

RESPON PERTUMBUHAN MIKROALGA *INDIGENOUS Synechococcus* sp. DAN PENURUNAN KONSENTRASI LOGAM BERAT Fe PADA MEDIA KULTUR

Response of Indigenous Microalgae (*Synechococcus* sp.) Growth and Fe Heavy Metal Decrease on Culture Media

Gunawan ^{1*}, Totok Wianto ²

¹ Program Studi Biologi FMIPA, Universitas Lambung Mangkurat,
Jalan A. Yani Km. 36 Banjarbaru, Kalimantan Selatan, Indonesia, Telp. 0511-4773112

² Program Studi Fisika FMIPA Universitas Lambung Mangkurat,
Jalan A. Yani Km. 36 Banjarbaru, Kalimantan Selatan, Indonesia, Telp. 0511-4773112

*Surel korespondensi: gunawan_unlam@yahoo.com

Abstract. Microalgae are aquatic organisms having the capability of absorbing heavy metals. The objective of this study was to analyze the response of microalgae species *Synechococcus* sp. to different concentrations of a heavy metal Fe and its ability to absorb Fe. The microalgae used in this study was isolated from a pond in coal mined land. This experiment was conducted using a completely randomized design with five treatments and three replications. The microalgae was grown in one liter of BG 11 medium, with Fe concentrations of 0.56 mg/L, 1 mg/L, 1.8 mg/L, 3.2 mg/L, and 5.6 mg/L. The microalgae was grown for 14 days and the growth pattern was analyzed. The heavy metal analysis was done using Inductively Coupled Plasma. The numbers of microalgae cells after 14 days of culture were 620 cell/mL, 733 cell/mL, 827 cell/mL, 548.20 cell/mL, and 422.12 cell/mL at Fe concentrations of 0.56 mg/L, 1 mg/L, 1.8 mg/L, 3.2 mg/L, and 5.6 mg/L respectively. The concentrations of heavy metal in the medium at the end of experiment were 0.315 mg/L, 0.500 mg/L, 0.322 mg/L, 0.630 mg/L, and 1.146 mg/L, respectively declining from the initial concentrations of 0.56 mg/L, 1 mg/L, 1.8 mg/L, 3.2 mg/L, and 5.6 mg/L. The decline of Fe concentration in the medium at the end of experiment showed that *Synechococcus* sp. had the capability of absorbing heavy metals from its environment.

Keywords: concentration, culture media, heavy metal, microalgae, response

1. PENDAHULUAN

Pencemaran lingkungan selalu menjadi masalah bagi masyarakat, karena menimbulkan dampak negatif bagi kehidupan masyarakat. Salah satu sumber pencemar adalah limbah industri, baik berupa limbah cair, gas dan padat. Limbah cair industri yang dibuang ke badan air (perairan), biasanya mengandung logam berat seperti Cd, Cr, Hg dan Pb dengan kadar tertentu. Apabila kadar logam pencemar tersebut dibiarkan terus bertambah di dalam lingkungan maka akan memberikan dampak negatif bagi lingkungan. Salah satu kegiatan yang banyak menghasilkan limbah cair dan banyak mencemari lingkungan adalah pertambangan batu bara. Limbah cair tersebut lebih dikenal dengan air asam tambang (AAT) yang mengandung logam berat Pb, Cd, Cu, Cr, dan Fe.

Air asam tambang (AAT) atau dalam bahasa asing disebut *Acid Mine Drainage* merupakan air yang terbentuk di lokasi penambangan dengan nilai pH yang rendah ($pH < 4$). Nilai pH yang rendah pada air asam tambang menyebabkan mudahnya logam-logam tertentu larut dalam air (Nasir, 2014). Air asam tambang ditandai dengan berubahnya

warna air menjadi merah jingga karena ion ferro (Fe^{2+}) yang terdapat pada mineral pirit teroksidasi menjadi ferri (Fe^{3+}) (Costelo, 2003). Besi merupakan unsur logam yang diperlukan dalam proses oksidasi enzim cytochrome dan pigmen pernapasan (haemoglobin). Unsur logam Fe akan berubah menjadi racun jika keberadaannya dalam konsentrasi di atas normal (Ika, 2012).

Salah satu metode pengolahan limbah yang saat ini berkembang adalah bioremediasi, yaitu dengan memanfaatkan mikroorganisme untuk mengurangi kandungan bahan pencemar, baik zat berbahaya ataupun logam berat yang terdapat dalam limbah tersebut. Bioremediasi adalah proses pembersihan lingkungan dari bahan pencemar secara biologi dengan memanfaatkan organisme, baik secara *in-situ* maupun *ex-situ* (Crawford & Crawford, 2005), sedangkan fikoremediasi adalah pemanfaatan makroalga untuk remediasi lingkungan (Olguin, 2003).

Mikroalga merupakan tumbuhan air yang berukuran mikroskopik serta memiliki berbagai potensi yang dapat dikembangkan sebagai sumber pakan, pangan, biofuel, penyerap logam berat dan bahan kimia lainnya (Nugraheni, 2000). Secara

umum, keuntungan pemanfaatan mikroorganisme sebagai penyerap/biosorben adalah (1) biaya operasional rendah, (2) efisiensi dan kapasitas pengikatan logam tinggi, (3) lumpur yang dihasilkan minimum, (4) memiliki mekanisme desorpsi yang memungkinkan *recovery* organ, (5) memiliki mekanisme regenerasi sehingga dapat digunakan kembali, (6) bahan bakunya banyak tersedia dan mudah didapat, dan (7) tidak memerlukan tambahan nutrisi jika menggunakan mikroba yang sudah mati (Gazso 2001; Ahalya *et al.*, 2004 dalam Krisnawati *et al.*, 2007).

Fikoremediasi adalah alternatif mengurangi pencemaran yang ramah lingkungan, karena area permukaan mampu menyerap substansi dan mekanisme yang efisien dalam mengakumulasi air, nutrisi, dan mineral, menyerapan ion selektif, dan mampu berkembang dan beradaptasi pada lingkungan yang mengandung logam berat atau polutan lainnya (Carvalho & Martin, 2001; Chojnacka, 2009).

Beberapa jenis mikroalga yang diketahui mampu mengakumulasi logam berat adalah *Spirulina platensis*, *Tolypotrix tenuis*, *Lyngbya spiralis*, *Phonidium mole*, (Inthorn *et al.*, 1996; Matsunaga *et al.*, 1999). Oleh karena itu, Penelitian ini bertujuan untuk memahami dan menjelaskan kemampuan mikroalga lokal yang diisolasi dari kolam bekas tambang batubara sebagai bioakumulator logam Fe, sebagai salah satu alternatif untuk mengurangi pencemaran lingkungan.

2. METODE

Mikroalga diisolasi dari kolam bekas tambang bara Kecamatan Cempaka, Banjarbaru Kalimantan Selatan. Mikroalga ditumbuhkan pada media BG 11, pada mini bioreaktor dengan volume 1L. Larutan induk Fe dibuat dari FeCl₃ (Ferri clorida), dengan lima konsentrasi, yaitu: 0,56 mg/l; 1 mg/l; 1,8 mg/l; 3,2 mg/l; 5,6 mg/l (setiawati 2009).

Pola pertumbuhan mikroalga dianalisis berdasarkan jumlah sel. Kepadatan sel dihitung setiap hari menggunakan *haemocytometer* di bawah mikroskop. Jumlah sel mikroalga dikonversi menjadi data kepadatan sel dengan satuan sel/mL dengan rumus berikut ini.

$$\text{Kepadatan sel (sel/mL)} = N \times 10^4$$

dimana N merupakan banyaknya jumlah sel yang terhitung (Fachrullah 2011).

Prosedur untuk mengukur kandungan logam Fe sebagai berikut. Mikroalga dicampurkan dengan

lima konsentrasi Fe, kemudian diencerkan tepat 500 mL. Setelah itu, di shaker dengan kecepatan 200 rpm selama 24 jam kemudian dipisahkan antara biomassa *Synechococcus* sp. dengan medianya. Biomassa mikroalga *Synechococcus* sp. dioven selama 24 jam, kemudian sel mikroalga didestruksi. Kandungan logam berat Fe, diukur secara bersamaan yaitu antara Fe yang terkandung dalam biomassa *Synechococcus* sp. dan media tumbuh mikroalga. Pengukuran logam berat menggunakan alat ICP (*Inductively Coupled Plasma*).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Pola Pertumbuhan Mikroalga *Synechococcus* sp.

Synechococcus sp. adalah mikroorganisme bersel tunggal yang termasuk ke dalam kelas Cyanobacteria atau biasa disebut Cyanophyta (alga biru-hijau) (Gambar 1). Berdasarkan pada sistem klasifikasi lima kingdom R.H. Whittaker, mikroalga ini masuk kelompok Kingdom Monera. Hal ini karena *Synechococcus* sp. adalah organisme prokariotik, selnya tidak memiliki membran inti. *Synechococcus* sp. mampu hidup di air laut dan di air tawar dengan cara hidup berkoloni membentuk filamen dan memiliki pigmen klorofil tipe a (Yu *et al.*, 2000).



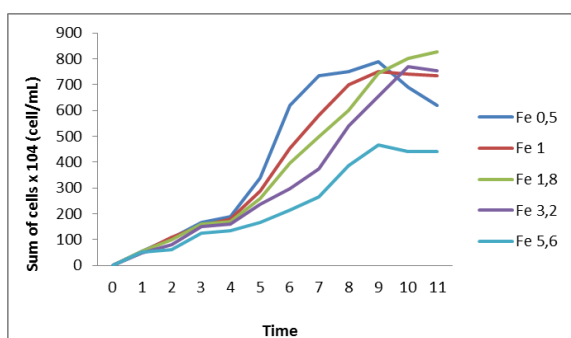
Gambar 1. Mikroalga *Synechococcus* sp.

Pola pertumbuhan yang diamati berdasarkan perubahan jumlah sel selama 11 hari. Jumlah sel mikroalga pada berbagai konsentrasi Fe, cenderung mengalami kenaikan seiring dengan bertambahnya waktu pengamatan (Gambar 2). Pola pertumbuhan mikroalga berdasarkan jumlah sel, menunjukkan bahwa mikroalga mengalami tahap adaptasi, dari lingkungan normal ke dalam lingkungan yang terkontaminasi logam. Fase adaptasi ditandai dengan perubahan jumlah sel yang sedikit, terjadi pada hari 1 sampai hari ke 4. Soeprbowati *et al.*

(2013) menyatakan bahwa pertumbuhan mikroalga yang kecil disebabkan oleh perubahan lingkungan.

Menurut Isnansetyo & Kurniastuti (1995) pertumbuhan mikroalga dalam kultur dapat ditandai dengan bertambah besarnya ukuran sel atau bertambah banyaknya jumlah sel. Ada 4 fase dalam pertumbuhan mikroalga yaitu: 1) fase istirahat, pada fase ini populasi mengalami pertumbuhan namun ukuran sel secara umum meningkat, 2) fase logaritmik/eksponensial yaitu diawali dengan pembelahan sel dengan laju pertumbuhan yang maksimal, 3) fase stasioner yaitu pertumbuhan mulai mengalami penurunan. Pada fase ini laju reproduksi sama dengan laju kematian dan 4) fase kematian yaitu kematian lebih cepat dari laju reproduksi dan secara geometrik jumlah sel menurun.

Faktor-faktor yang berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroalga antara lain 1) nutrisi/medium kultur: kultur alga harus diperkaya dengan nutrisi untuk melengkapi kekurangan nutrisi dalam media, 2) cahaya: mikroalga melakukan fotosintesis (mengkonversi karbon inorganik menjadi materi organik). Cahaya merupakan sumber energi yang membantu reaksi fotosintesis, 3) pH: Kisaran pH untuk kebanyakan spesies kultur mikroalga adalah antara 7–9, dan 4) aerasi/pengadukan: Pengadukan diperlukan untuk mencegah sedimentasi sel alga, agar semua sel terdedah secara merata terhadap cahaya dan nutrisi, mencegah stratifikasi suhu (kultur outdoor), meningkatkan pertukaran gas antara medium kultur dan udara dan sumber karbon (CO₂) dalam proses fotosintesis (Becker, 1994).



Gambar 2. Pola pertumbuhan mikroalga pada media kultur dengan berbagai konsentrasi Fe

Fase eksponensial dimulai pada hari ke 5 sampai hari ke 10, ditandai oleh jumlah sel yang meningkat pesat dengan jumlah sel tertinggi yaitu 1.015×10^4 sel/mL pada konsentrasi Fe 0,5 mg/l. Pada hari berikutnya mikroalga *Synechococcus* sp.

mengalami fase stasioner yang dilanjutkan dengan fase kematian, yang ditandai dengan penurunan jumlah sel mikroalga. Penurunan pertumbuhan disebabkan oleh kepadatan sel yang semakin meningkat dan jumlah nutrisi yang berkurang. Wood *et al.* 2005, menyatakan bahwa laju pertumbuhan sel mikroalga pada media kultur sebanding dengan kandungan nutrisinya.

Pola pertumbuhan pada konsentrasi Fe 5,6 mg/l memiliki jumlah sel yang paling rendah dibandingkan dengan konsentrasi Fe lainnya. Mikroalga secara umum mempunyai mekanisme perlindungan diri terhadap logam berat. Tetapi jika konsentrasi logam semakin tinggi dapat mengganggu pertumbuhan mikroalga, karena mekanisme perlindungannya tidak mampu menahan sifat toksik logam berat tersebut (Wang & Chen, 2011; Hala, 2012). Logam Fe pada dasarnya adalah suatu unsur yang diperlukan untuk proses metabolisme namun jika konsentrasinya melebihi ambang batas akan bersifat toksik dan dapat terakumulasi dalam sel mikroalga, sehingga dapat menghambat pertumbuhan dan menyebabkan kematian mikroalga (Arunakumara dan Zhang, 2008). Kematian atau kerusakan sel mikroalga diawali dengan rusaknya struktur kloroplas, rusaknya kloroplas akan menghambat proses fotosintesis. Terganggunya proses fotosintesis dapat menyebabkan kemampuan sel mikroalga untuk memperbanyak diri menjadi berkurang. Selain rusaknya struktur kloroplas, proses respirasi juga akan terhambat dan akan mengakibatkan respirasi terhambat (Pinto *et al.*, 2003).

3.2 Penurunan Konsentrasi Logam Fe pada Media Kultur

Secara umum, unsur besi mempunyai peran bagi makhluk hidup, yaitu sebagai sistem transfer elektron (Fe-S protein, sitokrom), penyimpanan dan transportasi O₂ (hemoglobin, mioglobin, *haemerythrin*), penyimpanan Fe (ferritin, transferritin), transportasi protein Fe (siderofor), dalam enzim (misalnya nitrogenase, hidrogenase, oksidase, reduktase) (Hausecroft and Sharpe, 2005). Besi juga sebagai salah satu unsur esensial dan berperan sebagai penyusun sitokrom dan klorofil bagi tumbuhan akuatik (Effendi, 2003).

Hasil penelitian terhadap penurunan konsentrasi logam Fe pada masing-masing konsentrasi 0,56 mg/L; 1 mg/L; 1,8 mg/L; 3,2 mg/L; 5,6 mg/L menunjukkan bahwa penurunan konsentrasi logam Fe semakin besar seiring dengan meningkatnya konsentrasi logam Fe pada media kultur. Rata-rata penurunan konsentrasi Fe akhir di

media kultur paling besar terdapat pada perlakuan konsentrasi 5,9 mg/L sebesar 1,146 mg/L dan yang paling kecil terdapat pada perlakuan konsentrasi 0,56 mg/L sebesar 0,315 mg/L. Rerata penurunan konsentrasi logam Fe yang terserap, Fe akhir dan Fe pada *Synechococcus* sp. Disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Rerata penurunan konsentrasi Fe pada *Synechococcus* sp.

Konsentrasi Fe awal (mg/L)	Rerata Konsentrasi Fe akhir di media (mg/L)*1	Rerata Penurunan konsentrasi Fe (mg/L)*2	Rerata Konsentrasi Fe pada Biomassa <i>Synechococcus</i> sp. (mg/g)*1
0,56	0,245	0,315	0,15
1	0,500	0,500	0,33
1,8	1,478	0,322	0,73
3,2	2,57	0,630	2,14
5,6	4,454	1,146	2,68

Keterangan:

*1 Hasil dari konsentrasi Fe akhir, dan konsentrasi Fe pada *Synechococcus* sp. diperoleh dari hasil analisis

*2 Penurunan Konsentrasi Fe diperoleh dari hasil pengurangan antara konsentrasi Fe awal dengan konsentrasi Fe akhir.

Konsentrasi logam di dalam media dapat mempengaruhi proses penyerapan logam oleh mikroalga (Syauqiah *et al.*, 2011). Kemampuan penyerapan akan meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi logam. Hal ini disebabkan adanya efek cekaman dari konsentrasi logam akan meningkatkan transfer ionik yang juga akan meningkatkan adsorpsi ion logam berat (Davis *et al.*, 2003). Logam-logam berat akan terakumulasi di dalam sel mikroalga dan akan diikat oleh protein pengikat logam seperti metalotionein dan fitokelatin, kemudian logam akan di akumulasi di vakuola (Niess, 1999).

Mekanisme penyerapan logam berat oleh mikroalga terdiri atas dua proses yakni pertukaran ion dan pengikatan ion logam berat oleh gugus fungsi yang terdapat pada permukaan sel. Dinding sel mikroalga umumnya terdiri atas selulosa yang memiliki gugus fungsional seperti hidroksil yang dapat berikatan dengan logam berat. Mikroalga dapat mengadsorpsi ion logam disebabkan adanya kandungan protein dan selulosa. Gugus yang berperan dalam protein adalah asam amino dan dalam selulosa adalah hidroksil. Kedua gugus tersebut dapat berperan sebagai penukar ion dan sebagai adsorben terhadap logam dalam air limbah (Zahroh, 2010).

Penyerapan logam berat oleh mikroalga dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain pH, suhu, cahaya, keberadaan ion lain dan agen pengkelat (Fauziah, 2011). Fachrullah (2011) mengatakan pH untuk masing-masing

mikroorganisme berbeda, untuk *Scenedesmus* sp pada pH 5-6 sedangkan untuk *Synechococcus* sp. adalah pH 8-9. Dengan demikian, pH memegang peranan penting dalam daya menyerap logam berat. Temperatur yang optimum untuk pertumbuhan mikroalga adalah antara 31-32 °C, pada temperatur antara 34-36 °C mikroalga akan berhenti tumbuh dan mati. Sehingga perubahan temperatur tersebut dapat menyebabkan kemampuan mikroalga untuk menyerap logam berat menurun (Fauziah, 2011). Kecepatan pengadukan juga mempengaruhi penyerapan logam berat. Syauqiah *et al.* (2011) menyatakan bahwa bila pengadukan terlalu lambat maka proses biosorpsi berlangsung lambat pula, tetapi bila pengadukan terlalu cepat kemungkinan struktur adsorben cepat rusak, sehingga proses biosorpsi kurang optimal. ukuran sel mikroalga dan jenis atau spesies mikroalga juga ikut mempengaruhi penyerapan mikroalga (Levy *et al.*, 2007). Nacorda *et al.* 2007 juga menyatakan bahwa tiap jenis mikroalga memiliki kemampuan yang berbeda dalam menyerap dan mengakumulasi logam berat.

Peningkatan suhu juga dapat meningkatkan penyerapan Fe oleh mikroalga karena suhu mempengaruhi kecepatan metabolisme seperti aktivitas enzimatis dan transport aktif. Cahaya juga mempengaruhi penyerapan logam berat Fe karena penyerapan logam berat Fe terjadi melalui transport aktif yang secara tidak langsung dipengaruhi oleh cahaya. Hal tersebut disebabkan transport aktif menggunakan energi yang diperoleh dari proses fotosintesis. Selain itu mikroalga juga mampu melakukan detoksifikasi logam berat yang merupakan proses perubahan logam berat menjadi bentuk yang tidak beracun. Detoksifikasi dapat terjadi secara ekstraseluler dan intraseluler (Fauziah 2011).

Berdasarkan sudut pandang toksikologi, logam berat dapat dibedakan menjadi dua jenis. Jenis pertama adalah logam berat esensial di mana keberadaannya dalam jumlah tertentu sangat dibutuhkan oleh organisme hidup, namun dalam jumlah yang berlebihan dapat menimbulkan efek racun, contoh logam berat ini adalah Fe. jenis kedua adalah logam berat non esensial atau beracun, dimana keberadaannya dalam tubuh masih belum diketahui manfaatnya atau bahkan dapat bersifat racun seperti Pb (Khasanah, 2009).

Efek racun yang ditimbulkan oleh Fe antara lain muntah, kerusakan usus, penuaan dini hingga kematian mendadak, mudah marah, radang sendi, cacat lahir, cardiomyopathies, sirosis ginjal, gangguan penyerapan vitamin dan mineral, serta hemokromatin. Berdasarkan data penelitian di atas

mikroalga *Synechococcus* sp yang diisolasi dari kolam bekas tambang batubara mempunyai kemampuan untuk menyerap logam berat dari lingkungan. Sehingga dapat digunakan sebagai alternatif untuk mengurangi konsentrasi logam berat Fe dari lingkungan.

4. SIMPULAN

Mikroalga *Synechococcus* sp. yang diisolasi dari kolam bekas tambang batubara, mampu menyerap logam berat Fe dari lingkungan. Penyerapan logam berat oleh mikroalga dipengaruhi oleh suhu, pH, dan intensitas cahaya.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada DP2M Kemenristekdikti atas pendanaan penelitian Hibah Bersaing ini.

6. DAFTAR PUSTAKA

Arunakumara, K.K.I.U. & Zhang, X. (2008). Heavy metal bioaccumulation and toxicity with special reference to microalgae. *Ocean Univ Chin* 1(7):25-30.

Becker, E.W., Baddiley, S.J., Carey, N.H., Higgins, I.J. & Potter, W.G. (1994). *Microalgae: Biotechnology and Microbiology*. New York: Cambridge University Press.

Carvalho, K.M. & Martin, D.F. (2001). Removal of Aqueous Selenium by Four Aquatic Plants. *J. Aquat. Plant Manage.* 39: 33-36

Costello, C. 2003. *Acid Mine Drainage: Innovative Treatment Technologies*. www.clu-in.org. Di akses tanggal 5 September 2016).

Crawford, R.L. & Crawford, D.L. (2005). *Bioremediation: Principles and Applications*. New York: Cambridge University Press.

Davis, P.A., Dent, M., Parker, J., Reynolds, C.S. & Walsby, A.E. (2003). The annual cycle of growth rate and biomass change in *Planktothrix* spp in Blelham Tarn, English Lake District. *J Freshwater Biol* 48: 852-867.

Effendi H. 2003. *Telaah Kualitas Air*. Kanisius : Yogyakarta

Fachrullah, M.R. (2011). *Growth of Biofuel Producing Microalgae Species Chlorella sp. and Nannochloropsis sp. which Cultivated Using Tin Mining Wastewater from Bangka Island*. [Hon. Thesis]. Bogor: Department of Marine Science and Technology, Faculty of Fisheries and Marine Sciences, Bogor Agricultural University. [Indonesian]

Fauziah. (2011). *The effectiveness of metal absorption of chromium (Cr VI) and cadmium (Cd) by Scenedesmus dimorphus*. [Hon. Thesis]. Jakarta:

Faculty of Science and Technology, State Islamic University Syarif Hidayatullah. [Indonesian]

Housecroft, C.E. & Sharpe, A.G. (2005). *Inorganic Chemistry*. Edinburgh England: Second Edition Pearson Prentice Hall.

Ika, T. & Said, I. (2012). Analisis logam timbal (pb) dan besi (fe) dalam air laut di wilayah pesisir pelabuhan ferry taipa kecamatan palu utara. *J. Akad. Kim.* 1(4): 181-186, ISSN 2302-6030

Inthorn, D., Nagase, H., Isaji, Y., Hirata, K. & Miyamoto, K., (1996). Removal of Cu from aqueous solution by the filamentous cyanobacterium *Tolypothrix tenuis*. *J. Ferment. Bioeng.* 82:580-584.

Isnansetyo, A. & Kurniastuty. (1995). *Teknik Kultur Phytoplankton dan Zooplankton* Yogyakarta: Penerbit Kanisius.

Khasanah, N.E. (2009). Adsorpsi logam berat. *Jurnal Oseana*, 34(4), 1-7.

Levy, J., Stauber, J.L. & Jolley, D.F. (2007). Sensitivity of marine microalgae to copper: The effect of biotic factors on copper adsorption and toxicity. *Sci Total Envi* 387(1-3):141-154.

Matsunaga, T.H., Takeyama, T., Nakao & Yamazawa, A. (1999). Screening of marine microalgae for bioremediation of cadmium-polluted seawater. *Journal of Biotechnology* 70: 33-38.

Nacorda, J.O., Martines, M.R., Torreta, N.K. & Merca, F.E. (2007). Metal resistance and removal by two strains of the green alga, *Chlorella vulgaris* Beijerinck, isolated from Laguna de Bay, Philippines. *Journal of Biological Sciences, University of Los Bunos* 22:342-347.

Nasir, S., Purba, M. & Sihombing, O. (2014). Pengolahan air asam tambang dengan Menggunakan membran keramik berbahan Tanah liat, tepung jagung dan serbuk besi. *Jurnal Teknik Kimia*. 3(20): 22-30

Niess, D.H. (1999). Microbial heavy metal resistance. *Appl Microbiol Biotechnol* 51(6):730-750.

Olguin, E.J. (2003). Phycoremediation: key issues for costeffective nutrient removal processes. *Biotechnol.Adv.* 22: 81-91.

Pinto, E.T, Kutner, S., Leitao, M.A., Okamoto, O.K., Morse, D. & Colepicolo P. (2003). Heavy metal induced oxidative stress in algae. *J Phycol* 39: 1008-1012.

Setiawati, D.M. (2009). *Uji Toksisitas Cd dan Timbal pada Mikroalga Chaetoceros gracilis*. [Skripsi]. Bogor: Departemen Ilmu dan Teknologi Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.

Soeprobawati, T.R., Hariyati & Riche. (2013). Bioaccumulation of PB, Cd, Cu, and Cr by *Porphyridium cruentum* (S.F. Gray) Nageli. *Int J Mar Sci* 3:212-218.

Syauqiah, I., Amalia, M. & Katrini, A.H. (2011). Analisis variasi waktu dan kecepatan pengadukan pada proses biosorpsi limbah logam berat dengan arang aktif. *Info Teknik* 12: 11-19. [Indonesian]

Wang, J. & Chen, C. (2009). Biosorbents for heavy metals removal and their future. *Biotechnol Adv* 27:195-226.

- Wood, A., Everroad, M. & Wingard, L.M. (2005). Measuring growth rate in microalgal cultures. In: Andersen RA (ed.). *Algal Culturing Techniques*. Amsterdam: Elsevier.
- Zahroh, F. (2010). *Kajian Kesetimbangan Adsorpsi Cr (VI) Pada Biomassa Kangkung Air (Ipomea aquatica FORSK)*. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim.
- Yu, R.A. *et al.* (2000). Production of Eicosapentaenoic Acid by a Recombinant Marine Cyanobacterium, *Synechococcus* sp. *Lipids*. 35:1061-1064.
-