



TESIS

Biosorpsi Timbal(II) Menggunakan *Trichoderma Viride* Pada Larutan Berair (Aqueous Solution)



Oleh:

RENSANI TALOIN
NIM.156090200011006

PROGRAM STUDI S2 KIMIA
BIDANG KEKHUSUSAN BIOKIMIA

PROGRAM PASCASARJANA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN
ALAM UNIVERSITAS BRAWIJAYAMALANG
2018



**Biosorpsi Timbal(II) Menggunakan *Trichoderma Viride*
Pada Larutan Berair (Aqueous Solution)**

TESIS

Untuk memperoleh Gelar Magister
dalam Program Studi Magister Kimia
Pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
universitas brawijaya malang

Oleh
Rensani Taloin
NIM. 156090200011006

PROGRAM STUDI S2 KIMIA

BIDANG KEKHUSUSAN BIOKIMIA

PROGRAM PASCASARJANA

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN
ALAM UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2018



PERNYATAAN ORISINALITAS TESIS

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya di dalam Naskah Tesis ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu Perguruan Tinggi dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila pernyataan di dalam Naskah Tesis ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur plagiasi, saya bersedia Tesis ini digugurkan dan gelar akademik saya telah saya peroleh (MAGISTER) dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku. (UU.No 20 Tahun 2003, Pasal 25 ayat 2 dan Pasal 70).

Malang, 23 Juli 2018
Yang Membuat Pernyataan,

Rensani Taloin
NIM.156090200011006



Biosorpsi Timbal(II) Menggunakan *Trichoderma Viride* Pada Larutan Berair (Aqueous Solution)

Nama mahasiswa : Rensani Taloin
NIM : 15609020011006
Program studi : Kimia
Bidang Minat : Biokimia

KOMISI PEMBIMBING

Ketua : Anna Safitri, S.Si., M.Sc., Ph.D
Anggota : Dr. Sasangka Prasetyawan, MS

TIM DOSEN PENGUJI

Dosen Penguji 1 : Barlah Rumhayati, S,Si, M.Si, Ph.D
Dosen Penguji 2 : Dr. Diah Mardiana, MS
Tanggal Ujian : 23 Juli 2018
SK Penguji :



DAFTAR RIWAYAT HIDUP

DATA PRIBADI

Nama Lengkap : Rensani Taloin

NIM : 156090200011006

Tempat dan Tanggal Lahir : So'e, 2 Desember 1991

Alamat Asal : Jl. Cocak rawa, RT/RW. 011/007, Nunumeu
Kec. Kota So'e, Kab. TTS.

Alamat di malang : Jl. Candi 6b no. 100b. kec Sukun. Gasek, Kerang
Besuki. Kota Malang

RIWAYAT PENDIDIKAN

- SD Inpres Nunumeu, So'e (1997-2003)
- SMP Kristen 1 So'e (2003-2006)
- SMA Kristen 1 So'e (2006-2009)
- S1 Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Nusa Cendana Kupang (2009-2015)
- S2 Program Studi Ilmu kimia, Kekhususan Biokimia, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya Malang (2016-2018)

RINGKASAN

Rensani Taloin. 156090200011006. Program Pascasarjana Universitas Brawijaya. 2018. **Biosorpsi Timbal(II) Menggunakan *Trichoderma viride* Pada Larutan Berair (Aqueous Solution)**. Ketua Komisi Pembimbing: Anna Safitri,S.Si., M.Sc., Ph.D. Anggota Komisi Pembimbing: Dr. Sasangka Prasetyawan, MS.

Timbal(II) atau Pb(II) dianggap sebagai salah satu polutan air yang bersifat toksik, korosif, dan iritan. Salah satu metode yang dapat diterapkan untuk mengurangi konsentrasi Pb(II) di lingkungan adalah dengan menggunakan mikroorganisme. *Trichoderma viride* diketahui sebagai salah satu biosorben yang dapat menyerap ion logam-logam berat, salah satu diantaranya yaitu Pb(II). Penelitian ini difokuskan pada penentuan kondisi optimum termasuk pH, waktu kontak, jumlah inokulum, dan konsentrasi awal Pb(II) yang digunakan. Profil gugus fungsi yang terlibat dalam proses biosorpsi Pb(II) menggunakan *T. viride*, dianalisis menggunakan spektrofotometri FTIR.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kondisi optimum proses biosorpsi dari Pb(II) dengan *T. viride* dicapai pada pH awal 4,5, yang menghasilkan persen adsorpsi sebesar 93,35%; waktu kontak 40 jam (94, 5%); konsentrasi optimum 30 mg/L (89%); jumlah inokulum 15 mL (89,6%); dan kapasitas adsorpsi sebesar 8,69 mg/10⁶ koloni *T. viride*. Mekanisme biosorpsi yang diusulkan adalah yaitu melalui proses adsorpsi fisik antara ion logam bermuatan positif dan gugus fungsi yang bermuatan negatif pada permukaan dinding sel *T. viride*, seperti -COO⁻, dan -NH₂⁻ dan -OPO₃²⁻. Mekanisme proses biosorpsi yang lain diduga disebabkan karena dalam konsentrasi rendah ion Pb(II) diperlukan oleh enzim-enzim yang ada dalam *T. viride* sebagai kofaktor. Hasil FTIR menunjukkan ada proses biosorpsi menyebabkan perubahan pada gugus fungsional yang ada pada *T. viride* yaitu pada daerah bilangan gelombang 3424 cm⁻¹, 2928 cm⁻¹, 1649 cm⁻¹, 1557 cm⁻¹, 1402 cm⁻¹, 1316 cm⁻¹, 1245 cm⁻¹, dan 1078 cm⁻¹. Kondisi optimum yang didapatkan diaplikasikan pada proses biosorpsi Pb(II) pada sampel air pada sungai Dinoyo, sungai Ladungsari, dan sungai Tidar. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada kondisi optimum tersebut (pH 4,5; waktu kontak 40 jam, dan jumlah inokulum 15 mL) biosorpsi Pb(II) menggunakan *T. viride* rata-rata di atas 50%.



Kata kunci: *Trichoderma viride*, biosorpsi, Pb(II), waktu kontak, konsentrasi Pb(II)

SUMMARY

Rensani Taloin. 156090200011006. Postgraduate University of Brawijaya. 2018.
Biosorption of Lead(II) using *Trichoderma viride* in the Aqueous Solution.

Principal Supervisor: Anna Safitri, S.Si., M.Sc., Ph.D.; Co-supervisor: Dr. Sasangka Prasetyawan, MS.

Lead(II) considered as one of water pollutant that is toxic, corrosive, and irritant. One method that can be applied for reducing Pb(II) in the environment is by using microorganisms. *T. viride* is as one of the biosorbents that can absorb heavy metals ions, i.e. Pb(II). The research is focused on determination of optimum conditions including initial pH, biosorption time, the amount of inoculum and initial concentrations of Pb(II) used. The profiles in functional groups contained in the *T. viride* have been monitored using FT-IR spectrophotometry.

Results showed that the optimum conditions of biosorption of Pb(II) achieved at initial pH 4.5 with adsorption percentage of 93.35%; contact time of 40 h (94.5%); initial concentration of 30 mg/L (89%); the amount of inoculum of 15 mL (89.6%); and the adsorption capacity of 8.69 mg/10⁶ colonies of *T. viride*. The proposed biosorption mechanism through the process of physical adsorption between positively charged metal ions and negative charges in functional groups on the cell wall of *T. viride*, such as -COO⁻, dan -NH₂⁻ dan -OPO₃²⁻. Another possible mechanism in the low concentration Pb(II) is needed by the enzymes on *T. viride* as cofactors. The FTIR results revealed biosorption process induced changes on these wavenumbers, 3424 cm⁻¹, 2928 cm⁻¹, 1649 cm⁻¹, 1557 cm⁻¹, 1402 cm⁻¹, 1316 cm⁻¹, 1245 cm⁻¹, and 1078 cm⁻¹. The obtained optimum conditions were applied to biosorption process of Pb(II) on the water from Dinoyo, Landungsari, and Tidar rivers. Results showed that on those conditions (pH 4.5; contact time of 40 h; and 15 mL of inoculum), biosorption of Pb(II) using *T. viride* resulted on the average of above 50%.

Keywords: *Trichoderma viride*, biosorption, Pb(II), contact time, Pb(II) concentration



KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadirat Tuhan yang senantiasa memberikan rahmat-Nya sehingga penyusun dapat menyelesaikan Tesis dengan judul “Biosorpsi Timbal(II) Menggunakan *Trichoderma Viride* Pada Larutan Berair (Aqueous Solution)”.

Selama penyusunan tesis ini, penulis selalu menghadapi halangan dan rintangan karena keterbatasan pengetahuan penulis, sehingga dalam penulisannya penulis banyak melibatkan banyak pihak. Dosen pembimbing yang selalu memberikan masukan dan koreksi terhadap penulisan tesis. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terimakasih kepada

1. Ibu Anna Safitri, S.Si., M.Sc., Ph.D selaku pembimbing I yang telah banyak memberikan bimbingan, arahan, nasehat, semangat serta motivasi perbaikan naskah yang sempurnakepada penulis.
2. Bapak Dr. Sasangka Prasetyawan, Ms selaku pembimbing II yang telah memberikan saran dan dukungan serta motivasi untuk perbaikan naskah kepada penulis.
3. Ibu Barlah Rumhayati, S.Si, M.Si, Ph.D dan Ibu Dr. Diah Mardiana, MS, selaku penguji tesis, atas masukan, kritik dan saran yang memberikan banyak pengetahuan baru bagi peneliti untuk menjadi peneliti yang memiliki kredibilitas yang baik.
4. Ibu Siti Mariyah Ulfa, S.Si., M.Sc, Dr. Sc. sebagai Ketua Program Studi Magister Kimia, Seluruh Dosen dan Staf Departemen Kimia yang telah membantu sesuai tupoksinya masing-masing.
5. Keluarga tercinta Bapak (Otnial Taloin), Ibu (Yance Tlonen), Kakak vivi Adik Guyu, Ain dan Aan, atas dukungan doa, materi dan motivasinya kepada peneliti.
6. Kepada teman S2 Kimia UB, dan sahabat-sahabat diskusi di Lab. Biokim, Lab Organik, Lab Anorganik serta pihak yang terkait dalam penelitian. Terima kasih atas bantuannya dan kerja sama selama penelitian berlangsung.
7. Kepada teman S2 Kimia UB, dan sahabat-sahabat diskusi di Lab. Biokim, Lab Organik, Lab Anorganik serta pihak yang terkait dalam penelitian. Terima kasih atas bantuannya dan kerja sama selama penelitian berlangsung.



8. Kepada teman dan sahabat RAHARDY di kontrakan Tidar Viuw, teman-teman paduan suara GBI Rampil, atas doa dan dukungannya.

Penyusun menyadari bahwa penelitian yang tertuang dalam tesis ini tentunya terdapat kekurangan bahkan mungkin kekeliruan. Untuk itu, kritik dan saran terbuka seluas-luasnya demi perbaikan dan penyempurnaan tesis ini. Akhirnya, semoga tesis ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi.

Malang, Juli 2018

Penulis



DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL	i
PRASYARAT GELAR	ii
PERNYATAAN ORISINALITAS TESIS	iii
RIWAYAT PENDIDIKAN	v
RINGKASAN	vi
SUMMARY	viii
KATA PENGANTAR	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Perumusan Masalah	5
1.3 Batasan Masalah	6
1.4 Tujuan Penelitian	6
1.5 Manfaat Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Timbal (Pb)	8
2.1.1 Sifat Umum Timbal (Pb)	9
2.1.2 Timbal II	10
2.1.3 Timbal Dalam Perairan	10
2.1.4 Dampak Timbal Terhadap Kesehatan Masyarakat	11
2.1.5 Penentuan Kadar Pb Secara AAS	13
2.2 Biosorpsi	14
2.3 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Biosorpsi	15
2.4 <i>Trichoderma viride</i>	16
2.4.1 Keuntungan <i>Trichoderma viride</i>	17
2.4.2 Teknik Pembiakan Microba	19
BAB III KERANGKA PENELITIAN	21



3.1	Kerangka Konsep	22
3.2	Kerangka Operasional	22
3.3	Hipotesis	24
BAB IV METODE PENELITIAN		25
4.1.1	Alat-alat Penelitian	25
4.1.2	Bahan-bahan Penelitian.....	25
4.2	Waktu Dan Tempat Penelitian	26
4.3	Tahapan Penelitian.....	26
4.4	Prosedur Penelitian	26
4.5	Analisa data	26
BAB V HASIL DAN EMBAHASAN.....		35
5.1	Kurva Pertumbuhan <i>Trichoderma viride</i> dan Pb(II).....	35
5.2	Pengaruh pH.....	39
5.3	Pengaruh Konsentrasi	44
5.4	Pengaruh Waktu Kontak	48
5.5	Pengaruh Jumlah Inokulum	51
5.6	Kapasitas Adsorpsi.....	55
5.7	Biosorpsi Pb(II) pada sampel air sungai dengan <i>T.viride</i>	55
BAB VIKESIMPULAN DAN SARAN		57
DAFTAR PUSTAKA		59



DAFTAR GAMBAR

Halaman	
Gambar 2.1 Plumbum (Pb)	8
Gambar 2.2 Timbal(II) Nitrat.....	10
Gambar 2.3 <i>Trichoderma viride</i>	17
Gambar 5.1 Kurva Pertumbuhan <i>T.viride</i>	35
Gambar 5.2 Kurva Pertumbuhan <i>T.viride</i> dengan Pb(II).....	35
Gambar 5.3 Pengaruh pH terhadap jumlah Pb(II) yang terbiosorpsi.....	40
Gambar 5.4 Hasil FTIR spektrofotometri untuk proses biosorpsi Pb(II) oleh <i>T.viride</i> . pada pH 4,5.....	42
Gambar 5.5 Pengaruh konsentrasi awal Pb(II) terhadap jumlah Pb(II) terbiosorpsi.....	45
Gambar 5.6 Hasil FTIR spektrofotometri untuk proses biosorpsi Pb(II) oleh <i>T.viride</i> pada konsentrasi 30 ppm.	46
Gambar 5.7 Pengaruh waktu kontak terhadap jumlah Pb(II) Terbiosorpsi.....	49
Gambar 5.8 Hasil FTIR spektrofotometri untuk proses biosorpsi Pb(II) oleh <i>T.viride</i> . pada waktu kontak 40 jam.....	50
Gambar 5.9 Pengaruh jumlah inokulum terhadap jumlah Pb(II) terbiosorpsi.....	52
Gambar 5.10 Hasil FTIR spektrofotometri untuk proses biosorpsi Pb(II) oleh <i>T.viride</i> . pada jumlah inokulum 15 mL.....	54



DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 5.1 Fase Pertumbuhan <i>T.Viride</i>	38
Tabel 5.2 FTIR spektrofotometri untuk proses biosorpsi Pb(II) oleh <i>T.viride</i> . pada pH 4,5.....	43
Tabel 5.3 FTIR spektrofotometri untuk proses biosorpsi Pb(II) oleh <i>T.viride</i> . pada konsentrasi 30 ppm.....	47
Tabel 5.4 FTIR spektrofotometri untuk proses biosorpsi Pb(II) oleh <i>T.viride</i> . pada waktu kontak 40 jam.....	51
Tabel 5.5 Jumlah sel jamur dihitung menggunakan hemositometer.....	51
Tabel 5.4 FTIR spektrofotometri untuk proses biosorpsi Pb(II) oleh <i>T.viride</i> . pada jumlah inokulum 15 mL.....	55
Tabel 5.5 Hasil pengujian kadar Pb(II).....	56



DAFTAR LAMPIRAN

No.	Judul Lampiran
Lampiran 1	Data kurva baku
Lampiran 2	Data kurva pertumbuhan <i>Trichoderma viride</i> serta kurva pertumbuhan <i>Trichoderma viride</i> dengan penambahan Pb(II) data di ukur menggunakan Turbidimeter.
Lampiran 3	Data Pengukuran AAS pada Proses Biosorpsi Pb(II)
Lampiran 4	Data Pengaruh pH terhadap Biosorpsi Pb(II), Sidik Ragam serta Hasil Uji BNT 5% Penentuan pH Optimum terhadap Biosorpsi Pb(II)
Lampiran 5	Data Pengaruh waktu kontak terhadap Biosorpsi Pb(II), Sidik Ragam serta Hasil Uji BNT 5% Penentuan waktu kontak Optimum terhadap Biosorpsi Pb(II)
Lampiran 6	Data Pengaruh konsentrasi terhadap Biosorpsi Pb(II), Sidik Ragam serta Hasil Uji BNT 5% Penentuan konsentrasi Optimum terhadap Biosorpsi Pb(II)
Lampiran 7	Data Pengaruh jumlah inokulum terhadap Biosorpsi Pb(II) Sidik Ragam serta Hasil Uji BNT 5% Penentuan Jumlah Inokulum Optimum terhadap Biosorpsi Pb(II)
Lampiran 8	Perhitungan jumlah sel jamur <i>T. viride</i>
Lampiran 9	Analisis Ragam pH, konsentrasi, waktu kontak serta jumlah inokulum dengan SPSS



BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Permasalahan

Pencemaran logam berat akibat aktivitas industri menjadi permasalahan dalam lingkungan yang serius. Dampak esensial karena adanya pencemaran dari ion logam berat yang timbul dari limbah-limbah buangan domestik serta industri salah satunya yaitu tercemarnya ekosistem di perairan. Dalam konsentrasi yang besar, ion logam berat mampu mencemari kehidupan di perairan. Pada konsentrasi rendah, organisme seperti plankton, akan mengadsorpsi dan mengakumulasinya didalam sel. Bila organisme perairan yang besar seperti ikan memakan organisme renik (plankton) tersebut maka dapat terjadi penimbunan logam berat dalam tubuh ikan. Apabila ikan tersebut dikonsumsi oleh manusia, maka akan menyebabkan gangguan kesehatan yang berbahaya terutama berkaitan dengan sistem saraf[1].

Secara umum, penanganan limbah logam berat termasuk Pb(II) dapat dilakukan dengan tiga cara, yaitu kimia, fisika, maupun biologi, atau kombinasi ketiga metode tersebut. Upaya-upaya yang telah dikembangkan dalam mereduksi logam berat antara lain: reduksi flokulasi, membran filtrasi, presipitasi, elektrokimia, filtrasi, dan reverse osmosis. Sebagian besar dari metode ini membutuhkan biaya operasional dan pemeliharaan yang tinggi, serta menghasilkan lumpur beracun[2]. Karena biayanya cukup tinggi, maka metode-metode ini tidak cocok untuk industri skala kecil dan di negara-negara berkembang. Dari ketiga metode tersebut, diketahui pengolahan secara biologi cukup efektif dalam mengadsorpsi logam berat. Akan tetapi metode ini hanya



upaya untuk menguraikan logam berat dari air buangan dengan menggunakan mikroorganisme.

Biosorpsi adalah cara yang efektif untuk mengurangi ion logam beracun dengan sel mikroba hidup atau mati dari larutan air[3]. Proses ini dapat digunakan secara efisien untuk mereduksi volume limbah logam berat dengan konsentrasi rendah polutan. Jadi, proses ini tidak tergantung pada kelangsungan hidup biomassa[4]. Biosorpsi merupakan metode yang menjanjikan dalam proses menghilangkan ion logam beracun dari air limbah. Keuntungannya ini terutama dalam mereduksi volume limbah dengan konsentrasi rendah polutan. Keuntungan utama dari penerapan biosorpsi lebihnya pada metode-metode konvensional meliputi: biaya rendah, efisiensi yang baik, minimalisasi lumpur kimia dan biologi, regenerasi biosorben, dan kemungkinan pemulihan logam[4]. Penerapan mikroorganisme sebagai biosorben memiliki beberapa keuntungan, antara lain ukurannya yang kecil dan memiliki kemampuan untuk mengadsorpsi, dapat juga mengikat konsentrasi logam berat dari larutan air termasuk konsentrasi yang sangat encer [5]. Mikroorganisme yang sama dengan kelompok mikroba lainnya dapat juga mengakumulasi logam dari lingkungan luar atau lingkungan eksternal mereka dengan proses yang terjadi secara fisika, proses yang terjadi secara kimia serta mekanisme biologis [5].

Berbagai upaya dalam penanganan Pb(II) pernah dilakukan, antara lain oleh Hardiani, dkk.[6]. Penelitian tersebut menggunakan teknologi bioremediasi yang menggunakan mikroba sebagai metode pemulihan tanah yang terkontaminasi logam Pb. Dari penelitian ini keberhasilan bioremediasi dalam merubah logam aktif di dalam tanah menjadi tidak aktif oleh aktivitas mikroba



ditampilkan dengan adanya penurunan nilai koefisien distribusi fase tertukarkan serta peningkatan fase residual Pb[6].

Biosorpsi Pb(II) dan Cu(II) serta Cd(II) untuk biomassa *Sargassum duplicatum* dengan matrik silika gel juga pernah dilakukan oleh Buhani, dkk. [7].

Dari hasil penelitian mereka membuktikan bahwa biosorpsi Pb(II) dan Cu(II) serta Cd(II) untuk adsorben *S. duplicatum* hasil amobilisasi menggunakan silika gel meningkat dengan cepat pada waktu 15 menit dan optimum pada interval waktu 60 menit. Kapasitas biosorpsi untuk Pb(II) dan Cu(II) serta Cd(II) pada biomassa *S. duplicatum* yang teramobilisasi silika gel yaitu sebesar 125,2 mg/g untuk Pb(II), 152,23 mg/g untuk Cu(II), serta 158,18 mg/g untuk Cd(II), dan besarnya energi adsorpsi adalah 20-25 kJ/mol. Proses interaksi Pb(II) dan Cu(II) serta Cd(II) cenderung didominasi oleh gugus dari $-C=O$ karboksilat pada sel biomassa serta gugus $-Si-OH$ dari silika gel [7].

Penelitian lain dalam mengatasi pencemaran Pb(II) dan Cu(II) juga pernah dilakukan oleh Rumapar, dkk. [8]. Dari hasil penelitian yang dilakukan menunjukkan bahwa adsorpsi Pb(II) secara optimal terjadi menggunakan 1,2 g adsorben massa 1,2 g pada kondisi pH 5. Adapun adsorpsi Cu, kondisi adsorpsi optimum terjadi pada massa adsorben 0,8 g pada pH 6. Pada kondisi optimum, kompos bisa menyerap 95,13% Pb(II) dan 91,42% Cu(II). Adsorpsi Pb(II) dan Cu(II) menggunakan adsorben kompos enceng gondok mengikuti model Langmuir [8].

Upaya lain dalam menangani limbah Pb(II) juga pernah dilakukan oleh Heltina, dkk. [9]. menggunakan jamur *Trichoderma Asperrellum* TNJ-63. Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa maksimum penyerapan Pb(II) oleh jamur



Trichoderma asperellum TNJ-63 yaitu sebesar 98,24%. Proses biosorpsi Pb(II) untuk *Trichoderma asperellum* TNJ-63 menuruti model dari isotherm Freundlich.

Hasil ini menunjukkan bahwa penggunaan mikroorganisme sangat efektif dalam penyerapan ion Pb(II) [9].

Dari uraian di atas, terlihat bahwa penelitian-penelitian terdahulu dalam upaya mengatasi masalah limbah ion Pb(II) didominasi menggunakan teknik biosorpsi. Hal ini disebabkan karena proses biosorpsi mampu menurunkan kadar ion Pb(II) secara efektif serta operasionalnya sederhana. Akan tetapi masih perlu untuk mengeksplorasi mikroorganisme jenis lain dalam proses biosorpsi Pb(II).

Trichoderma viride merupakan suatu jenis mikroorganisme di dalam kelompok fungi yang bersifat selulolitik dikarenakan dapat menghasilkan enzim selulase. Terdapat banyak kapang yang bersifat selulolitik namun tidak banyak yang memproduksi enzim selulase yang dapat digunakan secara langsung tanpa sel bagi suatu usaha dalam jumlah yang besar. Salah satu kapang selulolitik yang cukup baik dalam menghasilkan enzim selulolitik adalah *T. viride*. Kapang *Trichoderma viride* bisa juga dikaitkan sebagai mikroorganisme yang mampu melenyapkan selulosa tingkat tinggi dan mempunyai kemampuan dalam mensintesis sebagian faktor esensial untuk melarutkan sebagian selulosa yang terikat erat dengan ikatan hidrogen [10].

Potensi dari mikroorganisme jenis ini pernah juga dibuktikan oleh Sujatha, dkk.[10]. Dari hasil penelitiannya menunjukkan bahwa biomassa *Trichoderma viride* efektif dan murah potensi adsorben untuk menghilangkan logam beracun Ni(II) dari larutan air[10].



Efektifitas dari mikroorganisme jenis ini juga pernah dilakukan oleh Bishnoi, dkk.[11]. Dari hasil penelitian yang mereka lakukan menunjukkan bahwa adsorben *Trichoderma viride* memiliki kemampuan yang efektif dalam menyerap Cr(VI) serta hasil eksperimen menunjukkan memuaskan dengan model Langmuir dan Freundlich isotherm[11].

Berdasarkan tinjauan diatas ternyata masih kurang yang meneliti tentang mikroorganisme *Trichoderma viride* serta masih perlu untuk mengkaji lebih lanjut mengenai proses biosorpsi dari *Trichoderma viride* dalam menyerap ion Pb(II). Penelitian ini bertujuan menguji efektivitas *Trichoderma viride* dalam larutan berair menggunakan parameter pH, konsentrasi, lama waktu kontak serta jumlah inokulum yang kemudian diaplikasikan langsung pada biosorpsi pada sampel air sungai.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang permasalahan di atas, maka rumusan masalah yang diangkat dalam penelitian ini yaitu sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh pH terhadap biosorpsi Pb(II) dalam larutan menggunakan *Trichoderma viride*?
2. Bagaimana pengaruh konsentrasi awal Pb(II) terhadap biosorpsi Pb(II) dalam larutan menggunakan *Trichoderma viride*?
3. Bagaimana pengaruh lama waktu kontak terhadap biosorpsi Pb(II) dalam larutan menggunakan *Trichoderma viride*?
4. Bagaimana pengaruh jumlah inokulum terhadap biosorpsi Pb(II) dalam larutan menggunakan *Trichoderma viride*?



5. Bagaimana perubahan dalam gugus fungsional pada *T. viride* selama proses biosorpsi Pb(II)?
6. Bagaimana hasil biosorpsi pada kondisi optimum biosorpsi Pb(II) yang didapatkan pada sampel air alamai padasungai Tidar, Landungsari dan Dinoyo.

1.3. Batasan Masalah

1. Analisis kuantitatif Pb(II) ditentukan berdasarkan metode spektrofotometri serapan atom (AAS).
2. Perubahan gugus fungsional pada *T. viride* ditentukan menggunakan FTIR spektrofotometri.
3. Larutan sampel yang digunakan adalah PbNO₃.
4. Variasi pH adalah 4; 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5; dan 7.
5. Variasi konsentrasi Pb(II) yaitu 30mg/L, 40mg/L, 50mg/L, 60mg/L, dan 70 mg/L.
6. Jumlah kultur jamur (inokulum) *Trichoderma viride* yang digunakan adalah 6, 8, 10, 12, dan 15 mL.
7. Penelitian dilakukan pada suhu kamar yaitu kisaran 25-30°C.
8. Sampel air yang digunakan berasal dari sungai; Tidar, Landungsari dan Dinoyo.

1.4. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pengaruh pH terhadap biosorpsi Pb(II) menggunakan *Trichoderma viride*.
2. Mengetahui pengaruh konsentrasi awal Pb(II) terhadap biosorpsi Pb(II) menggunakan *Trichoderma viride*.



3. Mengetahui pengaruh waktu kontak terhadap biosorpsi Pb(II) menggunakan *Trichoderma viride*.
4. Mengetahui pengaruh jumlah inokulum terhadap biosorpsi Pb(II) menggunakan *Trichoderma viride*.
5. Mengetahui perubahan gugus fungsional yang terlibat dalam proses biosorpsi Pb(II) menggunakan *Trichoderma viride*.
6. Mengetahui hasil biosorpsi Pb(II) menggunakan *Trichoderma viride* pada sampel air alami dari sungai Dinoyo, Landungsari, dan Tidar, pada kondisi optimum yang didapatkan.

1.5. Manfaat Penelitian

Penelitian ini dapat memberikan informasi tentang kondisi optimum pada proses biosorpsi Pb(II) menggunakan *Trichoderma viride* yang meliputi pH, waktu kontak, jumlah inokulum dan konsentrasi. Selain itu, penelitian ini juga memberikan solusi pengurangan konsentrasi Pb(II) pada perairan, terutama yang tercemar oleh Pb(II).



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Timbal (Pb)

Plumbum (Pb) yaitu logam lunak yang memiliki warna abu-abu kebiruan dan mengkilat, mempunyai titik lebur rendah, mudah diubah, ciri kimianya aktif dan biasanya dapat dipakai serta digunakan untuk proses pelapisan logam agar tidak dapat menimbulkan perkaratan. Pb yang dicampurkan dengan logam lain akan memproduksi logam campuran yang lebih bagus dibandingkan logam murninya. Pb merupakan suatu logam lunak dengan memiliki ciri warna abu-abu kebiruan mengkilat serta simpel dan mudah dimurnikan dari pertambangan. Pb bentuknya sulfid dan memiliki gravitasi 11,34 dengan berat atomnya adalah 207,20, dapat meleleh pada kisaran suhu 3280C (6620F), serta memiliki titik didih 1.7400C (3.1640F) [12]. Timbal (Pb) tergolong dalam golongan IV-A didalam tabel periodik unsur kimia,serta mempunyai nomor atom (NA) 82 dengan berat atom (BA) 207,2 [13].

Berikut merupakan sifat-sifat khusus yang dimiliki oleh logam timbal (Pb) sebagai berikut [13]:

- ✓ Timbal (Pb) adalah jenis logam lunak, yang dapat dipotong dengan menggunakan pisau atau dengan menggunakan tangan serta dapat dibentuk dengan lebih mudah.



Gambar 2.1.Plumbum (Pb)

- ✓ Timbal (Pb) adalah logam yang dapat



bertahan terhadap peristiwa karat atau korosi, sehingga seringkali digunakan sebagai bahan coating.

- ✓ Titik leburnya rendah hanya kisaran 327, 5°C.
- ✓ Mempunyai struktur kerapatan yang lebih tinggi dibanding dengan jenis logam-logam lainnya, terkecuali emas dan merkuri.
- ✓ Merupakan pengantar listrik yang baik

2.1.1 Sifat Umum Timbal (Pb)

Timbal (Pb) sering digunakan untuk berbagai keperluan karena memiliki sifat kimia diantaranya sebagai berikut [14]:

- Titik cairnya rendah sehingga jika digunakan dalam bentuk cair dibutuhkan metode yang cukup sederhana dan murah biaya.
- Merupakan jenis logam yang lunak sehingga bisa didesain menjadi berbagai bentuk.
- Sifat kimia dari timbal (Pb) dapat menyebabkan logam ini dapat aktif sebagai lapisan pelindung jika kontak dengan udara yang lembab.
- Timbal (Pb) dapat bercampur dengan logam lainnya, sehingga dapat membentuk campuran yang mempunyai sifat sangat berbeda dengan timbal (Pb) yang murni.
- Timbal (Pb) densitasnya lebih tinggi dibandingkan dengan logam-logam lainnya terkecuali logam emas dan juga logam merkuri.



2.1.2 Timbal(II) Nitrat

Timbal(II) nitrat adalah suatu jenis senyawa anorganik dengan rumus kimianya yaitu $Pb(NO_3)_2$. Senyawa ini sering dijumpai dalam bentuk kristal tak berwarna atau serbuk yang putih dan, tidak seperti kebanyakan garam timbal(II) lainnya, larut dalam air. Timbal(II) nitrat bersifat senyawa toksik, suatu oksidator,



Gambar 2.2. Timbal(II) Nitrat

dan digolongkan sebagai berpotensi karsinogenik pada manusia oleh lembaga Internasional dan Penelitian Kanker (*International Agency for Research on Cancer*). Maka dari itu, logam timbal(II) nitrat perlu disimpan dan ditangani dengan tindakan pencegahan keselamatan yang layak untuk mencegah terhirup dan tertelan, serta terkena kulit. Oleh karena sifat alami dari logam ini sangat berbahaya bagi organism hidup, maka timbal(II) nitrat perlu berada di bawah pengawasan ketat.

2.1.3 Timbal (Pb) dalam Perairan.

Timbal (Pb) dan persenyawaannya dapat terkandung di dalam perairan secara proses alamiah dan sebagai dampak dari kegiatan manusia. Logam timbal yang masuk ke dalam sistem perairan sebagai dampak aktivitas dari kehidupan manusia diantaranya adalah air buangan bijih timah hitam dari pabrik-pabrik dan buangan sisa dari industri baterai serta bahan bakar angkutan air. Berdasar proses alamiah, masuknya timbal ke badan perairan melalui proses pengkristalan timbal yang terjadi di udara dengan bantuan dari air hujan. Proses lainnya yaitu korosifikasi yang terjadi dari batuan mineral karena adanya hempasan gelombang



serta angin, hal ini juga adalah salah satu jalur sumber timbal yang akan masuk di dalam perairan. Senyawa timbal yang ada di dalam perairan dapat dijumpai dalam bentuk ion-ion divalen (Pb^{2+}), atau ion-ion tetravalen (Pb^{4+}). Ekosistem atau lingkungan perairan yang telah terkontaminasi ion-ion dari senyawa timbal yang melebihi ambang konsentrasi semestinya, dapat mengakibatkan kematian bagi organisme atau biota di perairan [13].

2.1.4 Dampak Timbal terhadap Kesehatan Masyarakat

Selain dalam struktur logam yang murni, biasanya timbal juga sering ditemukan dalam bentuk senyawa organik dan senyawa anorganik. Semua bentuk timbal tersebut memiliki pengaruh yang sama terhadap toksisitas bagi manusia [15]. Senyawa tetraetil-timbal dapat membawa dampak keracunan akut bagi sistem saraf pusat. Walaupun kapasitas atau jumlah penyerapan timbal oleh tubuh hanya sedikit, namun senyawa atau logam ini masih menjadi toksik yang sangat berbahaya dan hal tersebut dapat mengganggu bagian-bagian fungsi organ yang terdapat dalam tubuh [13]. Efek samping dari terkontaminasi logam Pb yang terjadi dapat mengakibatkan hal-hal sebagai berikut:

- a. Kadar ALA (d-Amino Levulinic Acid) dalam darahserta urine menjadi tinggi.
- b. Menaikan kadar proporphirin di dalam sel darah merah.
- c. Memperpendek umur dari sel darah merah.
- d. Jumlah sel darah merah berkurang.
- e. Berkurangnya jumlah retikulosit
- f. Menaikan kandungan logam besi dalam plasma darah.



Sistem pada saraf memiliki sistem yang paling sensitif terhadap adanya daya racun yang ditimbulkan oleh logam timbal. Keracunan timbal Pb dapat membuat kerusakan pada sel otak yaitu halusinasi, epilepsi, serta kerusakan bagi otak besar.

Tahapan atau proses toksisitas timbal berdasarkan kelas organ yang dipengaruhinya adalah [12]:

- Sistem haemopoietik: dimana Pb menghambat sistem pembentukan hemoglobin sehingga menyebabkan anemia.
- Sistem saraf: dimana Pb menimbulkan kerusakan otak dengan gejala epilepsi dan halusinasi, kerusakan otak besar, serta delirium.
- Sistem urinaria: dimana Pb bisa menimbulkan aminosiduria serta lesi tubulus proksimalis, loop of henle.
- Sistem gastro-intestinal: dimana Pb dapat menyebabkan kolik dan konstipasi.
- Sistem kardiovaskuler: dimana Pb dapat menyebabkan kenaikan permeabilitas pembuluh darah.
- Janin yang belum lahir atau sistem reproduksi berpengaruh terutama terhadap gametotoksitas dapat menjadi peka terhadap Pb. Pada Ibu hamil yang terpapar ion dari Pb dapat mengalami keguguran kandungan, tidak berkembangnya sel otak embrio, menyebabkan kematian janin waktu lahir, dan hipospermia, serta teratospermia pada pria.
- Pb dapat mempengaruhi sistem endokrin, dimana Pb bisa mengakibatkan gangguan pada fungsi fungsi adrenal dan tiroid
- Jika dalam dosis yang tinggi maka dapat bersifat karsinogenik



2.1.5 Penentuan kadar Pb secara Spektrofotometer Serapan Atom (SSA)

Spektrofotometer Serapan Atom dapat dikatakan sebagai suatu alat yang biasanya digunakan pada metode analisis untuk menentukan elemen-elemen logam dan metaloid yang didasarkan pada penyerapan radiasi oleh atom yang bebas. Prinsip dari metode Spektrofotometri Serapan Atom adalah Penentuan kadar logam berat yang dilandaskan pada hukum Lambert-Beer yaitu proses absorbansi berbanding sejajar lurus dengan panjang dari nyala yang dilewati oleh sinar serta konsentrasi uap atom dalam nyala [16].

$$A = \epsilon \cdot b \cdot c \dots \dots \dots (2.1)$$

Dengan ketentuan A adalah absorbansi, c adalah konsentrasi, b adalah tebal larutan dan ϵ adalah koefisien absorptivitas molar[17].

Pada proses atau analisis SSA, sampel yang diinjeksi melalui selang kecil yang dicelupkan di dalam labu ukur merupakan proses untuk menganalisis sampel. Pada selang tersebut, biasanya sampel disemprotkan agar menjadi aerosol atau butiran-butiran air yang akan dibakar melalui tungku yang terdapat pada alat tersebut dengan tingginya suhu yaitu pada kisaran 1000°C. dalam proses pembakaran lampu katoda yang berfungsi untuk logam Pb akan menyala lalu cahaya tersebut masuk melalui pori kecil yang terdapat di dalam alat SSA. Api yang dikenai sinar dari lampu katoda (Pb) akan menentukan kadar logam Pb yang terkandung di dalam sampel air. Dari proses tersebut, cahaya atau sinar yang dihantarkan ke detektor yang akan membaca data kemudian menampilkan gambar grafik pada layar komputer. Sehingga pada perobaan yang dilakukan akan diperoleh hasil uncalibrate pada komputer yang kemudian akan digunakan sebagai hasil untuk dapat dianalisis.



2.2 Biosorpsi

Biosorpsi merupakan teknik dalam pemurnian suatu campuran dengan bantuan biomaterial/ bahan biologis/bahan alami. Adapun sejatinya teknik ini didasarkan pada prinsip adsorpsi dan koagulasi. Biosorpsi merupakan metode yang menjanjikan untuk menghilangkan ion logam beracun dengan sel mikroba hidup dan mati dari larutan air[3]. Hal ini dapat digunakan secara efisien untuk pengobatan volume besar limbah dengan konsentrasi rendah polutan. Jadi, proses tidak tergantung pada kelangsungan hidup biomassa [4]. Penerapan jamur sebagai biosorben memiliki macam fungsi dan beberapa keuntungan karena ukurannya yang kecil, mudah ditemukan pada lingkungan dan kemampuan untuk Biosorpsi adalah mengikat dan konsentrasi logam berat dari larutan air (termasuk konsentrasi yang sangat encer) oleh jenis tertentu tidak aktif dan mati serta hidup mikroba biomassa[5]. Jamur yang sama dengan kelompok mikroba lainnya dapat mengakumulasi logam dari lingkungan eksternal mereka dengan cara fisika-kimia dan mekanisme biologis [5]. Biosorpsi juga merupakan suatu metode yang menjanjikan untuk menghilangkan ion logam beracun dari air limbah. Keuntungannya ini terutama dalam pengobatan volume besar limbah dengan konsentrasi rendah polutan. Keuntungan utama dari biosorpsi lebihnya Pada metode pengobatan konvensional meliputi: Biaya rendah, efisiensi yang baik, minimalisasi lumpur kimia dan biologi, regenerasi biosorben, dan kemungkinan pemulihan logam[4].



2.3 Faktor-faktor yang mempengaruhi Biosorpsi

Ada beberapa faktor yang mempengaruhi daya adsorpsi, antara lain[18]:

- **Luas permukaan adsorbat**

Jika semakin luas permukaan dari adsorben, akan makin banyak pula zat yang dapat teradsorpsi. Luas permukaan adsorben dapat ditentukan dengan ukuran partikel dan jumlah dari adsorben.

- **Jenis adsorbat**

Peningkatan polarisabilitas adsorbat akan menaikkan kemampuan adsorpsi molekul yang memiliki polarisabilitas tinggi (polar) mempunyai kemampuan untuk dapat menarik molekul-molekul lain dibandingkan dengan molekul yang tidak dapat membentuk dipol (non polar).

Meningkatnya berat dari molekul adsorbat maka dapat menaikkan daya dan kemampuan adsorpsi. Adsorbat yang biasanya mempunyai rantai bercabang akan lebih mudah untuk diserap dibandingkan dengan adsorbat rantai yang lurus.

- **Struktur molekul adsorbat**

Hidroksil dan amino dapat menurunkan kemampuan penyisihan atau proses adsorpsi sedangkan Nitrogen dapat menaikkan kemampuan atau proses adsorpsi.

- **Konsentrasi Adsorbat**

Jika konsentrasi adsorbat semakin besar di dalam suatu larutan maka jumlah substansi semakin banyak yang terkumpul pada permukaan dari adsorben.

- **Temperatur**

Pengaktifan adsorben dengan proses pemanasan dapat meningkatkan daya serap dari adsorben terhadap adsorbat yang menyebabkan pori-pori adsorben akan



lebih terbuka. Pemanasan yang terlalu tinggi bisa menyebabkan kerusakan pada adsorben sehingga dapat menurunkan kemampuan penyerapannya.

- **pH**

derajat keasaman dapat memberikan pengaruh pada kelarutan ion logam karena aktivitas dari gugus fungsi pada biosorben serta persaingan dari ion logam dalam proses adsorpsi.

- **Kecepatan pengadukan**

Jika pengadukan yang terlalu lambat maka proses dari adsorpsi akan berlangsung lambat pula, tetapi jika pengadukan terlalu cepat kemungkinan yang terjadi yaitu struktur pada adsorben lebih mudah rusak, sehingga proses adsorpsi yang terjadi kurang optimal.

- **Waktu Kontak**

Pada waktu kontak yang menghasilkan kapasitas dan presentase adsorpsi tertinggi atau maksimum dapat terjadi pada waktu kesetimbangan.

- **Waktu kesetimbangan dipengaruhi oleh:**

- ciri biomassa (jenis ruang pengikatan), fisiologi dan ukuran dari biomasa baik itu aktif maupun tidak aktif, ion yang terkait dalam mekanisme adsorpsi serta konsentrasi dari ion logam.

2.4 Trichoderma Viride

Trichoderma viride didefinisikan sebagai suatu jenis jamur yang memiliki sifat selulolitik karena dapat memproduksi enzim selulase. Banyak jenis kapang yang memiliki sifat selulolitik tetapi tidak banyak yang dapat memproduksi enzim selulase yang cukup banyak agar dapat digunakan secara langsung tanpa sel bagi suatu usaha dalam jumlah besar. *Trichoderma viride*. adalah jenis kapang



selulolitik yang tergolong cukup baik dalam memproduksi enzim selulolitik.

Trichoderma viride bisa tergolong dalam mikroorganisme yang mampu menghancurkan atau mengurangi selulosa tingkat tinggi dan mempunyai ciri serta kemampuan dalam mensintesis beberapa faktor esensial untuk melarutkan sebagian selulosa yang terikat erat dengan ikatan hidrogen. Adapula yang mengasumsi bahwa *T. viride* merupakan jenis jamur yang berpotensi efektif dalam memproduksi jumlah selulase yang banyak untuk dapat mendegradasi selulosa. *Trichoderma viride* juga termasuk dalam kumpulan jamur selulolitik yang dapat mengurai atau merubah glukosa dengan memproduksi enzim kompleks selulase. Enzim ini memiliki fungsi sebagai agen pengurai yang spesifik dalam menghidrolisis ikatan kimia dari selulosa serta turunannya [19].

Klasifikasi dari kapang *Trichoderma viride* yaitu sebagai berikut ini :

- ✓ Tingkatan Fungi
- ✓ Kelompok Amastigomycota
- ✓ Subdivisio Deuteromycotina
- ✓ Kelas Deuteromycetes
- ✓ Bangsa Moniliales
- ✓ Suku Moniliaceae
- ✓ Marga *Trichoderma*
- ✓ Jenis *Trichoderma viride*



Gambar 2.3 *Trichoderma viride*

2.4.1 Keuntungan *Trichoderma Viride*

Keuntungan *T. viride* sebagai sumber penghasil selulase adalah memproduksi selulase secara utuh dengan semua komposisi-komposisi yang diperlukan didalam menghidrolisis total selulosa kristal serta jumlah protein



didalam selulosa yang dihasilkan cukup tinggi. Jenis QM 9414 dan QM9124 adalah jenis dari *T. viride* yang diketahui dapat menghasilkan enzim selulase yang sangat baik yang telah dikembangkan di sebuah Laboratorium Natick Masaschucetts USA.

Selain itu *T. viride* biasanya dipakai didalam penelitian karena memiliki beberapa keunggulan, dinataranya sebagai berikut :

- Menghasilkan selulase yang mengandung banyak komponen-komponen sehingga dapat digunakan untuk proses hidrolisis seluruh kristal dari selulosa.
- Kualitas yang dihasilkan memiliki kandungan protein selulase dengan kualitas yang sangat tinggi.

Selain memiliki keuntungan, *T. viride* juga memiliki kerugian, yaitu:

- Kurang memiliki kemampudalam mendegradasi lignin.
- Selulase yang diperoleh memiliki aktivitas spesifik yang rendah.
- β -glukosidase yang diperoleh memiliki tingkatan atau level yang rendah.

Selulase yang biasanya dihasilkan oleh *T. viride* terkandung komposisi-komposisi terbesar berupa β -1,4-glukan-selobiohidrolase (C1) dan selobiase, sedangkan komposisi β -1,4-glukan-selobiohidrolase (Cx) hanya dalam jumlah kecil. Selulase yang diproduksi mengandung jumlah asam-asam amino tertentu [34], yaitu :

- Aspartat dan glutamate merupakan golongan asam amino yang bersifat asam.
- Serin, treonin, dan glisin yaitu golongan asam amino polar.
- asam amino dasar dalam jumlah kecil.
- Sebagian kecil golongan asam amino sulfur.



Saat ini *T. viride* tergolong dalam kelompok mikroorganisme fungsional yang dikenal luas sebagai pupuk biologis tanah. Pupuk biologis dari *T. viride* dapat diproduksi dengan cara inokulasi biakan murni pada media yang tergolong aplikatif, misalnya sekam atau dedak. Sedangkan *T. viride* dengan biakan murni dapat diproduksi melalui proses isolasi dengan perakaran tanaman, dan dapat diperbanyak serta diremajakan kembali melalui media PDA (Potato Dextrose Agar) [20].

2.4.2 Teknik Perkembangbiakan Mikroba

Inokulasi adalah proses pemindahan bakteri dari media yang lama ke media yang baru dengan menggunakan loop atau spereder. Perangkat alat yang akan digunakan harus dalam kondisi steril. Hal ini agar dapat menghindari terjadinya kontaminasi, seperti masuknya mikroba lain yang tidak diinginkan sehingga biakan yang tumbuh di dalam media tersebut adalah benar-benar biakan hasil murni. seringkali bakteri patogen dapat terkandung bersama-sama dengan bakteri saprofit[21]. Ruang atau tempat dari penanaman bakteri kondisinya harus steril dan bersih agar tidak terjadi kesalahan dalam pengamatan dan penelitian. Inokulasi dapat dilakukan dalam sebuah lemari kaca tertutup yang biasa disebut laminar air flow atau dalam ruangan yang terjaga lingkungan kesterilannya[22].

Ada beberapa cara atau mekanisme yang digunakan dalam mengisolasi biakan murni dari mikroorganisme yaitu:

➤ Metode Gores

Jika ditinjau dari sudut ekonomi serta waktu, biasanya teknik ini lebih menguntungkan tetapi memerlukan keterampilan atau teknik yang diperoleh dengan cara latihan. Teknik penggoresan yang baik dapat menghasilkan koloni



yang terpisah. Inokulum biasanya digoreskan pada permukaan media agar nutrisi di dalam cawan petri dengan jarum ose atau jarum pindah (lup inokulasi). Garis-garis goresan yang tumbuh sebagai sel-sel terpisah akan dapat berkembangbiak menjadi sel koloni dalam jumlah yang banyak. Teknik atau cara penggarisan dilakukan pada media pembiakan padat yang berbentuk lempengan. Jika proses dilakukan dengan baik maka teknik inilah yang paling praktis. Proses pengerjaannya berbeda pada setiap laboratorium tetapi memiliki tujuan yang sama yaitu untuk membuat goresan dalam jumlah yang banyak pada lempengan media tempat pembiakan.

➤ **Metode Tebar**

Satu tetes inokulum yang diteteskannya biasanya disimpan didalam sebuah media agar nutrisi didalam cawan petridish dengan menggunakan batang kaca bengkok dalam kondisi steril. Proses penyebaran inokulum dalam media agar menggunakan batang yang sama untuk digunakan dalam menginokulasikan kedua pinggan dengan menjamin proses penyebaran bakteri dapat merata dengan baik.

➤ **Metode Tuang**

Pada teknik ini media cair akan diencerkan melalui cara pengenceran untuk dapat menurunkan jumlah sel atau koloni dari mikroorganisme sehingga pada proses selanjutnya hanya ditemukan satu sel yang hidup di dalam tabung.

➤ **Metode Tusuk**

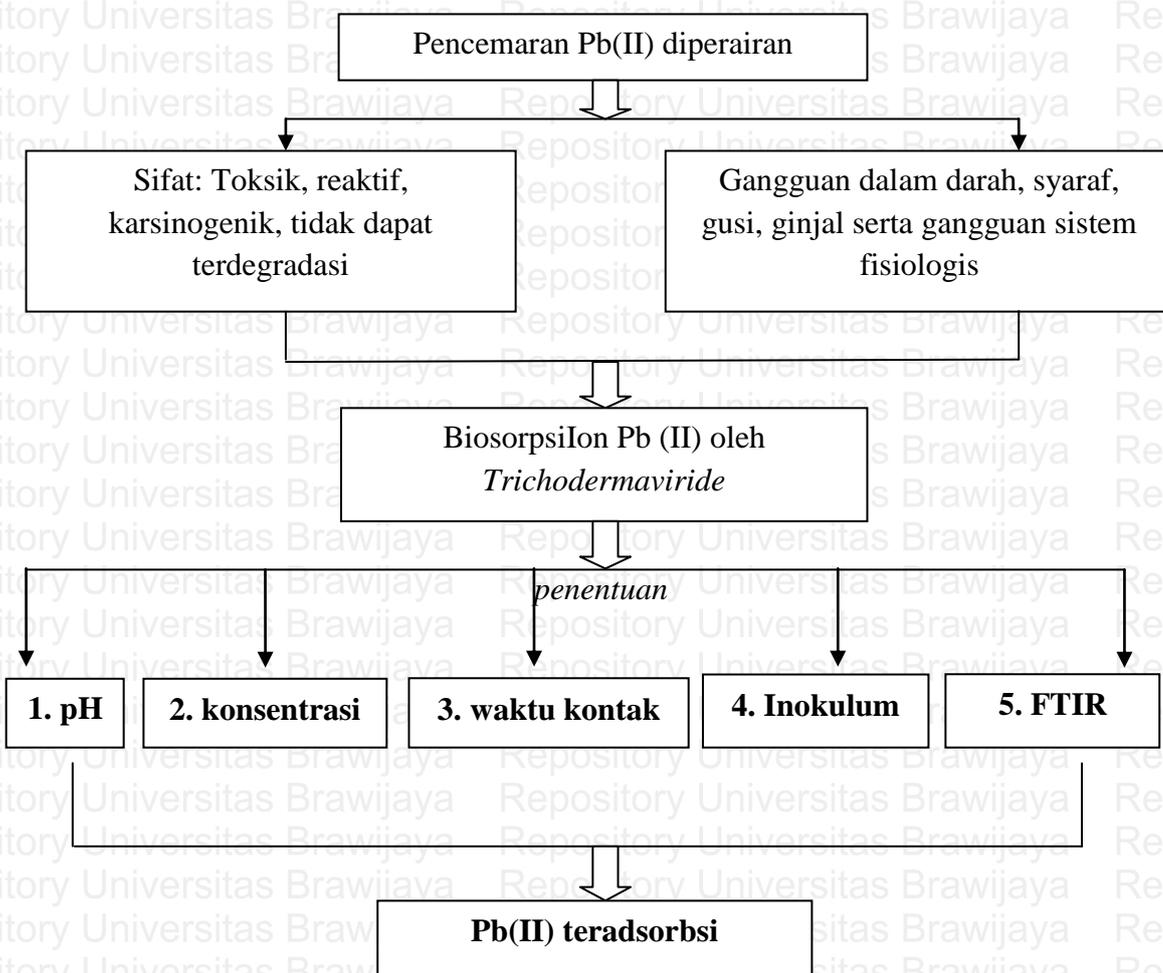
Metode atau teknik ini dilakukan dengan cara menusukkan ujung dari jarum ose yang didalamnya terkandung inokulum yang kemudian dimasukkan di dalam lempengan media.



BAB III

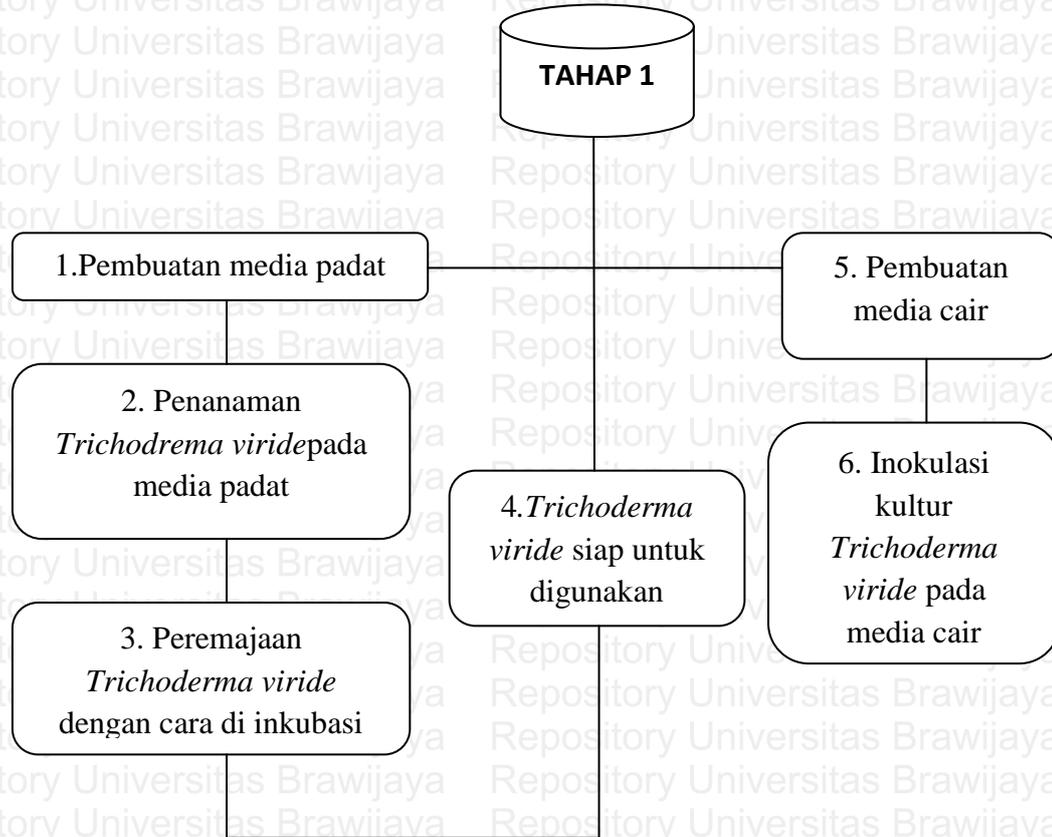
KERANKA PENELITIAN

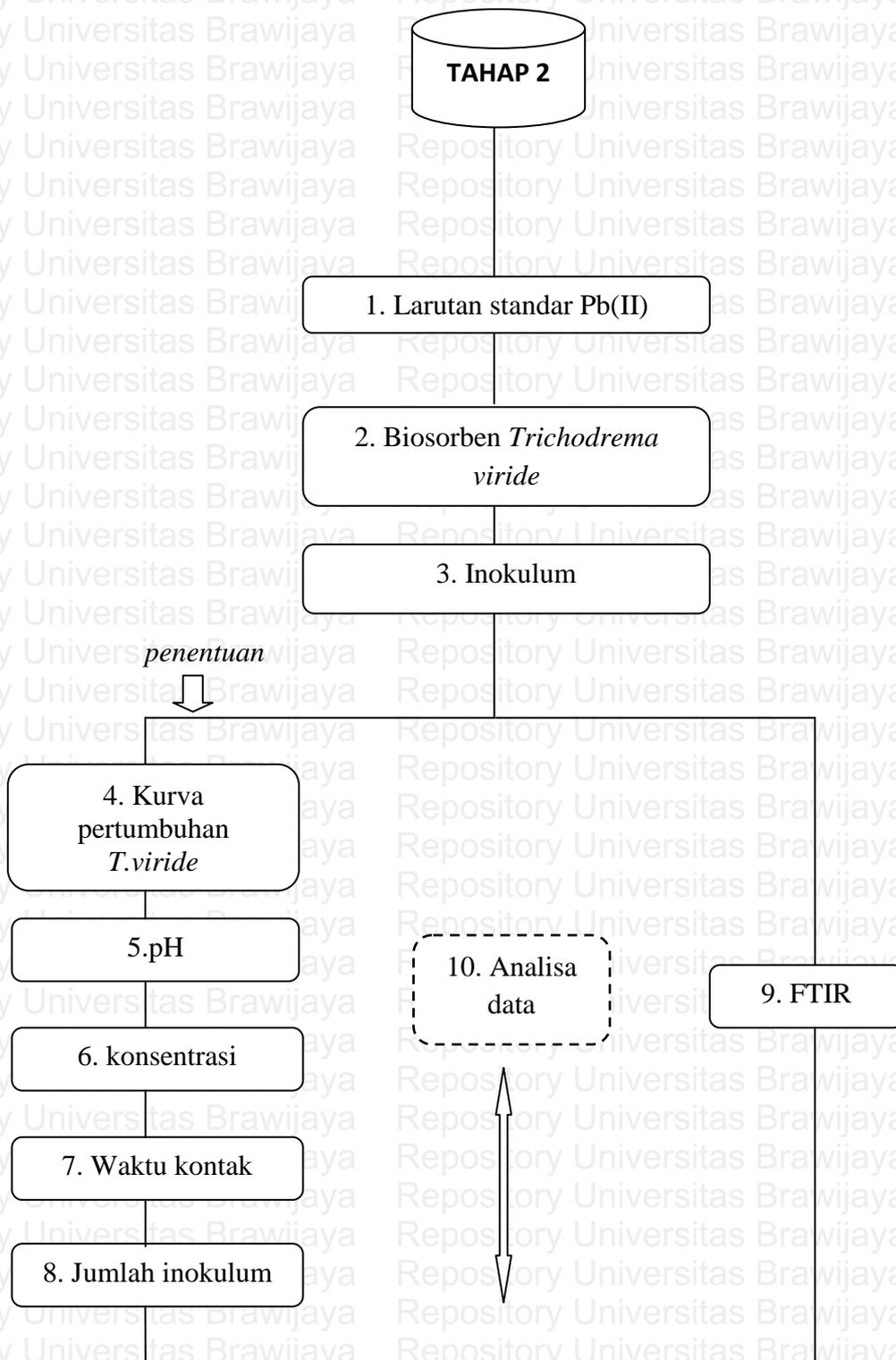
3.1 Kerangka Konsep





3.2. Kerangka operasional







3.3 Hipotesis Penelitian

Konsentrasi Pb(II) didalam larutan berair dan konsentrasi dalam sampel air sungai Tidar, Landungsari dan Dinoyo dapat dikurangi dengan proses biosorpsi menggunakan *T. viride*, dengan memperhatikan faktor-faktor yang berpengaruh antara lain pH, konsentrasi, waktu kontak, jumlah inokulum.



BAB IV

METODOLOGI PENELITIAN

4.1 METODE PENELITIAN

4.1.1 Alat-alat Penelitian

Instrumen yang digunakan dalam melakukan penelitian adalah rak tabung reaksi, tabung reaksi, gelas beaker, labu ukur 100 mL dan 500 mL, gelas ukur 100 mL, pipet tetes, pipet ukur, pipet volume, pengaduk, kertas saring, jarum ose, aluminium foil, bola hisap, hot plate, neraca analitik, turbidimeter (HACH) dan Hemsyrometer, pH meter merk schott-Gerate tipe C6-820, autoklaf merk LS-C35L, Burner, incubator merk HS, pipet micro, Laminar flow, AAS (6200/Shimadzu) serta FTIR spectrophotometer (8400S/Shimadzu).

4.1.2 Bahan-bahan Penelitian

Bahan penelitian yang digunakan adalah kultur kapang *Trichoderma viride* sebagai bioadsorben yang diperoleh dari Laboratorium Biokimia jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya. Selain itu ada juga bahan-bahan kimia yang digunakan mempunyai derajat kemurnian pro analisis antara lain; CoCl_2 , CaCl_2 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 , Na_2HPO_4 , HCl , dan $(\text{PbNO}_3)_2$, NaOH , NaCl , $\text{NaKC}_4\text{O}_6\text{H}_4$ (NaK-tartrat), KCl , NH_4Cl , $\text{CH}_3\text{COOH} 100\%$ (Bj:1,05g/mL), *Metylen blue*, K_2HPO_4 , dextrosa, fenol, CH_3COONa , kentang, pepton, tepungagar, urea, serta aquades.



4.2. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juli sampai Desember 2017 di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya Malang.

4.3. Tahapan Penelitian

Penelitian yang akan dilakukan beberapa tahapan, yaitu

1. Pembuatan Media Padat
2. Peremajaan biakan *Trichoderma viride*
3. Pembuatan Media cair
4. Pembuatan inokulum
5. Pembuatan Larutan Induk Dan Larutan Standar Pb(II) Serta Kurva Baku
6. Penentuan kurva Pertumbuhan *Trichoderma viride*
7. Penentuan Pengaruh pH
8. Penentuan pengaruh konsentrasi Pb(II)
9. Penentuan Pengaruh Waktu Kontak
10. Penentuan jumlah sel *Trichoderma viride* dengan hemositometer
11. Penentuan pengaruh jumlah inokulum *Trichoderma viride*
12. Penentuan perubahan gugus fungsional dengan FTIR
13. Penentuan biosorpsi Pb(II) pada sampel air sungai
14. Analisa data

4.4 Prosedur Kerja

4.4.1 Pembuatan Media Padat

Medium atau perantara yang digunakan untuk dapat menumbuhkan dan mengembangbiakkan jamur *Trichoderma viride* adalah media padat PDA



(*Potatoes Dextrose Agar*). Pembuatan media padat PDA dengan cara sebagai berikut: kentang dikupas, dipotong kecil-kecil dan dicuci bersih dengan aquades.

Kemudian ditimbang sebanyak 20 gram, ditambahkan aquades hingga 100 mL dan dipanaskan hingga mendidih selama 1 jam. Selama proses pemanasan volume air harus tetap 100 mL dengan ditambahkan aquades sedikit demi sedikit. Setelah itu, disaring menggunakan kertas saring dan sari kentang yang diperoleh ditambahkan 2 gram dextrose, 1 mL buffer asetat pH 5, dan 1,5 gram tepung agar.

Setelah itu dipanaskan lagi hingga mendidih sambil diaduk dengan stirrer. Setelah mendidih, larutan PDA dipipet sebanyak 4 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditutup dengan kapas, dilapisi dengan kertas coklat, dan ikat dengan karet. Setelah itu, larutan PDA disterilkan dengan diautoklaf selama 15 menit pada temperatur 121 °C dengan tekanan 15 psi. Larutan PDA yang telah disterilkan diangkat dan didinginkan dengan posisi miring pada temperatur ruang.

4.4.2 Peremajaan biakan murni *Trichoderma viride*

Peremajaan biakan murni *Trichoderma viride* dilakukan didalam *laminar air flow* yang telah disterilkan dengan alkohol 70% yang dilengkapi dengan beberapa bunsen didalamnya. Jarum ose dilewatkan dalam nyala api Bunsen sampai menimbulkan warna merah bata, tabung biakan murni *Trichoderma viride* dan tabung biakan media padat juga dilewatkan nyala api bunsen agar tetap steril. Kemudian, satu mata ose spora *Trichoderma viride* dipindahkan secara aseptis kedalam tabung media padat PDA. Setelah itu mulut tabung dilewatkan dalam nyala api bunsen dan segera ditutup dengan kapas dan dilapisi dengan kertas coklat, dan diikat dengan karet. Setelah itu tabung diinkubasi dalam inkubator selama 144 jam (6 hari) pada temperatur 30°C.



4.4.3 Pembuatan Media Cair

Persiapan pembuatan media cair dengan ditimbang sebanyak 0,15 gram CaCl_2 ; 0,15 gram $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,7 gram $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; 0,1 gram KH_2PO_4 ; 0,5 mL asam oleat, dan 0,25 gram pepton, menggunakan neraca analitik. Semua bahan yang telah ditimbang dimasukkan ke dalam gelas kimia 500 mL dan ditambahkan aquades sampai volume 250 mL. Kemudian ditambahkan buffer asetat sebanyak 1 mL, dipanaskan sampai mendidih dan diaduk menggunakan stirrer. Setelah itu Erlenmeyer ditutup dengan kapas, dilapisi dengan kertas coklat, dan diikat dengan karet. Kemudian diautoklaf selama 15 menit pada temperatur 121°C dengan tekanan 15 psi.

4.4.4 Pembuatan Inokulum

Pembuatan inokulum dilakukan dengan satu tabung spora hasil biakan murni *Trichoderma viride* yang berumur 144 jam (6 hari) disuspensikan dalam 1 mL akuades steril dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 mL yang berisi 100 mL media cair steril yang dilakukan di dalam *laminar air flow*. Kemudian, diinkubasi dengan shaker selama 36 jam (fase pertengahan logaritma) dengan kecepatan 15 rpm pada temperatur ruang. Suspensi ini berfungsi sebagai inokulum.

4.4.5 Pembuatan Larutan induk dan larutan Standar Pb Serta Kurva Baku

Diilartkan 0,5 gram $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ dengan aquades, kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 500 mL lalu diencerkan hingga tanda batas. Kemudian dipipet 10 mL larutan induk $\text{Pb}(\text{II})$ 500 mg/L ke dalam labu takar 100 mL lalu ditepatkan dengan larutan pengencer yang terbuat dari campuran asam nitrat pekat dengan aquades sehingga pH larutan menjadi 2 kemudian diencerkan dengan aquades



hingga tanda batas. Untuk membuat larutan standar kemudian dipipet 0 mL, 6 mL, 8 mL, 10 mL, 12 mL dan 14 mL larutan baku $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 100 ppm ke dalam labu takar 100 mL lalu diencerkan sampai tanda batas sehingga mempunyai konsentrasi Pb 0 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm, 12 ppm dan 14 ppm.

Selanjutnya larutan standar Pb(II) dengan konsentrasi Pb 0 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm, 12 ppm dan 14 ppm kemudian masing-masing ditambahkan aquadest pada labu takar 100 mL sampai tanda batas lalu diukur absorbansinya pada panjang gelombang tertentu. Kemudian dibuat kurva hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi larutan Pb(II).

4.4.6 Penentuan Pengaruh pH

Larutan kerja Pb(II) 50 mg/L pH 2 dibuat dengan cara mengambil sebanyak 50 mL larutan induk Pb(II) 500 mL, diencerkan ke 100 mL dan dimasukkan dalam 6 erlenmeyer 100 mL berbeda. Masing-masing larutan diatur pada pH yang diinginkan yaitu (4,4,5, 5, 5,5,6, 6,5 dan 7) pada larutan diatur dengan menambahkan HCl 0,1 M atau NaOH 0,1 M kemudian diencerkan dengan aquadest sampai tanda batas. Selanjutnya masing-masing larutan Pb(II) 50 mg/L pH 2 diambil sebanyak 40 mL dan dipindahkan ke dalam gelas beker dan ke dalam masing-masing gelas beker ditambahkan inokulum 10 mL. Kemudian di-shaker sampai fasa log dengan suhu ruang 25 °C. Setelah itu larutan didiamkan selama 5 menit kemudian disaring menggunakan kertas saring, ditempatkan dalam erlenmeyer 100 mL, kemudian diukur absorbansinya menggunakan AAS. Data yang diperoleh dari analisis AAS digunakan untuk membuat grafik hubungan antara kapasitas adsorpsi dan pH. Nilai pH yang memberikan kapasitas adsorpsi tertinggi digunakan sebagai pH optimum.



4.4.7 Penentuan Pengaruh Waktu Kontak

Sebanyak 40 mL larutan Pb(II) 50 mg/L pH 2 dimasukkan ke dalam 6 gelas beker 50 mL berbeda. Kemudian ke dalam masing-masing gelas beker ditambahkan inokulum dengan menggunakan variasi waktu interaksi yang diinginkan antara lain 20, 30, 40 dan 50, 60, 72 jam. Kemudian dishaker sampai fasa log dengan suhu ruang 25 °C. Setelah itu larutan didiamkan selama 5 menit kemudian disaring menggunakan kertas saring, ditempatkan dalam erlenmeyer 100 mL, kemudian diukur absorbansinya menggunakan AAS. Data yang diperoleh dari analisis AAS digunakan untuk membuat grafik hubungan antara kapasitas adsorpsi dan waktu kontak. Nilai waktu kontak yang memberikan kapasitas adsorpsi tertinggi digunakan sebagai waktu kontak optimum.

4.4.8 Penentuan Penentuan pengaruh konsentrasi Pb(II)

Dibuat variasi konsentrasi yang diinginkan yaitu 30, 40, 50, 60 dan 70 mg/L dari larutan baku Pb(II) masing-masing konsentrasi Pb(II) dipipet sebanyak 40 mL dan kemudian dimasukan dalam Erlenmeyer lalu ditambahkan inokulum *Trichoderma viride*, tetapi sebelumnya diukur absorbansi larutan Pb(II) pada panjang gelombang maksimum. Kemudian dishaker sampai fasa log dengan suhu ruang 25 °C. Setelah itu larutan didiamkan selama 5 menit kemudian disaring menggunakan kertas saring, ditempatkan dalam Erlenmeyer 100 mL, kemudian diukur absorbansinya menggunakan AAS. Data yang diperoleh dari analisis AAS digunakan untuk membuat grafik hubungan antara kapasitas adsorpsi dan konsentrasi. Nilai konsentrasi yang memberikan kapasitas adsorpsi tertinggi digunakan sebagai konsentrasi optimum.



4.4.9 Penentuan Jumlah Sel *Trichoderma viride* dengan Hemositometer

Sebanyak 5 mL aquades dituangkan ke dalam biakan jamur yang ada pada tabung. Dikocok hingga homogen, lalu suspensi spora ditetes keatas bidang hitung atau pada permukaan hemositometer danditutup dengan kaca penutup. Hemositometer diletakan diatas meja pentas mikroskop majemuk dan mengatur perbesaran fokusnya sampai diperoleh bayangan sel yang cukup jelas dengan garis-garis pada permukaan bidang hitung hemositometer lalu ditetaskan setetes metylen blue sebagai marker penanda. Menghitung jumlah sel hidup dalam setiap kotak sedang hemosytometer mengulangi sebanyak 3 kali dan menghitung rata-ratanya. Kemudian Menentukan dan menghitung kerapatannya (jumlah koloni/mL).

4.4.10 Penentuan Pengaruh Jumlah Inokulum *Trichoderma viride*

Sebanyak 40 mL larutan Pb(II) 50 mg/LpH 2 yang dikontakan dengan inokulum *T. viride* sebanyak 6, 8, 10, 12 dan 15mL. Kemudian dishaker sampai fasa log dengan suhu ruang 25 °C. Setelah itu larutan didiamkan selama 5 menit kemudian disaring menggunakan kertas saring, ditempatkan dalam erlenmeyer 100 mL, kemudian diukur absorbansinya menggunakan AAS. Data yang diperoleh dari analisis AAS digunakan untuk membuat grafik hubungan antara presentase adsorpsi dan jumlah inokulum. Nilai jumlah inokulum yang memberikan presentase adsorpsi tertinggi digunakan sebagai jumlah inokulum optimum.

4.4.11 Penentuan kurva pertumbuhan *T. viride* tanpa dan dengan Pb(II)

Diambil sebanyak 50 mL larutan Pb(II) yang dikontakan dengan inokulum *T. viride* sebanyak 15 mL yang telah di shaker sampai fasa log kemudian diukur menggunakan turbidimeter dalam interval waktu yang ditentukan yaitu per 10



jam. Peningkatan kekeruhan pada tiap interval waktu 10 jam dipakai sebagai indikator terjadinya peningkatan massa sel atau bertambahnya jumlah sel.

Diambil sebanyak 50 mL media cair yang telah dikontakkan dengan 1 tabung kultur *T. viride* (inokulum) yang telah di shaker sampai fasa log kemudian diukur menggunakan turbidimeter dalam interval waktu yang ditentukan yaitu per 10 jam. Peningkatan kekeruhan pada tiap interval waktu 10 jam dipakai sebagai indikator terjadinya peningkatan massa sel atau bertambahnya jumlah sel.

4.4.12 Penentuan pH, konsentrasi, waktu kontak dan jumlah inokulum berdasarkan FTIR.

Diambil sebanyak 0,2 gram endapan larutan dari Pb(II) dan inokulum *T. viride* dari masing-masing variasi pH (4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, dan 7) yaitu yang telah dikeringkan kemudian ditentukan gugus fungsi yang terdapat dalam endapan tersebut menggunakan FTIR. Mekanisme yang sama seperti pH juga dilakukan atau diterapkan pada parameter yang lainnya seperti pada konsentrasi, waktu kontak serta jumlah inokulum.

4.4.12 Penentuan biosorpsi Pb(II) pada sampel air sungai

Diambil sebanyak 50 mL sampel air sungai Tidar, Landungsari dan Dinoyo yang mengandung Pb(II) kemudian dikontakan dalam erlenmeyer 100 mL dengan inokulum *T. viride* sebanyak 15 mL lalu di shaker sampai fasa log pada suhu ruang 25 °C. Setelah itu larutan didiamkan selama 5 menit kemudian disaring menggunakan kertas saring, ditempatkan dalam Erlenmeyer 100 mL, kemudian diukur absorbansinya menggunakan AAS. Data yang diperoleh dari analisis AAS digunakan sebagai pembanding setelah biosorpsi dan juga penentuan presentase biosorpsi.



4.5 Analisis data

4.5.1 Penentuan Persamaan Regresi Linier dari Kurva Baku

Penentuan Persamaan Regresi Linier dari Kurva Baku Penentuan persamaan regresi linier dari kurva baku Pb(II) menggunakan hubungan konsentrasi dengan absorbansi dengan persamaan:

$$y = ax$$

Di mana: y = absorbansi

x = konsentrasi

Nilai a dihitung melalui persamaan berikut ini:

$$a = \frac{\sum xy}{\sum x^2}$$

Koefisien korelasi ditentukan dengan persamaan:

$$r^2 = \frac{\sum xy}{\sqrt{\sum x^2 \sum y^2}}$$

4.5.2 Persentasi Pb(II) Teradsorpsi

Analisis data penelitian yang digunakan adalah analisis kuantitatif, yaitu analisis persentasi Pb(II) teradsorpsi pada variasi jumlah inokulum, pH awal adsorbat, konsentrasi awal adsorbat, waktu, suhu, kondisi optimum, dan pada larutan biner. Persentasi Pb(II) teradsorpsi dihitung dengan rumus berikut:

$$\% \text{ Pb(II) teradsorpsi} = \frac{C_0 - C_t}{C_0} \times 100\%$$

Dengan C_0 adalah konsentrasi awal larutan Pb(II) (mg/L) dan C_t adalah konsentrasi akhir larutan Pb(II) (mg/L).



4.5.3 Kapasitas Adsorpsi

$$q_t = \frac{[C_i - C_f] \times v}{\text{Jumlah Koloni}}$$

Dengan C_i adalah konsentrasi awal larutan Pb(II) (mg/L), C_f adalah konsentrasi akhir larutan Pb(II) (mg/L) v adalah volume serta jumlah koloni adalah massa adsorben (mL)

4.5.4 Analisis Ragam

Data meliputi pH, konsentrasi Pb(II), waktu kontak dan jumlah inokulum biosorpsi Pb(II), yang diperoleh dari pengukuran absorbansi Pb(II) di analisis menggunakan SPSS 16.SPSS atau Statistical Product and Service Solution merupakan program aplikasi yang digunakan untuk penghitungan statistik dengan menggunakan komputer. Kelebihan program ini adalah kita dapat memproses data-data statistik secara tepat dan cepat, untuk semua perhitungan statistik dari yang sederhana sampai yang rumit sekalipun [31].

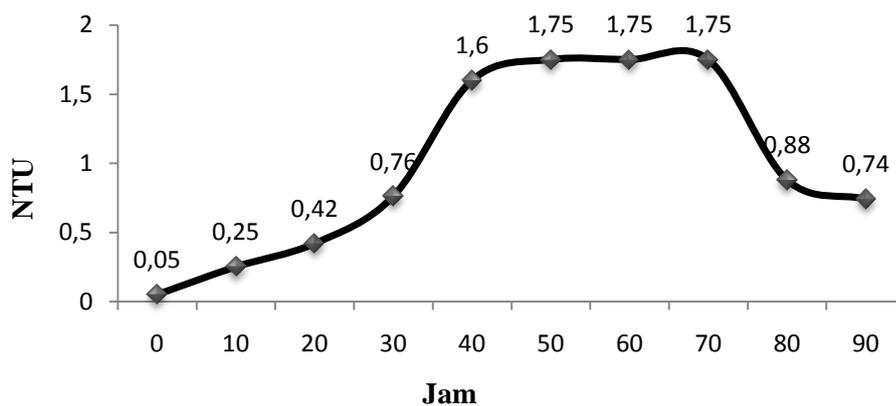


BAB V

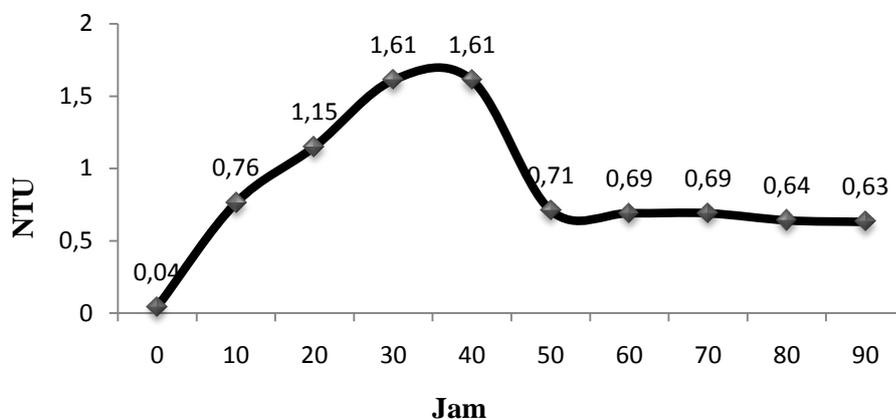
HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Kurva pertumbuhan *T. viride* tanpa dan dengan Pb(II)

Kurva pertumbuhan dalam penelitian ini dibuat agar dapat mengetahui fase-fase pertumbuhan *T. viride* tanpa dan dengan Pb(II). Pada fase-fase tersebut dapat diketahui fase logaritmik dari *T. viride*, dan juga waktu yang baik dalam biosorpsi Pb(II). Dalam penelitian ini digunakan metode tidak langsung yaitu dengan menggunakan turbidimeter untuk mengukur tingkat kekeruhan yang dapat dijadikan sebagai penentuan banyaknya jumlah sel yang berkembang biak, baik tanpa Pb(II) maupun dengan Pb(II).



Gambar 5.1. Kurva Pertumbuhan *Trichoderma viride*



Gambar 5.2. Kurva Pertumbuhan *Trichoderma viride* dengan Pb(II)



Penelitian tentang fase pada pertumbuhan mikroorganisme juga pernah dilakukan oleh Fogg dan Thake; Zoetrova. pada Fikoremediator Logam Pb(II) menggunakan *Nostoc commune* Vaucher ex Bornet dan Flahault. Dari hasil penelitian tersebut mengemukakan bahwa fase-fase pertumbuhan *N.commune* dapat digambarkan melalui 4 fase logaritma yaitu fase lag, fase log, fase stasioner serta fasa kematian[35].

Kultur *T. viride* yang dipindahkan dalam media cair awalnya akan mengalami fase adaptasi untuk dapat menyesuaikan dengan kondisi lingkungan disekitarnya. Dari Gambar 5.1, terlihat bahwa pada fase adaptasi berlangsung sekitar 0 jam hingga 10 jam. Hal ini disebabkan, karena *T. viride* dipindahkan dari medium yang kaya nutrisi ke dalam media yang kandungan nutrisinya terbatas yaitu media cair, *T. viride* yang baru dipindahkan dari fase statis ke medium baru dengan komposisi yang sama seperti sebelumnya. Sedangkan dari Gambar 5.2 terlihat bahwa pada fase adaptasi *T. viride* dengan inokulum yang dikontakkan dengan Pb(II) berlangsung sangat cepat dan meningkat sekitar 0 jam hingga 10 jam. Hal ini sama dengan inokulum tanpa dikontakkan dengan Pb(II) [29].

Setelah fase adaptasi, *T. viride* akan mulai membelah dengan kecepatan yang rendah karena baru menyesuaikan diri atau disebut fase pertumbuhan awal. Fase ini terjadi selama 10 jam pertama sampai 30 jam. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 5.1 *T. viride* tanpa Pb(II), yang menunjukkan peningkatan jumlah sel jamur seiring terjadinya perubahan absorbansi. Sedangkan *T. viride* dengan Pb(II) Gambar 5.2, menunjukkan peningkatan tajam absorbansi yang berlangsung cepat selama waktu 10 jam, kemungkinan hal ini disebabkan oleh sel-sel *T. viride* mengakumulasi Pb(II) sebagai ion oleh karena itu sel-sel *T. viride* membutuhkan



banyak nutrisi untuk dapat menyerap Pb(II) sehingga dengan makin banyak *T. viride* mengambil nutrisi dari media cair maka jumlah sel-sel *T. viride* dengan sendirinya akan membelah sel-selnya menjadi banyak dikarenakan adanya penyerapan nutrisi yang cepat banyak dalam media cair.

Fase pertumbuhan logaritmik, pada fase inilah *T. viride* membelah dengan cepat dan konstan mengikuti kurva logaritmik. Pada fase ini perubahan kecepatan pertumbuhan sangat dipengaruhi oleh media tempat tumbuhnya *T. viride* seperti pH dan kandungan nutrisi, juga kondisi lingkungan termasuk suhu dan kelembaban udara [29]. Berdasarkan Gambar 5.1, fase log terjadi antara rentang waktu 10 sampai 40 jam dimana terjadi perubahan absorbansi yang tajam pada waktu tersebut. Pertumbuhan sel *T. viride* pada fase ini paling dominan diantara fase pertumbuhan lainnya.

Sedangkan pada Gambar 5.2., menunjukkan hal yang sama tetapi terjadi perubahan yang lebih cepat yaitu dari 10 jam hingga 20 jam hal ini sama dengan penjelasan sebelumnya bahwa sel-sel *T. viride* mengakumulasi Pb(II) sebagai ion oleh karena itu sel-sel *T. viride* membutuhkan banyak nutrisi untuk dapat menyerap Pb(II) sehingga dengan makin banyak *T. viride* mengambil nutrisi dari media cair maka jumlah sel-sel *T. viride* dengan sendirinya membelah sel-selnya menjadi banyak dikarenakan adanya penyerapan nutrisi yang cepat banyak dalam media cair.

Selanjutnya adalah fase stasioner atau pertumbuhan tetap dimana pada fase ini jumlah sel tetap karena jumlah sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel-sel yang mati. Ukuran sel pada fase ini menjadi lebih kecil karena sel tetap membelah meskipun nutrisi telah habis. Karena kekurangan zat nutrisi, sel



kemungkinan mempunyai komposisi berbeda dengan sel yang tumbuh pada fase logaritmik. Pada fase ini sel-sel lebih tahan terhadap keadaan ekstrim seperti panas, dingin, radiasi, dan bahan-bahan kimia [29]. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 5.1, di mana pada fase ini terjadi selama waktu diatas 40 jam. Sedangkan Gambar 5.2, terjadi dua kali lebih cepat dari sebelumnya hal ini disebabkan oleh adanya penyerapan nutrisi yang berlangsung begitu cepat oleh *T. viride* yang dibutuhkan sebagai sumber energi agar dapat menyerap Pb(II). Fase ini terjadi selama waktu di atas 20 jam.

Fase kematian adalah ketika pertumbuhan jamur sedikit bahkan sel-sel jamur banyak yang mati seiring habisnya nutrisi dalam media cair. Hal ini ditunjukkan pada gambar 5.1 dengan menurunnya pertumbuhan pada jam 80 hingga jam 90. Sedangkan pada Gambar 5.2, habisnya nutrisi ditunjukkan selama waktu diatas 40 jam. Secara keseluruhan dari Gambar 5.1, disimpulkan bahwa *T. viride* mempunyai waktugenerasi yang cepat. Walaupun fase adaptasi berlangsung cukup lama sekitar 10 jam tetapi pada waktu 40 jam *T. viride* telah mencapai waktu optimum pada pertumbuhannya atau fase log-nya. Sedangkan pada Gambar 5.2 *T. viride* mempunyai waktu generasi yang lebih cepat.

Walaupun fase adaptasi berlangsung cukup lama sekitar 10 jam tetapi pada waktu 20 jam *T. viride* telah mencapai waktu optimum pada fase pertumbuhannya. Ringkasan fase-fase pada kurva pertumbuhan *T. viride* tanpa dan dengan adanya Pb(II) disajikan dalam bentuk Tabel 5.1.



Tabel 5.1Fasa pada Kurva Pertumbuhan *Trichoderma viride*

Fasa Pertumbuhan	Pertumbuhan <i>T viride</i> (t)	Pertumbuhan <i>T viride</i> dengan Pb(II) (t)
awal	$t_0 = 0,05 \text{ NTU}$	$t_0 = 0,04 \text{ NTU}$
lag	$t_1 = 0,25 \text{ NTU}, t_2 = 0,42 \text{ NTU}$	$t_0 = 0,04 \text{ NTU}, t_1 = 0,76 \text{ NTU}$
log	$t_2 = 0,42 \text{ NTU}, t_4 = 1,6 \text{ NTU}$	$t_1 = 0,76 \text{ NTU}, t_3 = 1,61 \text{ NTU}$
stasioner	$t_5 = t_6 = t_7 = 1,75 \text{ NTU}$	$t_3 = t_4 = 1,61 \text{ NTU}$
mati	$t_8 = 0,88 \text{ NTU}, t_9 = 0,74 \text{ NTU}$	$t_5 - t_9 = 0,71 - 0,63 \text{ NTU}$

5.2. Penentuan Pengaruh pH pada Biosorpsi Pb(II) oleh *T. viride*

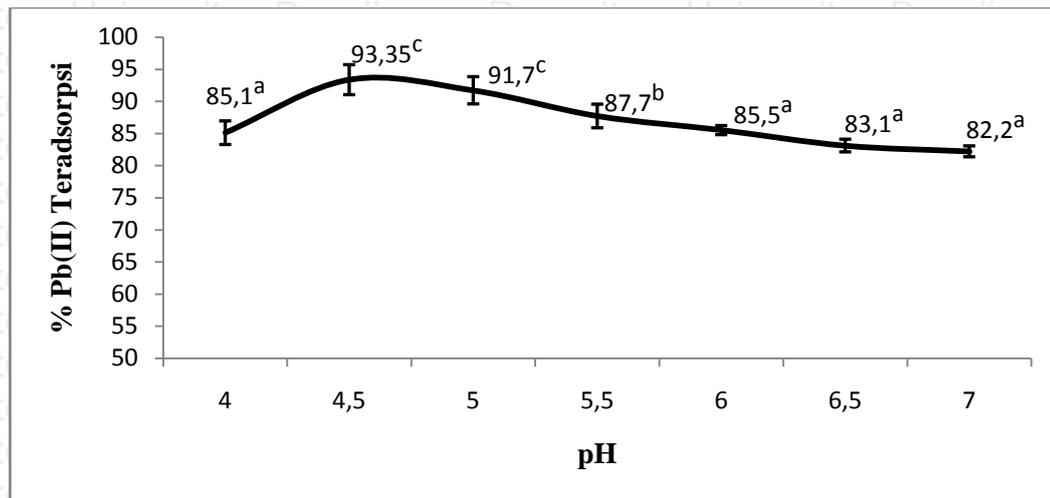
Pengaruh pH terhadap kemampuan biosorpsi Pb(II) oleh *T. viride* dilakukan pada variasi pH 4; 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5; dan 7. Konsentrasi awal Pb(II) yang digunakan pada penelitian pengaruh pH ini adalah 50 mg/L. Hal ini berdasarkan literature bahwa Jamur *T. viride* dapat hidup pada rentang pH yang besar, yaitu 1,5–9,0. Adapun rentang pH yang optimum yaitu pH 4,5 sampai pH 5,5[32].

Hasil pengaruh pH terhadap biosorpsi Pb(II) dapat dilihat dalam Gambar 5.3 yang menunjukkan hubungan antara pH dengan jumlah Pb(II) yang teradsorpsi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *T. viride* yang ditumbuhkan dalam media cair dengan variasi pH, memiliki kemampuan biosorpsi Pb(II) tertinggi dengan kondisi pH 4,5 dengan nilai persentase teradsorpsi yaitu 93,35%. Hal ini menunjukkan bahwa kemampuan biosorpsi logam berat oleh *T. viride* bergantung pada pH. pH mempengaruhi kemampuan ion logam dalam larutan dan mempengaruhi tempat pengikatan logam yang berada pada permukaan sel atau di dalam sel [26].

Hasil analisa statistik pada pengaruh pH dari hasil SPSS menggunakan uji beda nyata terkecil menunjukkan bahwa hasil pada pH 4 tidak berbeda nyata dengan pH 6, pH 6,5 dan pH 7 dengan presentase Pb(II) teradsorpsi sebesar



85,1% dengan 85,5%, 83,1% dan 82,2%. Akan tetapi berbeda nyata dengan pH 4,5 dan 5 dengan memberikan perbedaan nyata pada presentase Pb(II) teradsorpsi sebesar 85,1% dengan 93,35% dan 91,7% yang ditunjukkan pada Gambar 5.3. Sehingga pH optimum proses biosorpsi ini antara pH 4,5-5, yang tidak menunjukkan ada perbedaan nyata.



Keterangan: notasi huruf yang berbeda menunjukkan ada perbedaan nyata pada $\alpha = 5\%$

Gambar 5.3. Pengaruh pH terhadap presentase Pb(II) yang teradsorpsi

Pada nilai pH awal 4, jumlah Pb(II) yang teradsorpsi meningkat tajam sampai pada pH 4,5 dan pH 5 yang merupakan pH optimum dalam biosorpsi Pb(II) dengan *T. viride* [19]. Hal ini diduga karena pada kondisi tersebut dinding sel *T. viride* menghasilkan banyak senyawa metalotionien (MT) yang dapat menginduksi Pb(II). Adanya jumlah metalotionien pada pH optimum 4,5 memicu peningkatan biosorpsi Pb(II) dan kondisi ini bergantung pada sifat *T. viride* sebagai biosorben serta molekul Pb(II) sebagai adsorbat yang berpindah darilarutan ke fase padat [33]. Proses lain karena dipengaruhi oleh reaksi yang melibatkan pertukaran ion logam dengan gugus fungsi yang terkandung didalam biosorben. Gugus karboksil, karbonil, dan terutama gugus hidroksil serta amina yang terkandung dalam dinding sel *T. viride* dapat mengikat ion logam dari Pb(II).

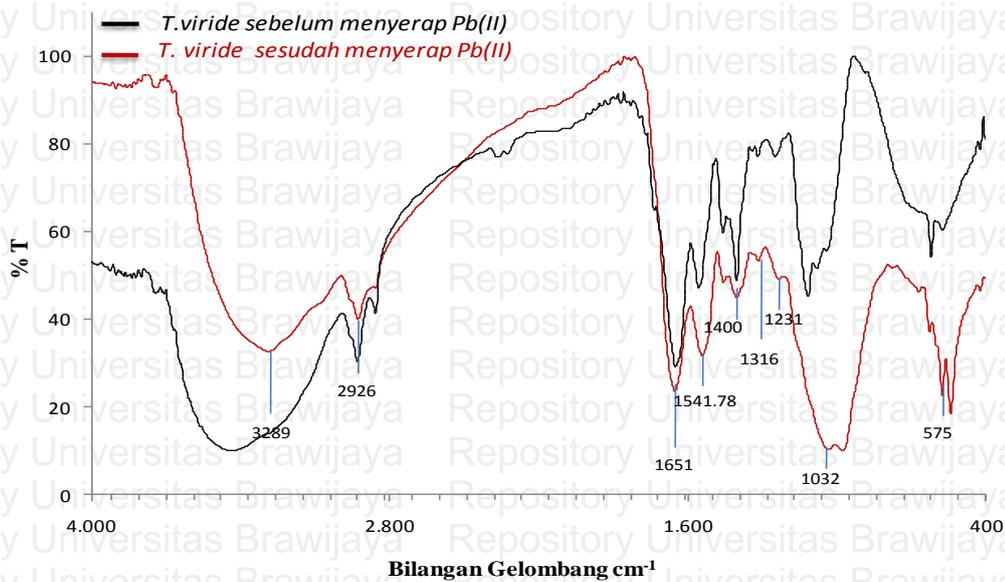


Pengaruh dari pH juga dimungkinkan karena pada pH 4 hingga pH 4,5 berbentuk Pb(II) garam asam yang dapat berinteraksi dengan gugus-gugus dari biosorben serta adanya luas permukaan area *T. viride* yang menyebabkan peluang biosorpsi Pb(II) menjadi lebih maksimal.

Pada nilai pH 5 sampai 7, presentase biosorpsi menurun seperti terlihat pada gambar 5.3. Pada kondisi ini biosorpsi kembali menurun seiring dengan bertambahnya nilai dari pH menuju basa dimana mulai terbentuk Pb(OH)^- yang kurang berinteraksi dengan gugus dari *T. viride*. Pada pH 6 hingga pada pH 7 cenderung membentuk Pb(OH)_2 yang kemungkinan kurang berinteraksi dengan gugus dari *T. viride* ini dibuktikan dengan penurunan presentase biosorpsi pada pH 5,5-7. Hal ini pernah dibuktikan oleh P. Sujatha, dkk. pada biosorpsi Nikel(II) menggunakan *T. viride*, yang menunjukkan bahwa biosorpsi optimum Ni(II) didapatkan pada kondisi pH 4,5 [10].

Hal lain dapat disebabkan oleh pada pH 5-7 terjadi peningkatan jumlah proton (H^+) sehingga ion Pb(II) akan berkompetisi dengan proton pada proses pertukaran ion di permukaan biosorben. Sisi-sisi aktif akan berikatan dengan ion hidronium (H_3O^+) dan akan menghambat proses biosorpsi yang mengakibatkan berkurangnya area permukaan yang tersedia untuk dapat berikatan dengan ion dari Pb(II) [30].

Pada penelitian ini mekanisme biosorpsi Pb(II) dianalisis melalui FTIR untuk melihat gugus-gugus fungsional dari *T. viride* yang berperan dalam pengikatan Pb(II). Hasil FTIR yang dianalisis yaitu hasil overlay pada *T. viride* sebelum dan setelah proses biosorpsi pada kondisi pH 4,5, pada bilangan gelombang $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$.



Gambar 5.4. Hasil FTIR spektrofotometri untuk proses biosorpsi Pb(II) oleh *T. viride* pada pH 4,5.

Spektra FTIR yang disajikan pada Gambar 5.4 menunjukkan perubahan yang terjadi pada gugus fungsional pada *T. viride* sebelum dan sesudah dikontakkan dengan Pb(II). Hal ini ditunjukkan oleh adanya pergeseran serapan pada beberapa bilangan gelombang. Pergeseran bilangan gelombang 3424cm^{-1} menjadi 3289cm^{-1} menunjukkan adanya vibrasi ulur O-H sedangkan vibrasi ulur CH bergeser dari bilangan gelombang 2928cm^{-1} menjadi 2926cm^{-1} . Tekukan N-H, dan vibrasi ulur C=O bergeser dari 1649cm^{-1} menjadi 1651cm^{-1} lalu vibrasi uluran C=C bergeser dari bilangan gelombang 1557cm^{-1} menjadi 1541cm^{-1} . Vibrasi ulur CH_3 ditunjukkan dengan adanya pergeseran dari 1402cm^{-1} menjadi 1400cm^{-1} sedangkan serapan kuat C-O ditunjukkan pada daerah 1316cm^{-1} . Vibrasi ulur C-N atau adanya amina ditunjukkan dengan adanya pergeseran dari 1245cm^{-1} menjadi 1231cm^{-1} . Vibrasi C-H aromatik bergeser dari 1078cm^{-1} , 1040cm^{-1} menjadi 1032cm^{-1} . Adanya pergeseran yang terjadi pada pita serapan dari



suatu gugus fungsi menunjukkan bahwa biomassa *T. viride* mampu mengikat Pb(II), yaitu melalui gugus-gugus aktifnya seperti amina, hidroksil dan karbonilnya.

Hasil FTIR spektrofotometri untuk proses biosorpsi Pb(II) oleh *T.viride* pada pH 4,5 yang disajikan dalam Tabel 5.2

Tabel 5.2 FTIR spektrofotometri untuk proses biosorpsi Pb(II) oleh *T.viride* pada pH 4,5.

No	Bilangan Gelombang (cm^{-1})	Perubahan Setelah Adsorpsi (cm^{-1})	Gugus fungsional
1	3424	3289	NH,OH
2	2928	2926	CH
3	1649	1651	C=O
4	1557	1541	N-H,C=C
5	1402	1400	CH ₃
6	1316	1316	C-O
7	1245	1231	C-N
8	1078, 1040	1032	C-H

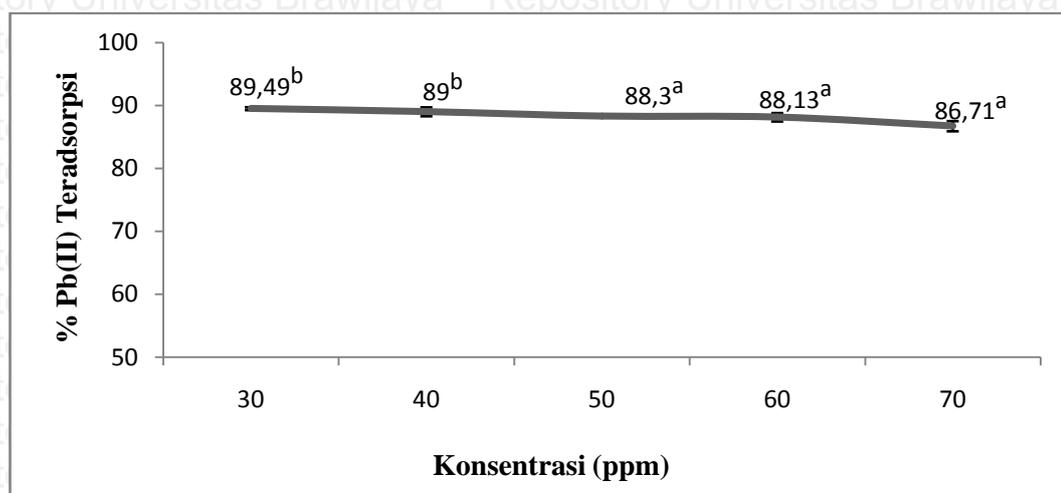
Hal lain yang menjadi kemungkinan penyerapan Pb(II) oleh *T. viride* dibuktikan adanya gugus amina dan hidroksil yang tampak pada daerah serapan FTIR sehingga dapat berkaitan dengan enzim selulosa yang terdapat pada *T. viride*. Protein yang tersusun dari beberapa asam amino yang bila larut dalam air dapat melepas ion H^+ dan gugus amina NH_2 akan menerima ion H^+ membentuk NH_3 ion tersebut reaktif untuk berikatan dengan ion-ion logam. Sedangkan karbohidratnya yaitu selulosa memiliki gugus -OH (hidroksil). Gugus ini dapat berinteraksi dengan gugus lain seperti O, N dan S yang dapat membentuk ikatan hydrogen atau ikatan koordinasi. Ikatan yang terjadi antara ion logam dan selulosa dapat terjadi melalui ikatan hidrogen dan Vander walls [28].



5.3. Penentuan Pengaruh Konsentrasi

Penentuan pengaruh konsentrasi awal Pb(II) terhadap biosorpsi Pb(II) dilakukan dengan variasi konsentrasi, yaitu 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm, 60 ppm, dan 70 ppm dengan kondisi pH 4,5 serta jumlah inokulum yang digunakan adalah 10 mL. Kemampuan biosorpsi Pb(II) oleh *T. viride* dengan variasi konsentrasi awal Pb(II) dapat dilihat pada Gambar 5.5.

Pada penelitian ini analisa statistik pengaruh konsentrasi awal Pb(II) menggunakan uji beda nyata terkecil menunjukkan bahwa pada konsentrasi 50 ppm tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 60 ppm dan 70 ppm dengan presentase Pb(II) teradsorpsi sebesar 83,3% dengan 88,13% dan 86,71%. Tetapi berbeda nyata dengan konsentrasi 30 ppm dan 40 ppm dengan menunjukkan ada perbedaan nyata pada presentase Pb(II) teradsorpsi sebesar 89 % dan 89 %. Konsentrasi optimum pada Gambar 5.5, terjadi pada konsentrasi 30 ppm dan 40 ppm yang tidak menunjukkan ada perbedaan nyata pada presentase Pb(II) teradsorpsi sebesar 89,49% dan 89%.



Keterangan : notasi huruf yang berbeda menunjukkan ada perbedaan nyata pada $\alpha = 5\%$

Gambar 5.5. Pengaruh konsentrasi awal Pb(II) terhadap presentase Pb(II) teradsorpsi



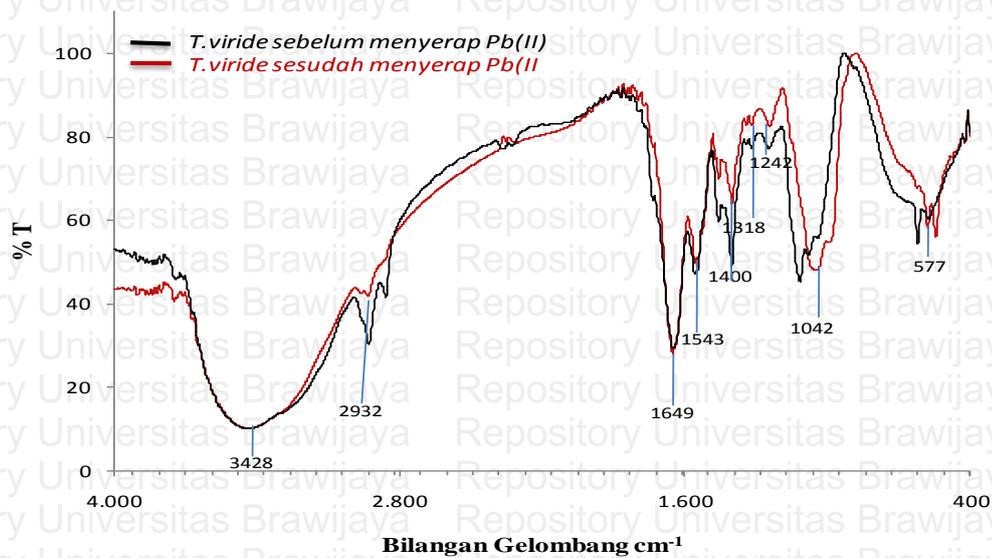
Berdasarkan Gambar 5.5, dapat diketahui bahwa pada konsentrasi awal sebesar 30 ppm, 40 ppm, grafik menunjukkan peningkatan Pb(II) yang terbiosorpsi. Sedangkan pada konsentrasi awal 50 ppm hingga 60 ppm, menunjukkan presentase penurunan penyerapan Pb(II). Pada konsentrasi terbesar, 70 ppm, jumlah Pb(II) yang terbiosorpsi merupakan yang paling rendah, dengan jumlah Pb(II) teradsorpsi sebesar 86,71%.

Kenaikan grafik pada konsentrasi awal 30 ppm dimungkinkan karena perkembangan sel *T. viride* yang lebih banyak sehingga dapat mengasilkan senyawa metalotionin yang mampu menginduksi dan mengadsorpsi Pb(II) dalam jumlah lebih banyak [33]. Hal lain juga karena adanya peranan enzim selulosa yang dihasilkan oleh *T. viride* dengan komposisi-komposisi berupa β -1,4-glukan-selobiohidrolase (C1) dan selobiase serta sejumlah asam-asam amino. Sedangkan penurunan penyerapan pada 40 ppm hingga 70 ppm dikarenakan jumlah dari ion Pb(II) tidak sebanding dengan jumlah sisi aktif yang tersedia pada *T. viride* sehingga penyerapan mencapai titik jenuh yang mengakibatkan sisi aktif dari *T. viride* tidak dapat berikatan dengan ion Pb(II).

Semakin tinggi konsentrasi awal Pb(II), semakin memungkinkan adanya Pb(II) yang tidak terikat, hal ini disebabkan karena tingginya kerapatan dalam larutan yang bertambah seiring konsentrasi awal Pb(II) yang semakin besar. Semakin tingginya kerapatan dalam larutan menunjukkan bahwa semakin dekatnya jarak antar anion Pb(II) yang memungkinkan gaya tolak menolak yang lebih besar. Gaya tolak-menolak ini menyebabkan Pb(II) tidak terikat kuat pada jamur *T. viride* seiring meningkatnya konsentrasi awal yang digunakan.



Namun secara keseluruhan, jumlah Pb(II) yang teradsorpsi menunjukkan penurunan seiring bertambahnya konsentrasi awal Pb(II). Efisiensi biosorpsi Pb(II) menurun dengan meningkatnya jumlah konsentrasi Pb(II). Kondisi ini dapat dikaitkan dengan luas permukaan *T.viride* yang semakin terbatas untuk mengikat Pb(II) seiring dengan meningkatnya jumlah konsentrasi Pb(II)[26].



Gambar 5.6. Hasil FTIR spektrofotometri untuk proses biosorpsi Pb(II) oleh *T.viride* pada konsentrasi 30 ppm.

Pada Gambar 5.6 menunjukkan hasil FTIR untuk sampel konsentrasi optimum yaitu 30 ppm. Spektra FTIR yang disajikan pada gambar di atas memperlihatkan *T. viride* sebelum dan sesudah dikontakkan. Hal ini ditunjukkan dengan adanya pergeseran serapan pada beberapa bilangan gelombang. Pergeseran bilangan gelombang 3424 cm^{-1} menjadi 3428 cm^{-1} menunjukkan adanya serapan kuat amina (NH) dan vibrasi ulur O-H sedangkan vibrasi ulur CH bergeser dari bilangan gelombang 2928 cm^{-1} menjadi 2932 cm^{-1} . Vibrasi ulur C=O ditunjukkan dengan tetapnya bilangan gelombang 1649 cm^{-1} lalu vibrasi uluran C=C bergeser dari bilangan gelombang 1557 cm^{-1} menjadi 1543 cm^{-1} . Vibrasi ulur CH_3 ditunjukkan dengan adanya pergeseran dari 1402 cm^{-1} menjadi



1400 cm^{-1} sedangkan serapan kuat C-O bergeser dari daerah 1316 cm^{-1} menjadi 1318 cm^{-1} . Vibrasi ulur amina (CN) ditunjukkan dengan adanya pergeseran dari 1245 cm^{-1} menjadi 1242 cm^{-1} . Vibrasi C-H aromatik bergeser dari 1078 cm^{-1} menjadi 1042 cm^{-1} .

Hasil FTIR spektrofotometri untuk proses biosorpsi Pb(II) oleh *T. viride* pada konsentrasi 30 ppm yang disajikan dalam Tabel 5.3

Tabel 5.3 FTIR spektrofotometri untuk proses biosorpsi Pb(II) oleh *T. viride* pada konsentrasi 30 ppm.

No	Bilangan Gelombang (cm^{-1})	Perubahan Setelah Adsorpsi (cm^{-1})	Gugus fungsional
1	3424	3428	NH,OH
2	2928	2932	CH
3	1649	1649	C=O
4	1557	1543	C=C
5	1402	1400	CH ₃
6	1316	1318	C-O
7	1245	1231	amina(CN)
8	1078	1042	C-H(aromatik)

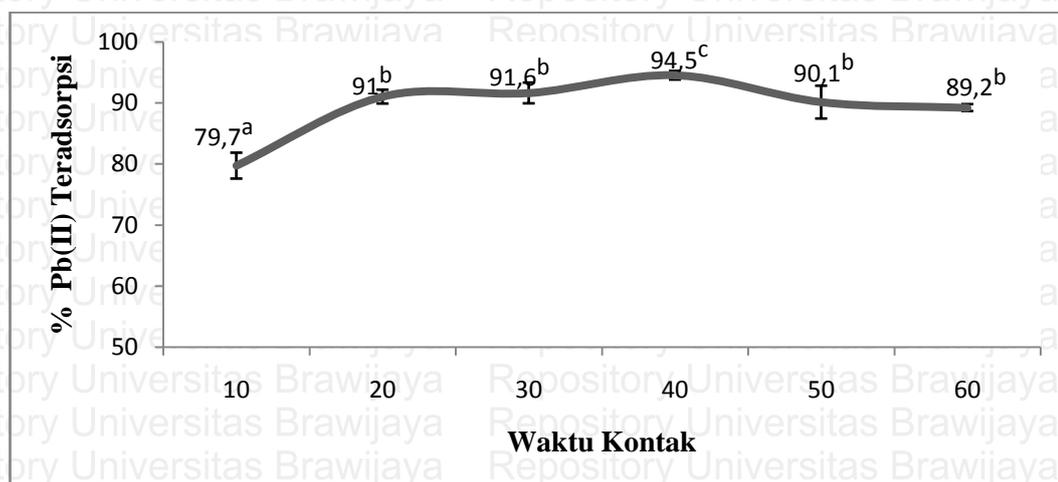
5.4. Penentuan Pengaruh Waktu Kontak

Penentuan waktu kontak biosorpsi dilakukan untuk mengetahui waktu minimum yang dibutuhkan oleh biosorben dalam menyerap ion Pb(II) secara maksimum sampai tercapai keadaan jenuh. Penentuan pengaruh waktu kontak terhadap biosorpsi Pb(II) dilakukan dengan variasi waktu kontak yaitu 10-60 jam.

Jumlah inokulum yang digunakan adalah 10 mL dengan konsentrasi 50 ppm pH 4,5. Kemampuan biosorpsi Pb(II) oleh *T. viride* dengan variasi konsentrasi awal Pb(II) dapat dilihat pada Gambar 5.7 data yang diambil yaitu presentase Pb(II) teradsorpsi.



Analisa statistik pengaruh waktu kontak menggunakan uji beda nyata terkecil menunjukkan bahwa pada waktu kontak 10 jam berbeda nyata dengan waktu kontak 20 jam, 30 jam dan 40 jam dengan presentase Pb(II) teradsorpsi sebesar 79,7% dengan 91% , 91,6% dan 94,5%. Sedangkan waktu kontak 20 jam tidak berbeda nyata dengan waktu kontak 30 jam, 50 jam dan 60 jam dengan presentase Pb(II) sebesar 91% dengan 91,6%, 90,1% dan 89,2% (Gambar 5.7). Waktu kontak optimum terjadi pada waktu kontak ke-40 yang menunjukkan presentase Pb(II) teradsorpsi sebesar 94,5%.



Keterangan : notasi huruf yang berbeda menunjukkan ada perbedaan nyata pada $\alpha=5\%$

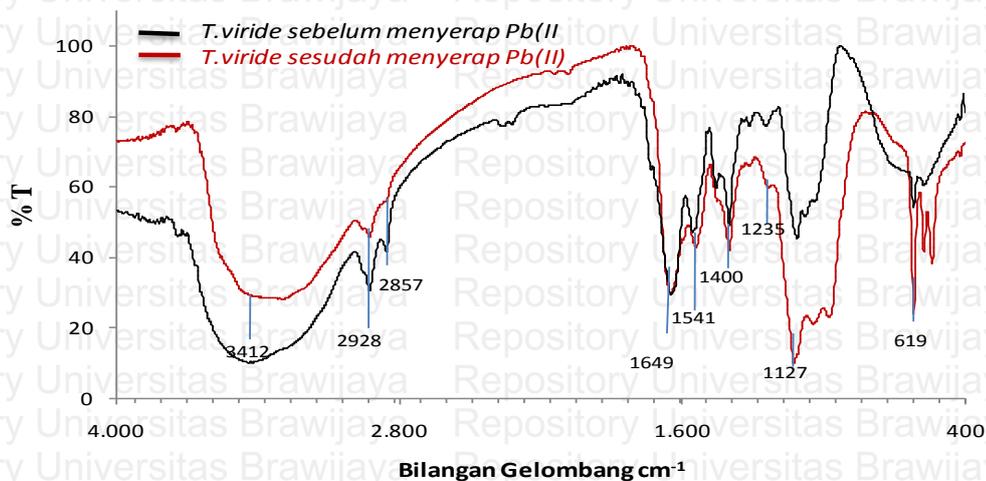
Gambar 5.7. Pengaruh waktu kontak terhadap presentase Pb(II) teradsorpsi

Pada Gambar 5.7 ditunjukkan bahwa Pb(II) semakin lama waktu kontak dari biosorben dan juga larutan ion Pb(II) maka akan terjadi proses peningkatan penyerapan hingga pada akhirnya mencapai titik optimum. penyerapan semakin meningkat mulai dari waktu kontak 20 sampai 40 jam. Penyerapan tertinggi dari proses biosorpsi ini terjadi pada waktu kontak 40 jam dengan presentase biosorpsi yaitu 94,5%, kemungkinan hal ini karena pada waktu kontak 40 jam telah sampai



pada fasa log (Gambar 5.1-5.2) dimana jumlah dari sel dari biosorben makin bertambah sehingga dapat menyerap ion dari Pb(II) dalam jumlah yang banyak.

Meski lamanya waktu kontak menunjukkan peningkatan penyerapan, tetapi penyerapan biosoben juga dapat mencapai kesetimbangan. Kesetimbangan dari *T. viride* terjadi karena jumlah adsorpsi sama dengan desorpsi, sehingga partikel-partikel ion Pb(II) yang diserap kemungkinan terlepas kembali ke permukaan dari biosorben. Terlepasnya ion Pb(II) karena seluruh pusat aktif dinding sel dari biosorben telah berada pada keadaan jenuh yang mengakibatkan sisi pengikatan pada dinding sel *T. viride* tidak aktif dalam mengikat ion Pb(II). Hal ini ditunjukkan pada waktu kontak 50-60 jam yang memperlihatkan penurunan penyerapan ion Pb(II) dengan nilai presentase yaitu 90,1% dan 89,2%.



Gambar 5.8. Hasil FTIR spektrofotometri untuk proses biosorpsi Pb(II) oleh *T. viride* pada waktu kontak 40 jam.

Spektra FTIR yang disajikan diatas memperlihatkan adanya pergeseran serapan pada beberapa bilangan gelombang. Pergeseran bilangan gelombang 3424 cm^{-1} menjadi 3412 cm^{-1} menunjukkan adanya serapan kuat amina(NH) dan vibrasi ulur O-H sedangkan vibrasi ulur CH bergeser dari bilangan gelombang 2928 cm^{-1} menjadi 2928 cm^{-1} . Vibrasi ulur C=O ditunjukkan dengan tetapnya bilangan



gelombang 1649 cm^{-1} lalu vibarsi uluran C=C bergeser dari bilangan gelombang 1557 cm^{-1} menjadi 1541 cm^{-1} . Vibrasi ulur CH_3 ditunjukkan dengan adanya pergeseran dari 1402 cm^{-1} menjadi 1400 cm^{-1} sedangkan Vibrasi ulur amina (CN) ditunjukkan dengan adanya pergeseran dari 1245 cm^{-1} menjadi 1235 cm^{-1} . Vibrasi C-H aromatik bergeser dari 1078 cm^{-1} menjadi 1127 cm^{-1} . Adanya pergeseran yang terjadi pada pita serapan dalam suatu gugus fungsi menunjukkan bahwa biosorben *T. viride* mampu dalam mengikat Pb(II), yaitu melalui gugus-gugus aktifnya seperti Amina, hidroksil dan karbonilnya.

Hasil FTIR spektrofotometri untuk proses biosorpsi Pb(II) oleh *T.viride*. pada waktu kontak 40 jam disajikan dalam Tabel 5.4

Tabel 5.4 FTIR spektrofotometri untuk proses biosorpsi Pb(II) oleh *T.viride*. pada waktu kontak 40 jam

No	Bilangan Gelombang (cm^{-1})	Perubahan Setelah Adsorpsi (cm^{-1})	Gugus fungsional
1	3424	3412	NH,OH
2	2928	2928	CH
3	1649	1649	C=O
4	1557	1541	C=C
5	1402	1400	CH_3
6	1316	1318	C-O
7	1245	1235	amina(CN)
8	1078	1127	C-H(aromatik)

5.5. Penentuan Pengaruh Jumlah Inokulum

Pengaruh jumlah inokulum *T. viride* terhadap biosorpsi Pb(II) menggunakan variasi jumlah inokulum 6 mL, 8 mL, 10 mL, 12 mL, dan 15 mL.

Adapun konsentrasi awal Pb(II) yang digunakan adalah 50 ppm pH 4,5. Pada penelitian ini, *T.viride* yang digunakan adalah yang masih hidup pada fase



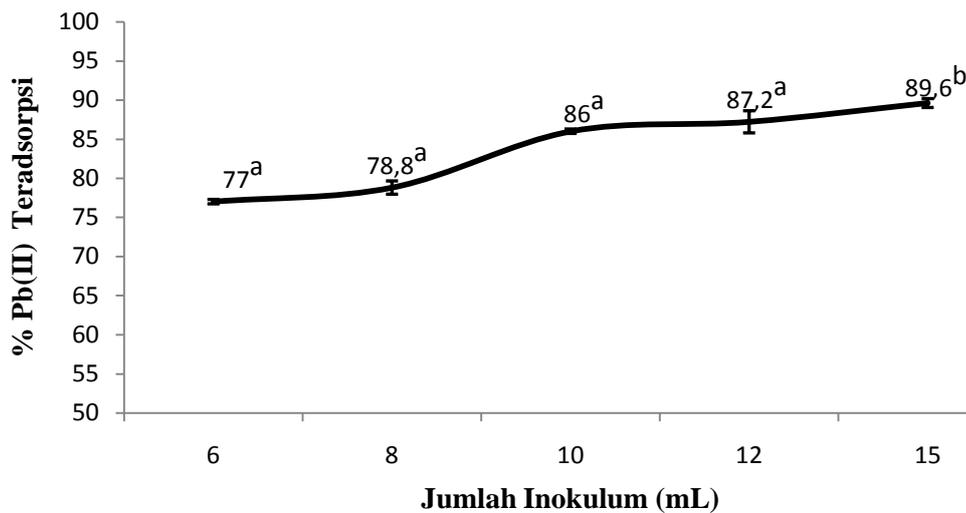
log-nya. Jumlah sel jamur dihitung dengan menggunakan hemositometer yang dilampirkan dalam Tabel 5.5.

Tabel 5.5. Jumlah koloni *T. viride* dihitung menggunakan hemositometer

No	Jumlah Inokulum (mL)	n (Sel inokulum) /mL sampel
1	6	69×10^7
2	8	92×10^7
3	10	115×10^7
4	12	138×10^7
5	15	173×10^7

Media cair berisi *T. viride* yang akan berfungsi sebagai inokulum dishaker selama dua hari karena saat itu merupakan fasa log dimana jamur berkembang biak. Inokulum yang telah mencapai fasa log diambil 1 mL untuk pengujian perhitungan jumlah sel jamur. Selanjutnya inokulum divariasikan dalam larutan berisi Pb(II) 50 ppm pH 4,5 dengan variasi jumlah inokulum 6, 8, 10, 12, dan 15 mL. Shaker dilakukan kembali selama dua hari karena waktu tersebut merupakan fase log dari *T. viride*.

Hasil analisa statistik pengaruh jumlah inokulum menggunakan uji beda nyata terkecil menunjukkan bahwa pada jumlah inokulum 6 mL tidak berbeda nyata dengan jumlah inokulum 8 mL, 10 mL dan 12 mL dengan presentase Pb(II) teradsorpsi sebesar 77% dengan 78,8%, 86 % dan 87,2%. Akan tetapi berbeda nyata dengan jumlah inokulum 15 mL pada presentase Pb(II) teradsorpsi sebesar 77% dengan 89% yang ditunjukkan pada Gambar 5.9. Sedangkan jumlah inokulum optimum terjadi pada jumlah inokulum 15 mL dengan presentase Pb(II) teradsorpsi sebesar 89,6%



Keterangan : notasi huruf yang berbeda menunjukkan ada perbedaan nyata pada $\alpha = 5\%$

Gambar 5.9. Pengaruh jumlah inokulum terhadap jumlah Pb(II) teradsorpsi

Proses biosorpsi yang terjadi melibatkan pengikatan permukaan sel melalui interaksi ion dan interaksi kimia, yang diiringi dengan akumulasi Pb(II)

ke dalam sel. Pada fasa log, sel jamur *T. viride* juga menghasilkan enzim selulase yang terkandung komposisi-komposisi terbesar berupa β -1,4-glukan-selobiohidrolase (C1) dan selobiase. Selulase yang diproduksi mengandung sejumlah asam-asam amino tertentu, yaitu : aspartat, glutamate, serin, treonin, dan glisin, dan sebagian kecil golongan asam amino sulfur yang kemungkinan dipakai *T. viride* sebagai pertahanan dan sumber kebutuhan dirinya dari kondisi yang mengancam pertumbuhannya, yaitu dengan adanya Pb(II). Enzim dengan susunan

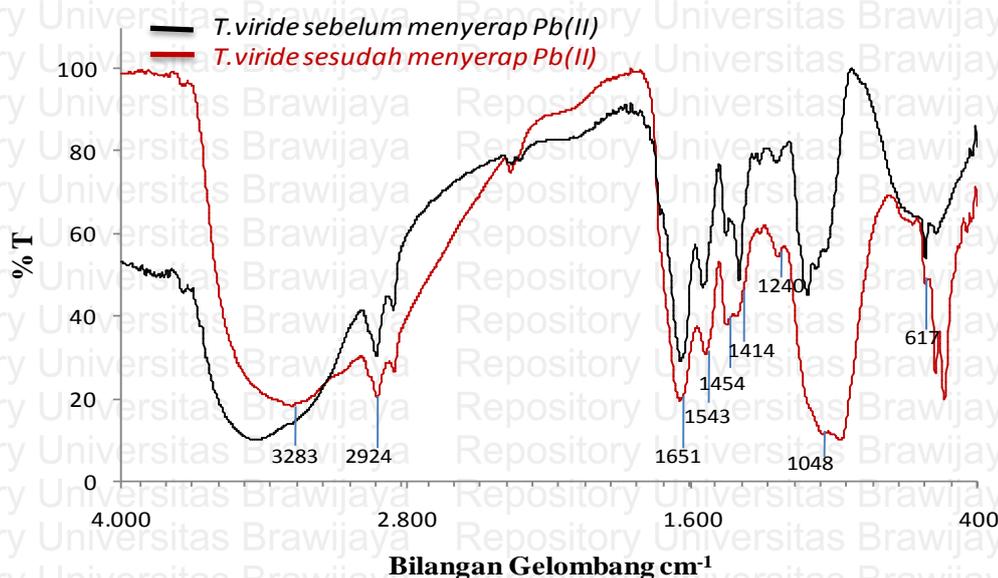
komponen asam amino ini dapat mereduksi Pb(II) dalam sel jamur menjadi Pb(II) yang tidak toksik[34].

Berdasarkan hasil penelitian, semakin banyak jumlah inokulum, maka semakin besar persentase Pb(II) terbiosorpsi. Pada jumlah inokulum 6 mL terjadi peningkatan terus-menerus sampai 15 mL hal ini dikarenakan semakin banyaknya jumlah inokulum, maka pertumbuhan jamur *T. viride* juga semakin meningkat



yang mengakibatkan sisi pengikatan pada dinding sel juga bertambah untuk menyerap Pb(II). Dengan kata lain dapat dikatakan bahwa jumlah sel biosorben yang ditambahkan seiring dengan variasi inokulum akan menambah sisi aktif dari biosorben untuk mengikat Pb(II). Penyerapan tertinggi dari proses biosorpsi ini terjadi pada jumlah inokulum 15 mL dengan presentase yang teradsorpsi yaitu 89,6 % sedangkan adsorpsi terendah dari proses biosorpsi ini terjadi pada jumlah inokulum 6 mL dengan presentase yang teradsorpsi yaitu 77%.

Selain itu, suasana asam atau kondisi asam pada media pertumbuhan *T. viride* yang dikontakkan dengan Pb(II) memungkinkan adanya ion H^+ yang semakin bertambah banyak. Ion-ion H^+ ini yang selanjutnya akan menambah atau memprotonasi gugus-gugus basa pada dinding sel jamur *T. viride* seperti $-NH_2^+$ menjadi $-NH_3^+$ [27].



Gambar 5.10. Hasil FTIR spektrofotometri untuk proses biosorpsi Pb(II) oleh *T. viride*. pada jumlah inokulum 15 mL.

Dalam penelitian ini, variasi jumlah inokulum yang digunakan yaitu pada 15 mL. Hasil analisa menunjukkan adanya pergeseran serapan pada beberapa bilangan gelombang. Pergeseran bilangan gelombang 3424 cm^{-1} menjadi 3283



cm^{-1} menunjukkan adanya vibrasi ulur O-H sedangkan vibrasi ulur CH bergeser dari bilangan gelombang 2928 cm^{-1} menjadi 2924 cm^{-1} . Vibrasi ulur C=O ditunjukkan dengan pergeseran bilangan gelombang 1649 cm^{-1} menjadi 1651 cm^{-1} lalu vibrasi uluran C=C bergeser dari bilangan gelombang 1557 cm^{-1} menjadi 1543 cm^{-1} . Vibrasi ulur CH_3 ditunjukkan dengan adanya pergeseran dari 1402 cm^{-1} menjadi 1414 cm^{-1} . Vibrasi ulur amina (CN) ditunjukkan dengan adanya pergeseran dari 1245 cm^{-1} menjadi 1240 cm^{-1} . Vibrasi C-H aromatik bergeser dari 1078 cm^{-1} menjadi 1048 cm^{-1} .

Hasil FTIR spektrofotometri untuk proses biosorpsi Pb(II) oleh *T.viride* pada jumlah inokulum 15 mL disajikan dalam Tabel 5.6

Tabel 5.6 FTIR spektrofotometri untuk proses biosorpsi Pb(II) oleh *T.viride* pada jumlah inokulum 15 mL

No	Bilangan Gelombang (cm^{-1})	Perubahan Setelah Adsorpsi (cm^{-1})	Gugus fungsional
1	3424	3283	NH,OH
2	2928	2928	CH
3	1649	1649	C=O
4	1557	1541	C=C
5	1402	1400	CH_3
6	1316	1318	C-O
7	1245	1235	amina(CN)
8	1078	1127	C-H(aromatik)

5.6. Kapasitas Adsorpsi

Kapasitas adsorpsi digunakan untuk mengetahui jumlah adsorbat tiap gram adsorben (jumlah koloni/mL) agar menghasilkan adsorpsi yang maksimal.

Kapasitas adsorpsi dihitung pada kondisi optimum konsentrasi 30 ppm serta jumlah koloni ($11,5 \times 10^7$ koloni/mL). Dari hasil perhitungan pada kondisi



optimum maka kapasitas penyerapan ion Pb(II) yang diperoleh adalah sebesar 8,69mg /10⁶koloni.

5.7. Biosorpsi Pb(II) pada sampel air sungai dengan *T.viride*

Dalam penelitian ini biosorpsi Pb(II) dengan *T. viride* diaplikasikan langsung pada tiga sampel air dari sungai yaitu sungai Dinoyo, sungai Ladungsari serta sungai Tidar. Hal ini bertujuan untuk mengurangi konsentrasi Pb(II) yang ada dalam masing-masing sampel air sungai.

Hasil pengujian kadar Pb(II) sebelum dan sesudah biosorpsi yang terkandung dalam masing-masing sampel air sungai dilampirkan pada Tabel 5.7. Proses biosorpsi dilakukan pada kondisi optimum pH 4,5, lama waktu kontak 40 jam, serta jumlah inokulum 15 mL.

Tabel 5.7 Hasil pengujian kadar Pb(II)

No	Kode Sampel	Konsentrasi Pb(II) (ppm)	Setelah Biosorpsi (ppm)	% Biosorpsi
1	S. Dinoyo	0,0135	0,00391	71,03
2	S. Ladungsari	0,0873	0,00995	88,60
3	S. Tidar	1,1457	0,2998	73,83

Dari Tabel 5.7, menunjukkan bahwa proses biosorpsi menggunakan *T. viride* dapat menjadi salah satu metode untuk mengurangi konsentrasi limbah Pb(II) di lingkungan perairan. Hal ini ditunjukkan dengan berkurangnya konsentrasi Pb(II) dari masing-masing sampel air sungai setelah biosorpsi serta adanya presentase biosorpsi diatas 50%.



BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Jamur *T. viride* memiliki kemampuan dalam melakukan proses biosorpsi Pb(II). Proses biosorpsi Pb(II) ini dipengaruhi oleh pH, konsentrasi awal Pb(II), waktu kontak serta jumlah inokulum dari *T. viride* yang digunakan. pH Optimum yang diperoleh untuk proses biosorpsi Pb(II) oleh *T. viride* yaitu 4,5, dengan presentase sebesar 93,35%. Semakin besar konsentrasi awal Pb(II) yang digunakan maka semakin kecil jumlah Pb(II) yang terbiosorpsi. Konsentrasi optimum yang diperoleh untuk proses biosorpsi Pb(II) yaitu 30 ppm dengan presentase sebesar 86,71%. Semakin banyak jumlah inokulum *T. viride* yang digunakan maka semakin besar jumlah Pb(II) yang terbiosorpsi. Jumlah inokulum optimum yang diperoleh yaitu 15 mL dengan banyaknya koloni (173×10^7) menghasilkan presentase sebesar 89,6%. Sedangkan waktu kontak optimum dalam biosorpsi Pb(II) terjadi pada jam ke-40 yang menunjukkan banyaknya presentase penyerapan Pb(II) dengan presentase sebesar 94,5%.

Mekanisme biosorpsi yang diusulkan yaitu melalui proses adsorpsi antara ion bermuatan positif dan muatan negatif pada gugus fungsional yang ada pada dinding sel *T. viride*, seperti $-\text{COO}^-$, $-\text{NH}_2^-$, dan $-\text{OPO}_3^{2-}$. yang ada pada permukaan sel. Hal ini juga ditunjukkan dengan adanya perubahan pada gugus-gugus fungsional dalam *T. viride* yang ditunjukkan oleh spektra FTIR pada bilangan gelombang 3424 cm^{-1} , 2928 cm^{-1} , 1649 cm^{-1} , 1557 cm^{-1} , 1402 cm^{-1} , 1316 cm^{-1} , 1245 cm^{-1} , dan 1078 cm^{-1} . Mekanisme proses biosorpsi yang lain diduga disebabkan karena dalam konsentrasi rendah ion Pb(II) diperlukan oleh



enzim-enzim yang ada dalam *T. viride* sebagai kofaktor. Hasil biosorpsi Pb(II) pada sampel air dari sungai Dinoyo, Landungsari, dan menunjukkan bahwa pada kondisi optimum tersebut (pH 4,5; waktu kontak 40 jam, dan jumlah inokulum 15 mL) menghasilkan persentase biosorpsi rata-rata di atas 50%.

Saran

1. Perlu melakukan penelitian lebih lanjut mengenai analisis profil protein *T.viride* sebelum dan setelah proses biosorpsi Pb(II).



Daftar Pustaka

- [1] H. Helmi, "Penurunan Kadar Logam Krom Pada Limbah Cair Industri Pelapisan Logam Dengan Biomasa Jamur Merang," *J. Sains Dan Teknol. Reaksi*, vol. 9, no. 1, 2011.
- [2] V. I. Meitiniarti, R. A. Nugroho, and A. S. Krave, "Ragam Bakteri Pereduksi Krom dari Air Limbah Penyamakan Kulit dan Rhizosfer *Acalypha indica*," 2014.
- [3] A. Kapoor and T. Viraraghavan, "Heavy metal biosorption sites in *Aspergillusniger*," *Bioresour. Technol.*, vol. 61, no. 3, pp. 221–227, 1997.
- [4] A. A. Prasad, G. Varatharaju, C. Anushri, and S. Dhivyasree, "Biosorption of lead by *Pleurotus florida* and *Trichoderma viride*," *Br. Biotechnol. J.*, vol. 3, no. 1, p. 66, 2013.
- [5] A. Çabuk, S. İlhan, C. Filik, and F. Çalışkan, "BiosorptionPb by Pretreated Fungal Biomass," *Turk. J. Biol.*, vol. 29, no. 1, pp. 23–28, 2005.
- [6] H. Hardiani, T. Kardiansyah, and S. Sugesty, "Bioremediasi logam timbal (Pb) dalam tanah terkontaminasi limbah sludge industri kertas proses deinking," *J. Selulosa*, vol.1, no.1,2016.
- [7] B. Buhani, S. Suharso, and Z. Sembiring, "Biosorption of Metal Ions Pb(II), Cu(II), and Cd(II) on *Sargassum duplicatum* Immobilized Silica Gel Matrix," *Indones. J.Chem.*, vol. 6, no. 3, pp. 245–250, 2010.
- [8] K. F. Rumapar, B. Rumhayati, and R. T. Tjahjanto, "Adsorption of lead and copper using water hyacinth compost (*Eichornia Crassipes*)," *J. Pure Appl. Chem. Res.*, vol. 3, no. 1, pp. 27–34, 2014.
- [9] D. Heltina, R. Indriani, and others, "Biosorpsi Pb(II) Pada Jamur *Trichoderma Asperrellum* TNJ-63," *J. Rekayasa Proses*, vol. 3, pp. 1–4, 2012.
- [10] P. Sujatha, V. Kalarani, and B. N. Kumar, "Effective biosorption of nickel (II) from aqueous solutions using *Trichoderma viride*," *J. Chem.*, vol. 2013, 2012.
- [11] N. R. Bishnoi, R. Kumar, and K. Bishnoi, "Biosorption of Cr(VI) with *Trichoderma viride* immobilized fungal biomass and cell free Ca-alginate beads," 2007.



- [12] W. Widowati, A. Sastiono, and R. Jusuf, "Efek Toksik Logam: Pencegahan dan Penanggulangan Pencemaran," *Penerbit Andi Yogyakarta*, 2008.
- [13] H. Palar, "Pencemaran dan toksikologi logam berat," *Jkt. Rineka Cipta*, 1994.
- [14] D. Gusnita, "Pencemaran Logam Berat Timbal(Pb) di Udara dan Upaya Penghapusan Bensin Bertimbal," *Ber. Dirgant.*, vol. 13, no. 3, 2012.
- [15] J. MacArthur *et al.*, "West Seno Field Development: the First Deepwater Field in Indonesia," in *SPE Asia Pacific Oil and Gas Conference and Exhibition*, 2001.
- [16] S. . S. S. A. Ssa and w. F. Lestari, "analisis kadar logam merkuri (Hg) Dan timbal (Pb) pada teripang terung (*Phyllophorus sp.*) Asal Pantai Kenjeran."
- [17] J. M. Hollas, *Modern spectroscopy*. John Wiley & Sons, 2004.
- [18] KY Foo and B. Hameed, "Insights into the modeling of adsorption isotherm systems," *Chem. Eng. J.*, vol. 156, no. 1, pp. 2–10, 2010.
- [19] M. Kaur, M. Singh, S. S. Mukhopadhyay, D. Singh, and M. Gupta, "Structural, magnetic and adsorptive properties of clay ferrite nanocomposite and its use for effective removal of Cr (VI) from water," *J. Alloys Compd.*, vol. 653, pp. 202–211, 2015.
- [20] I. Syaunqiah, M. Amalia, and H. A. Kartini, "Analisis Variasi Waktu dan Kecepatan Pengaduk pada Proses Adsorpsi Limbah Logam Berat dengan Arang Aktif," *INFO-Tek.*, vol. 12, no. 1, pp. 11–20, 2016.
- [21] I. Sa'idah, S. Sutrisno, and S. Suratmo, "Optimasi Amobilisasi Enzim Xilanase Dari *Trichodema viride* Menggunakan MatriksKitosan-Tripolifosfat," *J. Ilmu Kim. Univ. Brawijaya*, vol. 2, no. 1, p. pp–324, 2013.
- [22] L. Lehar, "Pengujian Pupuk Organik Agen Hayati (*Trichoderma sp*) terhadap Pertumbuhan Kentang (*Solanum tuberosum L*) The Experiment of The Use Of Organic Fertilizer and A Biology Agent (*Trichoderma sp*) Towards The Growth Of Potato (*Solanum tuberosum L*)," *J. Pertan. Terap.*, 2012.
- [23] S. Cholifah, "Penggunaan Metode Ftir (Fourier Transform Infra Red) Untuk Studi Analisis Gugus Fungsi Sampel Minyak Goreng Dengan



Perlakuan Variasi Pemanasan,” PhD Thesis, Department of Physics, Diponegoro University, 2009.

- [24] S. Sabihi and M. Sabihi, “Uji Daya Hambat Sari Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum* Val.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*,” Universitas Negeri Gorontalo, 2014.
- [25] M. Pelczar, E. Chan, and N. Krieg, “Microbiology McGraw-Hill,” N. Y., pp. 57–63, 1986.
- [26] El-Kassas, H. Y. dan E. M. El-Taher, "Optimization of Batch Process Parameters by Response Surface Methodology for Mycoremediation of Chrome-VI by a Chromium Resistant Strain of Marine *Trichoderma viride*", American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci., 5 (5): 676-681, 2015.
- [27] Triatmojo, S., dkk., "Biosorpsi dan Reduksi Krom Limbah Penyamakan Kulit dengan Biomassa *Fusarium sp*". 2001.
- [28] Suhud, Iffatunniswah, Vanny MA Tiwow, and Baharuddin Hamzah. "Adsorpsi Ion Kadmium (II) Dari Larutannya Menggunakan Biomassa Akar Dan Batang Kangkung Air (*Ipomoea aquatica* Forks) (Adsorption of Cadmium (II) Ion from its Solution by Using Biomass of Roots and Stems' Water Spinach (*Ipomoea Aquatic* Forsk))." *Jurnal Akademika Kimia* 1.4 (2012).
- [29] Dwidjoseputro, D., "Dasar-Dasar Mikrobiologi". Jakarta : Djambatan. 11-23, 1990.
- [30] Morzy, F.M., S.H.A. Hassan and M Kouttb. "Biosorption Cd(II) and Zn(II) by *Nostoc Commune*: "Isotherm and Kinetics Studys" *Clean soil, air, water*. vol. 39 (7). Willey-VCH Verlag GmbH and Co: Weinheim. Pp. 680-687. 2011.
- [31] Santoso, Singgih. Statistik Multivariat dengan SPSS. Elex Media Komputindo, 2017.
- [32] Tchounwou, P. B., dkk, "Molecular, Clinical and Environmental Toxicology", NIH Public Access, Vol. 101, Hal. 133–164. 2014.
- [33] Ratnawati, E. "Pengaruh pH, Konsentrasi Biosorben dan waktu reaksi Terhadap Penurunan logam berat Pb dengan memanfaatkan limbah Industri Bir Dalam Bentuk Pelet Sebagai Biosorben". Vol. 32, No 2, Hal 73-78, 2010.
- [34] Niken. "Mengenal lebih jelas *trichoderma viride*". 2009.



- [35] Zochrova "Potensi *Nostoc commune* Vaucher ex Bornet dan Flahault Sebagai Fikoremediator Logam Timbal(Pb)". Fakultas Biologi Universitas Gaja Mada. Yogyakarta. 2011.