

seperti pertukaran ion (ion exchange), kompleksasi, adsorpsi elektrostatis dan mikropresipitasi. Biosorpsi memiliki keunggulan seperti biaya yang relatif rendah, regenerabilitas, dan kemampuannya bekerja pada kondisi lingkungan yang bervariasi. Pada konteks ini, biosorpsi pemanfaatan biomassa mikroba/komponennya sebagai penyerap menjadi alternatif yang ekonomis, ramah lingkungan, dan operasionalnya sederhana, terlebih bila biomassa diimobilisasi sehingga mudah dipisahkan dan digunakan ulang. Tinjauan mutakhir dan studi eksperimental menunjukkan *immobilized microbial biosorbent* dalam matriks kalsium alginat stabil dan efisien untuk ion logam berat yang meningkatkan stabilitas mekanik, memudahkan pemisahan/reuse, dan mempertahankan kapasitas penjerapan (Velkova et al. 2018) (Torres 2020)

Pseudomonas putida dikenal mampu mengikat kation logam berat melalui gugus karboksilat/fosfat/hidroksil pada dinding sel/EPS, beberapa studi menunjukkan sorpsi Pb(II) oleh *P. putida* (bahkan dengan kapasitas tinggi) dan ketergantungan kuat pada pH (Pardo et al. 2003).

Berdasarkan uraian tersebut maka tujuan penelitian ini adalah untuk menelaah secara spesifik bagaimana pengaruh pH terhadap kapasitas biosorpsi Pb(II) oleh *Pseudomonas putida* yang terimobilisasi dalam matriks kalsium alginat. Serta Mengidentifikasi karakteristik pada biosorben.

2. Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan *Pseudomonas putida*. Bahan kimia yang digunakan meliputi Pb(NO₃)₂, natrium alginat, CaCl₂, Nutrien Broth, Agar, NaOH, HCl, HNO₃ dan akuades. Peralatan yang digunakan meliputi cawan petri, jarum ose, pipet tetes, pipet ukur, labu ukur, gelas kimia, Erlenmeyer, oven, hot plate stirrer, pH meter, inkubator shaker, autoklaf dan sentrifus, Spektrofotometer Serapan Atom (AAS), FT-IR, dan SEM.

A. Pembuatan Larutan Sintetis

Larutan stok Pb(II) 1000 mg/L dibuat dengan melarutkan 1,5985 g Pb(NO₃)₂ dalam akuades hingga volume 1000 mL. Penambahan 1 mL HNO₃ pekat dilakukan untuk mencegah hidrolisis dan presipitasi ion logam. Perhitungan massa Pb(NO₃)₂ didasarkan pada rumus stoikiometri dengan mempertimbangkan berat molekul Pb(NO₃)₂.

B. Imobilisasi *Pseudomonas Putida* dalam Matriks Alginat

Larutan natrium alginat 2% (w/v) disiapkan dengan melarutkan 2 g alginat dalam 100 mL akuades steril, diaduk menggunakan magnetic stirrer selama 2 jam pada suhu ruang, kemudian disterilisasi dengan autoklaf (121°C, 15 menit). Larutan CaCl₂·2H₂O 0,1 M dibuat dengan melarutkan 1,47 g garam dalam 100 mL akuades steril dan disterilisasi dengan cara yang sama. Suspensi sel *Pseudomonas putida* (10⁸ CFU/mL) dicampurkan dengan larutan alginat steril (1:1 v/v), dihomogenkan perlahan, lalu ditetaskan menggunakan jarum suntik (diameter 1,2 mm) ke dalam larutan CaCl₂ 0,1 M dari ketinggian ±10 cm. Bead yang terbentuk dikeraskan selama 30 menit, dicuci tiga kali dengan akuades, dikeringkan pada suhu 80°C selama 2 jam, kemudian digerus dan diayak menggunakan ayakan 80 mesh.

C. Biosorpsi Logam Pb(II)

Percobaan biosorpsi dilakukan secara batch untuk penentuan pH optimum. Larutan awal Pb(II) disiapkan dengan konsentrasi C₀ = 25 mg/L (100 mL). pH awal divariasikan: 3, 4, 5, 6, 7,8 (penyesuaian pH menggunakan HCl/NaOH 0,1 M). Biosorben ditimbang m = 0,15 g, kemudian campuran diaduk menggunakan magnetic stirrer selama 60 menit pada suhu kamar. Setelah itu, sampel disaring/disentrifugasi dan konsentrasi akhir Pb(II) (C_e) diukur menggunakan AAS. pH optimum ditetapkan dari nilai q_e tertinggi.

$$q_e = \frac{C_0 - C_e}{m} V \quad (1)$$

C₀ adalah konsentrasi awal larutan (mg/L), sedangkan C_t merupakan konsentrasi larutan pada waktu t menit (mg/L). V menunjukkan volume larutan (L) dan m adalah massa adsorben (g) (Setiawan et al. 2024)

D. Karakterisasi Adsorben

Karakterisasi morfologi serta identifikasi gugus fungsi biosorben terimobilisasi dilakukan menggunakan teknik SEM-EDX dan FTIR. Analisis FTIR dan SEM-EDX diterapkan baik pada biosorben terimobilisasi sebelum maupun sesudah proses adsorpsi. Sampel biosorben pasca-adsorpsi diperoleh melalui uji adsorpsi pada kondisi optimum.

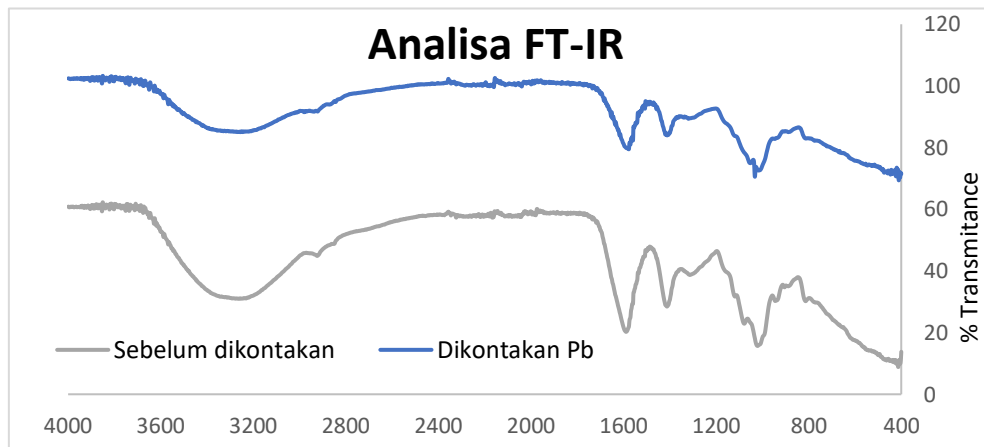
3. Hasil dan Pembahasan

A. Hasil Karakterisasi Adsorben

1) FTIR

Untuk mengidentifikasi gugus fungsional yang terkandung pada biosorben maka dianalisa menggunakan FTIR pada panjang gelombang 400-4000 cm^{-1} dengan menggunakan FTIR tipe *Thermo Scientific Nicolet*. Dari analisa ini diharapkan dapat diidentifikasi gugus fungsional apa saja yang terdapat pada biosorben.

Hasil identifikasi gugus fungsional imobilisasi *Pseudomonas putida* sebelum dan sesudah dikontakkan ion logam disajikan pada gambar berikut.

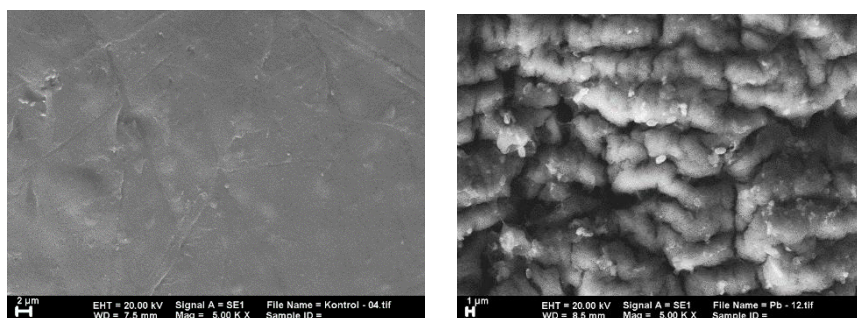


Gambar 1 Analisa FTIR pada biosorben imobilisasi *Pseudomonas Putida* sebelum dan sesudah dikontakkan ion Pb

Dari gambar 1 terlihat bahwa $-\text{OH}/-\text{NH}$ ($\sim 3200\text{--}3500 \text{ cm}^{-1}$) tampak melemah dan sedikit bergeser setelah kontak Pb(II) , menandakan penguatan ikatan H/ koordinasi pada gugus donor elektron di matriks polisakarida-protein. (Kassem et al. 2023). Karboksilat alginat (COO^-) ($\sim 1590\text{--}1650 \text{ cm}^{-1}$) dan (COO^-) ($\sim 1390\text{--}1425 \text{ cm}^{-1}$) menunjukkan pergeseran dan penurunan transmittansi ini adalah penanda klasik kompleksasi Pb(II) pada $-\text{COO}^-$ serta pertukaran ion $\text{Ca}^{2+} \rightarrow \text{Pb}^{2+}$ (Papageorgiou et al. 2010). Perubahan di Amida I/II ($\sim 1650/\sim 1540 \text{ cm}^{-1}$) dan/atau fosfat ($\sim 1230\text{--}1260$; $1080\text{--}1100 \text{ cm}^{-1}$) menunjukkan kontribusi protein/EPS dan gugus fosfat dinding sel bakteri dalam pengikatan logam (Khashei, Etemadifar, and Rahmani 2018). Daerah C–O–C/C–O polisakarida ($\sim 1150\text{--}1020 \text{ cm}^{-1}$) biasanya ikut berubah ringan, selaras dengan interaksi rangka polisakarida terhadap Pb(II) (Nastaj, Przewłocka, and Rajkowska-Myśliwiec 2016).

Analisis FT-IR menunjukkan terjadinya interaksi yang signifikan antara material dengan ion Pb^{2+} . Perubahan paling mencolok teramati pada wilayah $1600\text{--}1400 \text{ cm}^{-1}$ dimana transmittansi menurun drastis dari 60% menjadi 20%, mengindikasikan pembentukan ikatan koordinasi antara gugus karboksil ($-\text{COO}^-$) dengan ion Pb^{2+} . Perubahan intensitas pada gugus hidroksil ($4000\text{--}3000 \text{ cm}^{-1}$) dan gugus C–O ($1200\text{--}800 \text{ cm}^{-1}$) mengkonfirmasi keterlibatan multiple situs aktif dalam proses adsorpsi. Hasil ini membuktikan bahwa material dapat mengadsorpsi ion timbal secara efektif melalui mekanisme kemisorpsi dengan pembentukan kompleks logam-ligan.

2) Analisis SEM

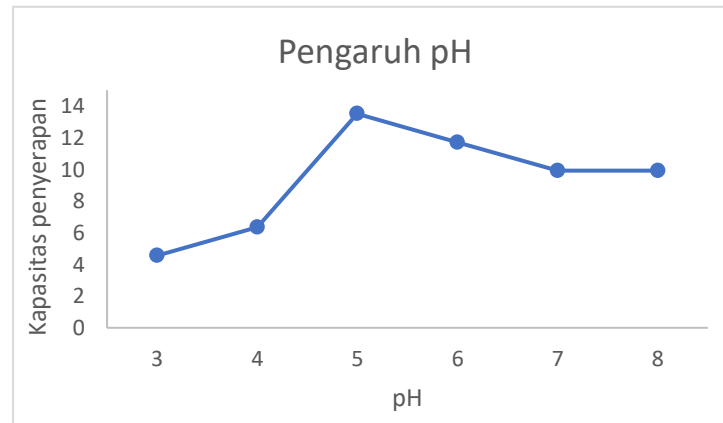


Gambar 2 Hasil analisa SEM pada permukaan biosorben imobilisasi *P. putida* dengan perbesaran 5000X (a) sebelum dikontakkan (b) setelah dikontakkan logam Pb

Imobilisasi *P.putida* sebelum dikontakkan terlihat mulus dan terlihat garis-garis. Setelah dikontakkan ion logam tampak berbeda, permukaan tampak kasar dan heterogen. Hal ini membuktikan terjadinya interaksi antara gugus fungsi yang ada pada permukaan biosorben dan ion logam dengan dilihat dari perubahan struktur pada permukaan biosorben.

3) Pengaruh pH

Derajat keasaman (pH) merupakan faktor utama yang mempengaruhi proses adsorpsi logam di dalam larutan, karena pH yang bervariasi pada larutan akan berpengaruh pada muatan yang terdapat pada situs aktif permukaan biosorben.



Gambar 3 Pengaruh pH pada adsorpsi ion logam oleh imobilisasi *P.putida*

Kurva menunjukkan kapasitas naik dari pH asam (3–4) ke pH menengah (puncak di pH 5), lalu menurun/menetap pada pH 6–8. Pada pH rendah, banyak gugus aktif biosorben masih terprotonasi sehingga H^+ “berebut” tempat dengan kation logam—akibatnya penyerapan kecil (Chen et al. 2021). Saat pH dinaikkan, gugus asam terdeprotonasi (mis. $-COO^-$) sehingga permukaan menjadi lebih negatif dan ikatan ion-exchange/kompleksasi menguat; karena itu banyak studi melaporkan pH optimum 5–6 (mis. Pb(II) pada *Bacillus subtilis* optimum pH 6 (El-Sharkawy et al. 2024), serta Pb(II) pada daun mullein optimum pH 6. Pada pH lebih tinggi, spesiasi logam bergeser ke bentuk hidroksi/awal presipitasi sehingga ion bebas yang bisa terjerap berkurang dan kurva cenderung turun/plateau (El-Sharkawy et al. 2024) Sebagai penguat, tinjauan sistematis 2023 pada biosorpsi multi-logam juga menekankan pH sebagai pengendali utama kinerja adsorben/biosorben (Bayuo et al. 2023).

4. Kesimpulan

Berlandaskan hasil uji batch dan karakterisasi, penelitian ini menegaskan bahwa pH merupakan variabel kunci yang mengendalikan kinerja biosorpsi Pb(II) oleh *Pseudomonas putida* terimobilisasi. Kapasitas penyerapan meningkat dari kondisi asam ke pH menengah dan mencapai optimum di sekitar pH 5, kemudian cenderung menurun atau stabil pada pH yang lebih tinggi. Analisis FTIR mengindikasikan keterlibatan gugus karboksilat ($-COO^-$) serta $-OH/-NH$ melalui mekanisme kompleksasi dan pertukaran ion pada matriks kalsium alginat dan komponen biomassa, sedangkan citra SEM menunjukkan perubahan morfologi permukaan setelah kontak dengan Pb(II) yang merefleksikan terbentuknya ikatan pada situs aktif. Imobilisasi dalam bead kalsium alginat terbukti memudahkan proses pemisahan dan memungkinkan pemakaian ulang tanpa menurunkan performa secara berarti. Dengan pengendalian pH yang tepat, sistem biosorben ini muncul sebagai solusi sederhana dan efektif untuk menurunkan konsentrasi Pb(II) pada air tercemar serta layak dikembangkan menuju aplikasi skala lebih luas.

5. Daftar Pustaka

- Bayuo, Jonas, Mwemezi J. Rwiza, Mika Sillanpää, and Kelvin Mark Mtei. 2023. “Removal of Heavy Metals from Binary and Multicomponent Adsorption Systems Using Various Adsorbents – a Systematic Review.” *RSC Advances* 13(19):13052–93. doi:10.1039/D3RA01660A.
- Chen, Xinggong, Zhuang Tian, Haina Cheng, Gang Xu, and Hongbo Zhou. 2021. “Adsorption Process and Mechanism of Heavy Metal Ions by Different Components of Cells, Using Yeast (*Pichia Pastoris*) and Cu^{2+} as Biosorption Models.” *RSC Advances* 11(28):17080–91. doi:10.1039/d0ra09744f.

- El-Sharkawy, Reyad M., Mohamed Khairy, Mohamed H. H. Abbas, Magdi E. A. Zaki, and Abdalla E. El-Hadary. 2024. "Innovative Optimization for Enhancing Pb²⁺ Biosorption from Aqueous Solutions Using *Bacillus Subtilis*." *Frontiers in Microbiology* 15. doi:10.3389/fmicb.2024.1384639.
- Kassem, Amin, Lana Abbas, Oliver Coutinho, Somie Opara, Hawraa Najaf, Diana Kasperek, Keshav Pokhrel, Xiaohua Li, and Sonia Tiquia-Arashiro. 2023. "Applications of Fourier Transform-Infrared Spectroscopy in Microbial Cell Biology and Environmental Microbiology: Advances, Challenges, and Future Perspectives." *Frontiers in Microbiology* 14. doi:10.3389/fmicb.2023.1304081.
- Khashei, Sanaz, Zahra Etemadifar, and Hamid Reza Rahmani. 2018. "Immobilization of *Pseudomonas Putida* PT in Resistant Matrices to Environmental Stresses: A Strategy for Continuous Removal of Heavy Metals under Extreme Conditions." *Annals of Microbiology* 68(12):931–42. doi:10.1007/s13213-018-1402-7.
- Nastaj, Józef, Agata Przewłocka, and Monika Rajkowska-Myśliwiec. 2016. "Biosorption of Ni(II), Pb(II) and Zn(II) on Calcium Alginate Beads: Equilibrium, Kinetic and Mechanism Studies." *Polish Journal of Chemical Technology* 18(3):81–87. doi:10.1515/pjct-2016-0052.
- Papageorgiou, Sergios K., Evangelos P. Kouvelos, Evangelos P. Favvas, Andreas A. Sapolidis, George E. Romanos, and Fotios K. Katsaros. 2010. "Metal–Carboxylate Interactions in Metal–Alginate Complexes Studied with FTIR Spectroscopy." *Carbohydrate Research* 345(4):469–73. doi:10.1016/j.carres.2009.12.010.
- Pardo, Rafael, Mar Herguedas, Enrique Barrado, and Marisol Vega. 2003. "Biosorption of Cadmium, Copper, Lead and Zinc by Inactive Biomass of *Pseudomonas Putida*." *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 376(1):26–32. doi:10.1007/s00216-003-1843-z.
- Setiawan, Adhi, Devi Ayu Rahmawati, Nora Amelia Novitrie, and Denny Dermawan. 2024. "Efektivitas Biosorpsi Logam Berat Ni(II) Menggunakan *Saccharomyces Cerevisiae* Terimobilisasi Pada Natrium Alginat." *METANA* 20(2):69–78. doi:10.14710/metana.v20i2.59250.
- Torres, Enrique. 2020. "Biosorption: A Review of the Latest Advances." *Processes* 8(12):1–23.
- Velkova, Zdravka, Gergana Kirova, Margarita Stoytcheva, Sonia Kostadinova, Kostadinka Todorova, and Velizar Gochev. 2018. "Immobilized Microbial Biosorbents for Heavy Metals Removal." *Engineering in Life Sciences* 18(12):871–81.