

Pertumbuhan *Chlorella* sp. pada beberapa konsentrasi limbah batubara

The growth rate of the Chlorella sp. at different concentrations of coal waste water

Zerli Selvika*, Aradea Bujana Kusuma, N. Ervina Herliany, Bertoka Fajar S.P. Negara

Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Bengkulu, Jl W.R Supratman, Kandang Limun, Bengkulu, 38371. *Email Korespondensi: zerliselvika@gmail.com

Abstract. *Chlorella* sp. is a single-celled microalga that mostly grows in marine waters. *Chlorella* sp. can grow in heavy polluted waters and therefore it has potency as a bioremediation agent. This study aimed was to analyze the effect of coal on the growth of *Chlorella* sp. in plant isolation media and the quality of water in plant isolation media for *Chlorella* sp. The complete randomized design with 4 treatments of coal concentration was used in this study. Four concentration concentrations were tested namely, 0 ppt, 1 ppt, 3 ppt and 5 ppt. The results revealed that coal with different concentrations gave no significant effect on the growth of *Chlorella* sp. ($p > 0.05$). The density among the concentrations of 0 ppt, 1 ppt, 3 ppt and 5 ppt were not significantly different. In addition, the coal concentration gave no significant effect on temperature, salinity and potential hydrogen (pH) ($p > 0.05$). The *Chlorella* sp. can grow in the polluted water by coal, and therefore this alga can be used as potential organisms for bioremediation of coal waste.

Keywords: Bioremediation, *Chlorella* sp., coal and pollution

Abstrak. *Chlorella* sp. merupakan mikroalga bersel satu yang banyak tumbuh di perairan laut. *Chlorella* sp. dapat tumbuh di perairan yang tercemar berat sehingga berpotensi sebagai bioremediasor. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh konsentrasi batubara terhadap pertumbuhan *Chlorella* sp. dan kualitas air pada media kultur *Chlorella* sp. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen skala laboratorium. Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap dengan 4 perlakuan konsentrasi batubara 0 ppt, 1 ppt, 3 ppt dan 5 ppt. Hasil penelitian menunjukkan bahwa batubara dengan konsentrasi yang berbeda tidak berpengaruh nyata terhadap laju pertumbuhan *Chlorella* sp ($P > 0,05$). Kepadatan antara konsentrasi 0 ppt, 1 ppt, 3 ppt dan 5 ppt tidak terlalu jauh berbeda. Konsentrasi batubara juga tidak berpengaruh nyata terhadap parameter suhu, salinitas dan derajat keasaman (pH) ($p > 0,05$). *Chlorella* sp. dapat tumbuh pada lingkungan yang tercemar oleh batubara, sehingga dapat dipakai sebagai organisme yang berpotensi untuk bioremediasi batubara.

Kata kunci: Batubara, bioremediasi, *Chlorella* sp. dan pencemaran

Pendahuluan

Peningkatan aktivitas manusia diberbagai sektor menyebabkan bertambahnya jumlah dan jenis pencemar yang masuk ke dalam perairan laut, kondisi ini dapat menurunkan daya dukung perairan laut (Haryoto dan Wibowo, 2004). Salah satu sumber pencemaran di perairan laut adalah batubara (Rahmiati, 2012).

Penambangan batubara pada saat ini terjadi hampir di semua perairan laut baik itu yang berdekatan dengan muara maupun yang tidak. Semakin banyak pemanfaatan lahan untuk pertambangan batubara maka akan semakin besar dampak yang akan dihasilkan. Limbah batubara umumnya mengandung berbagai jenis logam berat antara lain besi (Fe), mangan (Mn), tembaga (Cu), timbal (Pb) dan seng (Zn). Logam-logam berat tersebut dapat mengganggu pertumbuhan organisme disuatu perairan, salah satunya adalah fitoplankton (Rukmana *et al.*, 2013).

Fitoplankton merupakan tumbuhan renik yang terdiri dari berbagai jenis dengan sifat-sifat yang berbeda. Karena ukuran fitoplankton relatif kecil, maka interaksi antara fitoplankton dan logam berat di perairan akan berlangsung efektif (Haryoto dan Wibowo, 2004; Makkasau *et al.*, 2011). Beberapa jenis fitoplankton telah digunakan dalam penelitian untuk mengetahui pengaruh logam berat terhadap pertumbuhan fitoplankton, dan salah satu jenis fitoplankton yang telah digunakan adalah *Chlorella* sp. (Widiyani dan Dewi, 2014).

Chlorella sp. merupakan fitoplankton yang dapat tumbuh pada kondisi yang ekstrim dan dapat bertahan terhadap pengaruh luar dengan waktu yang lama (Widiyani dan Dewi, 2014; Zahir, 2011). Mikroalga ini mengandung protein, karbohidrat, lemak, vitamin, mineral, asam amino esensial, asam lemak esensial, enzim, beta karoten dan klorofil sehingga banyak digunakan sebagai pakan ikan, suplemen makanan, bahan penawar berbagai penyakit, bahan untuk biofuel dan bioremediasor (Kurniawan dan Aunorohim, 2013; Widiyani dan

Dewi, 2014; Widiyanto *et al.*, 2014). Selain itu, *Chlorella* sp. sering dimanfaatkan untuk mengetahui pengaruh logam berat karena kemampuan tumbuh *Chlorella* sp. pada lingkungan tercemar. Beberapa penelitian yang telah dilakukan untuk menguji efektivitasnya antara lain untuk penyerapan logam berat Zn dan Pb (Kurniawan dan Aunorohim, 2013), logam berat Cu (Musa *et al.*, 2013), logam berat Cd dan Pb (Purnawati *et al.*, 2012) dan logam Fe (Rizky *et al.*, 2012). Oleh karena itu *Chlorella* sp. Berpotensi sebagai agen bioremediasi untuk menanggulangi pencemaran perairan oleh limbah batubara. Sejauh ini penelitian tentang pengaruh limbah batubara terhadap laju pertumbuhan *Chlorella* sp. belum pernah dilakukan. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk menganalisis konsentrasi limbah batubara yang maksimum dapat ditoleransi oleh *Chlorella* sp. dan kualitas air pada media kultur *Chlorella* sp.

Bahan dan Metode

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari sampai Maret 2016 di Laboratorium Perikanan Program Studi Ilmu Kelautan Fakultas Pertanian Universitas Bengkulu. Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat sterilisasi, pengkulturan serta peralatan analisis kualitas air. Bahan yang digunakan antara lain: fitoplankton *Chlorella* sp., air laut steril, pupuk epizym AGP-C, batubara dan aquades sebagai pengencer air laut steril.

Metode penelitian

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode eksperimen skala laboratorium dengan 4 perlakuan konsentrasi larutan yaitu 0 ppt, 1 ppt, 3 ppt dan 5 ppt. Masing-masing perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali untuk mendapatkan data yang akurat (Fadilla, 2010). Metode eksperimen adalah suatu metode penelitian dengan melakukan tindakan coba-coba (*trial*) di bawah kondisi buatan yang kondisi tersebut dibuat oleh peneliti. Metode tersebut digunakan untuk mengetahui ada tidaknya suatu hubungan sebab akibat serta berapa besar hubungan sebab akibat tersebut, dengan cara melakukan perlakuan-perlakuan tertentu (Kusuma *et al.*, 2012).

Prosedur penelitian

Persiapan media kultur *Chlorella* sp.

Media yang digunakan pada penelitian ini adalah air laut kemudian disaring dengan menggunakan kertas whatman No.40. Air laut yang sudah disaring kemudian disterilisasi dengan menggunakan *autoclave* pada suhu 121 °C, 1 atm selama 15 menit (Fadilla, 2010). Sterilisasi bertujuan menghilangkan atau meminimalkan keberadaan mikroorganisme atau zat pengganggu pada media kultur yang akan digunakan selama penelitian. Menurut Purnawati *et al.* (2012) sterilisasi dilakukan untuk membuat media tumbuh fitoplankton agar tidak terjadinya kontaminasi.

Pengkulturan *Chlorella* sp.

Bibit awal *Chlorella* sp. diperoleh dari *Surfactant and Bioenergy Research Center* (SBRC) Bogor. Pengkulturan *Chlorella* sp. dilakukan dengan cara memasukkan air laut steril sebanyak 800 ml kedalam toples. Kemudian ditambahkan bibit *Chlorella* sp. sebanyak 200 ml dan pupuk epizym AGP-C sebanyak 1,5 ml/l. Kemudian kultur *Chlorella* sp. diberi selang aerator yang berguna untuk menyuplai kebutuhan oksigen dan diberi pencahayaan dari lampu neon 40 watt secara terus menerus yang berfungsi untuk menyuplai membantu proses fotosintesis karena *Chlorella* sp. memerlukan intensitas cahaya antara 2500 – 5000 lux (Sasmita *et al.*, 2012). Pengkulturan dilakukan selama 3 hari agar *Chlorella* sp. dapat beradaptasi dengan lingkungan yang baru.

Kurva pertumbuhan *Chlorella* sp.

Pengamatan kurva pertumbuhan *Chlorella* sp. dapat diamati dengan menggunakan *Haemocytometer* (Rahmadiani dan Aunurohim, 2013). Menurut Rizky *et al.* (2012) pengamatan pertumbuhan dilakukan dengan cara diamati melalui mikroskop dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Jumlah sel/ml} = \frac{A + B + C + D + E}{5} \times \text{Larutan Induk}$$

Keterangan:

A, B, C, D, E= Jumlah sel yang dihitung menggunakan *Haemocytometer* tiap kamar, 5= Jumlah kotak yang diamati dalam kamar, Larutan induk= Jumlah larutan induk (jumlah kultur massal (ml)).

Persiapan batubara

Batubara di bersihkan dari kotoran-kotoran agar mendapatkan hasil yang baik. Kemudian dijemur di bawah sinar matahari sampai kering. Setelah itu batubara kering dihaluskan dengan ukuran halus, kemudian ditimbang seberat 0,25 gram (g) (1 ppt), 0,75 gram (g) (3 ppt), 1,25 gram (g) (5 ppt). Setiap masing-masing perlakuan konsentrasi batubara dicampur dengan 250 ml kultur *Chlorella* sp.

Kultur massal *Chlorella* sp.

Kultur massal *Chlorella* sp. dilakukan dengan cara memasukkan fitoplankton *Chlorella* sp. aktif ke dalam toples yang berisi 3200 ml air laut steril, 800 ml bibit *Chlorella* sp. dan pupuk epizym AGP-C sebanyak 6 ml. Pengkulturan massal diberi selang aerator yang berguna untuk menyuplai kebutuhan oksigen dan diberi pencahayaan dari lampu neon 40 watt.

Efek batubara terhadap laju pertumbuhan *Chlorella* sp.

Pengamatan dan pengukuran efek penambahan batubara terhadap laju pertumbuhan *Chlorella* sp. dilakukan dengan cara hasil dari pengkulturan massal yang telah mencapai fase eksponensial dimasukkan ke dalam toples sebanyak 250 ml (10 toples). Pembagian kultur *Chlorella* sp. dilakukan secara manual dengan menggunakan *beaker glass*. Batubara yang telah dihaluskan dimasukkan ke dalam 10 toples yang berisi fitoplankton *Chlorella* sp. dengan perlakuan konsentrasi batubara 0 ppt (1 toples), 1 ppt (3 toples), 3 ppt (3 toples) dan 5 ppt (3 toples), dan masing-masing perlakuan konsentrasi batubara dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Pengamatan efek batubara terhadap laju pertumbuhan *Chlorella* sp. dilakukan setiap 1 jam sekali selama 5 jam dengan menggunakan *haemocytometer*. Pengamatan dilakukan selama 5 jam untuk mengetahui efek batubara terhadap perubahan laju pertumbuhan *Chlorella* sp.

Parameter kualitas air

Parameter yang diukur pada saat pengamatan yaitu parameter suhu, salinitas dan derajat keasaman (pH). Pengukuran parameter suhu, salinitas dan pH dilakukan setiap 1 jam sekali bersamaan dengan pengamatan efek batubara terhadap laju pertumbuhan *Chlorella* sp. yang dimulai dari jam ke-0 sampai jam ke-5.

Analisis data

Pengaruh konsentrasi larutan batubara yang berbeda terhadap laju pertumbuhan dan kualitas air dianalisis dengan menggunakan analisis Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$). Dengan menggunakan model rancangan sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}$$

Keterangan:

Y_{ij} : Nilai pengamatan dari perlakuan ke- i pada ulangan ke- j , μ : Nilai tengah (rata-rata), τ_i : Pengaruh Perlakuan ke- i , ϵ_{ij} : Acak galat percobaan dari perlakuan ke- i pada ulangan ke- j (Nurhatika, 2010).

Jika hasil berbeda nyata maka dilakukan uji lanjutan dengan menggunakan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) (Sari, 2009). Pengolahan data statistik dengan menggunakan *Microsoft Excel* 2010.

Hasil dan Pembahasan

Kurva pertumbuhan *Chlorella* sp.

Pengamatan kurva pertumbuhan *Chlorella* sp. dilakukan setiap 2 jam sekali selama 14 jam. Pengamatan kurva pertumbuhan *Chlorella* sp. fase lag (adaptasi) terjadi pada pengamatan ke-0 sampai pengamatan ke-2 dimana fase ini masih terjadi penyesuaian terhadap lingkungan (Gambar 1a). Fitoplankton *Chlorella* sp. belum terlalu memanfaatkan nutrisi untuk pertumbuhan. Secara fisiologis pada fase lag (adaptasi) fitoplankton sangat aktif dan terjadi proses sintesis protein baru. Organisme mengalami metabolisme tetapi belum terjadi pembelahan sel secara signifikan sehingga kepadatan sel belum terlalu mengalami peningkatan (Fadilla, 2010).

Fase logaritmik (eksponensial) terjadi pada pengamatan ke-3 sampai pengamatan ke-4 dimana fase ini terjadi peningkatan jumlah sel secara konstan, karena pada awal kultur kandungan nutrisi masih tinggi. Nutrien dapat dimanfaatkan oleh masing-masing fitoplankton untuk melakukan proses pertumbuhan (Musa *et al.*, 2013). Hal tersebut sesuai dengan pendapat Fadilla (2010), yang menyatakan bahwa laju pertumbuhan pada fase eksponensial ini mencapai maksimal karena pada fase ini sel melakukan konsumsi nutrisi.

Fase stasioner terjadi pada pengamatan ke-5 dimana adanya penghentian pertumbuhan sel secara total atau adanya keseimbangan antara tingkat pertumbuhan dan tingkat kematian. Selain itu pada fase ini laju reproduksi sama dengan laju kematian. Penambahan dan pengurangan jumlah fitoplankton relatif sama atau seimbang sehingga kepadatan fitoplankton tetap (Fachrullah, 2011; Fadilla, 2010; Rudiyan, 2011). Hal tersebut disebabkan karena organisme telah memanfaatkan nutrisi yang berasal dari pupuk secara optimum untuk pertumbuhan (Subekti, 2010).

Fase kematian terjadi pada pengamatan ke-6 sampai pengamatan ke-7 yang ditandai dengan laju kematian *Chlorella* sp. lebih cepat dibandingkan laju pertumbuhannya, sehingga terjadi penurunan jumlah kepadatan sel (Putra *et al.*, 2014). Menurut Fadilla (2010) penurunan kepadatan mikroalga ditandai dengan perubahan kondisi optimum yang dipengaruhi oleh suhu, cahaya, pH, jumlah hara yang ada dan beberapa kondisi lingkungan lainnya. Selain itu peningkatan jumlah sel akan terhenti pada keadaan dimana kebutuhan nutrisi menjadi semakin lebih besar. Kandungan nutrisi dalam media semakin menurun karena tidak dilakukannya

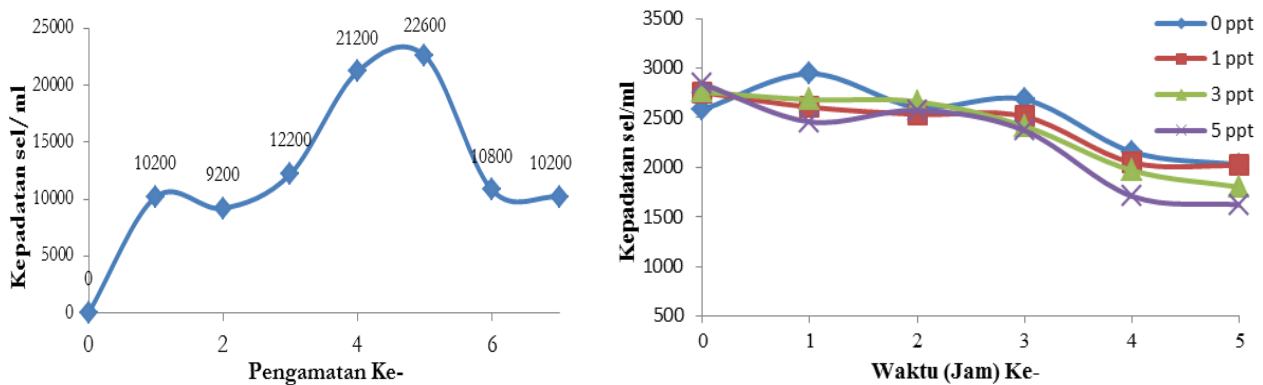
penambahan nutrisi dan terjadinya persaingan tempat hidup karena semakin banyak jumlah sel dalam volume yang tetap (Musa *et al.*, 2013; Suantika dan Hendrawandi, 2008).

Berdasarkan kurva pertumbuhan *Chlorella* sp. terdapat waktu yang tepat untuk pemanenan yang dimanfaatkan untuk melakukan percobaan pemberian batubara yaitu pada pertengahan fase eksponensial ketika 7 jam setelah kultur. Fase eksponensial memiliki ketersediaan nutrisi dalam media kultivasi masih mencukupi untuk terjadinya pertumbuhan sehingga penetapan waktu panen pada pertengahan fase eksponensial. Selain itu pada fase eksponensial aktivitas pertumbuhan sel *Chlorella* sp. dalam keadaan paling optimal (Kurniawan dan Aunurohim, 2013; Suantika dan Hendrawandi, 2008; Zulaika dan Widi, 2014).

Efek penambahan batubara terhadap laju pertumbuhan

Berdasarkan pengamatan yang telah dilakukan, secara umum pertumbuhan *Chlorella* sp. yang diberikan perlakuan konsentrasi batubara mengalami penurunan. Hal ini diduga bahwa seiring dengan semakin lamanya pengamatan maka kepadatan sel semakin menurun. Kemungkinan pengurangan kepadatan sel disebabkan karena semakin lamanya pengamatan jumlah nutrisi yang terkandung dalam media kultur menjadi terbatas, sehingga *Chlorella* sp. yang terdapat di dalam media kultur tidak mampu lagi mempertahankan kepadatan selnya (Chilmawati dan Suminto, 2008; Rudiyantri, 2011).

Pertumbuhan *Chlorella* sp. pada konsentrasi 1 ppt, 3 ppt dan 5 ppt cenderung mengalami penurunan di setiap pengamatan (Gambar 1b). Hal ini kemungkinan disebabkan karena adanya pemberian batubara. Batubara memiliki kandungan logam berat seperti besi (Fe), mangan (Mn), tembaga (Cu), timbal (Pb) dan seng (Zn) (Rukmana *et al.*, 2013). Diduga pemberian batubara pada media kultur dapat menghalangi pertumbuhan dari *Chlorella* sp. Selain dipengaruhi oleh batubara kemungkinan penurunan pertumbuhan disebabkan karena adanya sel-sel mati dan sisa metabolisme. Adanya sel mati dan sisa metabolisme juga menyebabkan terganggunya proses pencahayaan, karena intensitas cahaya akan berkurang dengan adanya kekeruhan. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Nurfadillah *et al.* (2010) bahwa penurunan pertumbuhan fitoplankton disebabkan adanya beberapa faktor yaitu proses fotosintesis, ketersediaan unsur hara yang cukup dan kekeruhan. Kekeruhan dapat menghalangi penetrasi cahaya dan mengganggu proses fotosintesis yang dilakukan oleh fitoplankton (Jannah dan Muchlisin, 2006). Penurunan pertumbuhan tersebut disebabkan karena adanya persaingan antar sel untuk memperebutkan nutrisi dan ruang yang terbatas, sel mengalami kematian sedangkan jumlah sel yang tumbuh menjadi berkurang sehingga kepadatan sel menurun (Rudiyantri, 2011).



Gambar 1. (a) Kurva Pertumbuhan *Chlorella* sp. selama 14 jam pengamatan, (b) Pertumbuhan sel fitoplankton *Chlorella* sp. Pada konsentrasi batubara yang berbeda

Tabel 1. Analisis statistik kepadatan *Chlorella* sp.

Source of Variation	SS	Df	MS	F	P-value	F crit
Konsentrasi	172436	3	57479	0,37	0,77	3,10
Galat	3090250	20	154513			
Total	3262686	23	7,78			

Hasil perhitungan sidik ragam (ANOVA) menunjukkan bahwa batubara dengan konsentrasi berbeda tidak memberikan pengaruh nyata terhadap laju pertumbuhan fitoplankton *Chlorella* sp. dalam media kultur pada taraf $\alpha = 5\%$ ($F_{hitung} (0,37) < F_{table} (3,10)$). Menurut Kurniawan dan Aunurohim (2013) *Chlorella* sp. memiliki toleransi nilai maksimal penyerapan terhadap logam berat di dalam selnya. Diduga bahwa konsentrasi batubara yang diberikan pada media kultur bukan konsentrasi maksimal. Hal tersebut kemungkinan disebabkan

karena kelarutan logam berat pada batubara di perairan berbeda dengan kelarutan logam berat pada batubara di skala laboratorium. Hal tersebut membuat *Chlorella* sp. pada media kultur masih dapat mengimbangi efek pemberian batubara tersebut dan *Chlorella* sp. berpotensi dapat dijadikan sebagai data acuan untuk bioremediasi batubara.

Parameter kualitas air

Parameter yang diukur pada saat melakukan penelitian yaitu parameter suhu, salinitas dan derajat keasaman (pH). Secara umum parameter kualitas air (suhu, salinitas dan pH) tidak melebihi nilai baku mutu. Parameter kualitas air (suhu, salinitas dan pH) berada dalam kisaran optimum untuk menunjang pertumbuhan *Chlorella* sp. Suhu dan salinitas yang masih berkisaran optimum akan mempengaruhi metabolisme *Chlorella* sp. sehingga pertumbuhannya dapat berlangsung dengan baik (Utami *et al.*, 2012). Sedangkan pH yang memiliki nilai optimum akan mempengaruhi penyerapan nutrisi oleh sel dan kelangsungan aktivitas enzim juga akan berjalan optimum (Prihantini *et al.*, 2005).

Tabel 2. Hasil pengukuran kualitas air pada media kultur *Chlorella* sp.

Parameter	0 ppt	1 ppt	3 ppt	5 ppt	Baku Mutu
Suhu (°C)	23,33	23,33	23,17	23,06	23-30 °C (Zahir, 2011)
Salinitas (‰)	28,17	28,17	28,00	28,44	25-34 ‰ (Prabowo, 2009)
pH	7,80	7,82	7,78	7,79	4,5-9,3 (Prabowo, 2009)

Perubahan suhu yang didapat pada penelitian sesuai dengan sumber cahaya yang dikeluarkan oleh lampu neon 40 watt. Hal tersebut dinyatakan oleh Prabowo (2009), bahwa penggunaan sumber cahaya dari lampu neon dapat menjaga temperatur ruangan pada kisaran 18-21 °C, sehingga dapat mempertahankan suhu dalam media kultur pada rentang 22-24 °C. Perubahan salinitas dapat disebabkan karena adanya perubahan suhu, hasil metabolisme sel *Chlorella* sp. (sisa ekskresi sel) dan penguapan yang dihasilkan oleh lampu neon watt (Prabowo, 2009; Maryam *et al.*, 2014). Selain itu perubahan pH diduga dipengaruhi oleh mineral yang terkandung di dalam batubara. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Prabowo (2009) yang menyatakan bahwa kenaikan pH disebabkan karena adanya proses pemanfaatan nitrogen oleh *Chlorella* sp. selama pengamatan berlangsung.

Kesimpulan

Pemberian perlakuan konsentrasi batubara yang berbeda (0 ppt, 1 ppt, 3 ppt dan 5 ppt) tidak berpengaruh nyata terhadap laju pertumbuhan *Chlorella* sp. dalam media kultur. Kualitas air pada media kultur (suhu, salinitas dan pH) berada dalam kisaran optimum untuk pertumbuhan *Chlorella* sp.

Daftar Pustaka

- Chilmawati, D., Suminto. 2008. Penggunaan media kultur yang berbeda terhadap pertumbuhan *Chlorella* sp. Jurnal Saintek Perikanan, 4(1): 42-49.
- Fachrullah, M. R. 2011. Laju pertumbuhan mikroalga penghasil *Biofuel* jenis *Chlorella* sp. dan *Nannochloropsis* sp. yang dikultivasi menggunakan air limbah hasil penambangan timah di Pulau Bangka. Skripsi, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institusi Pertanian Bogor, Bogor.
- Fadilla, Z. 2010. Pengaruh konsentrasi limbah cair tahu terhadap pertumbuhan mikroalga *Scenedesmus* sp. Skripsi. Fakultas Sains dan teknologi. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Haryoto., A. Wibowo. 2004. Kinetika bioakumulasi logam berat kadmium oleh fitoplankton *Chlorella* sp. lingkungan perairan laut. Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi, 5(2): 89-103.
- Jannah, R., Z. A. Muchlisin. 2006. Komunitas fitoplankton di daerah estuaria Krueng Aceh, Kota Banda Aceh. Jurnal Depik, 1(3): 189-195.
- Kurniawan, J. I., Aunurohim. 2013. Biosorpsi logam Zn²⁺ dan Pb²⁺ oleh mikroalga *Chlorella* sp. Jurnal Sains dan Seni Pomits, 3(1): 2337-3520.
- Kusuma, R. D., Asriyanto, Sardiyatmo. 2012. Pengaruh kedalaman dan umpan berbeda terhadap hasil tangkapan lobster (*Panulirus* sp) dengan jaring lobster (Bottom Gill Net Monofilament) di Perairan Argopeni Kabupaten Kebumen. Journal of Fisheries Resources Utilization Management and Technology, 1(1): 11-21.
- Makkasau, A., M. Sjahrul, N. Jalaluddin, I. Raya. 2011. Pola pertumbuhan fitoplankton nannochloris dalam medium conwy yang terpapar ion logam Cd²⁺. Fakultas MIPA, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Maryam, S., G. Diansyah, Isnaini. 2014. Pengaruh pemberian pakan fitoplankton (*Tetraselmis* sp., *Porphyridium* sp. dan *Chaetoceros* sp.) terhadap laju pertumbuhan zooplankton *Diaphanosoma* sp. pada skala laboratorium. Jurnal Maspari, 7(2): 41-50.

- Musa, B., I. Raya, S. Dali. 2013. Pengaruh penambahan ion Cu^{2+} terhadap laju pertumbuhan fitoplankton *Chlorella vulgaris*. Penelitian. Fakultas MIPA. Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Nurfadillah., A. Damar, E. M. Adiwilaga. 2010. Komunitas fitoplankton di perairan Danau Laut Tawar Kabupaten Aceh Tengah, Provinsi Aceh. Jurnal Depik, 1(2): 93-98.
- Nurhatika, S. 2010. Rancangan acak lengkap (RAL). Jurusan Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Teknologi Sepuluh November, Surabaya.
- Prabowo, D. A. 2009. Optimal pengembangan media untuk pertumbuhan *Chlorella* sp. pada skala laboratorium. Skripsi. Program Studi Ilmu dan Teknologi Kelautan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institusi Pertanian Bogor, Bogor.
- Prihantini, N. B., B. Putri, R. Yuniati. 2005. Pertumbuhan *Chlorella* sp. dalam medium ekstrak tauge (MET) dengan variasi pH awal. Jurnal Makara Sains, 9(1): 1-6.
- Purnawati, F. S., T. R. Soeprbowati, M. Izzati. 2012. Potensi *Chlorella vulgaris* beijeirinck dalam remediasi logam berat Cd dan Pb skala laboratorium. Jurnal Bioma, 16(2): 102-113.
- Putra, I. K. R., D. Anggreni, I. W. Arnata. 2014. Pengaruh jenis media terhadap konsentrasi biomassa dan klorofil mikroalga *Tetraselmis chuii*. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Udayana, Bali.
- Rahmadiani, D. D. W., Aunurohim. 2013. Bioakumulasi logam berat kadmium (Cd) oleh *Chaetoceros calcitrans* pada konsentrasi sublethal. Jurusan Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS), Surabaya.
- Rahmiati, R. 2012. Keadaan lingkungan di sekitar area pertambangan batubara. <http://rinirahmiati03.blogspot.co.id/2012/06/dampak-pertambangan-batu-bara-terhadap.html>. Diakses Pada 11 Desember 2015.
- Rizky, Y. A., I. Raya, S. Dali. 2012. Penentuan laju pertumbuhan sel fitoplankton *Chaetoceros calcitrans*, *Chlorella vulgaris*, *Dunaliella salina*, dan *Porphyridium cruentum*. Penelitian. Fakultas MIPA. Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Rudiyanti, S. 2011. Pertumbuhan *Skeletonema costatum* pada berbagai tingkat salinitas media. Jurnal Saintek Perikanan, 6(2): 69-79.
- Rukmana, T., Itnawati, S. Anita. 2013. Analisis logam (Mn, Cd), sianida dan nitrit pada limbah cair tambang batubara PT. Tri Bakti Sarimas (TBS) di Pangkalan Kuansing. Penelitian. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau, Pekanbaru.
- Sari, A. L. 2009. Pengaruh penambahan FeCl_3 terhadap pertumbuhan *Spirulina platensis* yang dikultur pada media asal blotong kering. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Airlangga, Surabaya.
- Sasmita, A. E., A. S. Mubarak, B. S. Rahardja. 2012. Pengaruh konsentrasi pupuk daun turi (*Sesbania grandiflora*) terhadap populasi *Chaetoceros* sp. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Airlangga, Surabaya.
- Suantika, G., D. Hendrawandi. 2008. Efektivitas teknik kultur menggunakan sistem kultur statis, semi –kontinyu dan kontinyu terhadap produktivitas dan kualitas kultur *Spirulina* sp. Jurnal Matematika dan Sains, 14(2): 41-50.
- Subekti, D. A., P. Sukardi, T. Winanto. 2010. Pengaruh berbagai komposisi tingkat konsentrasi media pupuk urea terhadap kandungan glukosa *Nannochloropsis* sp. sebagai alternatif bahan baku bioetanol. Jurusan Perikanan dan Kelautan Fakultas Sains dan Teknik. Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto.
- Utami, N. P., Yuniarti, K. Haetami. 2012. Pertumbuhan *Chlorella* sp. yang dikultur pada perioditas cahaya yang berbeda. Jurnal Perikanan dan Kelautan, 3(3): 237-244.
- Widiyani, P., E. R. S. Dewi. 2014. Penurunan konsentrasi logam berat kadmium (Cd) dan pertumbuhan mikroalga *Chlorella vulgaris* pada media kultur. Jurnal Bioma, 3(2): 17-26.
- Widiyanto, A., B. Susilo, R. Yulianingsih. 2014. Studi kultur semi-massal mikroalga *Chlorella* sp. pada area tambak dengan media air payau (di Desa Rayunggumuk, Kec. Glagah, Kab. Lamongan. Jurnal Bioproses Komoditas Tropis, 2(1): 1-7.
- Zahir, F. N. 2011. Peningkatan produksi biomassa *Chlorella vulgaris* dengan perlakuan mikrofiltrasi pada sirkulasi aliran medium kultur sebagai bahan baku biodiesel. Skripsi. Fakultas Teknik. Univesitas Indonesia, Depok.
- Zulaika, E, R. Widi. 2014. Resistensi *Chlorella* sp. dan potensinya sebagai bioakumulator kadmium. Jurusan Biologi. FMIPA, Institut Teknologi Sepuluh November, Surabaya.