### BIOAKUMULASI ION LOGAM KADMIUM OLEH FITOPLANKTON LAUT TETRASELMIS CHUII DAN CHAETOCEROS CALCITRAUS

#### M. Sjahrul<sup>1\*</sup> dan Arifin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Kimia, Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin, Makassar <sup>2</sup>FKIP, Universitas Haluoleo, Kendari

Abstrak. Walaupun pemanfaatan *fitoplankton* laut *Tetraselmis chuii dan Chaetoceros calcitrans* telah banyak dilaporkan, namun kaitan pemanfaatannya sebagai *fiforemidiator* pada perairan laut yang telah tercemar logam kadmium masih sangat kurang. Oleh sebab itu, peelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi Cd²+ ,waktu interaksi, pH medium pertumbuhan dan kaitannya dengan proses bioakumulasi Cd²+ pada gugus fungsi dalam fitoplankton. Metode pengumpulan dan analisis data dilakukan terhadap 1). Laju pertumbuhan, jumlah sel fitoplankton dan kandungan khlorofil-a, 2) Konsentrasi Cd²+ dalam fitoplankton pada berbagai waktu interaksi, dan pH medium pertumbuhan dan 3) Spektrum infra merah biomassa fitoplankton sebelum dan sesudah interaksi dengan Cd²+. Penambahan Cd²+ pada medium *T. chuii* dapat menurunkan pertumbuhan dankandungan khlorofil-a, tetapi pada medium *C.calcitrans* terjadi peningkatan pertumbuhan dan kandungan khlorofil-a. Akumulasi Cd²+ optimal terjadi selama 15 menit pada pH 8,0 sebesar 13,46 mg Cd²+ per gram biomassa *T.chuii* dan 1055,27 mg Cd²+ per gram biomassa *C. calcitrans*. Gugus fungsi dalam *T.chuii* dijumpai –OH, CN, S=O, N-O, S-S, dan M-S dan dalam *C.calcitrans* adalah –OH, C=O, S-S, MS dan C=C.

Kata Kunci : Bioakumulasi, Kadmium, Tetraselmis chuii, Chaetoceros calcitrans

**Abstract**. The use of the marine phytoplankton, Tetraselmi chuii and Chaetoceros calcitrans have already been reported. The relationships of the usefulness as phytoremidiator on cadmium polluted marine are not yet well understood. Therefore, this study was conducted to evaluate the influence of Cd<sup>2+</sup> addition on fitoplankton medium towards the growth, interacting time, pH medium that could accumunlate Cd<sup>2+</sup> in the function groups involved in the bioaccumulation prosess of Cd<sup>2+</sup> by phytoplankton. The method of the analysis and the data collectionwas carried out on (1) the growth acceleration, the number of phytoplankton cells, and the chlorophyl-a content; (2) the Cd<sup>2+</sup> content in phytoplankton on various interacting time, and pH medium; and (3) the infra-red spectrum of phytoplankton biomass before and after the interaction with Cd<sup>2+</sup>. The addition of Cd<sup>2+</sup> on T. chuui medium can decrease the growth and content of chlorophyl-a, while the addition of Cd<sup>2+</sup> on C. Calcitrans medium can increase the growth and content of chlorophyl-a. The phytoplankton can accumulate Cd<sup>2+</sup> in the pH8 in the interacting time of 15 minutes with the optimal accumulating ability of 13.46 and 1, 055.27 mg Cd<sup>2+</sup> per gram of T. chuii and C. Calcitrans biomasses successively. The function groups of T. Chuii involved in the bioaccumulation process of Cd<sup>2+</sup> are-OH, CN, S=O, N-O, S-S and M-S, while on C. Calcitrans, the function groups are-OH, C=0, S-S, M-S and C=C.

Keywords: Bioaccumulation, Kadmium, Tetraselmis chuii, Chaetocer calcitrans.

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Alamat korespondensi: syahrul@yahoo.com

#### **PENDAHULUAN**

Fitoplankton laut jenis Tetracelmis chuii dan Chaetoceros calcitrans berturutturu mempunyai ukuran 7-12 µm dan 6-8 μm. Dalam upaya pemanfaatan fitoplankton sebagai fitoremendiator pencemaran logam besat di perairan laut, maka studi toksisitas, kemampuan akumulasi dan identifikasi gugus fungsi berperan dalam potensial vang bioakumulasi logam oleh fitoplankton dari kelas dinoflagelata dan diatom perlu diselidiki. Dalam penelitian ini, akan dipelajari cadmium sebagai obyek penelitian logam karena ini tidak diperlukan dalam proses pertumbuhan makhluk hidup; dan tergolong sebagai logam beracun. Tetraselmis chuii dan Chaetoceros calcitrans berturut-turut mewakili fitoplankton kelas dinoglagellata dan diatom yang digunakan sebagai fitoremediator ion logam Cd<sup>2+</sup> (Doshi dan Kothari, 2007).

**Tetraselmis** chuii termasuk plankton hijau, mempunyai sifat selalu bergerak berbentuk oval elips, mempunyai empat buah flagella pada ujung depannya yang berukran 0,75-1,2 kali panjang badan; dan berukuran 10 x 6 x 5 um (Collantes et al 2006). Menurut Falkowski (2007) sel-sel Tetraselmis chuii berupa sel tunggal yang berdiri sendiri. Ukurannya 7-12 µm, berkholorofil sehingga warnanya hijau cerah. (Ho, 2003) Pigmen terdiri khlorofil. penyusunnya dari memiliki flagella sehingga dapat bergerak hewan. Pigmen khlorofil Tetraselmis chuii terdiri dari dua macam vaitu karotin dan xantofil. Inti sel jelas dan berukuran kecil serta dinding mengandung bahan sellulosa dan pektosa. (Reinfelder, 2000).

Chaetoceros calcitrans. Jenis ini dijumpai di air laut baik sebagai calcitrans Chaetoceros maupun Chaetoceros gracilis; merupakan sel tunggal dan dapat membentuk rantai duri menggunakan yang saling berhubungan dari sel yang berdekatan. Tubuh utama terbentuknya seperti petri dish. Jika dilihat dari samping organisme ini benbentuk persegi dengan panjang 12 – 14 μm dan lebar 15-17 μm, dengan duri yang menonjol dari bagian pojok. Dapat membentuk rantai sebanyak 10-20 sel dan mencapai panjang 200 μm. Chaetoceros calcitrans termasuk kelas Bacillariophyceae, berwarna kuning kecoklatan dan tanpa bergerak (Robert P., 2003).

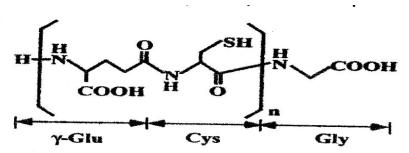
Wang et al., (2001) melaporkan bahwa fitoplankton lebih efisien dalam mengikat ion logam berat dibanding bakteri atau jamur. Hal ini kemungkinan karena proses yang dilakukan dengan fitoplankton hidup berhubungan dengan fotosintesis dan aktivitas metabolic (Baryla, etal-(2001) dan Inthorn (2001).

Fitoplankton memiliki toleransi tinggi terhadap konsentrasi tinggi ion logam berat. Keberadaan ion logam berat dalam medium fitoplankton, menyebabkan terjadinya adaptasi fisiologis berupa tanggapan peptide spesifik pengikat logam misalnya fitokhelatin (Mercado etal 2009)

Cadmium akan mengalami proses biotransformasi dan bioakumulasi dalam organisme hidup (tumbuhan, hewan dan manusia) (Lannelli, et. al., 2002) Logam ini masuk ke dalam tubuh bersama makanan yang dikonsumsi dan telah terkontaminasi oleh cadmium. Dalam tubuh biora perairan jumlah logam yang terakumulasi akan terus mengalami peningkatan dengan adanya proses biomagnifikasi di badan perairan (Abe, 2001). Logam akan terakumulasi pada tumbuhan setelah membentuk kompleks dengan unsur senyawa lain, salah satunya fitokhelatin yang tersusun dari beberapa asam amino seperti sistein dan glisin. Fitokhelortin berfungsi membentuk kompleks dengan logam berat dalam berfungsi tumbuhan dan sebagai detoksifikasi tumbuhan terhadap logam berat. (Kawakami etal., 2006) Jika tumbuhan tidak bias mensintesis fitokhelatin menyebabkan terhambatnya pertumbuhan dan berujung pada kematian. Kadar tertinggi fitokhelatin ditemukan pada tumbuhan yang toleran terhadap logam berat (Schutzendubel etal (2001), Hirata et al (2001) dan Schat etal (2002).

Umumnya bahan-bahan kimia pencemar menyerang sisi aktif enzim mengurangi sehingga fungsi enzim 2006). Ion-ion logam berat (Sampel, seperti Hg, Pb, dan Cd memainkan peranan sebagai penghambat enzim yang efektif. Mereka mempunyai daya tarik menarik ligan-ligan yang mengandung seperti S-S dan -SH dalam asam-asam metionin dan amino sistein yang merupakan bagian struktur enzim (Burcu, 2006).

Gin et al (2001) mengungkapkan bahwa kebanyakan organisme dalam merespon terhadap pengaruh bahan berat beracun logam dengan cara mensisntesis protein-protein pengkhelat-Molekul-molekul kecil dalam tanaman, algae, dan jamur dirujuk sebagai peptida-peptida kaya sistein disebut fitokhelatin (Grill et,al., 1985). Molekul-molekul tersebt mempunyai struktur umum (γ-Glu-Cys)n-Gly) dimana n dapat berkisar 2-11 bergantung pada spesies darimana peptide diisolasi dan kondisi induksinya dengan struktur primer sebagai seperti diperhatikan pada Gambar 1:



Gambar 1. Stuktur primer fitokhelatin (Kazumata Hirata et al, 2005)

Fitokhelatin disintesis dari suatu turunan tripeptida (glutation) yang tersusu dari glutamat, sistein, dan glisin. Glutation ada dalam seluruh sel, sering dalam tingkatan yang tinggi (*Schat et al, 2002*). Jika dalam lingkungannya termediasi oleh ion-ion logam; maka glutation akan membentuk peptide pengkhelat logam, fitokhelatin. Fitokhelatin ini akan mengikat ion logam membentuk fitokhelatin-M yang selanjutnya akan diteruskan ke vakuola.

Fitoplankton *Tetraselmis chuii* dan *Chaetoceros calcitrans* merupakan biota bersel tunggal dan seluruh permukaannya dilapisi oleh kulit sel, sehingga masuknya ion logam cadmium ke dalam sel fitoplankton diawali dengan penyerapan bidang permukaan sel (adsorpsi) (Xµ et. al., 2008). Pada tahap ini, proses berlangsung secara pasip sampai seluruh permukaan sel telah jenuh dengan ion logam. Ketika ion logam berada pada membran sel, akan berinteraksi dengan

berbagai molekul yang terdapat pada membran sel. Reaksi yang kemungkinan terjadi adalah :

2 R-H + M<sup>2+</sup> R<sub>2</sub>M + 2H<sup>+</sup> ......(1) Dengan RH adalah molekul organik dan M adalah logam Pada persamaan reaksi (1), kedudukan atom H akan diganti oleh ion logam M, sehingga selain menurunkan pH, juga terbentuk molekul kompleks yang berisfat asam-basa lemah (*Morel*, 2005).

## METODE PENELITIAN Tempat Dan Bahan Penelitian Tempat Penelitian:

Laboratorium Kimia Anorganik Devisi Bioremidiasi Logam Berat Jurusan KImia FMIPA Universitas Hasanuddin dan Laboratorium Ecology and Physiology of Plant Faculty of Earth and Life Sciences Vrije Universiteit Amsterdam.

#### **Bahan Penelitian**

Bahan yang digunakan dalam peneliitan ini antara lain bibit fitoplankton Tetraselmis chuii dan Chaetoceros Calcitrans diambil murni dari kultur Balai Penelitian Perikanan dan Kelautan Maros, Sulawesi Selatan. Bahan-bahan kimia vang digunakan semua berkualitas analitik meliputi : NaC1; (analytical grade) MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; KNO<sub>3</sub>: KHPO<sub>4</sub>;  $CaC1_2.2H_2O$ ,  $H_3BO_3$ ;  $ZnSO_4$  $7H_20;$ MnSO<sub>4</sub>,4H<sub>2</sub>O; CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O; C0CI<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O;  $M_{07}O_{24}5H_2O;$  $(NH_4)_6$ NaFeEDTA; NaSiO<sub>3</sub>9H<sub>2</sub>O; thiamine HCI; biotine; vitamin B<sub>12</sub>; CdCI<sub>2</sub>; saringan Whatman GF/A dan aquades.

#### Prosedur Kerja Pola Pertumbuhan Fitoplankton dalam Medium Kultur Arschat

Bibit murtni fitoplankton *Tetraselmis* chuii dan *Chaetoceros caltitrans* dikultur dalam gelas Erlenmeyer 500 mL dengan menggunakan medium Arshat. Penerangan lampu Neon 80 watt diberikan secara terus menerus, gas CO<sub>2</sub> dari aerator pompa udara,suhu antara 20 -22°C, pH medium.

Untuk mengetahui pola pertumbuhan fitoplankton, dilakukan penghitungan jumlah sel per millimeter medium setiap hari. Sampel diambil dengan pipet tetes steril, diteteskan sekitar 0,1-0,5 mL pada *Haemocytometer*, kemudian diamati melalui mikroskop (Seafdec, 1985).

#### Pengeruh Ion Kadmium pada Pertumbuhan Fitoplankton

Pengamatan pengaruh ion cadmium pada pertumbuhan fitoplankton pada fitoplankton *Tetraselmis chuii* dan *Chaetoceros calcitrans* dilakukan dengan cara mengkultur fitoplankton dalam medium tercemar ion logam cadmium pada konsentrasi 0 – 5 ppm.

#### Laju Pertumbuhan dan Persentasi Hambatan Pertumbuhan Fitoplankton yang Terpapar Ion Kadmium.

Penentuan laju pertumbuhan spesifik untuk setiap variasi konsentrasi dihitung

menggunakan persamaan (2); dengan sedang untuk menentukan persentasi hambatan pertumbuhan, (Prosen Growth Inhibition. fitoplankton PGI) pada **Tetraselmis** chuii dan Chaetoceros calcitrans untuk setiap perlakuan menggunakan konsentrasi dilakukan persamaan (3) berikut:

$$\mu = \frac{\ln N_t - \ln N_0}{t}....(2)$$

 $\begin{array}{lll} N_t = & kepadatan \ sel \ pada \ saat \ t \ (set/mL) \\ N_0 = & kepadatan \ sel \ pada \ saat \ awal \ (sel/mL) \end{array}$ 

 $\mu$  = Laju pertumbuhan spesifik; dan t adalah waktu (hari). (Doshi et al, 2007)

PGI = 
$$100 - \left(\frac{\mu_i}{\mu_0} x 100\%\right)$$
....(3)

 $N_t = Presentase hambatan pertumbuhan$  $<math>\mu_i = Tetapan laju pertumbuhan spesifik$ ke-i

 $\mu_0$ = Tetapan laju pertumbuhan spesifik control

#### Kandungan Khlorofil-a pada fitoplankton yang Ditumbuhkan pada Medium Terpapar Ion Kadmium

Untuk mendukung data pertumbuhan fitoplankton dalam kondisi terpapar ion cadmium, dilakukan penentuan kandungan khlorofi-a dengan metode spektorfotometri yang dikembangkan oleh Parson et al., (1984).

#### Uji Toksisitas Ion Kadmium pada FItoplankton *Tetraselmis chuii*

Pengamatan toksisitas ion cadmium pertumbuhan fitoplankton terhadap dilakkan dnegan mengkultur pada kondisi oprimum dengan volume kultur 1000 mL. Parameter uji meliputi uji (i) Non Effect Concentration (NEC), yakni menentukan konsentrasi cadmium yang mempengaruhi pertumbuhan fitopnakton; (ii) Moximum Tolerable Concentration (MTC), yakni menentukan konsentrasi maksimum cadmium yang dapat ditolerir oleh fitoplankton; dan **Effect** 

50%  $(EC_{50}),$ Concentration yakni menentukan konsentrasi cadmium yang menyebabkan penurunan laju pertumbuhan sebesar 50% relative terhadap blanko.

#### Waktu Interaksi Proses Bioakumulasi Ion Kadmium oleh FItoplankton

Waktu interaksi dilakukan dengan waktu berturut-turut 5, 10, 15, 30, 45, 60, dan 120 menit. Penentuan jumlah cadmium terakumulasi oleh setiap fitoplankton dengan memperhitungkan ditentukan selisih antara konsentrasi kadmium awal dengan konsentrasi yang terkandung dalam filtrate. Untuk mengetahui berat fitoplankton yang digunakan saat interaksi, dalam wadah kultur yang sama diambil sebanyal 24 mL medium fitoplankton control lalu disaring.

Data hasil akumulasi yang diperoleh selanjutnya dievaluasi pada setiap interval waktu untuk diperoleh interaksi pada saat kesetimbangan tercapai. Dengan menggunaan persamaan (4) diperoleh harga q (mg Cd per gram berat kering).

$$q = \frac{V(\left[M_{aq}\right]_0 + \left[M_{aq}\right]_{00})}{W}...(4)$$

= Pengambilan logam (mg logam g<sup>-1</sup> biomassa)

V = Volume larutan

 $[M_{aq}]_{00}$ 

 $[M_{aq}]_0$  = Konsentrasi awal logam pada larutran (mg L<sup>-1</sup>)

= Berat kering biomassa (g)

Persen terakumulasi ion logam Cd2+ oleh T. Chuii dan C. Calcitrans dihitung dengan menggunakan persamaan:

#### Identifikasi Gugus fungsi Potensial dan Fitoplankton yang Berperan dalam Proses Bioakumulasi Kadium

Untuk mengidentifikasi gugus fungsi potensial vang mengikat cadmium, dilakukan serangkaian kultur fitoplankton uji, tanpa dan dengan paparan cadmium kosentrasi 5 ppm. pada Setelah fitoplankton berumur 7 hari kemudian dipanen dan dikering bekukan, lalu digerus dan disaring dengan mesh maksimum 38 Seluruh biomassa sebelum dan um. sesudah pemaparan cadmium dianalisis secara spektrofotometri infra Red (IR) untuk dibandingkan daerah pergeseran serapannya.

#### HASIL DAN PEMBAHASAN

Pola pertumbuhan T. chuii pada medium Arschat tanpa penambahan ion logam Cd<sup>2+</sup> (kontrol) mempunyai kurva pertumbuhan paling tinggi; dengan empat tahap pertumbuhan yaitu : (i) tahap penyesuaian yakni mulai penanaman

hingga hari ke-2; (ii) tahap pertumbuhan cepat setelah hari ke-2 hingga hari ke-6 (iii) tahap pertumbuhan optimum pada hari ke-6 dan (iv) tahap mulai terjadi kematian setelah hari ke-6. Dapat diungkapkan bahwa penggunaan medium Arscat untuk mengkultur fitoplankton laut T. chuii pada kepadatan awal 100.000 sel/mL dapat meningkatkan kepadatannya sekitar 17 kalihanya dalam waktu 6 hari kultur. Table 1. Tetapan laju pertumbuhan spesifik (μ) T. *chuii* tanpa dan dengan penambahan ion logam Cd<sup>2+</sup> pada berbagai konsentrasi

$\frac{\text{Cd}^{2+}}{\text{[Cd}^{2+}]}$	μ (hari <sup>-1</sup> ) hari ke-										
(ppm)	1	2	3	4	5	6	7				
0,00	0,209	0,531	0,630	0,607	0,537	0,470	0,393				
0,15	0,251	0,523	0,644	0,601	0,531	0,470	0,395				
0,20	0,281	0,519	0,659	0,595	0,520	0,451	0387				
0,25	0,125	0,504	0,654	0,601	0,527	0,450	0,375				
0,50	0,103	0,490	0,620	0,601	0,522	0,450	0,378				
1,00	0,000	0,468	0,596	0,535	0,501	0,431	0,354				
5,00	-0,017	0,183	0,269	0,167	0,109	0,091	0,100				

Pertumbuhan T. chuii pada medium kultur yang ditambahkan ion logam Cd<sup>2+</sup> 0,15 mg/L memperlihatkan grafik pola pertumbuhan yang relatif sama dengan control. Semakin besar konsentrasi ion logam Cd<sup>2+</sup> yang ditambahkan semakin rendah grafik pola pertumbuhannya. Fenomena ini membuktikan bahwa keberadaan ion logam Cd<sup>2+</sup> dalam medium kultur T. chuii dapat menurunkan pertumbuhan fitoplankton seperti yang ditunjukkan pada Table 1.

Hal ini sejalan dengan yang dikemukakan Lane (2005) bahwa pengaruh logam berat pada plankton bersel tunggal secara umum berhubungan dengan penurunan jumlah sel dan berat kering.

Berdasarkan Tabel 1 secara umum untuk semua perlakuan variasi konsentrasi ion logam Cd<sup>2+</sup> menunjukkan bahwa pertambahan waktu kultur menyebabkan peningkatan laju pertumbuhan spesifik hingga hari ke-3, selanjutnya terjadi penurunan kecepatan laju pertumbuhan spesifik. Hal ini karena ketersediaan nutrient yang cukup dalam medium untuk pertumbuhan fitoplankton. Meskipun demikian, pengaruh racun ion logam Cd<sup>2+</sup> yang semakin meningkat menyebabkan laju pertumbuhan spesifik T. chuii semakin menurun. Hal ini terlihat pada hari ke-1 dengan perlakuan konsentrasi ion logam Cd<sup>2+</sup> dalam medium sebesar 1,00 ppm; menyebabkan pertumbuhan fitoplankton tidak berjalan, bahkan pada penambahan 5 ppm ion logam Cd<sup>2+</sup> dalam medium menyebabkan sebagian sel mengalami kematian. Pada hari ke-2 hingga hari ke-3

secara umum terjadi kenaikan laju pertumbuhan spesifik meskipun pada kosentrasi 1,00 hingga 5 ppm ion logam Cd<sup>2+</sup> mengalami peningkatan laju spesifik yang sangat lambat.

Berdasarkan pada batas maksimum kandungan ion logam  $Cd^{2+}$  yang diperbolehkan di perairan sebesar 0,01 ppm, maka dapat dinyatakan bahwa fitoplankton T. Chuii dapat tumbuh normal pada perairanlaut yang tercemar ion logam  $Cd^{2+}$  Hal ini membuktikan bahwa T. chuii dapat dipertimbangkan sebagai bioindikator perairan laut yang tercemat ion logam  $Cd^{2+}$  (Sunda et al, 2000).

Tingginya konsentrasi ion logam Cd<sup>2+</sup> yang dapat ditolerir oleh T. chuii menunjukkan bahwa fitplankton berperan dalam proses detoksifikasi ion logam Cd<sup>2+</sup>. Detoksifikasi ion logam Cd2+. Oleh fitoplankton sedikitnya melibatkan dua langkah: pengaktifan fitokelatin (i) sinthase (Pc sinthase) (menggunakan glutation, GSH, sebagai substrat), yang terjadi sebagai hasil peningkatan  $Cd^{2+}$ konsentrasi ion logam pada intraselular dan (ii) pengomplekan dan  $Cd^{2+}$ inaktivasi ion logam untuk dimasukkan ke sitosol oleh molekul fitokelatin.

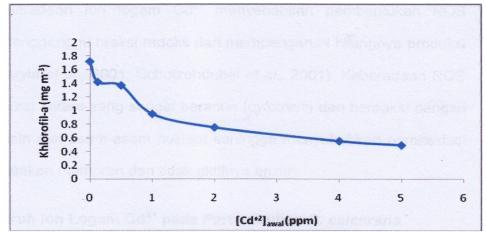
#### Kandungan Khlorofil-a pada T. Chuii yang ditumbuhkan pada medium yang ditambahkan Ion logam Cd<sup>2+</sup>

Hasil pengukuran kandungang khlorofil-a pada fitoplankton laut T. Chuii yang dikultur dalam medium Arschat yang mengandung ion logam Cd<sup>2+</sup> pada berbagai

tingkat konsentrasi dapat diliihat pada Gambar 2.

Berdasarkan Gambar 2, peningkatan  $Cd^{2+}$ logam konsentrasi ion yang ditambahkan pada medium T. chuii kandungan menvebabkan penurunan khlorofil-a. Hal ini sejalan dengan

pendapat *Inthorn* (2001) yang bekerja dengan *Chlorella ellipsoidea* menemukan bahwa pengaruh ion logam Cd<sup>2+</sup> selain mengakibatkan menurunnya jumlah sel dan berat kering juga menurunkan kandungan kholorofilnya.



Gambar 2 Pola penurunan kandungan kholorofil-a pada T. Chuii akibat penambahan ion logam Cd<sup>2+</sup> pada medium pertumbuhannya.

Pola pertumbuhan fitiplankton C, calcitrans pada medium Arschat tanpa penambahan ion logam Cd<sup>2+</sup> mempunyai empat tahap pertumbuhan yaitu : (i) tahap penyesuaian mulai penanaman hingga hari ke-2; (ii) tahap pertumbuhan cepat setelah hari ke-2 hingga hari ke-9; (iii) tahap pertumbuhan optimum pada hari ke-9 dan (iv) tahap mulai terjadi kematian setelah hari ke-9. Dapat diungkapkan bahwa

penggunaan medium Arschat untuk mengkultur fitoplaktor laut C. Calcitrans pada kepadatan awal 250.000 sel/mL dapat meningkatkan kepadatang sekitar 7 kali hanya dalam waktu 9 hari kultur. Perhitungan laju pertumbuhan spesifik (μ) *C. Calcitrans* pada medium yang ditambahkan ion logam Cd<sup>2+</sup> ditunjukkan pada Tabel 2.

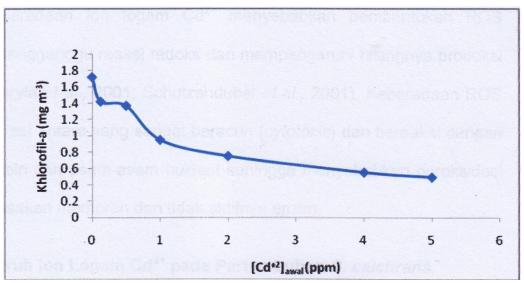
Table 2. Tetapan laju pertumbuhan spesifik (μ) *C. Calcitrans* tanpa dan dengan penambahan ion logam Cd<sup>2+</sup> pada berbagai tingkat konsentrasi.

$[Cd^{2+}]$		μ (hari <sup>-1</sup> ) hari ke-									
Ppm)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
0,00	0,39	0,077	0,236	0,184	0,208	0,185	0,174	0,161	0,164	0,155	
0,125	0,67	0,150	0,255	0,223	0,237	0,205	0,190	0,168	0,178	0,154	
0,25	0,25	0,193	0,282	0,257	0,258	0,230	0,210	0,193	0,185	0,162	
0,50	0,19	0,217	0,305	0,300	0,275	0,243	0,212	0,188	0,169	0,137	
1,00	0,26	0,279	0,327	0,307	0,268	0,266	0,247	0,223	0,218	0,194	
2,00	0,30	0,241	0,263	0,275	0,267	0,238	0,219	0,201	0,204	0,187	
4,00	0,17	0,153	0,223	0,238	0,254	0,223	0,210	0,189	0,199	0,175	
5,00	0,15	0,129	0,183	0,206	0,220	0,196	0,190	0,182	0,186	0,175	

Berdasarkan Tabel 2 secara umum untuk semua perlakuan menunjukkan laju pertumbuhan C. Calcitrans yang semakin meningkat dengan meningkatnya jumlah hari pemaparan hingga hari ke-3 kecuali untuk penambahan ion logam Cd<sup>2+</sup> pada konsentrasi di atas 1 ppm dengan laju pertumbuhan tertinggi pada hari ke-4. Hal yang menarik adalah bahwa penambahan konsentrasi ion logam Cd<sup>2+</sup> dalam medium dengan peningkatan kultur spesifik pertumbuhan hingga pada konsentrasi ion logam Cd<sup>2+</sup> sebesar 1 ppm;

selanjutnya penambahan konsentrasi ion logam Cd<sup>2+</sup> menyebabkan penurunan laju pertumbuhan spesifik *C. calcitrans*.

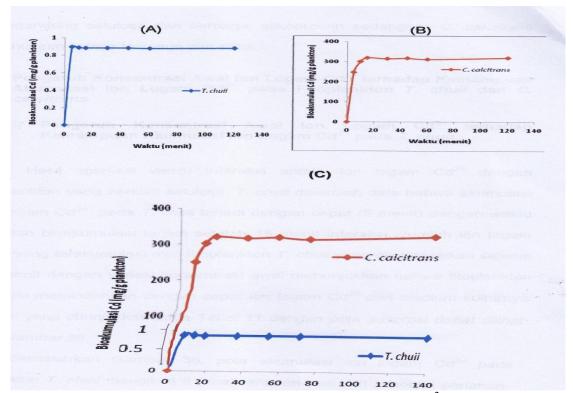
Kandungan kholorfil-a pada C. calcltrans yang ditumbuhkan pada Medium yang ditambahkan Ion logam Cd<sup>2+</sup>. Uji kandungan kholorofil-a pada kultur C calcitrans dengan penambahan ion logam Cd<sup>2+</sup>. pada medium dilakukan pada saat kultur hari ke 5 dengan hasil kandungan khlorofil-a seperti disajikan pada Gambar. 3.



Gambar 3 Kandungan kholorofil-a pada C. calcitrans pada medium yang mengandung ion logam Cd<sup>2+.</sup> Pada berbagai konsentrasi awal

Berdasarkan Gambar 3 penambahan ion logam Cd<sup>2+</sup> pada medium kultur C. calcitrans dapat meningkatkan kandungan khlorofil-a. Berdasarkan data : (a) jumlah sel permililiter medium setiap variasi  $Cd^{2+}$ logam kosentrasi ion (b) laju pertumbuhan ditambahkan: spesifik harian pada berbagai tingkat  $Cd^{2+}$ konsentrasi ion logam ditambahkan (Tabel 2); dan (c) kandungan khorofil-a pada C. calcitrans yang dikultur pada medium yang mengandung ion logam Cd<sup>2+</sup> pada berbagai tingkat kosentrasi (Gambar 3); dapat dinyatakan bahwa ion logam Cd<sup>2+</sup> dapat menstimulasi pertumbuhan fitoplankton diatom jenis *C. calcitrans*. Hal ini dikarenakan ion logam Cd<sup>2+</sup> yang terdapat dalam medium dapat menggantikan ion logam Cd<sup>2+</sup> yang terdapat dalam medium dapat menggantikan ion logam Zn<sup>2+</sup> untuk fungsi karbonik anhidrase.

Pengaruh waktu Interaksi logam  $Cd^{2+}$  pada T. chuii dan C. Calsitrans terhadap kemampuan Akumulasi Ion logam  $Cd^{2+}$  Jumlah ion logam  $Cd^{2+}$  yang terakumulasi pada T. Chuii dan C. calcintrans disajikan dalam gambar 4.



Gambar 4 Grafik pengaruh waktu terhadap akumulasi ion logam Cd<sup>2+</sup> oleh Fitoplankton (A) T. *chuii:* (B) C. calcitrans.

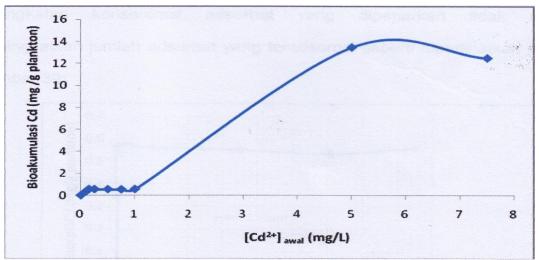
Berdasarkan Gambar 4A T. chuii mampu mengakumulasi ion logam sekitar  $Cd^{2+}$ sekitar 0.889±0.007 mg Cd/g biomassa dengan waktu akumulasi yang cepat yakni 5 menit, dan setelah 10 menit interaksi, penyerapan ion logam Cd<sup>2+</sup> cenderung konstan sehingga menit ke-120. Tingginya kemampuan akumulasi ion logam Cd<sup>2+</sup> oleh T. chuii dengan waktu interaksi yang relatif singkat menunjukkan bahwa fitoplankton T. chuii sangat potensial untuk kelayakan suatu teknologi fitoremediasi ion logam Cd<sup>2+</sup>. Keadaan ini dimungkinkan karena ukuran ukuran fitoplankton relatif kecil (7-12 sehingga mempunyai um), permukaan yang besar untuk berinteraksi dengan ion logam. Luas permukaan bidang sentuhan trsebut dapat mempercepat proses serapan antara ion logam Cd<sup>2+</sup> dengan komponen kimia dalam fitoplankton. Berdasarkan Gambar 4 B bahwa pada waktu interaksi 15-120 menit, C. calcitras mampu mengakumulasi ion logam Cd<sup>2+</sup> dalam jumlah besar mencapai sekitar

316.214±3,93 mg Cd per g biomassa. Fitoplankton jenis diatorm ini mempunyai kemampuan akumulasi jauh di atas kemampuan akumulasi ion logam Cd<sup>2+</sup> oleh fitoplankton jenis dinoflagellata (T. chuii). Perbedaan kecepatan kemampuan akumulasi ion logam Cd<sup>2+</sup> pada T. chuii dan c, cacitrans tersebut disebabkan karena komposisi penyusuna kedua sel fitoplankton tersebut berbeda. Permukaan sel T. chuii mengandung selulosa dan glikpreotein sedangkan C. calcitrans permukaan selnya tersusun dari silika.

# Pengaruh Konsentrasi Awal Ion Logam $Cd^{2+}$ terhadap kemampuan Akumulasi Ion logam $Cd^{2+}$ pada Fitoplankton T. chuii dan C. Calcitrans

Jumlah ion logam Cd<sup>2+</sup> yang terakumulasi oleh *T. chuii* dan *C. calcitrans* yang diinteraksikan selama 15 menit dengan variasi konsentrasi awal ditunjukkan pada Gambar 5.

17



Bioakumulasi ion logam Cd<sup>2+</sup> oleh fitoplankton (A) T. Chuii dan (B) C. Gambar 5 Calcitrans pada berbagai tingkat konsentrasi awal.

Berdasarkan Gambar 5A, pola akumulasi ion logam  $Cd^{2+}$ pada fitoplankton T. chuii mengikuti 2 (dua) tahapan yaitu : (i) adsorpsi perlahan-lahan naik seiring dengan naiknya konsentrasi ion logam Cd<sup>2+</sup> yang ditambahkan. Setelah mencapai harga akumulasi sekitar 0,5 mg kadmium per gram biomassa fitoplankton, logam Cd<sup>2+</sup> penambaan ion konsentrasi yang lebih besar relatif tidak dapat menaikkan harga akumulasi secara berarti. Selanjutnya, (ii) pada penambahan ion logam Cd<sup>2+</sup> dengan konsentrasi awal vang diperbesar lagi, ternyata disertai dengan kemampuan akumulasi yang demikian tinggi, mencapai harga 13,463 mg Cd per gram (berat kering) biomassa.

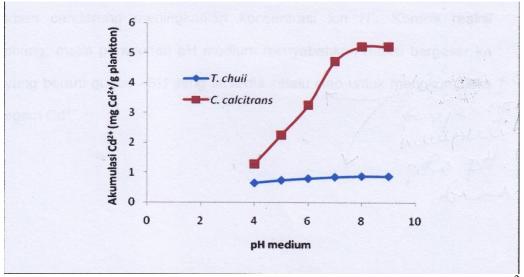
logam Cd<sup>2+</sup> Jumlah ion vang fitoplankton terakumulasi oleh calcitrans yang dikultur selama 15 menit dengan variasi konsentrasi awal ion logam Cd<sup>2+</sup> diperlihatkan pada Gambar 5B. Berdasarkan Gambar 5B, secara umum pola akumulasi ion logam Cd<sup>2+</sup> oleh fitoplankton C. calcitrans yang dikultur pada medium

Arschat berisi ion logam Cd2+ adalah serupa dengan pola akumulasi oleh T. chuii, yaitu melalui 2 (dua) tahap : (i) tahap proses pasif dan (ii) tahap proses aktif. Pada proses pasif, penambahan ion logam Cd<sup>2+</sup> pada medium kultur diikuti dengan kenaikan kemampuan akumulasi hingga tercapai suatu keadaan jenuh dengan nilai 460,1345±27,9252 mg Cd per gram fitoplankton. Pada keadaa ini. penambahan konsentrasi ion logam Cd<sup>2+</sup> kultur relatif pada medium memberikan kenaikan akumulasi secara berarti hingga konsentrasi kesetimbangan mencapai 3,75 mg/L kadmium. Selanjutnya pada tahap kedua penambahan ion logam Cd<sup>2+</sup> dengan konsentrasi awal vang diperbesar lagi, dapat meningkatkan kemampuan akumulasi oleh C. calcitrans hingga mencapai harga yang sangat tinggi (1.055,286 mg Cd per gram fitoplankton) dibandingkan kemampuan akumuasi ion logam Cd<sup>2+</sup> oleh T. chuii (13,463 mg Cd per gram fitoplankton).

#### Pengaruh pH Medium terhadap Kemampuan Akumulasi Ion Logam Cd<sup>2+</sup> pada *T.chuii* dan C.Calcitrans.

Penentuan kemampuan bioakumulasi ion logam Cd<sup>2+</sup> oleh *T.chuii* dan

C.calcitrans dengan variasi pH medium 4,5,6,7,8 dan 9 diperoleh data seperti ditunjukkan pada Gambar 6 berikut.



Gambar 6. Pengaruh pH medium terhadap kemampuan akumulasi ion logam Cd<sup>2+</sup> pada konsentrasi awal 0,25 ppm oleh *T.chuii* dan *C.calcitrans*.

Berdasarkan Gambar 6, pola akumulasi ion logam Cd<sup>2+</sup> oleh *T.chuii* dan C.calcitrans perlahan-lahan naik dengan naiknya pH medium yang digunakan dan optimum pada pH = 8,0. Juga dapat diungkapkan bahwa fitoplankton T.chuii memberikan perubahan kemampuan akumulasi ion logam Cd<sup>2+</sup> yang relatif kecil terhadap pengaruh pH medium, tidak seperti pada fitoplankton C.calcitrans, tetapi keduanya mempunyai kemampuan akumulasi ion logam Cd<sup>2+</sup> yang optimum pada pH 8,0.

## Identifikasi Gugus Fungsi pada *T.chuii* dan C. *calcitrans* yang terlibat dalam Proses Bioakumulasi ion logam Cd<sup>2+</sup>

Berdasarkan analisis data pita serapan yang muncul dari identifikasi infra merah pada *T.chuii* setelah ditambahkan ion logam Cd<sup>2+</sup> pada kondisi hidup dan pada kondisi mati berturut-turut terdapat sebanyak 20 dan 17 pita serapan. Bilangan gelombang yang mengalami pergeseran terutama dari gugus fungsi yang mengandung atom S, O dan N yang

kemungkinan terbentuk ikatan Cd-S, S kompleks, N kompleks atau perubahan struktur O-H. Perbedaan antara ikatan ion logam Cd<sup>2+</sup> terhadap fitoplankton pada kondisi hidup dan kondisi mati terutama dari intensitas pita serapannya. Jadi, gugus fungsi pada *T.chuii* yang kemungkinan terlibat dalam bioakumulasi ion logam Cd<sup>2+</sup> adalah : O-H, C-N, S=O, N-O, S-S, M-S dan M-N.

Hasil analisis spektrum Infra Merah (IR) untuk biomassa *C.calcitrans* dapat memberikan petunjuk analisis beberapa gugus fungsi yang ada pada biomassa *C.calcitrans*. Berdasarkan analisis pita serapan yang muncul dari identifikasi Infra merah pada biomassa *C.calcitrans* setelah ditambahkan ion logam Cd<sup>2+</sup> pada kondisi hidup dan pada kondisi mati masingmasing terdapat 16 pita serapan.

Untuk interaksi dengan ion logam Cd<sup>2+</sup> pada kondisi mati, juga memunculkan pita serapan baru tetapi beberapa pita serapan mempunyai bilangan gelombang yang berbeda. Hal ini menunjukkan bahwa interaksi ion logam

Cd<sup>2+</sup> oleh *C.calcitrans* pada kondisi hidup dan kondisi mati mempunyai respon yang tidak sama. Pergeseran pita serapan pada beberapa gugus fungsi ini menunjukkan bahwa gugus fungsi tersebut terlibat dalam proses bioakumulasi ion logam Cd<sup>2+</sup> oleh plankton, sedangkan gugus -CH2- vang terdeteksi kemungkinan karena ada gugus fungsi lain yang terlibat dalam ikatan dimana gugus fungsi tersebut terikat dalam makromolekul yang sama dengan gugus -CH<sub>2</sub>- sehingga menyebabkan gugus fungsi -CH<sub>2</sub>- terganggu. Dengan demikian, gugus fungsi pada C.calcitrans yang terlibat dalam bioakumulasi ion logam Cd<sup>2+</sup> adalah O-H, C=C, C=O, S-S dan M-S.

#### **KESIMPULAN**

- 1. Pemaparan ion logam kadmium dengan konsentrasi 0,5 ppm pada medium **Tetracelmis** kultur chuii dapat menurunkan : laju pertumbuhan, jumlah sel, berat kering fitoplankton dan kadar khlorofil-a. Pemaparan ion kadmium dengan konsentrasi 1 ppm pada medium kultur fitoplankton Chaetoceros calcitrans dapat meningkatkan : laju pertumbuhan spesifik, peningkatan jumlah sel, berat kering dan kandungan khlorofil-a.
- 2. Fitoplankton laut *Tetraselmis chuii* mampu mengakumulasi kadmium secara cepat dan penyerapan berlangsung konstan setelah 10 menit. Untuk fitoplankton *Chaeotoceros calcitrans* dengan waktu interaksi 15 menit memperlihatkan pola akumulasi yang cenderung konstan.
- 3. Bioakumulasi kadmium oleh *Tetracelmis chuii* dan *Chaetoceros calcitrans* perlahan-lahan naik dengan naiknya pH medium yang digunakan dan mencapai kondisi optimum pada pH = 8,0.
- 4. Hasil identifikasi gugus fungsi biomassa *Tetrachemis chuii* sebelum dan sesudah pemaparan ion logam kadmium dijumpai adanya gugus fungsi N-O, OH, S=O, C-N, M-S dan S-S yang memegang peranan penting

dalam proses bioakumulasi kadmium. Hasil identifikasi biomassa *Chaetoceros calsitrans* juga dijumpai adanya beberapa gugus fungsi C=C, C=0, M-S, O-H, dan S-S.

#### DAFTAR PUSTAKA

- 1. Abe, K., 2001, Kadinium in the western eguatorial *Pacifie. Nasl. Chem.*, 74: 197 211.
- 2. Baryla A Carrier P. Franck F, Coulomb C, Sahut C, Havaux M, 2001, Leaf chlorosis in oilseed rape plants (*Brassica napus*) grown on cadmiumpolluted soil : causes and consequences for photosynthesis and growth, *Planta 212 : 696-709*.
- 3. Burcu Kokturk, 2006, Cadmium uptake and antioxidative enzyme in durum wheat cultivars in respon to increasing Cd application, Thesis, School of Engineering and Natural Sciences, Sabanci University.
- 4. Collantes G, and Prado, R., 2006, Green bloom of Tetraselmis sp. In valparaiso Bay, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Naturales, Universidad de Valparaiso.
- 5. Doshi, H.,A. Ray, and I.L. Kothari, 2007. *Bioremediation potential of live & dead Spirulina*. *Spectroscopic, kinetics and SEM studies*. *Biotechnol Bioeng*, 96 (6) 1051-1063.
- 6. Falkowski PG, dan Raven JA, 2007, Aquatic photosystem, Ed 2 Princenton University Press Princenton. NJ.
- 7. Gin. K. Y.Z. Tang, and M.A Aziz,
  2001. Heavy Metal Uptake by Algae. In
  : Kojima H. Lee YK. Editors.
  Photosynthetic Microorganisms in Environmental Biotechchology. Berlin.
  Springer.
- 8. Grill, E., Winnacker E.L., Zenk, M.H. (1985): Phytochelatins: The principal heavy metal complexing peptides of higher plant. Science, 230-674.
- 9. Hirata. K, Tsujimoto. Y, Namba T., Toshiko Ohta T., Hirayanagi N, Miyasaka H., Zenk M.H., and

- Miyamoto K., 2001 . Strong induction of phytochelatin synthesis by zinc in marine green alga, Dunaliella tertiolecta, J. Bioscience and Bioscience, 92 (1) 24-29.
- 10. Ho, T. Y. 2003, The elemental composition of somb marine phytoplankton. J. Phycol. 39: 1145 1159.
- 11. Lannelli MA, Pietrini F, Fiore L, Petrilli L, Massacci A. 2002, Antoxidant response to cadmium in Phragmites australis plants Plant Physiol Biochem 40:977-982.
- 12. Inthorn D., 2001 Removal of heavy metal by using microalgae. Edited by Hiroyuki Kojima and Yuan Kun Lee, Photosynthetic Microorganisms in Environmental Biotechnology. Springer-Verlag Hong Kong Ltd 2001. 310:111-169
- 13. Kawakami, S.K, Gledhill M, and Achterberg E.P., 2006, Determination of phytochelatins and glutathione in phytoplankton from natural waters using HPLC with fluorescence detection, TrAc Trends in analtycal chemistry, 25 (2): 133-142.
- 14. Lane T. W., 2005, A cadmium enzyme from a marine diatom. Nature 435, 42
- 15. Mercado J.M., Teodora R., dan Dolores C., 2009, Effect of carbonic anhyadrase inhibitors on the inorganic carbon uptake by phytoplankton natural assemblages, J. Phycol, 45, 8 15.
- 16. Morel FMM, 2005, A cadmium enzyme from a marine diatom. Nature 435, 42
- 17. Parsons, T.R., Y. Maita and C.M. Lalli, (1984), A Manual of chemical and Biological Methods for Seawater Analysis Pergamon Press, Ox ford.
- 18. Reinfelder, J. R., 2000, Kraepiel, A.M.L & Morel, F.M. M. Unicellular C4 photosynthesis in a marine diatom. Nature 407 996-999.
- 19. Robert Perry, 2003, *A Guide to the Marine Plankton of southern California*, 3<sup>rd</sup> Edition, UCLA Ocean GLOBE & Malibu High School.

- 20. Schat H, Ligany M, Vooijs R, Hartley WJ, Bleeker PM., 2002 The role of phytochelatins in constitutive and adaptive heavy metal tolrances in hyperaccumulator and nonhyperaccumulator metallphytes Journal of Biochemistry, 40: 577-584.
- 21. Schutzendubel A, Schwanz P, Teichmann T, Gross K, Langefeld-Heyser R, Godbold DL, Polle A., 2001, Cadmium-induced changes in antioxidative systems, hydrogen peroxide content, and differentiation in Scots pine roots, Plants Physiol, 127: 887-898
- 22. Seafdec, 1985, Prawn Hatchery design and Operational, Aguaculture Extention Manual No. 9, Aguaculture Department, Tigbauan, Illiolo, Philippines.
- 23. Sunda W. G. and S.A Hunstsman, 2000, Effect of Zn, Mn and Fe on Cd accumulation in phytoplankton: Implications for ocanic Cd cyling. Limnol, Ocoanogr. 45:1501-1516.
- 24. Wang, X., dan R.C.H. Dei, 2001, Effeat of major nutrient additions on metal uptake in phytoplankton, Environ Pollut, 111: 233 240.
- 25. Xu Y, Feng L, Jefrey PD, Shi Y Morel FMM., 2008. Structure and metal exchange in the cadmium carbonic anhydrase of marine diatoms.Nature 452:56-61.
- 26. Sumper, M. and Brunner, E., 2006, Adv. Funct. Mater., 16.