KUANTIFIKASI TOKSISITAS Cr(III) DAN Cr(VI) TERHADAP PERTUMBUHAN FITOPLANKTON BERDASARKAN KONSENTRASI KLOROFIL DAN KERAPATAN SELNYA

QUANTIFICATION OF Cr(III) AND Cr(VI) TOXICITY ON THE GROWTH OF PHYTOPLANKTON FROM THE UTILIZING CHLOROPHYLL CONCENTRATIONS AND CELL DENSITY

Ahmad Budi Junaidi*, Ahmad Riadi, Rahmat Yunus dan Uripto Trisno Santoso
Program Studi Kimia FMIPA Unlam
Jln. Ahmad Yani Km 35,8 Banjarbaru 70714
*) Corresponding author : Hp : 081952958902 E-mail : a_budi_j@yahoo.co.id

ABSTRACT

A research of effect Cr(VI) and Cr(III) on the growth of phytoplankton has been done utilizing cell density and chlorophyll concentrations as the parameter for the phytoplankton growth. Experimentally, the effect was evaluated based on the kinetic data obtained from phytoplankton growth experiment performed in a series of cultured media containing many different concentrations of Cr(VI) or Cr(III), within a time period of exponential growth. The chlorophyll contents in the phytoplankton during the experiments were spectrophotometrically monitored. Cell density was counted using haemocytometer.The result showed that Cr(VI) and Cr(III) inhibit the growth of the phytoplankton; the inhibition increases as the Cr(VI) and Cr(III) concentrations increases. Value of EC_{50} of Cr(VI) are 0,0005 and 0,0012 ppm, and value of EC_{50} of Cr(III) are 0,0014 and 0,0056 ppm were obtained when cell density and chlorophyll concentrations respectively utilized. For this reason, It was concluded that the utilization of cell density counting data in evaluating the Cr(VI) and Cr(III) phytotoxicity was more sensitive than the use of chlorophyll concentration data.

Key word : chlorophyll concentration ,cell density, phytoplankton,Cr(VI), Cr(III).

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian pengaruh Cr(VI) dan Cr(III) terhadap pertumbuhan fitoplankton berdasarkan pengukuran kerapatan sel dan peningkatan konsentrasi klorofil. Fitolankton dikultur dalam media yang diberi nutrien dan mengandung Cr(VI) atau Cr(III) dengan konsentrasi bervariasi. Kerapatan sel dan konsentrasi klorofil ditentukan pada waktu kultur 16, 24, 32, 40, 48, 56 jam. Konsentrasi klorofil ditentukan secara spektrofotometri. Kerapatan sel dihitung menggunakan haemocytometer dengan pengamatan di bawah mikroskop. Hasil penelitian menunjukkan bahwa Cr(VI) dan Cr(III) menghambat laju pertumbuhan fitoplankton. Besarnya hambatan laju pertumbuhan sebanding dengan besarnya konsentrasi Cr(VI) dan Cr(III) dalam media kultur. Secara kuantitatif diperoleh harga EC_{50} Cr(VI) dan Cr(III) terhadap laju pertumbuhan fitoplankton berdasarkan kerapatan sel, masing-masing sebesar 0,0005 dan 0,0014 ppm, sedangkan berdasarkan konsentrasi klorofil, masing-masing sebesar 0,0012 dan 0,0056 ppm. Hal ini mengindikasikan bahwa Cr(VI) lebih toksik daripada Cr(III) terhadap pertumbuhan fitoplankton. Hal ini mengindikasikan bahwa penggunaan kerapatan sel sebagai parameter pertumbuhan fitoplankton yang dipengaruhi Cr(VI) dan Cr(III) memiliki sensitivitas yang lebih baik daripada penggunaan parameter peningkatan konsentrasi klorofil.

Kata Kunci : Konsentrasi klorofil, kerapatan sel, Fitoplankton, Cr(VI), Cr(III).

PENDAHULUAN

Salah satu lingkungan yang sangat rentan terhadap pencemaran adalah lingkungan perairan. Di sisi lain, air merupakan kebutuhan yang sangat vital bagi semua makhluk hidup, baik secara kualitas maupun kuantitas. Tanpa air tak ada kehidupan. Kualitas perairan di beberapa daerah makin memprihatinkan. Hal ini diakibatkan oleh aktivitas manusia yang kurang berpihak pada lingkungan. Banyaknya limbah-limbah industri dan rumah tangga serta penggunaan teknologi yang tidak ramah lingkungan yang menyebabkan lingkungan perairan tercemar. Masuknya zat-zat pencemar ke lingkungan perairan merusak dan mengganggu tata kehidupan khususnya kehidupan biota air (Manik, 2004).

Pencemaran kromium dalam tanah dan air merupakan salah satu masalah pencemaran lingkungan yang banyak mendapat perhatian di seluruh dunia (Buerge & Hug, 1998). Luasnya distribusi pencemaran kromium ini diakibatkan oleh banyaknya industri yang menghasilkan limbah yang mengandung kromium, seperti industri kulit, produksi kertas, industri *stainless steel*, pembangkit tenaga listrik, pengilangan minyak bumi, dan sebagainya (Rodriguez, *et al*., 2000). Krom di lingkungan terdapat dalam beberapa spesies dengan toksisitas yang berbeda. Spesies Cr(VI) bersifat toksik, korosif serta karsinogen karena diperkirakan membentuk kompleks makromolekul dalam sel. Sebaliknya spesies krom(III) kurang toksik dibandingkan krom(VI), tidak korosif maupun iritasi, bahkan dalam jumlah kecil merupakan bahan yang diperlukan untuk metabolisme karbohidrat, glukosa, lemak dan protein dalam mamalia dan sebagai kofaktor untuk aktivitas insulin (COWI, 2002). Namun dalam suatu reaksi fotosintesis yang dikatalisis oleh reaksi fenton yang melibatkan reaksi oksidasi logam dapat meningkatkan produksi radikal bebas yang dapat berakibat fatal bagi kelangsungan tumbuhan berklorofil tersebut (Widyawati, 2000). Dilihat dari kecenderungannya, krom(III) potensial terlibat dalam reaksi fenton.

Selain menggunakan parameter fisika dan kimia, penilaian kualitas perairan dapat pula

ditentukan dengan parameter biologis. Penggunaan parameter biologis dalam pemantauan kualitas perairan bertumpu pada konsepsi bahwa perubahan kondisi fisika-kimia perairan akan menyebabkan perubahan sifat biologis perairan. Penggunaan organisme indikator dalam penentuan kualitas perairan sangat bermanfaat karena organisme tersebut akan memberikan reaksi terhadap keadaan kualitas perairan. Dengan demikian dapat melengkapi atau memperkuat penilaian kualitas perairan berdasarkan parameter fisika dan kimia (Sutjianto, 2003).

Pada lingkungan perairan secara umum, salah satu organisme yang penting adalah fitoplankton, karena merupakan produsen dasar dalam rantai makanan kehidupan lingkungan perairan (Taufik, 1996). Oleh karenanya fitoplankton sangat cocok digunakan sebagai bioindikator kualitas lingkungan perairan. Selain itu, masa pertumbuhan fitoplankton yang relatif singkat sangat membantu dalam mempertahankan keadaan lingkungan medium agar konstan. Fitoplankton juga sangat sensitif terhadap kehadiran *xenobiotic* dalam lingkungannya (Junaidi, 2003).

Analisis pertumbuhan fitoplankton biasanya dilakukan dengan metode cacah sel yang merupakan laju pertambahan fitoplankton. Padahal pertumbuhan bukan hanya merupakan pertambahan cacah sel, tapi pembesaran sel pun juga merupakan suatu proses pertumbuhan. Untuk itu dibutuhkan metode lain yang lebih mewakili gambaran pertumbuhan fitoplankton secara keseluruhan**.** Peningkatan konsentrasi klorofil pada fitoplankton diharapkan dapat lebih menggambarkan pertumbuhan fitoplankton, baik dari segi ukuran sel maupun kerapatan selnya.

Penelitian ini bertujuan mempelajari kelayakan klorofil sebagai dasar analisis pertumbuhan fitoplankton untuk menentukan tingkat toksisitas Cr(III) dan Cr(VI). Dalam makalah ini disampaikan tingkat toksisitas Cr(III) dan Cr(VI) terhadap pertumbuhan fitoplankton yang dianalisis berdasarkan konsentrasi klorofil dan kerapatan selnya.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kimia Analitik Fakultas MIPA Unlam Banjarbaru. Adapun langkahnya sebagai berikut :

Prosedur Kultur Fitoplankton

Kultur fitoplankton *chlorella sp* dilakukan dalam media air tawar yang diperkaya nutrien dalam ruangan yang steril dengan pencahayaan dan aerasi yang kontinyu serta temperatur sekitar 20^0 C, sehingga pertumbuhan fitoplankton optimal sesuai ”Teknik Kultur phytoplankton” (Isnansetyo & Kurniastuty, 1995).

Penentuan Konsentrasi Klorofil Fitoplankton

Sejumlah sampel larutan fitoplankton diendapkan dengan sentrifius untuk memisahkan fitoplankton dari media. Kemudian klorofil diekstrak dengan aseton 90%. Klorofil dianalisis dengan spektroskopi UV-Vis pada panjang gelombang 630, 647 dan 663 nm. Harga absorbansi dikonversi menjadi konsentrasi klorofil dengan persamaan :

C_a = 11,85 (OD_{663}) – 1,54 (OD_{647}) – 0,08 (OD_{630}) .....(1)

Dimana C_a adalah konsentrasi klorofil-a (mg/L) ;OD_{663}, OD_{647}, OD_{630} adalah *Optical density* pada 663, 647, 630 nm (Franson, *et al*., 1992).

Penentuan Kerapatan Fitoplankton

Pengukuran kerapatan sel fitoplankton dengan cara penetesan larutan fitopankton pada *Haemocytometer Neubouer Improved* dan fitoplankton di cacah di bawah mikroskop.

Penentuan Laju Pertumbuhan Fitoplankton

Analisis diawali dengan penentuan tahap pertumbuhan eksponensial, dengan mengambil sampel larutan fitoplankton pada waktu kultur yang bervariasi. Sampel larutan fitoplankton dianalisis berdasarkan kerapatan sel dan konsentrasi klorofilnya. Selanjutnya tahap pertumbuhan eksponensial ini digunakan sebagai waktu kultur untuk penentuan laju pertumbuhan fitoplankton dengan persamaan kinetika orde kesatu.

Penentuan Fitotoksisitas Cr(VI) dan Cr(III) terhadap Pertumbuhan Fitoplankton

Pengaruh Cr(VI) dan Cr(III) terhadap pertumbuhan fitoplankton ditentukan dengan menghitung konstanta laju pertumbuhan fitoplankton berdasarkan kerapatan sel dan peningkatan konsentrasi klorofil, yang dikultur menggunakan media yang diperlakukan Cr(VI) dan Cr(III) dengan konsentrasi yang bervariasi.

Analisis Data

Data absorbansi klorofil dikonversi menjadi konsentrasi klorofil dengan persamaan berdasarkan persamaan (1). Toksisitas Cr(VI) dan Cr(III) dikuantifikasi dengan metode regresi linier sehingga dapat ditentukan harga EC_{50} (*Median effect concentrations*) Cr(VI) dan Cr(III) terhadap pertumbuhan fitoplankton. Sedangkan hambatan pertumbuhan relatif Cr(VI) atau Cr(III) terhadap fitoplankton ditentukan dengan persamaan PGI (*Percentage Growth Inhibitions*) (persamaan 2):

$$PGI = \left(\frac{k_0 - k_t}{k_0} \right) . 100\ \% \quad \text{..... (2)}$$

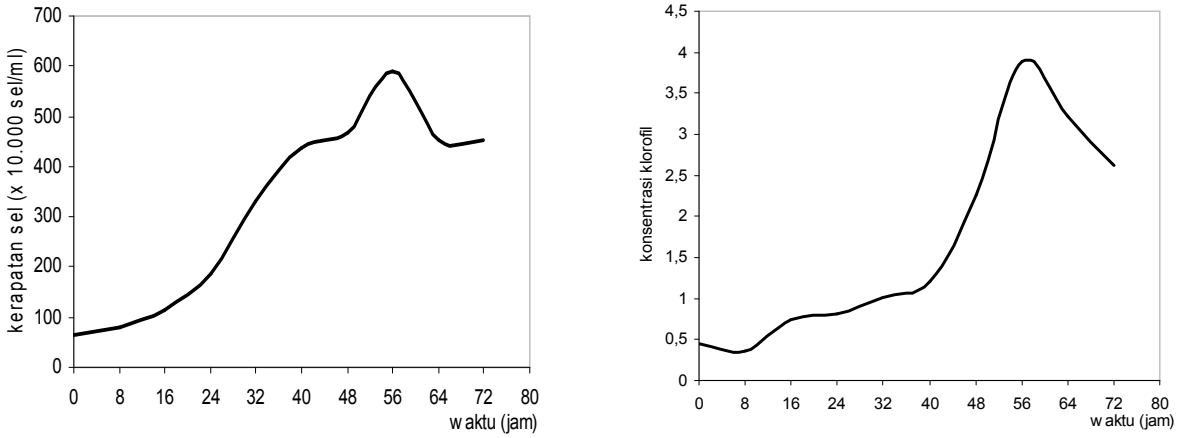
Uji korelasi metode kerapatan sel dan metode konsentrasi klorofil dalam menggambarkan laju pertumbuhan fitoplankton yang diberi perlakuan Cr(III) dan Cr(VI) menggunakan teori garis regresi (Miller & Miller, 1991).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pola Pertumbuhan Fitoplankton.

Pola pertumbuhan fitoplankton berdasarkan kerapatan sel menunjukkan bahwa fitoplankton mengalami tahap adaptasi. Hal ini diduga disebabkan fitoplankton berada dalam tahap pematangan sel pada saat kultur perbanyakan larutan stok fitoplankton, sehingga ketika dipindahkan ke lingkungan baru tetap terjadi pembelahan sel. Tahap pertumbuhan eksponensial terjadi pada kisaran waktu kultur 16-56 jam. Pola pertumbuhan fitoplankton berdasarkan konsentrasi klorofil menunjukkan bahwa fitoplankton mengalami tahap, perbanyakan dan bertambahnya ukuran sel belum optimum sehingga konsentrasi klorofilnya juga tidak meningkat. Hal ini diduga karena proses pembentukan klorofil merupakan

suatu proses sintesis dengan reaksi kimia dan berlangsung dengan banyak tahapan reaksi yang memerlukan waktu yang lebih lama, sehingga kuantitas klorofil meningkat secara perlahan-lahan sampai berada pada tahap eksponensial



(a) **(b)**

Gambar 1. Pola pertumbuhan fitoplankton berdasarkan kerapatan sel (a) dan konsentrasi klorofil (b)

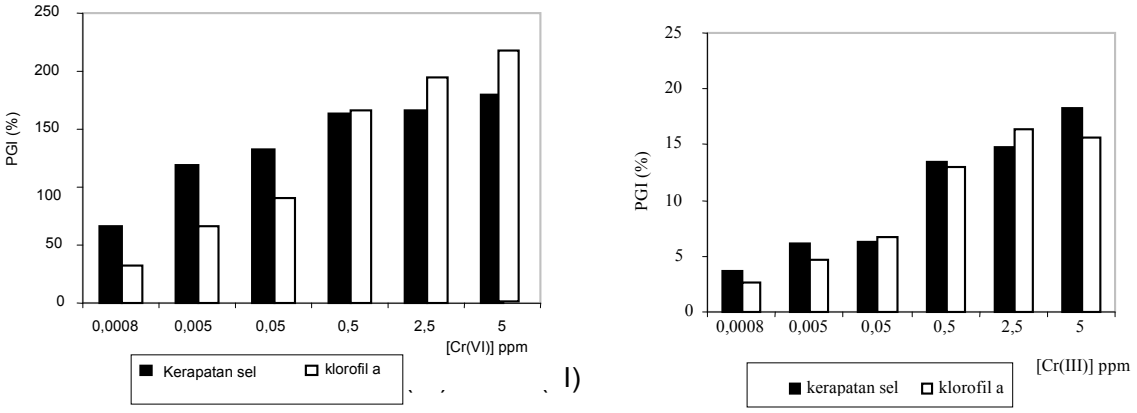
Pengaruh Cr(VI) dan Cr(III) Terhadap Laju Pertumbuhan Fitoplankton

Hambatan relatif perlakuan Cr(VI) dan Cr(III) terhadap pertumbuhan fitoplankton yang dihitung dari kerapatan selnya memperlihatkan bahwa, perlakuan Cr(VI) memberikan hambatan yang lebih besar daripada Cr(III) pada rentangan konsentrasi yang sama. Hal ini kemungkinan karena perbedaan mobilitas dan sifat kedua spesi kromium tersebut. Kromium(VI) secara aktif berperan dalam proses metabolisme, sedangkan Cr(III) bersifat pasif, Cr(III) dapat mudah memasuki sistem jika membentuk suatu kompleks dengan senyawa organik. Selain itu struktur CrO_4^{2-} mirip dengan SO_4^{2-} menyebabkannya dapat menembus membran sel dengan cepat dan mengalami reduksi dalam sel.

Sifat toksik Cr(VI) berhubungan dengan sifatnya sebagai oksidator dan kemampuannya bersaing dengan unsur-unsur esensial bagi pertumbuhan fitoplankton. Sifat Cr(VI) yang merupakan

oksidator kuat dapat menyebabkan terbentuknya spesi oksigen reaktif yang berakibat pada keracunan. Pengaruh Cr(VI) terhadap fotosintesis dapat disebabkan oleh penghambatan transportasi elektron dimana keberadaan Cr(VI) menyebabkan penyimpangan elektron dari bagian penyumbang elektron pada fotosistem I menuju Cr(VI) (Shanker, *et al*., 2005).

Toksisitas Cr(III) terhadap konsentrasi klorofil dan fotosintesis diduga karena kemampuannya berikatan koordinasi dengan berbagai senyawa organik membentuk kompleks metaloprotein yang dapat menyebabkan ketidakaktifan enzim yang terlibat dalam tahapan-tahapan biosintesis klorofil sehingga memberikan pengaruh berkurangnya kandungan klorofil fitoplankton. Menurunnya konsentrasi klorofil dapat juga disebabkan reduksi pada pigmen kloroplas dan perubahan struktur kloroplas disebabkan Cr^{3+} mengakibatkan gangguan terhadap Mg^{2+} pada cincin porfirin.



I)

Gambar 2. Kuantifikasi Toksisitas Cr(VI) dan Cr(III) Terhadap Pertumbuhan Fitoplankton

Tabel 1. pengaruh toksisitas Cr(VI) terhadap konstanta laju pertumbuhan fitoplankton berdasarkan konsentrasi klorofil a dan kerapatan sel.

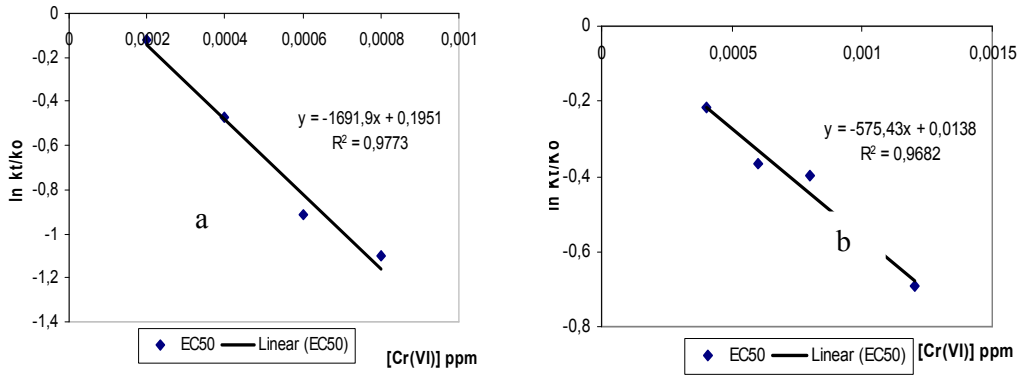
[Cr(VI)] ppm	k(jam^{-1})		PGI(%)	
	Klorofil a	kerapatan sel	klorofil a	kerapatan sel
0	0.018	0.0402	0	0
0,0002	0,0307	0,0357	-70.56	11.19
0,0004	0,0145	0,0251	19,44	37,56
0,0006	0,0125	0,0161	30,56	59,95
0,0008	0,0121	0,0134	32,78	66,67
0,0012	0,009	-0,0027	50,00	106,72

Tabel 2. pengaruh toksisitas Cr(III) terhadap konstanta laju pertumbuhan fitoplankton berdasarkan konsentrasi klorofil a dan kerapatan sel.

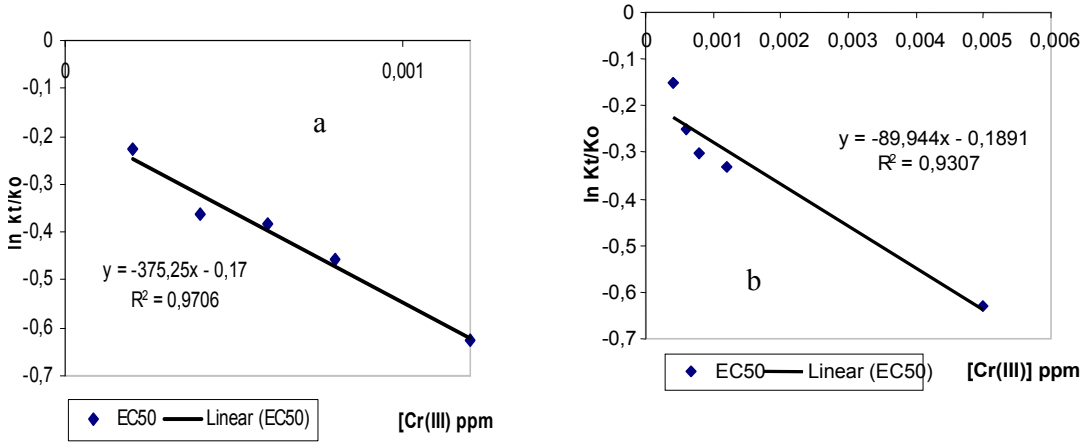
[Cr(III)] ppm	k(jam^{-1})		PGI(%)	
	klorofil a	kerapatan sel	klorofil a	kerapatan sel
0	0.018	0.0402	0	0
0,0002	0,0182	0,0321	-1,11	20,15
0,0004	0,0155	0,028	13,89	30,35
0,0006	0,014	0,0274	22.22	31.84
0,0008	0,0133	0,0255	26,11	36.56
0,0012	0,0129	0,00215	28,33	46.52

Dalam mempelajari pengaruh kromium terhadap pertumbuhan fitoplankton secara kuantitatif, ditentukan harga EC_{50}. Penentuan EC_{50} berpatokan pada penelitian tentang pengaruh kromium terhadap pertumbuhan fitoplankton, yaitu konsentrasi Cr(VI) dan Cr(III) di sekitar harga PGI mendekati 50%. Konsentrasi kromium yang memberikan efek penurunan laju pertumbuhan sekitar 50% adalah pada kisaran dan 0-0,0012 ppm.

Perlakuan kromium dengan konsentrasi yang lebih rendah memberikan hambatan terhadap pertumbuhan fitoplankton yang lebih rendah. Hal ini diduga karena pada konsentrasi kromium yang rendah, aktivitas *superoksida dismutase* (SOD) dan enzim antioksidan meningkat. Kehadiran kromium pada tumbuhan dapat membangkitkan radikal superoksida dan spesi oksigen reaktif yang dapat merusak sel dan mengganggu fotosintesis (Shanker, *et al*., 2005).



Gambar 3. Pengaruh Cr(VI) terhadap konstanta laju pertumbuhan fitoplankton berdasarkan kerapatan sel (a) dan konsentrasi klorofil a (b)



Gambar 4. Pengaruh Cr(III) terhadap konstanta laju pertumbuhan fitoplankton berdasarkan kerapatan sel (a) dan konsentrasi klorofil a (b)

Tabel 3. Kuantifikasi EC_{50} toksisitas kromium terhadap pertumbuhan fitoplankton dan ambang batas nya di perairan.

Berdasarkan Metode			Ambang batas di perairan
EC_{50}	Cacah sel	Klorofil a	
Cr(VI) (ppm)	0,0005	0,0012	0,05
Cr(III) (ppm)	0,0014	0,0056	

Perbandingan antara kuantifikasi toksisitas Cr(VI) dan Cr(III) terhadap fitoplankton berdasarkan konsentrasi klorofil a dan kerapatan sel memperlihatkan harga EC_{50} untuk kerapatan sel lebih kecil dibandingkan klorofil a. Harga EC_{50} Cr(VI) yang lebih

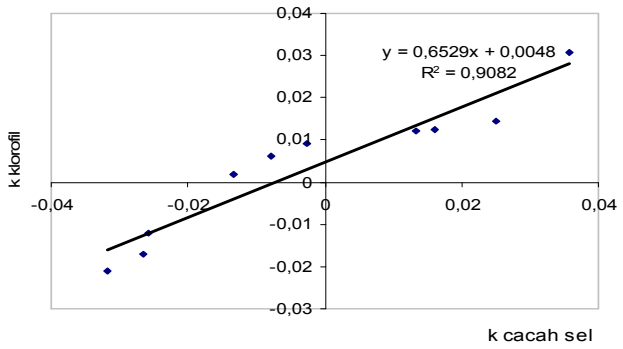
kecil daripada harga EC_{50} Cr(III) menunjukkan bahwa Cr(VI) memiliki tingkat toksisitas terhadap pertumbuhan fitoplankton lebih tinggi dibandingkan Cr(III). Hal ini diduga karena Cr(VI) dapat menimbulkan lebih banyak radikal bebas dan juga sifatnya yang lebih *mobile* dibanding Cr(III).

Jika harga EC_{50} kromium dibandingkan dengan batas ambang dalam perairan yang diperbolehkan untuk Cr(VI) sebesar 0,05 ppm dimana semua organisme keracunan dengan konsnetrasi Cr sebesar itu, maka harga EC_{50} kromium dalam penelitian ini menunjukkan harga yang jauh lebih kecil. Jika diasumsikan bahwa nilai EC_{50} kromium terhadap fitoplankton dapat menyebabkan terganggu-nya ekosistem perairan dimana kita ketahui bersama bahwa fitoplankton merupakan salah satu organisme yang memiliki peran penting dalam rantai makanan, maka berdasar data tabel 3 menunjukkan bahwa batas ambang kandungan kromium di perairan yang sekarang dibrlakukan masih belum berpihak pada kelestarian lingkungan hidup. Selain itu, data tersebut juga menggambarkan bahwa metode analisis kromium dalam air dengan melihat tingkat toksisitasnya terhadap pertumbuhan fito-plankton layak untuk digunakan dan patut menjadi bahan pertimbangan bagi pemantauan logam berat lainnya dalam badan air.

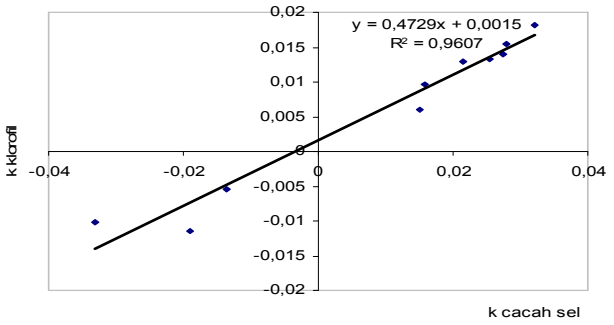
Uji Korelasi Metode Cacah Sel dan Metode Konsentrasi Klorofil

Pengujian korelasi menggunakan metode Miller & Miller dilakukan dengan memplot konstanta laju pertumbuhan fitoplankton berdasarkan kerapatan sel pada sumbu x dan konstanta laju pertumbuhan fitoplankton berdasarkan pengukuran konsentrasi klorofil pada sumbu y (Miller & Miller, 1991). Plot konstanta laju pertumbuhan fitoplankton berdasarkan kerapatan sel dan konsentrasi klorofil yang diberi perlakuan Cr(VI) didapatkan harga *slope* garis regresi sebesar 0,6529±0,0734 dan *intersept* sebesar 0,0048±0,0016. Terlihat bahwa nilai *slope* berbeda secara signifikan dari 1 meskipun nilai *intersep*nya tidak berbeda secara signifikan dari nilai 0. Plot konstanta laju pertumbuhan fitoplankton berdasarkan kerapatan sel dan konsentrasi klorofil yang diberi perlakuan

Cr(III) didapatkan harga *slope* sebesar 0,47±0,034 dan *intersept* sebesar 0,0015±0,0029. Terlihat bahwa nilai *slope* juga berbeda secara berarti dari 1 meskipun nilai *intersep*-nya tidak berbeda secara berarti dari nilai 0. Sehingga dapat disimpulkan bahwa antara metode pengukuran kerapatan sel dan metode pengukuran konsentrasi klorofil tidak memiliki korelasi yang signifikan dalam menggambarkan pertumbuhan fitoplankton yang diberi perlakuan Cr(III) dan Cr(VI).



Gambar 5. Garis regresi konstanta laju pertum-buhan fitoplankton berdasarkan kerapatan sel dan konsentrasi klorofil yang diberi perlakuan Cr(VI)



Gambar 6. Garis regresi konstanta laju pertumbuhan fitoplankton berdasarkan kerapatan sel dan konsentrasi klorofil dengan perlakuan Cr(III)

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, dapat diambil beberapa kesimpulan, yaitu :

1. Laju pertumbuhan fitoplankton semakin menurun dengan semakin tingginya konsentrasi Cr(VI) atau Cr(III) dalam media pertumbuhan fitoplankton.

2. Harga EC_{50} Cr(VI) dan Cr(III) berdasarkan kerapatan sel masing-masing sebesar 0.0005 ppm dan 0.0014 ppm, sedangkan berdasarkan pengukuran konsentrasi klorofil masing-masing sebesar 0.0012 ppm dan 0.0056 ppm.

3. Berdasarkan Uji korelasi Miller & Miller ternyata tidak ada korelasi yang signifikan antara metode analisis kerapatan sel dengan metode analisis konsentrasi klorofil dalam menggambarkan laju pertumbuhan fitoplankton yang diberi perlakuan Cr(III) dan Cr(VI)

DAFTAR PUSTAKA

Buerge, I.J & S.J Hug. 1998. Influence of Organic Ligan on Chromium (VI) Reduction by Iron (II). *Environ.Sci.Technol* **32** : 1092-2099.

COWI, 2002, *Heavy Metals In Waste, Final Report*, European Commission DG ENV E3, Denmark.

Franson, M.A.H, A.E Greenberg, L.S Clesceri, & A.D Eaton, 1992, *Standard Method for The Examination of Water and Wastewater*, 18th, APHA-AWWA-WEF. Washington DC.

Isnansetyo, A & Kurniastuty, 1995, *Teknik Kultur Phytoplankton dan Zooplankton,* Kanisius, Jogjakarta

Junaidi, A. B., 2003, *Kuantifikasi Fitotoksisitas Paraquat terhadap pertumbuhan Fitoplankton Air Tawar,* Prosiding SENAKI V ITS, Surabaya.

Manik, K. E. S., 2004, *Pengelolaan Lingkungan hidup*, Edisi 2, Djambatan, Jakarta

Miller, J.C & J.N. Miller, 1991. *Statistika Untuk Kimia Analitik* Edisi Kedua (terjemahan Suroso). Penerbit ITB. Bandung

Rodriguez, F.J, S.Gutierrez, J.G Ibanez, J.L Bravo & N. Batina, 2000, The Effeciency of Toxic Chromate Reduction by a Conducting Polymer (Polypyrrole) Influence of Electropolymerization Condition, *Environ.Sci.Technol* **34** : 2018-2023.

Shanker, A. K, Carlos C, Herminia L.T, & S. Avudainayagam, 2005, A Review Article Chromium Toxicity in Plants, *Environment International* **31** : 739-753.

Sutjianto, R, 2003, *Biodiversitas Plankton sebagai Indikator Kualitas Perairan*. FMIPA UNHAS. Makassar.Widyawati, S. P., 2000, *Pemamfaatan Organel Kloroplas yang Terisolasi dari Daun Bayam sebagai Fotosistem dalam Produksi Hidrogen Peroksida secara Fotokimia*, Thesis, Program Pasca Sarjana UGM, Jogjakarta.