

### **Biosorpsi Cu(II) oleh *Pseudomonas putida***

Lintang Elsa Valerina, Saffira Zhazhabila Maulida, Adriana Anteng A<sup>\*)</sup>, Shella Permatasari Santoso  
Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik - Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya

\*E-mail : adrianaanteng@ukwms.ac.id

#### **ABSTRACT**

*The one negative impact of industrial activities is the environmental pollution especially if contain heavy metals where the concentrations is exceed the Threshold Value (TLV). In this study, the biosorption of Cu (II) by *Pseudomonas putida* for reduce heavy metal in waste water. The biosorption with *Pseudomonas putida* was carried out in some initial variations of Cu (II), time adsorption, and pH. The concentration of Cu(II) after biosorption was measured using the UV-Vis spectrophotometry method. Based on the results of the study it was found that the greater initial concentration of Cu (II) from 8.000 ppm to 12.000 ppm the percentage decrease Cu (II) concentration is getting smaller. Whereas at the same initial concentration of Cu(II) 8.000 ppm the largest percentage reduction in Cu (II) concentration occurred at pH = 6 compared to pH = 4 and 5. This matter because metallothionein in the cell wall of *Pseudomonas putida* will be lysed under relatively acidic conditions at pH = 4 and pH = 5, if metallothionein lysis then the absorbed Cu (II) is smaller. In determining the biosorption kinetics constanta (k), the data is getting lower along with the increase in the initial concentration of Cu (II). This is because Cu(II) ion in solution are reactive to bacterial cells, which can cause cell damage result death bacteria. Based on the results measurements of *Pseudomonas putida* after the biosorption using FTIR it can be seen that the presence of Cu (II) is bound to the bacterial cell wall. This can be seen from the shift of absorption peak at wave number 420.45 cm<sup>-1</sup> which indicates the presence of Cu-O groups.*

#### **ABSTRAK**

Dampak negatif kegiatan industri salah satunya yaitu limbah yang dapat mencemari lingkungan terutama jika mengandung logam berat yang konsentrasinya melebihi Nilai Ambang Batas (NAB). Sesuai dengan Peraturan Pemerintah No. 5 tahun 2014 konsentrasi logam Cu(II) memiliki NAB sebesar 2 ppm. Pada penelitian ini dilakukan proses biosorpsi logam Cu(II) oleh *Pseudomonas putida* untuk mengurangi kandungan logam berat pada limbah cair. Proses biosorpsi menggunakan *Pseudomonas putida* dilakukan dengan variasi konsentrasi awal logam Cu(II), waktu, dan pH. Konsentrasi Cu(II) setelah proses biosorpsi diukur menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh penurunan konsentrasi Cu(II) sebesar 13,84% dengan waktu biosorpsi selama 12 jam dengan dehan konsentrasi awal konsentrasi awal Cu(II) 8.000 ppm pH = 6. Sedangkan dengan konsentrasi awal 12.000 ppm, dan waktu biosorpsi 3 jam mampu menurunkan konsentrasi Cu(II) sebesar 4,39% pada pH=5. Pada konsentrasi awal 12.000 ppm, waktu biosorpsi 3 jam dapat menurunkan konsentrasi Cu(II) sebesar 4,39 % pada pH =5. Kemungkinan hal ini disebabkan karena metallothionein pada dinding sel *Pseudomonas putida* akan lisis pada kondisi relatif asam yaitu pada pH= 5. Akibatnya proses biosorpsi tidak maksimum dibandingkan dengan proses biosorpsi pada pH= 6. Konstanta kinetika biosorpsi (k) semakin turun seiring dengan kenaikan konsentrasi awal Cu(II). Hal ini dikarenakan ion Cu(II) dalam larutan lebih reaktif terhadap sel bakteri, sehingga dapat menyebabkan kerusakan sel yang berakibat kematian pada bakteri. Gejala ini terlihat dengan adanya hasil perhitungan konstanta kinetika biosorpsi (k) yang semakin kecil untuk konsentrasi awal Cu(II) semakin besar mulai dari 8.000 ppm sampai dengan 12.000 ppm pada pH= 4. Berdasarkan hasil pengukuran *Pseudomonas putida* setelah proses biosorpsi menggunakan FTIR dapat diketahui bahwa adanya Cu(II) yang terikat pada dinding sel bakteri. Hal ini diketahui dari data pendukung pada spektrogram FTIR terdapat pergeseran puncak serapan pada bilangan gelombang 420,45cm<sup>-1</sup> yang menandakan adanya gugus Cu-O.

**Keywords:** *biosorption, Pseudomonas putida*

#### **I. Pendahuluan**

Dewasa ini kegiatan industri sangat berkembang pesat. Selain berdampak positif bagi

perekonomian, berkembangnya industri juga berdampak negatif bagi lingkungan. Salah satu dampak negatif yang dihasilkan oleh kegiatan

industri ialah limbah. Di dalam limbah industri terdapat bahan-bahan kimia yang mengandung logam berat seperti timbal, seng, kromium, tembaga, besi, merkuri, dan nikel yang banyak terdapat dalam industri pelapisan logam dan galvanis, limbah industri penyamakan kulit, limbah industri baterai timbal asam (ACCU), limbah industri pupuk, dan pertambangan. Kandungan bahan kimia yang terdapat dalam limbah industri tidak boleh melebihi Nilai Ambang Batang (NAB) yang sudah ditetapkan dalam Peraturan Pemerintah No. 5 tahun 2014 tentang baku mutu limbah industri. Seperti dalam industri pelapisan logam di Cilodog, Depok pada tahun 2002 yang menghasilkan limbah logam tembaga sebesar 1 g/L [1]. Sedangkan dalam industri Kelapa sawit limbah tembaga 4,823 mg/L [2]. Konsentrasi limbah tembaga yang dihasilkan oleh industri pelapisan logam dan kelapa sawit ini tidak sesuai dengan baku mutu air limbah yang telah ditetapkan oleh pemerintah yakni sebesar 2 mg/L untuk tembaga.

Dalam penelitian ini akan dilakukan biosorpsi untuk mengurangi kelebihan konsentrasi logam berat pada limbah cair. Biosorpsi ini dilakukan pada variasi konsentrasi dan pH larutan limbah yang berbeda. Biomassa yang sering digunakan dalam proses biosorpsi adalah bakteri, jamur, dan alga. Contohnya bakteri yang sering dipakai untuk biosorpsi adalah *Pseudomonas putida*, *Rhodotorula glutinis*, *Pseudomonas aeurugenosa*, dll [3]. Dalam penelitian ini digunakan biomassa *Pseudomonas putida* untuk mengurangi kelebihan konsentrasi logam tembaga pada limbah. Keunggulan *Pseudomonas putida* dari biomassa lain adalah dapat mengikat logam berat dengan cara menggantikan polisakarida, liposakarida dan glikoprotein pada dinding sel nya. Dibanding *Pseudomonas aeurugenosa*, bakteri ini tidak bersifat patogen bagi manusia [3]. Oleh sebab itu diharapkan dengan menggunakan bakteri ini konsentrasi limbah yang mengandung Cu berlebih dapat sesuai dengan baku mutu yang diinginkan. Dalam penelitian ini digunakan metode pengukuran panjang gelombang maksimum dengan spektrofotometri UV Visible dengan rentang panjang gelombang 480-560 nm untuk Cu [4].

## II. Landasan Teori

### II.1 Logam tembaga (Cu)

Logam tembaga atau *cuprum* adalah salah satu unsur logam golongan IB yang berwarna

kekuning-kuningan. Logam tembaga ini adalah salah satu konduktor panas yang baik. Logam Cu bersifat *essensial* dimana dalam kadar rendah sangat dibutuhkan oleh makhluk hidup, sedangkan dalam kadar tinggi akan bersifat racun. Menurut Palar [5] pada konsentrasi Cu 0,01 ppm fitoplankton yang berada di perairan akan mati. Sedangkan pada konsentrasi Cu 2,5 – 3,0 ppm akan dapat membunuh ikan-ikan dan biota laut lainnya. Logam Cu yang terkandung dalam limbah cair ini sebagian besar berasal dari pembuangan sisa industri. Salah satu industri yang menghasilkan Cu sebagai limbahnya adalah industri pelapisan logam dan galvanis. Dalam Industri pelapisan logam dan galvanis Cu digunakan dalam proses pencelupan dan pencucian. Menurut Siti Marwati [6] dalam proses pelapisan logam besi banyak menghasilkan limbah logam berat cair seperti Pb, Cr, Cu, dan seng, logam-logam berat ini digunakan sebagai pelapis untuk mencegah korosi pada besi. Selain itu sisa buangan pelapis logam besi ini akan direduksi dengan cara *electroplating*, dimana dengan cara ini besi akan dilapisi logam berat lain seperti seng yang terkandung dalam limbah yang telah direduksi. Selain pada industri pelapisan logam dan galvanis, telah diketahui konsentrasi limbah logam berat yang dihasilkan oleh pabrik kelapa sawit yang mencemari sungai Pematang Sontang di kecamatan Sungai Aur melebihi nilai ambang batas (NAB) yang telah ditetapkan oleh pemerintah. Limbah logam berat yang dihasilkan dari industri kelapa sawit ini adalah Al, Cu, dan Fe dimana masing-masing memiliki konsentrasi sebesar 6,786 mg/L, 4,923 mg/L, dan 4,864 mg/L [2]. Dari data tersebut diketahui konsentrasi limbah logam berat terutama logam Cu tidak sesuai dengan Peraturan Pemerintah No.5 tahun 2014.

Peraturan Pemerintah No.5 tahun 2014 menyebutkan bahwa konsentrasi limbah logam Cu tidak boleh melebihi 2 ppm, oleh sebab itu dapat dilakukan metode-metode untuk mengurangi kadar Cu dalam limbah. Menurut Said [1] kelebihan konsentrasi logam Cu pada limbah dapat ditanggulangi dengan tiga cara yakni:

a. Pengendapan logam Cu sebagai hidoksida atau sulfida menjadi garam tak larut dalam air. Pada umumnya dalam proses ini akan dilakukan pengendapan dengan  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  dengan mengatur pH yang sesuai antara 8-9,5 maka Cu akan mengendap menjadi garam hidoksida. Tetapi pada proses ini pengendapan  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  akan terganggu apabila dalam larutan mengandung senyawa kompleks lainnya seperti sianida, dan piro-sulfat. Oleh sebab itu limbah Cu yang bercampur dengan piro-sulfat atau senyawa lainnya akan dipisahkan terlebih

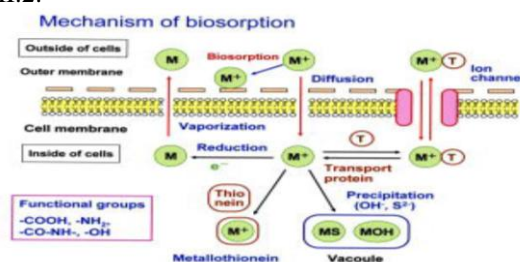
- dahulu dan dilakukan pengendapan dengan pH 12.
- b. Menangkap ion Cu dengan resin tertentu dalam proses *ion exchange*. Dengan melakukan proses ini konsentrasi Cu dapat berkurang dari 1 g/L menjadi 0,03 g/L.
  - c. Penguapan dan elektrolisa ion Cu. Cara ini hanya bisa digunakan untuk konsentrasi Cu yang relatif rendah.

Konsentrasi limbah Cu yang berlebih juga dapat memicu penyakit ginjal, muntah, dan diare pada manusia. Metode fisika dan kimia selama ini sering digunakan sebagai cara untuk mengurangi kelebihan konsentrasi logam berat seperti Cu. Secara sadar metode fisika dan kimia yang dilakukan ini dapat menimbulkan limbah baru yang berbahaya bagi lingkungan disekitarnya seperti contohnya limbah baru yang dihasilkan oleh pengendapan Cu dengan menambahkan  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  dan terbentuk endapan garam  $\text{CuSO}_4$ . Penggunaan metode fisika dan kimia untuk mengurangi logam berat pada limbah juga dinilai kurang efisien, karena dibutuhkan *treatment* khusus untuk memisahkan senyawa kimia yang dapat menimbulkan reaksi lain terhadap bahan kimia yang ditambahkan. Oleh karena itu dapat dilakukan pengurangan konsentrasi logam Cu dengan biosorpsi dengan menggunakan bakteri yang tidak bersifat patogen pada manusia seperti *Pseudomonas putida*.

## II.2 Biosorpsi

Biosorpsi merupakan suatu proses pengikatan logam berat dengan menggunakan biomassa sebagai adsorbennya [7]. Akhir-akhir ini penggunaan metode biosorpsi sebagai alternatif pengurangan konsentrasi logam berat dalam limbah cair sedang ramai diperbincangkan. Para peneliti menilai dengan metode biosorpsi ini lebih ramah lingkungan dan memiliki efisiensi yang tinggi karena tersedianya biosorben seperti fungi, bakteri, *yeast*, algae, dsb. Berbeda dengan metode pengurangan limbah logam berat secara fisika dan kimia yang banyak membutuhkan bahan kimia dan dapat menghasilkan *sludge* yang memerlukan pengolahan lanjutan. Dalam pengurangan konsentrasi limbah logam berat secara fisika dan kimia akan ditambahkan bahan kimia lain untuk mengurangi kandungan logam berat dalam cairan limbah tersebut, seperti contoh nya proses flokulasi dan koagulasi logam Cu pada limbah industri pelapisan logam dan galvanis. Limbah cair yang mengandung konsentrasi Cu yang melebihi NAB akan di flokulasi dan koagulasi dengan menambahkan  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  agar menjadi endapan garam  $\text{CuSO}_4$ . Menurut Martins [8] proses biosorpsi ini dilakukan dengan cara mengikat suatu senyawa logam berat yang berada dalam larutan, kemudian terjadi pertukaran ion pada dinding sel

mikroorganisme dengan ion logam. Mekanisme biosorpsi logam berat dapat dilihat pada gambar II.2.



Gambar II.2. Mekanisme Biosorpsi Logam Berat [9]

Pada gambar II.2. dapat dilihat mekanisme penyerapan logam berat oleh biosorben. Pada bagian membran sel terdapat senyawa metallothionein yang dapat mengikat ion logam di luar membran sel. Dalam metallothionein terdapat protein dan asam amino yang mengandung sulfur atau biasa disebut *cysteine* seperti pada gambar II.4. Metallothionein berdifusi ke luar membran sel dan mengikat ion logam yang berada di luar membran sel bakteri. Metallothionein yang telah berikatan dengan ion logam berdifusi kembali ke dalam membran sel. Sebagian metallothionein yang berikatan dengan ion logam berat akan direduksi dan digunakan kembali untuk mengikat logam berat. Metallothionein yang berikatan dengan sulfur dan basa akan di transfer ke vakuola bakteri. Beberapa tipe dari biosorben yang sering digunakan yaitu: fungi, bakteri, alga, dan *yeast* [10]. Dalam penelitian-penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, metode biosorpsi dapat dilakukan dengan alga merah sebagai biosorbennya. Dalam penelitian yang dilakukan Volesky [11] alga merah yang digunakan adalah jenis *Ascophyllum nodosum* yang dinilai dapat mengurangi kandungan logam Cd sebesar 42 mg/g. Selain alga merah, biomassa yang dapat digunakan dalam proses biosorpsi adalah bakteri. Contoh bakteri yang biasa digunakan adalah *Bacillus. sp.* yang dapat mengurangi logam Zn sebesar 3,4 mg/g [12]. Selain itu bakteri yang sering digunakan dalam proses ini adalah *Pseudomonas putida*. Alasan digunakannya bakteri *Pseudomonas putida* ini adalah sifatnya yang tidak patogen terhadap manusia. Biosorpsi logam berat dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu sifat spesifik dari permukaan biosorben atau mikroorganisme dan beberapa faktor kimia biosorbat seperti: suhu, pH, konsentrasi awal ion logam, dan konsentrasi biomassa [13]. Mekanisme penyerapan ion logam dapat dibagi menjadi dua yakni, *passive uptake* dan *active uptake*. Proses *passive uptake* ini adalah proses dimana ion logam berat mengikat dinding sel. Pengikatan dinding sel oleh logam berat ini dibagi menjadi dua cara yakni, pertama dilakukan pertukaran ion dimana ion monovalen dan divalen seperti Na,

Mg, dan Ca akan digantikan oleh ion logam berat. Kedua, adalah dengan formasi kompleks antara ion-ion logam berat dengan *functional groups* seperti carbonyl, amino, thiol, phosphate, dan hydroxyl-carboxyl yang berada pada dinding sel. Proses ini dapat dilakukan dengan menggunakan pH tertentu dan penambahan ion-ion lainnya supaya logam berat dapat terendapkan. Proses *active uptake* ini terjadi jika konsumsi ion logam berat untuk pertumbuhan mikroorganisme terjadi penumpukkan oleh protein, karbohidrat, dan lipid yang berada dalam tubuh mikroorganisme. Saat proses ini berlangsung mikroorganisme sangat sensitif terhadap pH, suhu, cahaya, dan kekuatan ionik, sehingga jika pada pH, suhu, cahaya, atau kekuatan ionik yang tidak tepat dapat menyebabkan kematian terhadap mikroorganisme.

*functional groups* seperti carbonyl, amino, thiol, phosphate, dan hydroxyl-carboxyl yang berada pada dinding sel. Proses ini dapat dilakukan dengan menggunakan pH tertentu dan penambahan ion-ion lainnya supaya logam berat dapat terendapkan. Proses *active uptake* ini terjadi jika konsumsi ion logam berat untuk pertumbuhan mikroorganisme terjadi penumpukkan oleh protein, karbohidrat, dan lipid yang berada dalam tubuh mikroorganisme. Saat proses ini berlangsung mikroorganisme sangat sensitif terhadap pH, suhu, cahaya, dan kekuatan ionik, sehingga jika pada pH, suhu, cahaya, atau kekuatan ionik yang tidak tepat dapat menyebabkan kematian terhadap mikroorganisme.

**II.3 Kelebihan Biosorpsi**

Menurut mekanisme Pengolahan limbah logam berat secara biosorpsi dinilai lebih menguntungkan dibanding dengan metode adsorpsi secara fisika-kimia. Menurut Volesky [3] kelebihan biosorpsi dalam pengolahan limbah logam berat dapat digambarkan pada tabel III.3.

Tabel III.3. Kelebihan Pengolahan Limbah Logam Berat secara Biosorpsi

Pengolahan Limbah secara Biosorpsi	Pengolahan Limbah secara fisika-kimia
Menggunakan mikroorganisme sebagai biosorben	Reagen kimia yang dibutuhkan lebih banyak
Regenerasi mikroorganisme tidak membutuhkan waktu yang lama	Reagen kimia yang digunakan bersifat toksik.
Tidak membentuk lumpur yang bersifat toksik sehingga lebih ramah lingkungan.	Dapat membentuk lumpur yang bersifat toksik sehingga memerlukan penanganan lebih lanjut
Biaya yang dibutuhkan lebih murah	Biaya yang dibutuhkan relatif mahal

**II.4 Pseudomonas putida**

*Pseudomonas Putida* merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang dan bersifat aerob dan tumbuh maksimal pada suhu ruang. Bakteri ini dapat ditemukan di air dan tanah. *Pseudomonas Putida* mampu mendegradasi pelarut organik seperti toluena [14]. Bakteri ini juga dapat memecah hidrokarbon aromatik atau alifatik yang merupakan bahan kimia berbahaya yang disebabkan oleh pembakaran bahan bakar, batu bara, tembakau, dsb [15][16]. *Pseudomonas Putida* memiliki sifat non-patogenik dan

memiliki flagella polar yang berbentuk gelombang yang berjumlah 2-3 gelombang [17]. Bakteri ini dapat hidup pada 20-45°C dan dalam pH 4,5-9,6. Kapasitas adsorpsi bakteri ini pada logam Cu<sup>2+</sup> adalah 6,6–22,9 (mg/g) [18]. *Pseudomonas putida* lebih dipilih untuk mengadsorpsi logam berat pada air limbah karena bakteri ini tidak bersifat patogen bagi manusia dibanding bakteri *Pseudomonas* lain. Bakteri ini sangat sesuai untuk digunakan sebagai adsorben pada proses biosorpsi, karena bakteri ini dapat melakukan penukaran ion logam berat pada air limbah dengan ion yang berada di dinding selnya yang mengandung metallothionein.

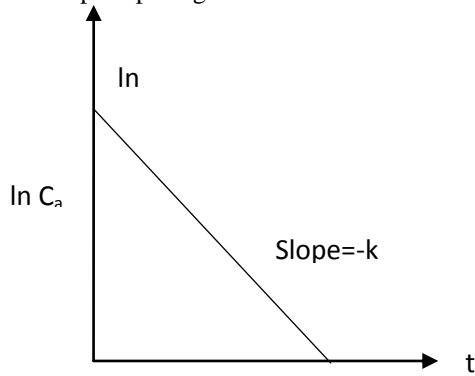
Salah satu penelitian dengan menggunakan *Pseudomonas putida* sebagai biosorben adalah penelitian yang dilakukan oleh Xin Cai Chen [17]. Dimana Xin Cai Chen [17] melakukan variasi kapasitas penyerapan logam Cu(II) dan Zn(II) dengan menggunakan sel hidup (*living cells*) dan sel tak hidup (*non-living cells*). Pada percobaan Xin Cai Chen [17] dilakukan pada suhu 30°C dengan mengambil 0,1 gram sel bakteri hidup maupun tak hidup. Kemudian sel-sel tersebut dimasukkan pada masing-masing tabung yang berisi 10 mL larutan logam. Tabung-tabung yang berisi biosorben dan campuran larutan kemudian digoyang dengan kecepatan 200 rpm. Setelah itu sampel diambil dan di *centrifuged* pada 15.000 x g selama 5 menit. Kemudian dilakukan pengukuran konsentrasi logam yang terserap dengan metode Atomic Absorption Spectrophotometri (AAS). Pada percobaan yang dilakukan Xin Chai Chen ini didapatkan kapasitas adsorpsi logam berat pada kondisi pH 4,5 dan 5 sebesar 15,8 mg/g untuk adsorpsi menggunakan biosorben tak hidup dan 29,9 mg/g untuk adsorpsi menggunakan biosorben hidup [17].

**II.4 Kinetika Adsorpsi Logam Cu(II)**

Kinetika adsorpsi pada proses biosorpsi mempelajari hubungan penurunan konsentrasi terhadap waktu. Penentuan laju reaksi dapat dilakukan dengan menggunakan regresi linear terhadap persamaan orde satu, orde dua, dan orde tiga [18]. Pada penelitian ini digunakan persamaan laju reaksi orde satu, karena pada penelitian ini digunakan biomassa sebagai adsorbennya. Dimana reaksi orde satu merupakan reaksi yang kecepatannya hanya bergantung pada salah satu zat yang bereaksi atau sebanding dengan salah satu pangkat reaktannya [19]. Persamaan orde-1 dapat dinyatakan dalam rumus  $\ln C_a = \ln C_{a0} - kt$ ..... (1)

dengan:  
 $C_a$  = konsentrasi setelah adsorpsi selama t menit  
 $C_{a0}$  = konsentrasi awal  
 k = konstanta laju adsorpsi orde 1

Bila persamaan tersebut diplotkan maka akan didapatkan grafik hubungan konsentrasi versus waktu seperti pada gambar II.5.



Gambar II.5. Grafik Hubungan antara konsentrasi akhir terhadap waktu

### III. Metodologi Penelitian

#### III.1 Bahan

Limbah Cu(II) yang digunakan adalah limbah sintesis larutan  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  dengan konsentrasi awal 8.000, 10.000 dan 12.000 ppm. Biosorben yang digunakan adalah *Pseudomonas putida*.

#### III.2 Pembuatan Starter *Pseudomonas putida*

Starter dibuat dengan cara memasukkan biomassa ke dalam larutan Cu(II) dengan konsentrasi 8.000, 10.000, dan 12.000 ppm. Kemudian diinkubasi selama 24 jam dengan suhu  $37^\circ\text{C}$

#### III.3 Kurva Pertumbuhan Bakteri

Kurva pertumbuhan bakteri dibuat untuk mengetahui berapa waktu inkubasi yang dibutuhkan selama proses biosorpsi berlangsung. Dengan cara starter yang telah dibuat dimasukkan ke dalam larutan Cu(II).

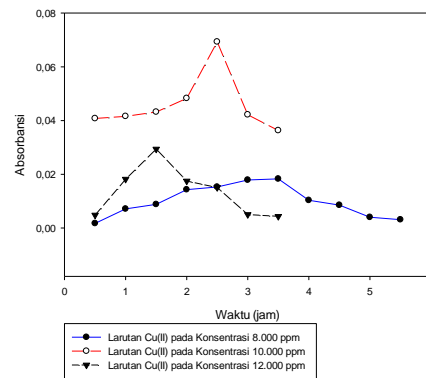
#### III.4 Proses Biosorpsi

Proses biosorpsi logam Cu(II) pada larutan Cu(II) dilakukan dengan cara mencampurkan larutan stater dengan larutan Cu(II). Campuran larutan Cu(II) dan stater kemudian diinkubasi sesuai waktu inkubasi yang telah didapatkan pada kurva pertumbuhan bakteri. Sampling dilakukan dengan mengambil campuran larutan pada setiap waktu tertentu untuk kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Proses biosorpsi ini dilakukan dalam tiga variasi konsentrasi awal larutan yakni: 8.000 ppm, 10.000 ppm, dan 12.000 ppm dan dalam kondisi pH 4, 5, dan 6.

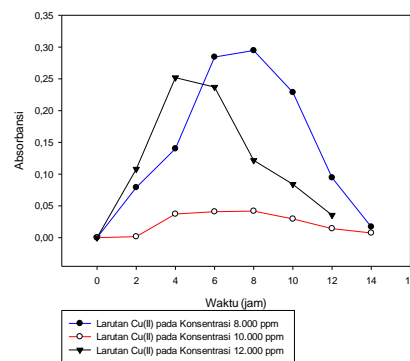
## IV. Hasil dan Pembahasan

### IV.1 Kurva Pertumbuhan Bakteri pada Larutan Cu(II)

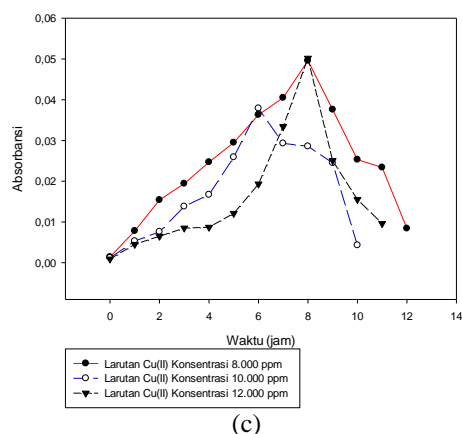
Penentuan pembuatan kurva pertumbuhan bakteri pada media larutan Cu(II) diperlukan untuk menentukan waktu inkubasi pada proses biosorpsi yaitu waktu yang dicapai untuk fase eksponensial. Fase eksponensial adalah yang menunjukkan penyerapan maksimum logam Cu(II) oleh bakteri *Pseudomonas putida* karena pada fase tersebut pertumbuhan bakteri meningkat. Data pertumbuhan bakteri *Pseudomonas putida* pada media larutan Cu(II) disajikan dalam Lampiran-B nomor 3. Mengacu pada data tersebut dapat dibuat kurva pertumbuhan bakteri dalam media larutan Cu(II) pada berbagai konsentrasi awal larutan Cu(II) dan pada berbagai kondisi pH. Kurva pertumbuhan bakteri dapat dilihat pada Gambar IV.1.a, IV.1.b, dan IV.1.c.



(a)



(b)



(c)

Gambar IV.1. Kurva Pertumbuhan Bakteri Dalam Media larutan Cu(II) pada (a) pH = 4, (b) pH = 5, dan (c) pH = 6

Gambar IV.1 (a) menunjukkan kurva pertumbuhan bakteri dalam media larutan Cu(II) dengan kondisi pH = 4 dan sampling larutan untuk pengukuran absorbansi dilakukan setiap 0,5 jam. Kurva pertumbuhan bakteri dibuat dengan menggambar kurva antara nilai absorbansi yang diukur dengan  $\lambda_{maks}$  600 nm sebagai koordinat dan waktu inkubasi sebagai absisnya. Berdasarkan gambar tersebut dapat diketahui bahwa pada larutan Cu(II) dengan konsentrasi awal larutan 8.000 ppm waktu eksponensial adalah pada waktu inkubasi 3,5 jam. Setelah 3,5 jam kemampuan tumbuh bakteri mulai menurun. Hal ini disebabkan karena sebagian *Pseudomonas putida* mulai mati. Sedangkan pada waktu inkubasi jam ke-5, *Pseudomonas putida* benar-benar mati dan tidak dapat menyerap logam Cu(II). Waktu eksponensial yang dibutuhkan *Pseudomonas putida* dalam larutan Cu(II) dengan konsentrasi awal 10.000 ppm adalah 2,5 jam, dan pada waktu inkubasi jam ke-3 *Pseudomonas putida* mati. Pertumbuhan bakteri pada larutan Cu(II) dengan konsentrasi awal 12.000 ppm, waktu eksponensial bakteri adalah pada waktu inkubasi 1,5 jam. Kemudian bakteri akan benar-benar mati dalam larutan ini pada jam ke-3.

Gambar IV.1 (b) menunjukkan kurva pertumbuhan bakteri dalam media larutan Cu(II) dengan kondisi pH = 5 dan sampling larutan dilakukan 2 jam untuk larutan Cu(II) dengan konsentrasi awal larutan 8.000 ppm. Sedangkan untuk larutan dengan konsentrasi awal 10.000 ppm dan 12.000 ppm dilakukan sampling setiap 1 jam. Kurva pertumbuhan bakteri dibuat dengan menggambar kurva antara nilai absorbansi yang diukur dengan  $\lambda_{maks}$  600 nm sebagai koordinat dan waktu inkubasi sebagai absisnya. Pada gambar tersebut dapat diketahui bahwa pada larutan Cu(II) dengan konsentrasi awal larutan 8.000 ppm waktu eksponensial adalah pada waktu inkubasi 8 jam. Setelah 8 jam kemampuan tumbuh bakteri mulai

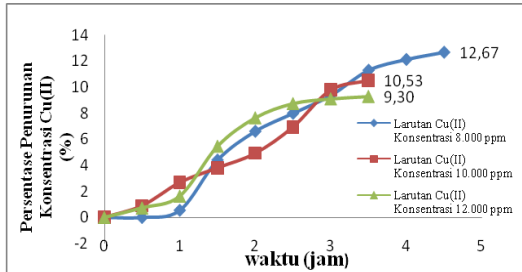
menurun. Hal ini disebabkan karena sebagian *Pseudomonas putida* mulai mati. Sedangkan pada waktu inkubasi jam ke-14, *Pseudomonas putida* benar-benar mati dan tidak dapat menyerap logam Cu(II). Waktu eksponensial yang dibutuhkan *Pseudomonas putida* dalam larutan Cu(II) dengan konsentrasi awal 10.000 ppm adalah 4,5 jam, dan pada waktu inkubasi 10,5 jam *Pseudomonas putida* mati. Pertumbuhan bakteri pada larutan Cu(II) dengan konsentrasi awal 12.000 ppm, waktu eksponensial bakteri adalah pada waktu inkubasi 1 jam. Kemudian bakteri akan benar-benar mati dalam larutan ini pada jam ke-2,5.

Gambar IV.1 (c) menunjukkan kurva pertumbuhan bakteri dalam media larutan Cu(II) dengan kondisi pH = 6 dan sampling larutan dilakukan setiap 1 jam untuk larutan Cu(II) dengan konsentrasi awal larutan 8.000 ppm dan 10.000. Sedangkan untuk larutan dengan konsentrasi awal 12.000 ppm dilakukan sampling setiap 0,5 jam. Kurva pertumbuhan bakteri dibuat dengan menggambar kurva antara nilai absorbansi yang diukur dengan  $\lambda_{maks}$  600 nm sebagai koordinat dan waktu inkubasi sebagai absisnya. Pada gambar tersebut dapat diketahui bahwa pada larutan Cu(II) dengan konsentrasi awal larutan 8.000 ppm waktu eksponensial adalah pada waktu inkubasi 8 jam. Setelah 8 jam kemampuan tumbuh bakteri mulai menurun. Hal ini disebabkan karena sebagian *Pseudomonas putida* mulai mati. Sedangkan pada waktu inkubasi jam ke-12, *Pseudomonas putida* benar-benar mati dan tidak dapat menyerap logam Cu(II). Waktu eksponensial yang dibutuhkan *Pseudomonas putida* dalam larutan Cu(II) dengan konsentrasi awal 10.000 ppm adalah 6 jam, dan pada waktu inkubasi 10 jam *Pseudomonas putida* mati. Pertumbuhan bakteri pada larutan Cu(II) dengan konsentrasi awal 12.000 ppm, waktu eksponensial bakteri adalah pada waktu inkubasi 4 jam. Kemudian bakteri akan benar-benar mati dalam larutan ini pada jam ke-6.

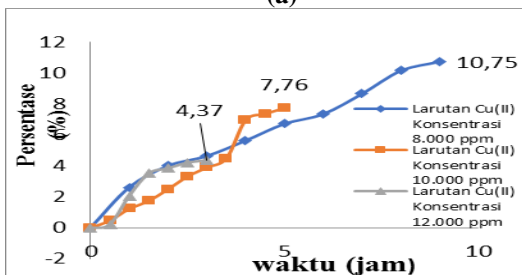
Seiring dengan meningkatnya pH larutan Cu(II) pada satu besaran konsentrasi awal Cu(II) ternyata fase eksponensial *Pseudomonas putida* cenderung meningkat. Hal ini menunjukkan bahwa pada pH = 6 bakteri masih dapat berkembang biak. Menurut Volesky [3], *Pseudomonas putida* dapat tumbuh secara optimum pada kondisi larutan pH = 6. Dalam penelitian ini pengaruh pH pada pertumbuhan *Pseudomonas putida* dengan konsentrasi awal larutan Cu(II) 12.000 ppm terjadi penyimpangan khususnya pada pH = 5. Hal ini diperkirakan karena konsentrasi awal larutan Cu(II) yang semakin besar maka pertumbuhan *Pseudomonas putida* tidak normal.

**IV.2 Biosorpsi Larutan Cu(II) oleh *Pseudomonas putida***

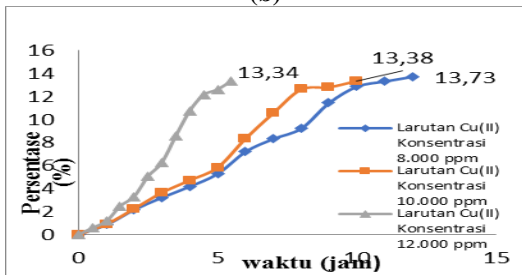
Penurunan konsentrasi larutan Cu(II) dinyatakan dalam persen (%). Pada proses biosorpsi larutan Cu(II) dengan tiga variasi konsentrasi awal, yakni: 8.000 ppm, 10.000 ppm, dan 12.000 ppm dalam kondisi pH = 4, pH = 5, dan pH = 6 dapat dilihat pada Gambar IV.1.a, IV.1.b, dan IV.1.c.



(a)



(b)



(c)

**Gambar IV.2. Persentase (%) Penurunan Konsentrasi Larutan Cu(II) pada Larutan Cu(II) oleh *Pseudomonas putida* (a) pH = 4, (b) pH = 5, dan (c) pH = 6**

Berdasarkan Gambar IV.2. (a), persentase penurunan konsentrasi Cu(II) oleh *Pseudomonas putida* pada larutan Cu(II) paling besar terjadi pada larutan Cu(II) dengan konsentrasi awal 8.000 ppm yakni sebesar 12,67 %. Sedangkan untuk larutan Cu(II) dengan konsentrasi awal 10.000 dan 12.000 ppm memiliki persentase penurunan konsentrasi Cu(II) sebesar 10,53 % dan 9,30 %.

Gambar IV.2. (b) menjelaskan persentase penurunan konsentrasi Cu(II) yang paling besar terjadi pada larutan Cu(II) dengan konsentrasi awal 8.000 ppm yakni sebesar 10,75 %. Penurunan konsentrasi Cu(II) yang paling rendah terjadi pada larutan Cu(II) dengan konsentrasi awal 12.000 ppm yakni sebesar 4,37%.

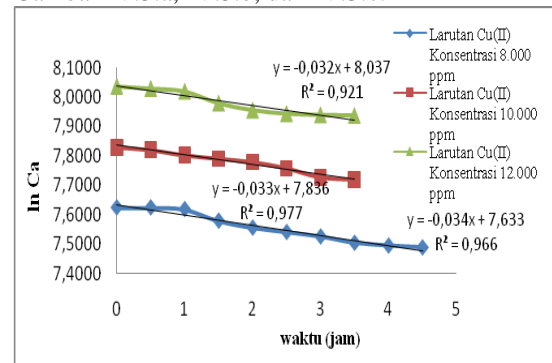
Gambar IV.2. (c) adalah penurunan konsentrasi Cu(II) yang paling besar pada larutan Cu(II) dengan konsentrasi awal 8.000 ppm yakni sebesar 13,73 % dengan waktu adsorpsi selama 12 jam dan penurunan konsentrasi Cu(II) pada larutan Cu(II) dengan konsentrasi awal 10.000 dan 12.000 ppm yakni sebesar 13,38% dan 13,34%. Pada proses biosorpsi logam Cu(II) oleh *Pseudomonas putida* ini dilakukan pada suhu 37°C dengan menggunakan metode uji spektrofotometri UV-Vis dengan  $\lambda$  maks 520 nm.

Secara keseluruhan hasil penelitian yang disajikan pada Gambar IV.2 a, IV.2.b, dan IV.2.c. dapat dijelaskan bahwa dengan bertambahnya waktu, penyerapan logam Cu(II) oleh bakteri *Pseudomonas putida* semakin besar. Penyerapan Cu(II) paling besar pada pH = 6 dengan konsentrasi awal 8.000 ppm didapatkan penurunan konsentrasi Cu(II) sebesar 13,37% dengan waktu adsorpsi selama 12 jam. Hal ini dikarenakan semakin lama waktu adsorpsi maka metallothionein yang berdifusi keluar sel semakin banyak sehingga ion logam yang diikat semakin banyak pula, hal ini sejalan dengan penelitian Barengse Monika[9].

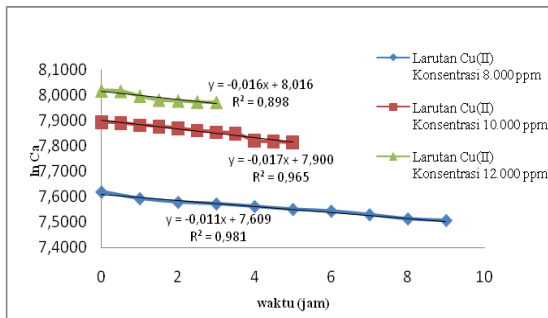
Sedangkan pada pH = 6 adsorpsi bakteri *Pseudomonas putida* dapat menyerap larutan logam secara maksimum pada pH = 6 dibandingkan pH 4 dan 5. Kemungkinan hal ini disebabkan metallothionein pada dinding sel bakteri *Pseudomonas putida* mengandung gugus *cystein* akan lisis. Gugus *cystein* merupakan asam amino yang mengandung sulfur dan protein, dimana protein dapat pecah bila berada pada pH larutan dibawah 4 dan 5. Jika protein yang terkandung dalam *cystein* pecah maka metallothionein yang berdifusi keluar sel makin sedikit sehingga penyerapan logam Cu(II) kurang maksimum.

**IV.3. Kinetika Adsorpsi Cu(II) oleh *Pseudomonas putida***

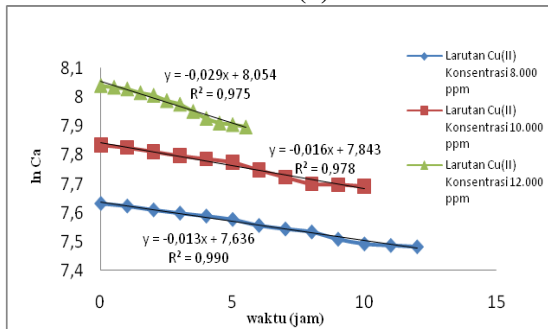
Kinetika adsorpsi orde-1 logam Cu(II) oleh *Pseudomonas putida* pada setiap waktunya dapat dilihat dalam kurva kinetika adsorpsi pada Gambar IV.3.a, IV.3.b, dan IV.3.c.



(a)



(b)



(c)

**Gambar IV.3. Kurva Kinetika Adsorpsi Logam Cu(II) pada setiap Waktu dalam Larutan Cu(II) (a) pH = 4, (b) pH = 5, dan (c) pH = 6**

Dari Gambar IV.3. (a), dapat diketahui mekanisme kinetika adsorpsi orde-1 pada larutan Cu(II) dengan kondisi pH = 4 dan dalam tiga variasi konsentrasi awal larutan yang berbeda, yaitu: 8.000 ppm, 10.000 ppm, dan 12.000 ppm. Pada larutan Cu(II) dengan konsentrasi awal larutan 8.000 ppm didapatkan persamaan garis linierisasi kinetika adsorpsi orde-1  $y = -0,037x + 7,637$  dengan  $R^2 = 0,960$ , sehingga dari persamaan tersebut dapat diketahui konstanta kinetika adsorpsi (k) adalah 0,0378. Sementara untuk larutan Cu(II) dengan konsentrasi awal 10.000 ppm didapatkan persamaan garis linierisasi kinetika adsorpsi orde-1  $y = -0,033x + 7,836$  dengan  $R^2 = 0,977$ , sehingga dari persamaan tersebut dapat diketahui konstanta kinetika adsorpsi (k) adalah 0,0332. Sedangkan untuk larutan Cu(II) dengan konsentrasi awal larutan 12.000 ppm didapatkan persamaan garis linierisasi kinetika adsorpsi orde-1  $y = -0,032x + 8,037$  dengan  $R^2 = 0,921$ , sehingga dari persamaan tersebut dapat diketahui konstanta kinetika adsorpsi (k) adalah 0,0327.

Pada Gambar IV.3. (b) juga dapat diketahui mekanisme kinetika adsorpsi orde-1 pada larutan Cu(II) dengan kondisi pH larutan 5 dan dalam tiga variasi konsentrasi awal larutan yang berbeda, yaitu: 8.000 ppm, 10.000 ppm, dan 12.000 ppm. Pada larutan Cu(II) dengan konsentrasi awal larutan 8.000 ppm didapatkan persamaan garis linierisasi kinetika adsorpsi orde-1  $y = -0,011x + 7,609$  dengan  $R^2 = 0,981$ , sehingga dari persamaan tersebut dapat

diketahui konstanta kinetika adsorpsi (k) adalah 0,0117. Sementara itu untuk larutan Cu(II) dengan konsentrasi awal 10.000 ppm didapatkan persamaan garis linierisasi kinetika adsorpsi orde-1  $y = -0,017x + 7,900$  dengan  $R^2 = 0,965$ , sehingga dari persamaan tersebut dapat diketahui konstanta kinetika adsorpsi (k) adalah 0,0171. Sedangkan untuk larutan Cu(II) dengan konsentrasi awal larutan 12.000 ppm didapatkan persamaan garis linierisasi kinetika adsorpsi orde-1  $y = -0,016x + 8,016$  dengan  $R^2 = 0,898$ , sehingga dari persamaan tersebut dapat diketahui konstanta kinetika adsorpsi (k) adalah 0,0168.

Gambar IV.3. (c), diketahui mekanisme kinetika adsorpsi orde-1 pada larutan Cu(II) dengan kondisi pH larutan 6 dan dalam tiga variasi konsentrasi awal larutan yang berbeda, yaitu: 8.000 ppm, 10.000 ppm, dan 12.000 ppm. Pada larutan Cu(II) dengan konsentrasi awal larutan 8.000 ppm didapatkan persamaan garis linierisasi kinetika adsorpsi orde-1  $y = -0,013x + 7,636$  dengan  $R^2 = 0,990$ , sehingga dari persamaan tersebut dapat diketahui konstanta adsorpsi (k) adalah 0,0133. Sementara itu untuk larutan Cu(II) dengan konsentrasi awal 10.000 ppm didapatkan persamaan garis linierisasi kinetika adsorpsi orde-1  $y = -0,016x + 7,843$  dengan  $R^2 = 0,978$ , sehingga dari persamaan tersebut dapat diketahui konstanta adsorpsi (k) adalah 0,016. Untuk larutan Cu(II) dengan konsentrasi awal larutan 12.000 ppm didapatkan persamaan garis linierisasi kinetika adsorpsi orde-1  $y = -0,0292x + 8,054$  dengan  $R^2 = 0,975$ , sehingga dari persamaan tersebut dapat diketahui konstanta laju adsorpsi (k) adalah 0,0292.

Pada proses biosorpsi larutan Cu(II) pH = 4 dapat diketahui laju kinetika adsorpsi (k) semakin lambat seiring dengan kenaikan konsentrasi Cu(II). Hal ini dikarenakan ion  $Cu^{2+}$  dalam larutan lebih reaktif pada sel, sehingga dapat menyebabkan kerusakan sel yang berakibat kematian pada bakteri. Dimana pada larutan Cu(II) ini banyak muncul sebagai kation  $Cu^{2+}$ ,  $CuOH^+$ ,  $CuHCO_3^+$ . Menurut mekanisme adsorpsinya, metallothionein pada sel akan berdifusi keluar sel dan melepaskan ion  $H^+$  sehingga metallothionein mengikat ion logam yang bermuatan positif untuk berdifusi kembali kedalam sel. Banyaknya ion  $Cu^{2+}$  yang berdifusi kedalam sel dapat menyebabkan terjadinya lisis pada sel bakteri. Karena adanya lisis pada sel bakteri maka konstanta kinetika adsorpsi (k) semakin berkurang pada konsentrasi larutan Cu(II) 12.000 ppm dibanding pada larutan Cu(II) dengan konsentrasi awal 8.000 ppm dan 10.000 ppm. Fenomena berlawanan teramati pada larutan Cu(II) pH 5 dan 6. Pada larutan Cu(II) dengan kondisi pH ini konstanta kinetika adsorpsi (k) semakin meningkat seiring dengan

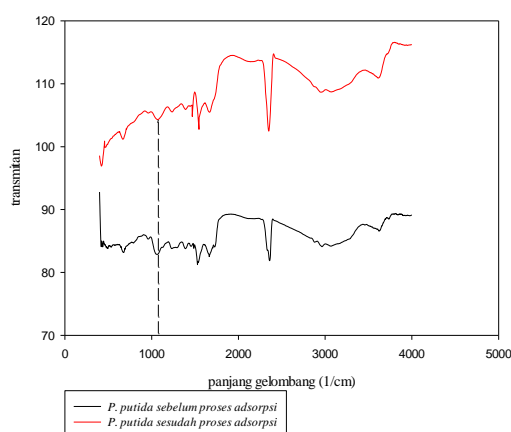


peningkatan konsentrasi Cu(II). Pada pH 5 dan 6 ion  $\text{Cu}^{2+}$  cenderung muncul dalam bentuk  $\text{Cu}(\text{OH})_2^-$ ,  $\text{Cu}(\text{OH})_3^-$ , dan  $\text{Cu}(\text{OH})_4^{2-}$ , dimana ion  $\text{Cu}^{2+}$  lebih tidak reaktif terhadap sel bakteri. Ketidak reaktifan ion  $\text{Cu}^{2+}$  terhadap sel bakteri dikarenakan sel bakteri yang masih hidup mempunyai batas penyerapan maksimum sehingga difusi ion  $\text{Cu}^{2+}$  terhambat, hal ini sama dengan pernyataan Vijayaraghavan [20]. Semakin tingginya konsentrasi Cu(II) berarti semakin banyak ion  $\text{Cu}^{2+}$  yang terkandung dalam larutan, sehingga daya dorong (driving force) yang diberikan ion  $\text{Cu}^{2+}$  untuk berdifusi kedalam sel bakteri semakin besar. Hal ini ditandai dengan peningkatan laju adsorpsi pada konsentrasi awal larutan Cu(II) 12.000 ppm dibandingkan konsentrasi Cu 8.000 ppm dan 10.000 ppm.

Pada larutan Cu(II) dengan kondisi pH = 4 pertumbuhan bakteri mengalami hambatan, meski begitu laju kinetika adsorpsi pada pH 4 lebih tinggi dari pada pH 5 dan 6. Kemungkinan hal ini disebabkan karena adsorpsi Cu(II) pada pH 4 terjadi secara fisik, dimana ion Cu menempel pada pori-pori sel bakteri yang telah mati tersebut.

#### IV.4. Karakteristik *Pseudomonas putida* Sebelum dan Sesudah Biosorpsi

Karakterisasi *Pseudomonas putida* ini digunakan untuk menentukan keberhasilan proses biosorpsi logam Cu(II) dalam larutan Cu(II). Karakterisasi *Pseudomonasputida* dalam penelitian ini menggunakan FTIR. Spektra FTIR *Pseudomonas putida* sebelum dan sesudah proses biosorpsi dapat dilihat pada Gambar IV.4.



**Gambar IV.1. Spektra FTIR *Pseudomonas putida* Sebelum dan Sesudah Proses Biosorpsi**

Berdasarkan Gambar IV.4, dapat diketahui bahwa spektra berwarna hitam adalah spektra *Pseudomonas putida* sebelum proses biosorpsi pada larutan Cu(II), sedangkan spektra berwarna merah adalah spektra *Pseudomonas putida*

sesudah proses biosorpsi pada larutan Cu(II). Dari gambar tersebut dapat dilihat bahwa setelah proses biosorpsi beberapa gugus fungsional *Pseudomonas putida* mengalami pergeseran. Seperti pada gugus fungsional C-O yang awalnya terdeteksi pada bilangan gelombang 1066,56  $\text{cm}^{-1}$  bergeser menjadi 1070,42  $\text{cm}^{-1}$ . Pergeseran ini diketahui sebanyak  $\Delta = 38,83 \text{ cm}^{-1}$  yang menandakan gugus ini berperan dalam pengikatan Cu(II). Terikatnya Cu(II) pada dinding sel bakteri didukung oleh data bilangan gelombang 420,45  $\text{cm}^{-1}$  dimana sinyal puncak ini menandakan gugus Cu-O.

#### V. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, maka dapat disimpulkan:

1. Penurunan persentase konsentrasi Cu(II) yang paling tinggi terdapat pada larutan Cu(II) dengan konsentrasi awal 8.000 ppm pH = 6 yakni sebesar 13,73% Sedangkan penurunan persentase konsentrasi Cu(II) yang paling rendah terdapat pada larutan Cu(II) dengan konsentrasi awal 12.000 ppm pH = 5 yakni sebesar 4,37%
2. Konstanta kinetika adsorpsi (k) pada larutan Cu(II) pH = 4 dengan konsentrasi awal 8.000 ppm, 10.000 ppm, dan 12.000 ppm adalah 0,0378, 0,0332, dan 0,0327. Larutan Cu(II) pH = 5 dengan konsentrasi awal larutan Cu(II) 8.000 ppm, 10.000 ppm, dan 12.000 ppm memiliki konstanta kinetika adsorpsi (k) sebesar 0,0117, 0,0171, dan 0,0168. Sedangkan pada larutan Cu(II) pH = 6 dengan konsentrasi awal larutan 8.000 ppm, 10.000 ppm, dan 12.000 ppm memiliki konstanta kinetika adsorpsi (k) sebesar 0,0133, 0,016, 0,0292.

#### Daftar Pustaka

1. N. I. Said, "Metoda Penghilangan Logam Berat (As, Cd, Cr, Ag, Cu, Pb, Ni dan Zn) di Dalam Air Limbah Industri," *Pusat Teknologi Lingkungan, BPPT.*, 2010.
2. A. P. Daud Satria Putra, "Analisis Pencemaran Limbah Cair Kelapa Sawit Berdasarkan Kandungan Logam, Konduktivitas, TDS, dan TSS," *Jurnal Fisika Unand*, 2014.
3. B. Volesky dan Z. Holan, "Biosorption of Heavy Metals," *Department of Chemical Engineering, McGill University, 3480 University Street, Montreal, Canada H3A 2A7.*, p. 237, 1995.
4. R. Dewi, "Penentuan Kondisi Optimum pada Pembentukan Kompleks Fe(III)-Fenantrolin dengan Spektrofotometri UV-Vis," 2014.
5. H. Palar, *Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat*, Jakarta: PT. Rineka Cipta, 2004.

6. R. T. P. M. Siti Marwati, "Pemanfaatan Ion Logam Berat Tembaga(Ii), Kromium(Iii), Timbal(Ii), Dan Seng(Ii) Dalam Limbah Industri Electroplating Dalam Pelapisan Logam Besi," *Prosiding Seminar Nasional Penelitian, Pendidikan dan Penerapan MIPA, Fakultas MIPA, Universitas Negeri Yogyakarta*, 2009.
7. B. C. Martins, "A Sorption and Desorption of Pb<sup>2+</sup> ions by dead Sargassum sp. Biomass," *Biochemical Engineering Journal*, vol. 27. no 3, pp. 310-314, 2006.
8. S. A. S. J. P. J. Barenge Monika, "Biosorption of Heavy Metals from Wastewater by Using Microalgae," *International Journal of Chemical and Physical Sciences*, 2014.
9. 27 Januari 2017. [Online]. Available: <https://id.m.wikipedia.org/wiki/sisteina>. [Diakses 4 Desember 2018].
10. H. Z. VoleskyB, "biosorption of heavy metals," *Biotechnol Prog 11*, p. 235, 1995.
11. D. Cotoras, P. Viedma dan J. Pimentel, "Biosorption of metal ions by attached bacterial cells in a packed-bed bioreactor.," *In Biohydrometallurgical Technologies*, pp. 103-110, 1993.
12. Y. K. Sag, "The Selective Biosorption of Chromuim (VI) and Copper ion (II) ion from binary metal mixtures by R. arrhizus," *Process Biochem*, 1996.
13. M. S. Espinosa-Urgel, "Genetic Analysis of Functions Involved in Adhesion of Pseudomonas Putida," *Journal of Bacteriology*, vol. 182, pp. 2363-2369, May 2002.
14. A. Marcus, "Versatile soil-dwelling microbe is mapped," January 2003.
15. H. Kowalski, "German Research Consortium Sequences Genome of Versatile Soil Microbe," Desember 2002.
16. H. M. Pardo R, "Biosorption of Cadmium, copper, lead, and zinc by inactive biomass of Pseudomonas Putida," *Anal Bioanal Chem*, vol. 376, pp. 26-32, 2003.
17. Y. P. W. Q. L. J. Y. S. ., W. X. W. Y. X. C. Xin Cai Chen, "Biosorption of copper(II) and zinc(II) from aqueous solution by Pseudomonas putida CZ1," *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2005.
18. S. F. I. K. K. H. M. Hany Hussei, "Biosorption of heavy metals from waste water using Pseudomonas sp.," *Electronic Journal of Biotechnology*, 2004.
19. H. S. S. R. Betty, "Studi Kinetika Adsorpsi Logam Cu<sup>2+</sup> dengan Menggunakan Adsorben Zeolit Alami Teraktifasi".
20. K. Y.-S. Y. Vijaraghavan, "Bacterial Biosorbent and Biosorption," *ScienceDirect*, pp. 266-291, 2008.
21. M. H. ., E. B. Rafael Pardo, "Biosorption of cadmium, copper, lead and zinc by inactive biomass of Pseudomonas Putida," *Anal Bioanal Chem (2003)*, 2003.
22. e. O. M. S. A. Bulut., Adsorption of Molachite Green Onto Bentonite: Equilibrium and Kinethics Studies and Process Design, vol. 115, Elsevier, 2008, pp. 234-256.