, S., Gonzales, F., Blasquez, M.L., Munoz, J.A. dan Ballester, A. "Biosorption of Copper, Zinc, Cadmium, and Nickel by *Chlorella vulgaris*". Chemistry And Ecology. (2005) 21(1) 61-75.
- [3] V. Ebenezer dan Ki, J.S. "Evaluation of The Sub Lethal Toxicity of Cu, Pb, Bisphenol A and Polychlorinated Biphenyl to The Marine Dinoflagellate *Cochlodinium Polycricoides*". Research Article. (2012) 27 (1) 63-70.
- [4] C.M Monteiro, Castro, P.M.L. dan Malcata, F.X. "Use of The Microalgae *Scenedesmus obliquus* to Remove Cadmium Cations From Aqueous Solutions". World Journal Microbiology Biotechnology. (2009) 25 1573-1578.
- [5] M. Valls dan V. de Lorenzo . "Exploiting the Genetic and Biochemical Capacities of Bacteria For The Remediation of Heavy Metal Pollution". FEMS Microbiological Review. (2002) (26) 327-338.
- [6] L. Regaldo, Gervasio S., Troiani, H. dan Gagneten, A.M. Bioaccumulation and Toxicity of Copper and Lead in *Chlorella vulgaris*. Journal Algae Biomassa. (2013) (2) 59-66.
- [7] Suminto. "Budidaya Pakan Alami Mikroalgae dan Rotifer". Universitas Diponegoro. Semarang (2005)
- [8] G. Edris, Alhamed, Y. dan Alzahrani, A. "Cadmium and Lead Biosorption by *Chlorella vulgaris*". Sixteenth International Water Technology Conference. Turkey. (2012) 16 1-11.
- [9] L.B.C Marcano, Carruyo, I.M., Montiel, X.M., Morales, C.B., De Soto, P.M. "Effect of cadmium on celluler viability in two spesies of Mikroalgae (*Scenedesmus* sp. and *Dunaliella viridis*)". Biology Trace Element Research. (2009) 130 86-93
- [10] H. Hirata. "The Growth of *Chlorella* Cells in Culture". Mem. Faculty Fish, Kagoshima University. (1972) 21 (1) 15-21.
- [11] A. Makkasau, Sjahrul, M. dan Jalaluddin, N. "Growth Pattern and The Toxicity Metal Ion  $\text{Cd}^{2+}$  on Phytoplankton *Nannochloris* in Medium Conwy". Research Journal of Science dan IT Management. (2012) (1) 12.
- [12] D. L Nelson, dan Michael M, C. Lehninger: Principles Of Biochemistry 4<sup>th</sup> edition. Worth Publishers. Inc, New York (2004)
- [13] J. Wang dan Chen, C. Biosorbents For Heavy Metals Removal And Their Future. Biotechnology Advance (2009) (27) 195-226.