

Penurunan Kadar Organik Endapan *Calcite* pada Metode *Soybean Crude Urease Calcite Precipitation* (SCU-CP) Menggunakan Etanol sebagai Upaya Perbaikan Tanah

Resti Maulasih¹, Heriansyah Putra¹, dan Hendra Prasetya²

¹Departemen Teknik Sipil dan Lingkungan, Fakultas Teknologi Pertanian,
Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia

²Research Centre for Mining Technology, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN),
Tanjung Bintang, Lampung, Indonesia

fornaxmaulasih@apps.ipb.ac.id, heriansyahptr@apps.ipb.ac.id

Abstrak

Penggunaan ekstraksi kedelai sebagai pengganti enzim *urease* menyebabkan peningkatan endapan organik sehingga diperlukan upaya untuk mengurangi endapan organik yang dihasilkan menggunakan etanol. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh perbedaan konsentrasi kedelai dan etanol perlu dievaluasi untuk mendapatkan endapan material CaCO_3 dengan kualitas terbaik. Evaluasi dilakukan dengan menggunakan parameter laju hidrolisis, pengendapan CaCO_3 , serta kuantifikasi massa CaCO_3 dan bentuk mineral yang terbentuk. Penggunaan etanol 20% pada konsentrasi kedelai 60 g/L menunjukkan hasil terbaik dengan nilai laju hidrolisis sebesar 1547 U/g dan nilai tersebut cukup dekat dengan nilai laju hidrolisis *urease* komersial Kishidan 2 g/L. Selain itu, massa CaCO_3 yang terbentuk sebesar 2,97 g dengan jumlah kalsit lebih tinggi dibanding vaterit dan aragonit. Massa organik yang tidak larut pada larutan kedelai dengan etanol lebih sedikit daripada variasi tanpa etanol. Hal ini berkaitan dengan penggunaan supernatan yang menurunkan jumlah kadar organik. Turunnya kadar organik mempengaruhi turunnya jumlah endapan CaCO_3 . Bentuk endapan yang terbentuk pada kristal kalsit (*rhombohedral*) menjadi bentuk terbaik dalam mengikat tanah sehingga dapat meningkatkan kekuatan tanah.

Kata kunci: kedelai, etanol, presipitasi, kalsit, tanah endapan

Abstract

The use of soybean extraction as a substitute for urease enzymes causes an increase in organic precipitates, so efforts are needed to reduce the resulting organic precipitates using ethanol. The purpose of this study is to determine the effect of different concentrations of soybeans and ethanol need to be evaluated to obtain the best quality CaCO_3 precipitate material. The evaluation was carried out using hydrolysis rate, CaCO_3 precipitation, and quantification of CaCO_3 mass and mineral forms formed. The use of 20% ethanol at a soybean concentration of 60 g/L showed the best results with a hydrolysis rate of 1547 U/g, and this value is quite close to the value of the hydrolysis rate of 2 g/L Kishidan commercial urease. In addition, the mass of CaCO_3 formed was 2,97 g, with more calcite than vaterite and aragonite. The insoluble organic mass in the soybean solution with ethanol is less than the variation without ethanol. It is related to using supernatants, which reduce the amount of organic content. The decrease in organic content affects the reduction in CaCO_3 precipitate. The shape of the precipitate formed in calcite crystals (*rhombohedral*) is the best form to bind the soil to increase soil strength.

Keywords: soil stabilization, soybean, ethanol, precipitation, calcite

1. Pendahuluan

Tanah mempunyai peranan yang penting pada bangunan infrastruktur seperti sebagai bahan dan beban bangunan infrastruktur serta sebagai pendukung. Menurut Wardoyo dkk., (2019) tanah dengan daya dukung yang rendah seperti tanah ekspansif (tanah lunak) dapat berpotensi menimbulkan kendala dalam pekerjaan konstruksi berupa *settlement* (penurunan tanah). Persebaran pasir lepas dan tanah lunak di Indonesia jumlahnya cukup besar bahkan luas tanah lunak di Indonesia mencakup 10% dari total luas daratan (Wardoyo dkk., 2019). Daya dukung tanah yang rendah ini dapat ditingkatkan dengan metode perbaikan tanah (stabilisasi) baik dilakukan dengan cara mekanis maupun stabilisasi kimiawi. Stabilisasi kimiawi dapat menggunakan bahan tambah seperti semen Portland, *limestone*, *fly ash*, *bottom ash*, *gypsum*, *calcium-based stabilization*, dan *microbial materials* (Fondjo dkk., 2021).

Penggunaan semen Portland sebagai bahan tambah perbaikan tanah (*stabilizer*) telah banyak dilakukan. Namun, proses produksi semen membutuhkan energi yang tinggi dan banyak menghasilkan emisi karbon. Untuk meningkatkan daya dukung tanah dengan tanpa atau sedikit menyebabkan pencemaran lingkungan, *stabilizer* lainnya yang ramah lingkungan sudah saatnya digunakan. Salah satu metode perbaikan tanah yang ramah lingkungan adalah *calcite precipitation* dengan penggunaan

Info Makalah:

Dikirim : 09-18-24;
Revisi 1 : 10-21-24;
Revisi 2 : 12-05-24;
Revisi 2 : 01-03-25;
Diterima : 01-03-25.

Penulis Korespondensi:

Telp : +6282246643151
e-mail : heriansyahptr@apps.ipb.ac.id

enzim *urease* atau dikenal dengan *Enzym-Induced Calcite Precipitation* (EICP). Pengganti enzim *urease* murni dapat dilakukan menggunakan ekstraksi biji tanaman salah satunya kedelai (Lai dkk., 2023) atau dikenal *Soybean Crude Urease-Calcite Precipitation* (SCU-CP). Penggunaan ekstraksi kedelai sebagai pengganti enzim *urease* menyebabkan peningkatan endapan organik sehingga diperlukan upaya untuk mengurangi endapan organik yang dihasilkan salah satunya dengan penggunaan etanol. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh berbagai variasi konsentrasi kedelai dan etanol terhadap endapan CaCO_3 yang terbentuk perlu dievaluasi untuk mendapatkan kualitas terbaik melalui kecepatan hidrolisis, jumlah dan jenis endapan, serta bentuk material CaCO_3 yang terbentuk.

1.1. Tanah Organik Hasil Endapan Kedelai

Material organik hasil endapan kedelai yang tidak larut mempengaruhi reaksi pembentukan kalsit menjadi kurang efektif dan menyumbat pori-pori tanah sehingga kalsit tidak dapat terdistribusi secara merata di dalam tanah (Baiq dkk., 2020) sehingga perlu dilakukan pengujian menggunakan metode *X-Ray Diffraction* (XRD) untuk menganalisis komposisi kristal hasil pengendapan kalsit serta SEM (*Scanning Electron Microscope*) untuk melihat bentuk dari presipitasi mineral CaCO_3 yang terbentuk.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Pratama dkk., (2021), material endapan yang terbentuk dari penggunaan ekstraksi kedelai sebagai pengganti enzim *urease* murni menghasilkan komposisi mineral CaCO_3 berupa kalsit dan vaterit, berbeda dengan penggunaan enzim *urease* murni yang hanya menghasilkan kalsit (Cuccurullo dkk., 2022). Menurut Gao dkk., (2019) penggunaan kedelai dapat meningkatkan kadar organik dalam larutan yang mempengaruhi pembentukan endapan mineral CaCO_3 dimana semakin tinggi konsentrasi kedelai maka kadar organik yang dihasilkan juga meningkat. Lai dkk., (2023) melaporkan bahwa penggunaan etanol mampu mengurangi kadar organik yang dihasilkan pada metode *calcit precipitation* yang menggunakan kedelai sebagai biokatalis. Hasil penelitian Lai dkk., (2023) juga menunjukkan kandungan etanol pada rentang 20%-30% (v/v) untuk pembuatan larutan *urease* kacang kedelai 100 g/L menghasilkan kuat tekan tertinggi.

Pratama dkk., (2021) juga melaporkan bahwa penggunaan kedelai menghasilkan laju hidrolisis yang lebih rendah dibandingkan *urease* murni. Penggunaan konsentrasi kedelai 50 g/L menghasilkan laju hidrolisis tertinggi dibandingkan konsentrasi kedelai 10, 20, 30, dan 40 g/L sebesar 3700 $\mu\text{mol/L/min}$. Penurunan laju hidrolisis yang dihasilkan dari penggunaan kedelai memiliki pengaruh terhadap pembentukan kalsit sehingga pembentukan kalsit tidak sempurna (Nemati Voordouw, 2003). Peningkatan konsentrasi kedelai juga berhubungan linier dengan aktivitas *urease* seperti pada penelitian Putra dkk., (2021) dimana hasil penelitian menunjukkan penggunaan konsentrasi kedelai 50 g/L menghasilkan laju hidrolisis terbesar sebesar 1600 U/g dibandingkan dengan konsentrasi kedelai 5, 10, 20, 30, dan 40 g/L. Oleh karena itu, penggunaan kedelai dengan konsentrasi tinggi dengan variasi etanol pada metode *calcit precipitation* perlu dilakukan.

1.2. Stabilisasi Tanah dengan Metode EICP

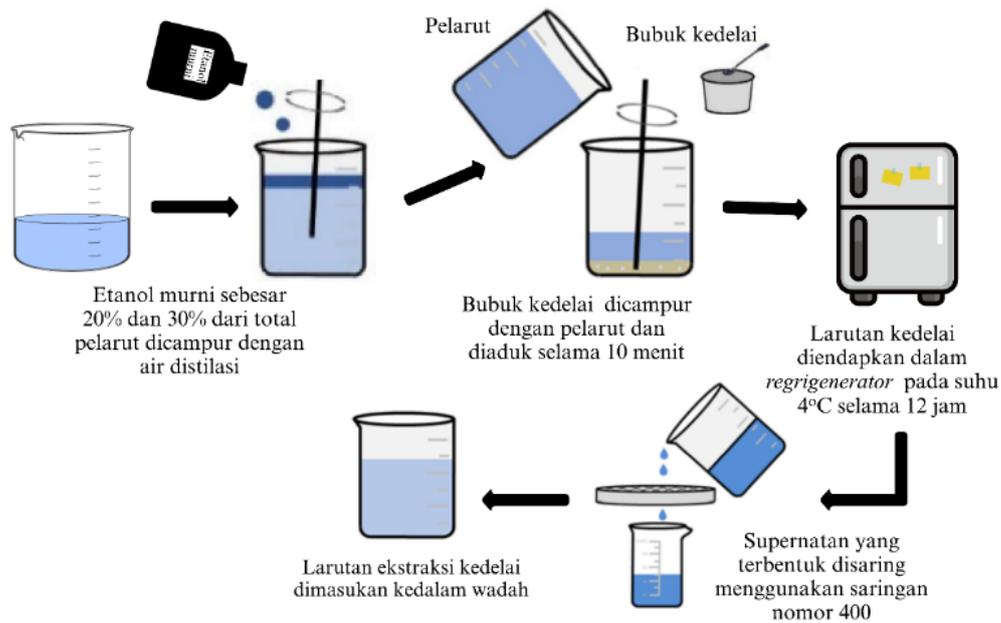
Perbaikan tanah dengan metode EICP banyak diteliti untuk meningkatkan kekuatan tanah bahkan mitigasi erosi (Almajed dkk., 2020). Metode EICP menggunakan enzim *urease* untuk memecah urea menjadi ion karbonat (CO_3^{2-}) dan ion amonium (NH_4^+). Ion karbonat ini akan bergabung dengan Ca^{2+} (ion kalsium) sehingga menghasilkan kalsit atau karbonat (CaCO_3) (Neupane dkk., 2015). Komposisi mineral CaCO_3 yang diperlihatkan dapat berupa kalsit, aragonit, dan vaterit serta komposisi mineral yang tidak terdefinisi (*unidentified*) yang terdiri dari garam-garam hasil sampingan (*by-product*) dari CaCO_3 seperti sal ammoniac (NH_4Cl) maupun material organik dari penggunaan kedelai yang tidak larut (Lee and Kim, 2020).

2. Metode

Bahan pembuatan contoh uji menggunakan bubuk kedelai *food grade*, urea ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) *GR for analysis ACS Merck* kadar minimum 99%, kalsium klorida dihidrat (CaCl_2) *for analysis Cryst Merck* kadar minimum 99%, etanol, dan air distilasi. Penelitian ini terbagi menjadi beberapa tahapan, yaitu ekstraksi kedelai, laju hidrolisis (*hydrolysis rate*), *precipitation test*, kuantifikasi massa CaCO_3 , XRD, SEM. Sebelum digunakan pada pengujian, bubuk kedelai disaring terlebih dahulu dengan saringan nomor 50 menggunakan *sieve shaker* dan bubuk kedelai disimpan dalam sebuah kontainer yang tertutup rapat dan disimpan pada suhu ruang.

2.1. Pembuatan Larutan Ekstraksi Kedelai

Ekstraksi kedelai dilakukan dengan mengacu pada penelitian (Lai dkk., 2023). Pertama, bubuk kedelai disaring menggunakan saringan nomor 50. Selanjutnya, bubuk kedelai dicampurkan dengan pelarut dan diaduk selama 10 menit menggunakan stirer. Pelarut dibuat dengan mencampurkan etanol murni sebesar 20% dan 30% dari total larutan yang akan dibuat. Setelah mencampurkan kedelai dengan pelarut, larutan kedelai diendapkan di dalam lemari es pada suhu 4° C selama 12 jam (Lai dkk., 2023). Hasil endapan yang terbentuk berupa supernatan. Kemudian, supernatan disaring menggunakan saringan nomor 400 dan hasil saringan dipindahkan ke dalam wadah. Hasil saringan ini disebut larutan ekstraksi kedelai yang akan digunakan untuk pembuatan larutan SCU-CP. Skema pembuatan larutan ekstraksi kedelai dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Skema Pembuatan Lautan Ekstraksi Kedelai

2.2. Pengujian Laju Hidrolisis (*Hydrolysis Rate*)

Untuk mengetahui tingkat kemampuan kedelai dalam menghidrolisis (menguraikan) urea, laju hidrolisis (*hydrolysis rate*) perlu diketahui. Dalam penelitian ini, pengujian laju hidrolisis dilakukan dengan mengadopsi penelitian dari (Whiffin, 2004). Perhitungan *hydrolysis rate* dihitung dengan menggunakan Persamaan (1).

$$\text{Hydrolysis rate} \left(\frac{U}{g} \right) = \frac{\theta_{ms}}{\theta_{sc}} \times v \times N \quad (1)$$

Pada laju hidrolisis, konsentrasi urea yang digunakan sebesar 100, 200, 300, 400, 500, dan 600 mmol/L yang dicampur dengan bubuk kedelai sebesar 20 g/L. Kurva standar ini dihasilkan setelah konduktivitas elektrik terukur mencapai nilai maksimumnya. Nilai konduktivitas elektrik dari setiap konsentrasi tersebut kemudian diplotkan ke dalam kurva standar. Nilai *slope* pada kurva standar disimbolkan dengan θ_{sc} yang digunakan pada perhitungan setiap variasi konsentrasi kedelai dan urea berdasarkan Persamaan (1). Pengujian laju hidrolisis yang dilakukan dalam penelitian ini terdiri dari berbagai variasi larutan urea dan larutan ekstraksi kedelai seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Variasi Pengujian *Hydrolysis Rate*

No Sampel	Konsentrasi Urea (mol/L)	Larutan Ekstraksi kedelai		
		Konsentrasi Kedelai (g/L)	Air Distilasi (%)	Pelarut Etanol (%)
H1-20	1	20	80	20
H2-20	1	40	80	20
H3-20	1	60	80	20
H4-20	1	80	80	20
H5-20	1	100	80	20
H1-30	1	20	70	30
H2-30	1	40	70	30
H3-30	1	60	70	30
H4-30	1	80	70	30
H5-30	1	100	70	30



Gambar 2. Skematik Pengujian Laju Hidrolisis

Hasil yang diperoleh dari pencampuran sejumlah mol urea dan ekstraksi larutan kedelai berupa grafik hubungan antara waktu (menit) dan nilai konduktivitas elektrik yang terukur. Grafik *hydrolysis rate* menghasilkan sebuah garis peningkatan yang akan dihitung *slope* atau kemiringannya. Nilai *slope* variasi konsentrasi urea maupun ekstraksi bubuk kedelai disimbolkan dengan θ_{ms} akan dihitung bersama dengan nilai *slope* kurva standar berdasarkan Persamaan (1) dan skema pengujian *hydrolysis rate* menggunakan Edge Multiparameter HI2030 disajikan pada Gambar 2.

2.3. Precipitation Test

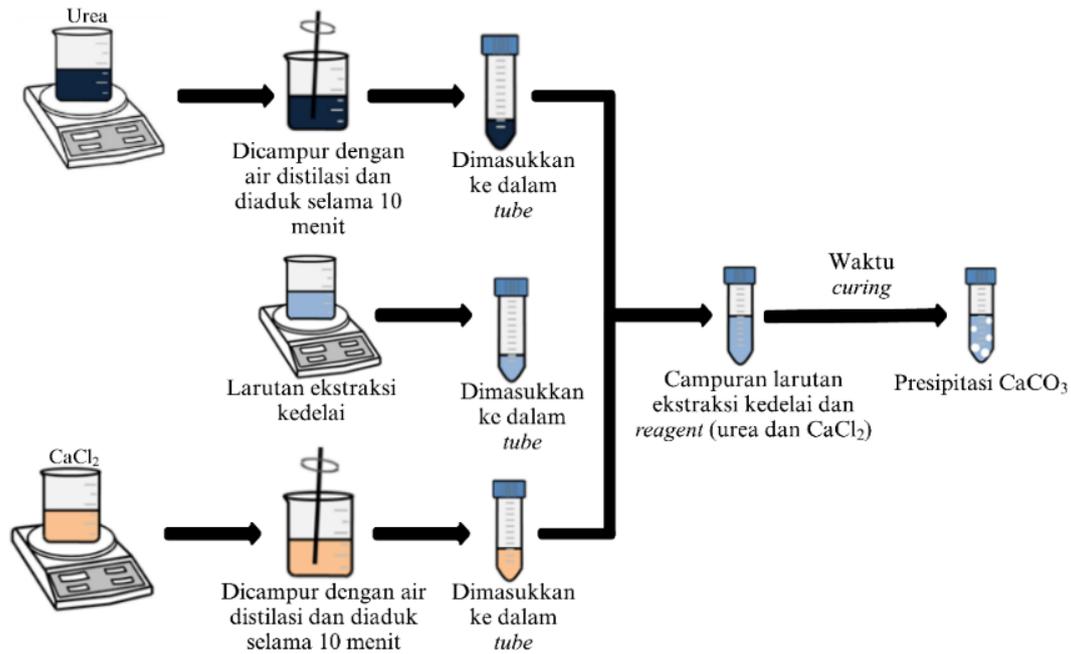
Precipitation test atau sering juga disebut *test tube experiment* dilakukan untuk mengetahui massa kalsium karbonat (CaCO_3) yang terbentuk atau terendapkan dari campuran larutan dengan variasi konsentrasi kedelai, konsentrasi *reagent*, dan kadar etanol. Hasil yang diperoleh dari *test tube experiment* berupa rasio presipitasi atau pengendapan CaCO_3 . Rasio presipitasi merupakan rasio antara massa aktual endapan hasil pengujian dengan massa teoritis (massa CaCO_3 maksimum yang mampu terbentuk). Rasio presipitasi dihitung dengan menggunakan Persamaan (2) dan Persamaan (3).

$$\text{Rasio presipitasi (\%)} = \frac{a_m}{t_m} \quad (2)$$

$$t_m = C \times V \times M \quad (3)$$

Tabel 2. Experimental Condition Pengujian Precipitation Test

No Sampel	Konsentrasi Reagent (mol/L)	Larutan Ekstraksi kedelai		
		Konsentrasi Kedelai (g/L)	Air Distilasi (%)	Pelarut Etanol (%)
P1	1	20	100	0
P2	1	40	100	0
P3	1	60	100	0
P4	1	80	100	0
P5	1	100	100	0
P1-20	1	20	80	20
P2-20	1	40	80	20
P3-20	1	60	80	20
P4-20	1	80	80	20
P5-20	1	100	80	20
P1-30	1	20	70	30
P2-30	1	40	70	30
P3-30	1	60	70	30
P4-30	1	80	70	30
P5-30	1	100	70	30



Gambar 3. Skematik Prosedur *Test Tube Experiment*

Jumlah larutan ekstraksi kedelai dan larutan *reagent* yang dibutuhkan sebanyak 30 ml setiap *tube* sampel pengujian. Perbandingan campuran CaCl_2 : urea : ekstraksi kedelai adalah 1:1:2. Semua sampel *tube* yang berisi larutan disusun pada *tube rack* dan di-*curing* selama 7 hari pada suhu ruang (Loebis Putra, 2022; Pratama dkk., 2021). Setelah 7 hari, larutan di dalam *tube* disaring menggunakan kertas *filter* dan endapan yang terbentuk pada dinding *tube* beserta kertas *filter* kemudian dipanaskan pada oven selama 3 hari dengan suhu 60°C sampai *tube* dan kertas *filter* kering. Variasi konsentrasi *test tube experiment* yang digunakan disajikan pada

Tabel 2 dan skema *precipitation test* disajikan pada Gambar 3.

2.4.

No Sampel	Konsentrasi <i>Reagent</i> (mol/L)	Larutan Ekstraksi kedelai		
		Konsentrasi Kedelai (g/L)	Air Distilasi (%)	Pelarut Etanol (%)
P1	1	20	100	0
P2	1	40	100	0
P3	1	60	100	0
P4	1	80	100	0
P5	1	100	100	0
P1-20	1	20	80	20
P2-20	1	40	80	20
P3-20	1	60	80	20
P4-20	1	80	80	20
P5-20	1	100	80	20
P1-30	1	20	70	30
P2-30	1	40	70	30
P3-30	1	60	70	30
P4-30	1	80	70	30
P5-30	1	100	70	30

Uji

Kuantifikasi Massa Endapan CaCO_3

Kalsinasi menggunakan *furnace* ditujukan untuk menghilangkan senyawa organik endapan CaCO_3 yang dihasilkan selama masa *curing time* sehingga jumlah CaCO_3 yang terbentuk dapat diketahui dengan pasti jumlahnya (Afifah dan Cahyaningrum, 2020). Persiapan dimulai dengan menimbang sampel hasil *presipitasi test* dipanaskan pada temperatur 500°C menggunakan tanur selama 1 jam pada variasi tanpa etanol, etanol 20% dan 30% dengan konsentrasi kedelai 20 g/L, 40 g/L, 60 g/L, 80 g/L, dan 100 g/L untuk mengetahui jumlah senyawa organik dan CaCO_3 dengan cara membakar habis senyawa organiknya (Kristianingrum, 2012). Setelah dikeluarkan dari tanur, sampel dimasukkan ke dalam desikator sampai mencapai suhu ruang dan ditimbang kembali berat akhirnya. Perbedaan antara berat awal sebelum ditanur dengan berat akhir setelah ditanur dikatakan sebagai senyawa organik (kedelai).

2.5. XRD (X-Ray Diffraction)

Instrumen yang digunakan berupa XRD Malvern PANalytical Empyrean Diffractometer yang beroperasi dengan voltase 40 kV dan 40 mA. Panjang gelombang radiasi X-Ray Cu-Ka yang digunakan sebesar 1,542 Å serta pengolahan data XRD menggunakan *software* Match! yang dapat memberikan informasi mengenai komposisi mineral (kalsit, vaterit, aragonit, maupun mineral tidak terdefinisi hasil sampingan dari CaCO₃) dan komposisi fase kristal maupun fase *amorphous* yang terbentuk pada setiap sampel secara otomatis. Mekanisme *software* Match! dalam menentukan komposisi mineral, fase kristal dan *amorphous* melalui identifikasi kesesuaian *peak* (puncak) dengan sudut difraksi 2θ dan intensitasnya sesuai dengan mineralnya serta mencatat luas area dari setiap *peak* tersebut. Pada penelitian ini, pengujian XRD dilakukan untuk sampel yang dibuat dengan konsentrasi 50 g/L baik pada penggunaan etanol 20%, etanol 30%, dan tanpa etanol.

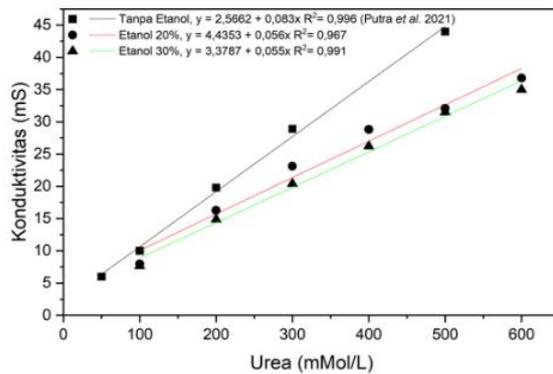
2.6. SEM (Scanning Electron Microscope)

Instrumen yang digunakan berupa SEM JEOL JSM-IT 200 dengan parameter perbesaran 1000x, 5000x, 10000x, HV. 10kV, dan *spotsize* 4. Sampel yang digunakan untuk pengujian berbentuk bubuk dengan ukuran sampel lolos 270 mesh atau 325 mesh dengan sampel berada dalam keadaan kering/tidak basah dan lembab. Sebelum di uji, sampel di *coating* terlebih dahulu untuk meningkatkan kualitas citra. Pada penelitian ini, pengujian SEM dilakukan untuk sampel yang dibuat dengan konsentrasi 50 g/L pada penggunaan etanol 20% dan etanol 30%.

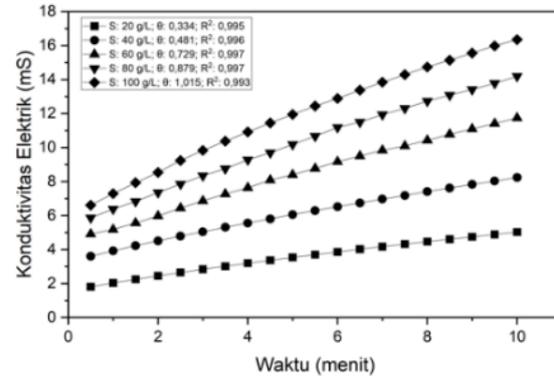
3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Pengendapan CaCO₃

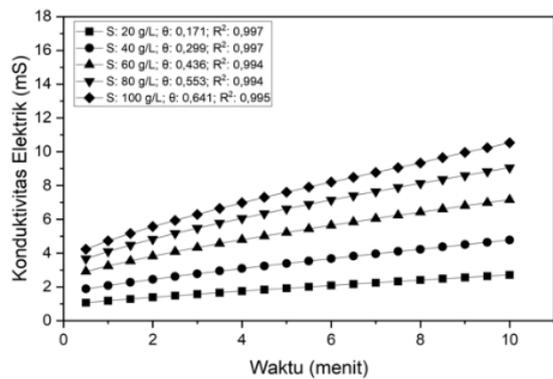
Grafik hasil pencatatan konduktivitas elektrik antara tanpa etanol, etanol 20%, dan etanol 30% akan menghasilkan nilai *slope* yang kemiringannya akan digunakan untuk mengetahui laju hidrolisis yang terjadi. Nilai *slope* untuk variasi tanpa etanol dapat dilihat pada Gambar 4b, variasi etanol 20% pada Gambar 4c, dan variasi etanol 30% pada Gambar 4d. Nilai kemiringan pada grafik ini selanjutnya dibandingkan dengan kemiringan pada kurva standar dengan nilai 0,083 untuk tanpa etanol, nilai 0,056 untuk etanol 20%, dan nilai 0,055 untuk etanol 30% seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4a. Hasil kemiringan laju konduktivitas elektrik dibandingkan dengan kemiringan grafik standar mengikuti Persamaan (1) menghasilkan nilai laju hidrolisis seperti Gambar 4e.



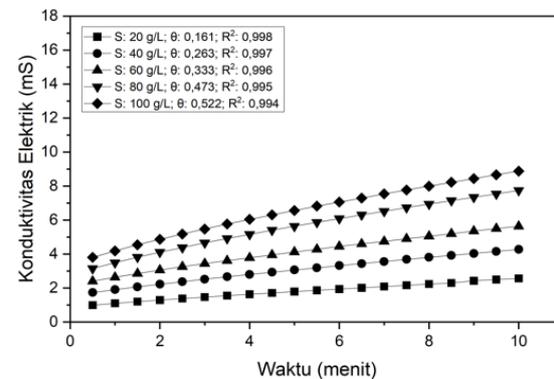
(a)



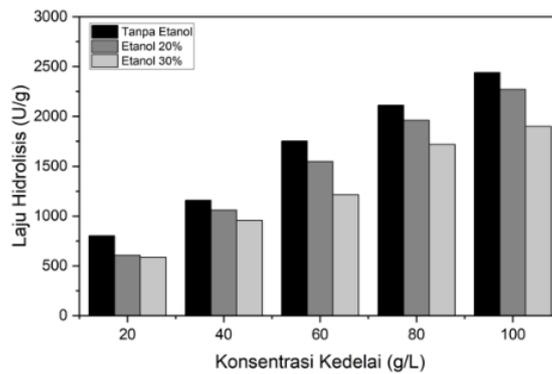
(b)



(c)



(d)

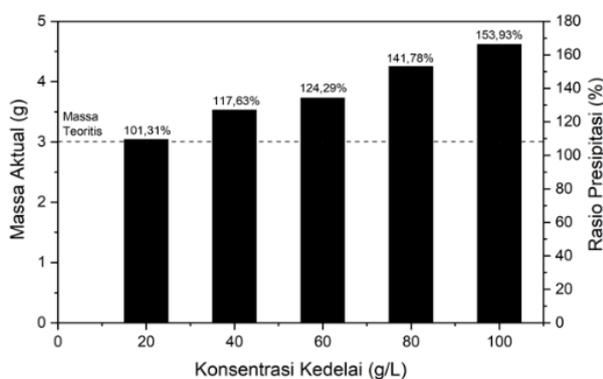


(e)

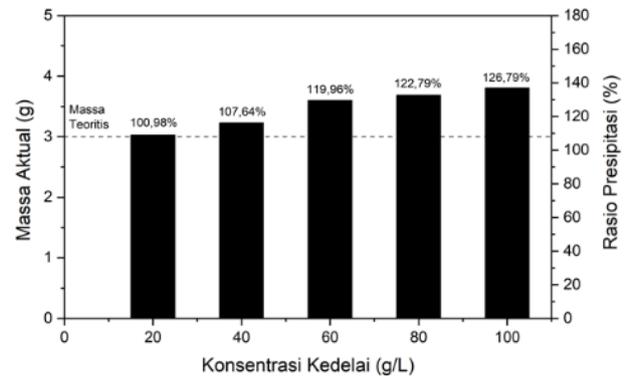
Gambar 4. Hasil Pengujian Laju Hidrolisis, (a) Kurva Standar Laju Hidrolisis, (b) Konduktivitas Elektrik pada Konsentrasi Urea 1,0 mol/L Tanpa Etanol, (c) Konduktivitas Elektrik pada Konsentrasi Urea 1,0 mol/L dengan Etanol 20%, (d) Konduktivitas Elektrik pada Konsentrasi Urea 1,0 Mol/L dengan Etanol 30%, dan (e) Rekapitulasi Hasil Laju Hidrolisis pada Variasi Tanpa Etanol, Etanol 20%, dan 30%.

Berdasarkan Gambar 4e, nilai laju hidrolisis terendah tanpa penggunaan etanol ada pada konsentrasi kedelai 20 g/L sebesar 803 U/g sedangkan terbesar pada konsentrasi kedelai 100 g/L dengan nilai 2439 U/g. Nilai laju hidrolisis terendah kadar etanol 20% ada pada konsentrasi kedelai 20 g/L sebesar 605 U/g sedangkan terbesar pada konsentrasi kedelai 100 g/L dengan nilai 2271 U/g. Nilai laju hidrolisis terendah kadar etanol 30% ada pada konsentrasi kedelai 20 g/L sebesar 586 U/g sedangkan terbesar pada konsentrasi kedelai 100 g/L dengan nilai 1898 U/g. Satuan U/g (unit/gram) mempresentasikan 1 unit enzim *urease* mampu menghidrolisis 1 μmol urea per menitnya. Penggunaan enzim *urease* murni pada konsentrasi 1 g/L pada metode *calcite precipitation* memiliki nilai laju hidrolisis 200 U/g sehingga dapat disimpulkan dengan laju hidrolisis 200 U/g ini mampu untuk menghasilkan CaCO_3 sehingga untuk semua variasi dapat dijadikan pengganti enzim *urease* karena memiliki nilai laju hidrolisis lebih dari 200 U/g (Putra dkk., 2021). Selain itu, laju hidrolisis yang semakin besar mengindikasikan bahwa reaksi terbentuknya CaCO_3 lebih cepat. Trend hasil perbandingan antara tiga variasi etanol (Gambar 4e) menunjukkan nilai laju hidrolisis pengendapan semakin meningkat seiring meningkatnya konsentrasi kedelai yang digunakan dan akan mempengaruhi proses pengendapan CaCO_3 lebih cepat.

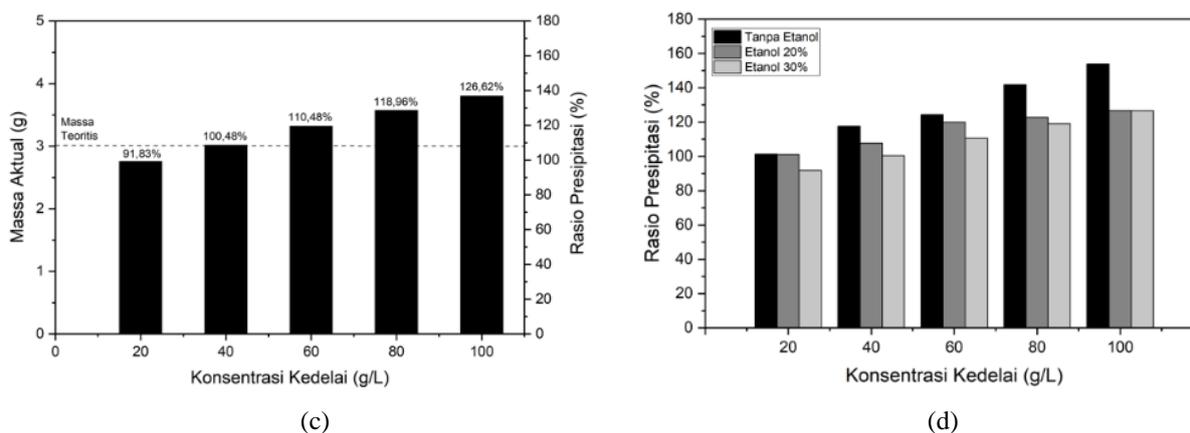
Hasil endapan CaCO_3 yang terbentuk hasil tes presipitasi disajikan pada Gambar 5 yang disajikan dalam dua parameter yang berbeda seperti massa aktual yang terbentuk (g) dan rasio presipitasi CaCO_3 (%). Rasio presipitasi mengalami peningkatan secara terus menerus dari konsentrasi kedelai 20 g/L menuju konsentrasi kedelai 100 g/L. Hal ini berarti semakin besar konsentrasi kedelai yang digunakan untuk menghidrolisis urea dengan konsentrasi yang sama akan menghasilkan laju hidrolisis yang semakin besar dan menghasilkan rasio presipitasi yang besar juga. Hal ini berkaitan juga dengan meningkatnya konsentrasi bubuk kedelai sangat berperan dalam meningkatkan laju hidrolisis sehingga mampu meningkatkan massa kalsit (Loebis dan Putra, 2022). Hasil massa aktual CaCO_3 yang terbentuk kebanyakan lebih besar daripada masa teoritisnya sehingga menghasilkan rasio presipitasi lebih dari 100%. Hal tersebut, terjadi karena endapan yang terbentuk pada *tube* tidak seluruhnya menghasilkan CaCO_3 tetapi terdapat juga material lain yang terbentuk seperti produk sampingan dan material organik.



(a)



(b)



Gambar 5. Hasil *Precipitation Test*, (a) Tanpa Etanol, (b) Etanol 20%, (c) Etanol 30%, dan (d) Perbandingan Rasio Presipitasi Tanpa Etanol, Etanol 20%, dan Etanol 30%

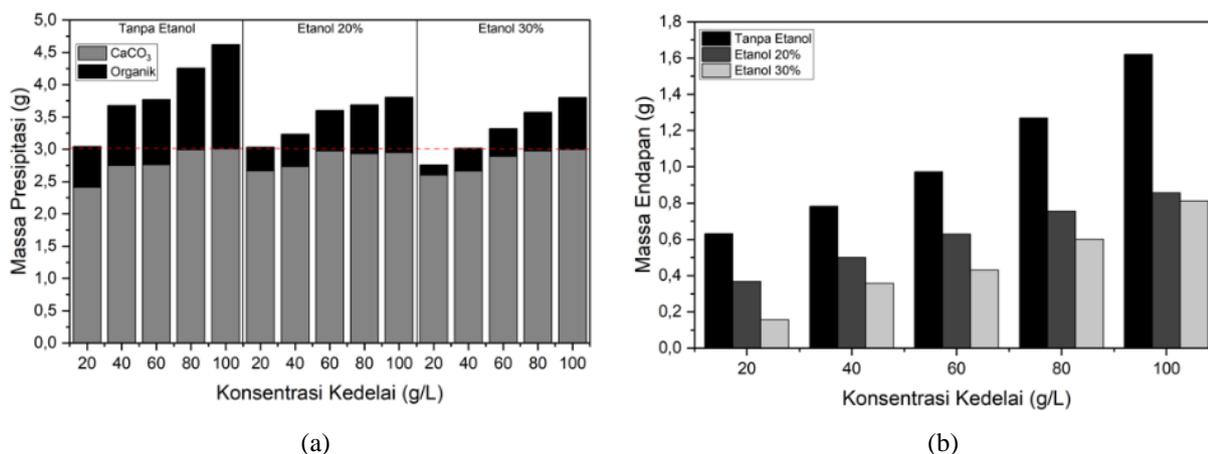
Hasil rasio presipitasi pada seluruh variasi konsentrasi kedelai pada kadar etanol yang berbeda disajikan pada Gambar 5d. Nilai laju hidrolisis sebesar 803 U/g pada konsentrasi 20 g/L tanpa etanol mampu menghasilkan presipitasi 101,31%; laju hidrolisis 605 U/g pada konsentrasi kedelai 20 g/L saat penggunaan etanol 20% juga mampu menghasilkan rasio presipitasi sebesar 100,98% sedangkan nilai laju hidrolisis sebesar 585 U/g hanya mampu menghasilkan rasio presipitasi sebesar 91,82%. Hasil rasio presipitasi tanpa penggunaan etanol memiliki nilai yang lebih tinggi dibandingkan dengan penggunaan etanol sejalan dengan pendapat penelitian Cuccurullo dkk., (2022). Hal ini dipengaruhi saat pencampuran larutan kedelai dengan CaCl_2 dan urea yang mana larutan kedelai yang mengandung etanol menghasilkan supernatan (Lai dkk., 2023) sedangkan larutan kedelai tanpa etanol tidak menghasilkan supernatan sehingga saat proses penyaringan menggunakan saringan nomor 400, butiran bubuk kedelai yang tidak larut dalam air ikut lolos saringan dan ikut mengendap di dalam *tube* (Cuccurullo dkk., 2022).

3.2 Kuantifikasi Massa dan Bentuk Mineral Endapan CaCO_3

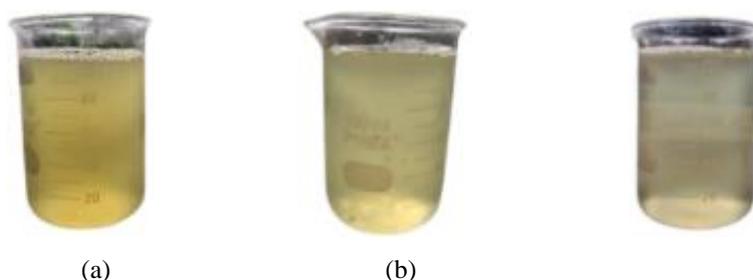
Hasil evaluasi kuantifikasi massa endapan CaCO_3 yang dilakukan pada larutan tanpa etanol, etanol 20%, etanol 30% dapat dilihat pada Gambar 6a. Berdasarkan komposisi massa CaCO_3 dan massa kedelai yang tidak larut, massa CaCO_3 maksimum terbentuk pada konsentrasi 60 g/L pada etanol 20% dan 100 g/L pada etanol 30% dengan secara berurutan sebesar 2,97 g dan 2,99 g. Pada larutan SCU-CP tanpa etanol, massa CaCO_3 maksimum juga terbentuk pada konsentrasi 100 g/L sebesar 3,00 g. Tanpa adanya etanol, massa CaCO_3 pada konsentrasi 20 g/L, 40 g/L, 60 g/L, dan 80 g/L secara berurutan sebesar 2,41 g; 2,75 g; 2,76 g; dan 2,99 g. Penggunaan etanol 20% dengan konsentrasi kedelai 20 g/L, 40 g/L, 80 g/L, dan 100 g/L menghasilkan massa CaCO_3 secara berurutan sebesar 2,66 g; 2,73 g; 2,93 g; dan 2,95 g. Penggunaan etanol 30% dengan konsentrasi kedelai 20 g/L, 40 g/L, 60 g/L, dan 80 g/L menghasilkan massa CaCO_3 secara berurutan sebesar 2,60 g; 2,66 g; 2,89 g; dan 2,97 g. Secara keseluruhan, kalsit yang dihasilkan dari penggunaan etanol 20% lebih tinggi dibanding penggunaan etanol 30% maupun tanpa etanol.

Pada Gambar 6b, massa organik yang tidak larut baik pada pembuatan larutan kedelai dengan penggunaan etanol 20% maupun etanol 30% lebih sedikit dibandingkan larutan kedelai tanpa menggunakan etanol. Hal ini berkaitan dengan penggunaan etanol yang dapat mengurangi kadar organik yang dihasilkan pada metode *calcite precipitation* seperti penelitian yang dilakukan oleh Lai dkk., (2023). Saat penuangan larutan kedelai dengan larutan *reagent*, larutan ekstraksi kedelai yang terpakai hanya bagian supernatannya dan bubuk kedelai mengendap saat proses pembuatan larutan ekstraksi kedelai (Lai dkk., 2023).

Penggunaan supernatan tentunya ikut menurunkan jumlah bubuk kedelai yang ikut lolos ayakan No. 400 dan membuat larutan memiliki tingkat kekeruhan yang rendah (Gambar 7 **Kesalahan! Sumber referensi tidak ditemukan.**) sehingga turunnya kadar organik mempengaruhi jumlah endapan CaCO_3 menurun dan jumlah CaCO_3 meningkat. Jumlah CaCO_3 pada etanol 20% lebih tinggi daripada penggunaan etanol 30% (Gambar 6a) berarti enzim *urease* dalam supernatan larutan kedelai etanol 20% lebih tinggi dibanding supernatan larutan kedelai etanol 30%. Ekstraksi enzim yang optimal akan menghasilkan massa CaCO_3 yang lebih tinggi karena peningkatan laju reaksi dan aktivitas enzim *urease* sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Robinson (2015).



Gambar 6. Hasil Pengujian Pengendapan Kalsit (a) Massa Presipitasi, dan (b) Massa Organik



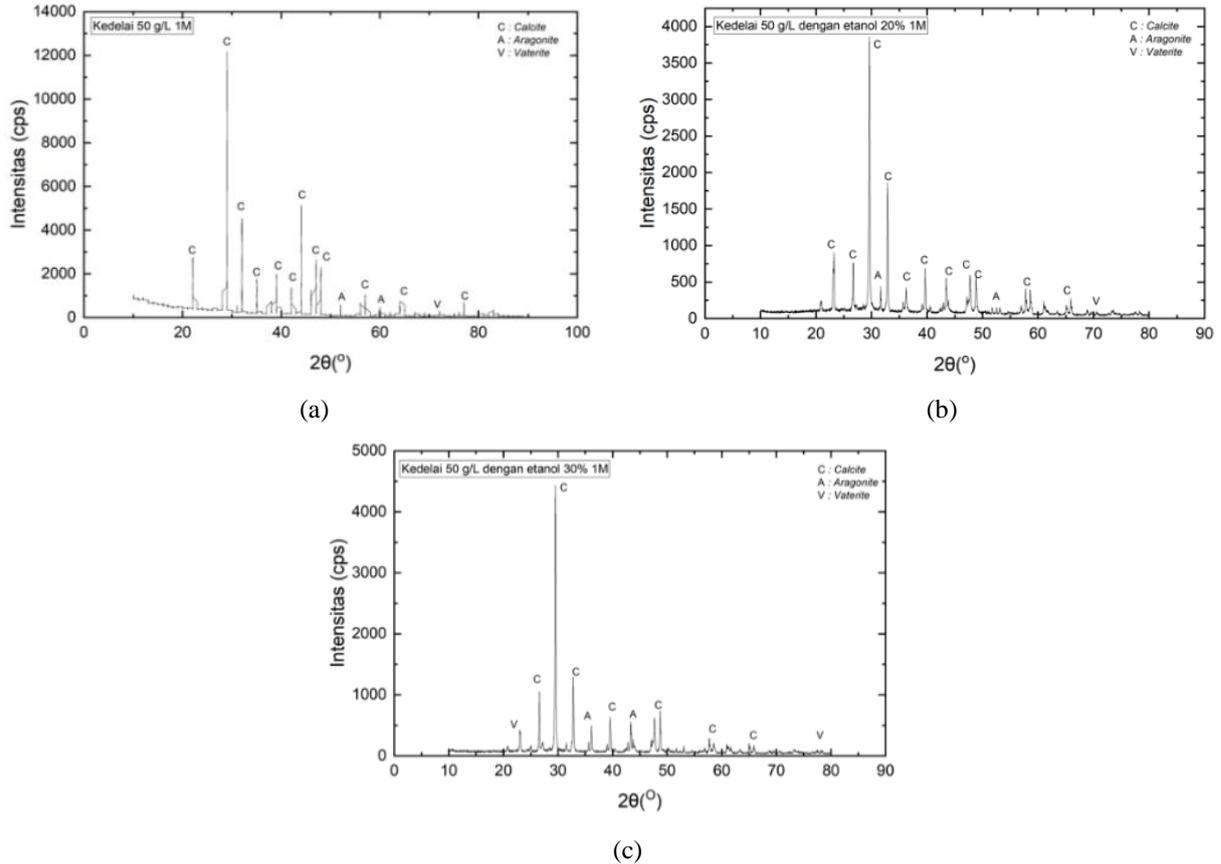
Gambar 7. Tingkat Kekeruhan Larutan Ekstrak Kedelai 20 g/L, (a) Tanpa Etanol, (b) Etanol 20%, dan (c) Etanol 30%

Peningkatan konsentrasi ekstraksi kedelai untuk berbagai perlakuan mengakibatkan peningkatan massa organik yang tidak terlarut. Massa organik tidak terlarut yang tersisa pada perlakuan tanpa menggunakan etanol lebih tinggi dibandingkan menggunakan etanol. Massa organik yang tidak terlarut sudah tidak berbentuk butiran lagi karena supernatan hanya mengandung nutrisi yang terdapat pada sel tanaman kedelai (Peng dkk., 2020) dan lolos ayakan No. 400. Oleh karena itu, massa organik tidak terlarut pada perlakuan menggunakan etanol lebih rendah dibandingkan tanpa menggunakan etanol. Kandungan nutrisi termasuk enzim *urease* yang terkandung di dalam larutan kedelai menggunakan etanol lebih tinggi dibandingkan tanpa etanol. Ekstraksi enzim yang optimal akan menghasilkan massa presipitasi yang lebih tinggi karena meningkatkan aktivitas enzim *urease* dan laju reaksi (Robinson, 2015). Selain itu, supernatan yang dihasilkan mampu meningkatkan laju hidrolisis seperti penelitian yang dilakukan oleh Cuccurollo *et al.* 2022 membuktikan bahwa ekstrak kedelai dalam bentuk supernatan memiliki aktivitas enzim *urease* lebih tinggi dibandingkan ekstrak kedelai yang diperoleh dari larutan bubuk kedelai. Oleh karena itu, penggunaan etanol 20% pada konsentrasi kedelai 60 g/L dapat dipilih untuk larutan *grouting* sampel tanah pasir karena massa kalsit yang optimal dibandingkan dengan konsentrasi kedelai lainnya. Selain itu, konsentrasi kedelai 60 g/L dengan etanol 20% memiliki nilai laju hidrolisis (sebesar 1547 U/g) cukup dekat dengan nilai laju hidrolisis enzim *urease* komersial Kishida (sebesar 1615,7 U/g).

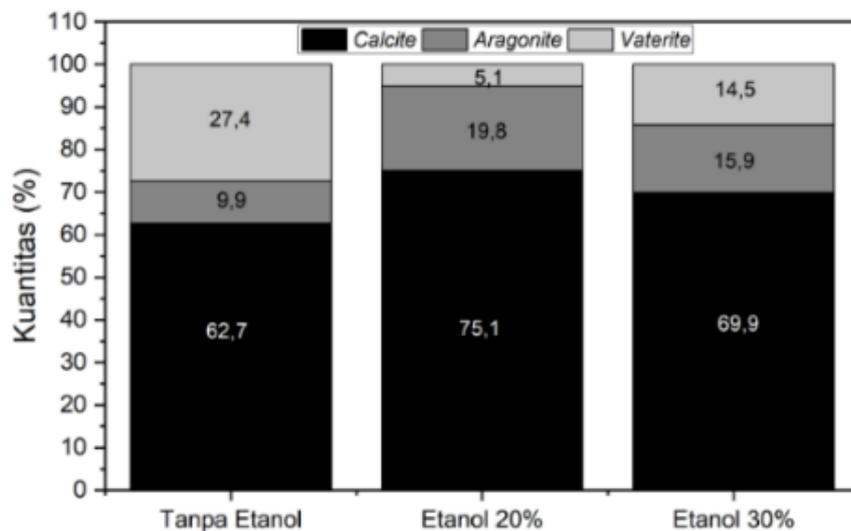
Hasil XRD (*X-Ray Diffraction*) antara pembuatan larutan SCU-CP (*Soybean Crude Urease- Calcite Precipitation*) dengan penggunaan etanol maupun tanpa etanol pada mineral CaCO₃ disajikan pada Gambar 8. **Kesalahan! Sumber referensi tidak ditemukan.** untuk kedelai 50 g/L. Penggunaan konsentrasi kedelai 50 g/L dalam analisis XRD karena dianggap cukup dekat dengan nilai optimum penggunaan konsentrasi kedelai 60 g/L. Pada penelitian yang dilakukan Putra dkk., (2021) konsentrasi larutan kedelai 50 g/L tanpa penggunaan etanol dapat digunakan sebagai pengganti enzim *urease* komersial karena nilai laju hidrolisisnya 1600 U/g mendekati nilai laju hidrolisis *urease* komersial. Selain itu, pemilihan yang sedikit di bawah optimal (konsentrasi 50 g/L) dianggap cukup memadai untuk menghasilkan kristal dengan karakteristik dan komposisi yang diinginkan.

Komposisi mineral CaCO₃ pada variasi tanpa menggunakan etanol maupun menggunakan etanol disajikan pada Gambar 9. Pada penggunaan etanol baik etanol 20% maupun 30% menghasilkan komposisi kalsit tertinggi dibandingkan dengan pembuatan larutan SCU-CP tanpa menggunakan etanol. Penggunaan etanol juga dapat

menurunkan vaterit yang mana vaterit memiliki sifat yang paling tidak stabil dibandingkan dengan kalsit dan aragonit sejalan dengan penelitian Shen dkk., (2007). Dari tren yang dihasilkan, penggunaan etanol dapat meningkatkan kualitas material dengan semakin bertambahnya kalsit yang terbentuk. Berdasarkan hasil Gambar 9, penggunaan etanol 20% dalam pembuatan larutan SCU-CP dapat menghasilkan jumlah kalsit yang paling besar dibandingkan pembuatan larutan SCU-CP tanpa etanol maupun dengan etanol 30% sebesar 75,1% dengan vaterit hanya 5,1%.

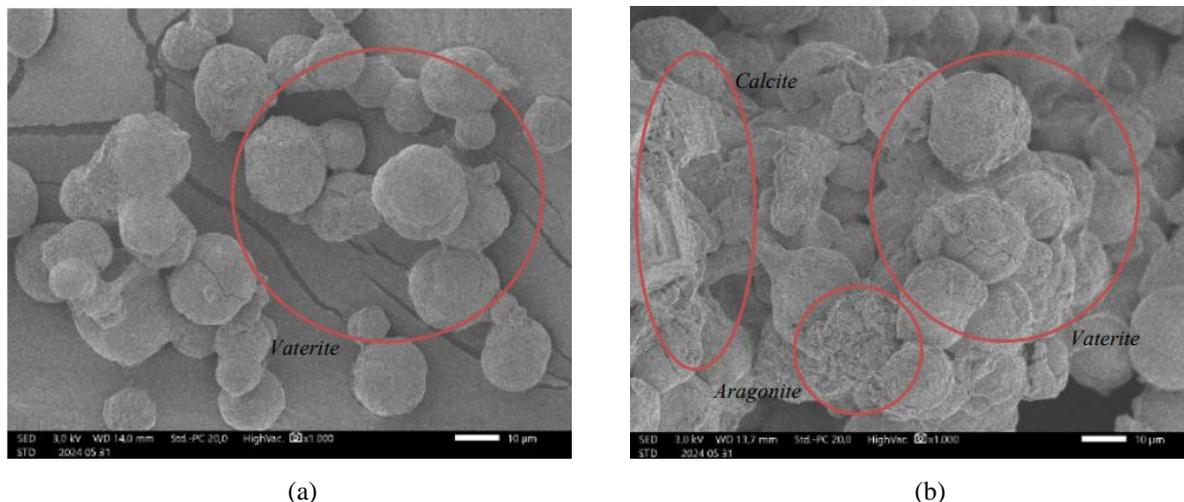


Gambar 8. Hasil uji XRD pada konsentrasi kedelai 50 g/L, (a) Tanpa etanol, (b) Etanol 20%, dan (c) Etanol 30%



Gambar 9. Komposisi endapan CaCO₃ yang terbentuk pada *polypropylene tube* berdasarkan hasil XRD

Bentuk material endapan CaCO_3 berdasarkan uji SEM pada penggunaan etanol 20% dan 30% dapat dilihat pada Gambar 10 untuk konsentrasi kedelai 50 g/L dengan perbesaran 1000x. Hasil yang dominan pada masing-masing kadar etanol berupa kalsit dibandingkan dengan vaterit dan aragonit. Selain itu, mineral-mineral yang terbentuk dapat saling tumpang-tindih sehingga saling menutupi. Pada Gambar 10a, terlihat vaterit menempel pada kalsit dan Gambar 10b menunjukkan bahwa vaterit sedang rekristalisasi menjadi kalsit.



Gambar 10. Hasil pengujian SEM konsentrasi kedelai 50 g/L, (a) Etanol 20%, dan (b) Etanol 30%

Mineral CaCO_3 terbagi menjadi tiga bentuk kristal anhidrat (vaterit, aragonit, dan kalsit) (Beck and Andreassen, 2010). Setiap polimorf memiliki bentuk yang khas seperti aragonit yang memiliki bentuk jarum (*orthorombic*), vaterit yang berbentuk bulat (*hexagonal*), dan kalsit yang berbentuk belah ketupat (*rhombohedral*) (Sand dkk., 2012) seperti yang terlihat jelas pada Gambar 10b yang sejalan dengan penelitian Back and Andreassen (2010). Kristal bentuk *rhombohedral* merupakan bentuk yang terbaik dibandingkan *orthombic* maupun *hexagonal* karena permukaan kontak yang lebih besar dan sudut-sudut yang lebih tajam (Mulyaningsih, 2018) memungkinkan kalsit lebih efektif dalam mengikat dan mengunci ruang antar partikel tanah sehingga dapat meningkatkan nilai kohesi dan kekuatan tanah.

Bentuk bulat memiliki bidang kontak yang kecil sehingga akan mengurangi kemampuan mengikat dan mengisi ruang diantara butiran tanah sehingga mengurangi efektivitas perkuatan. Sedangkan bentuk jarum yang pipih tidak memberikan penguncian (*interlocking*) yang baik dengan tanah sejalan dengan penelitian Mulyaningsih (2018). Bentuk jarum dan bulat juga menunjukkan proses pengendapan kurang optimal dikarenakan proses kalsinasi yang terhambat (Putra dkk., 2017). Selain itu, kandungan organik yang ada juga menyebabkan kedelai tidak larut sehingga menghambat proses kalsinasi (Baiq dkk., 2020). Oleh karena itu, kadar organik sangat berpengaruh terhadap proses pembentukan kalsit yang mana semakin kecil kandungan organiknya akan memperlancar proses kalsinasi. Penggunaan metode SCU-CP tanpa etanol terbukti dapat meningkatkan daya dukung tanah dengan pengukuran kekuatan geser tanah atau *shear direct* dengan hasil pengujian nilai kohesi dan sudut gesek semakin besar yang berarti tingkat kepadatan yang diperoleh dengan penggunaan SCU-CP semakin besar dan daya dukung tanah meningkat, sebagaimana juga yang dihasilkan Mubarrak dan Putra (2023). Hal ini terjadi karena endapan CaCO_3 mengisi ruang pori tanah membuat nilai kohesi dan sudut gesek meningkat sehingga endapan CaCO_3 dan partikel tanah berikatan dengan kuat sejalan dengan penelitian yang dilakukan Wibawa and Hisyam (2015). Metode SCU-CP dengan penggunaan etanol menghasilkan jumlah fasa kalsit lebih besar daripada metode SCU-CP tanpa penggunaan etanol berarti hasil pengukuran *shear direct* juga akan menghasilkan kekuatan tanah yang lebih besar dibandingkan metode SCU-CP tanpa etanol dan dapat diaplikasikan langsung ke tanah untuk perbaikan tanah.

Kesimpulan

Semakin tinggi konsentrasi kedelai yang digunakan semakin meningkatkan laju hidrolisis urea. Peningkatan ini berpengaruh terhadap peningkatan rasio presipitasi. Komposisi terbaik diperoleh dengan penggunaan konsentrasi kedelai 60 g/L dengan kadar etanol 20% dengan hasil masa CaCO_3 optimum sebesar 2,97 g. Nilai laju hidrolisis konsentrasi kedelai 60 g/L pada etanol 20% sebesar 1547 U/g dan nilainya cukup dekat dengan nilai laju hidrolisis enzim *urease* komersial Kihsidea (1615,7 U/g) sehingga konsentrasi kedelai 60 g/L dengan kadar etanol 20% dapat digunakan sebagai larutan *grouting*. Pembuatan larutan SCU-CP dengan menambahkan etanol terbukti dapat mengurangi kadar organik serta meningkatkan kualitas material endapan CaCO_3 dengan fasa kalsit terbentuk lebih banyak dibandingkan vaterit dan aragonit. Selain itu, bentuk kristal kalsit *rhombohedral* menjadi bentuk terbaik dalam mengikat tanah karena memiliki permukaan kontak yang lebih besar dibandingkan bentuk *orthombic* dan *hexagonal*.

Saran

Penggunaan etanol dapat mengurangi kadar organik material endapan SCU-CP, sehingga diharapkan dapat meningkatkan efektifitas SCU-CP sebagai metode perbaikan tanah. Namun, perlu dilakukan penelitian lanjutan berupa perlakuan langsung ke tanah untuk membuktikan bahwa peningkatan kualitas material endapan berkorelasi dengan peningkatan kekuatan tanah.

Daftar Notasi

θ_{ms}	= kemiringan (<i>slope</i>) sampel hasil pengukuran
θ_{sc}	= kemiringan (<i>slope</i>) sampel kurva standar
v	= volume sampel (L)
N	= konsentrasi akhir amonia (mMol/L)
a_m	= massa aktual hasil pengujian (gram)
t_m	= massa teoretis CaCO ₃ (gram)
C	= konsentrasi larutan (mol/L)
V	= volume larutan (L)
M	= massa molar CaCO ₃ (100,087 gram/mol)

Daftar Pustaka

- Afifah, F., & Cahyaningrum, S. E. (2020). Sintesis dan karakterisasi hidroksiapatit dari tulang sapi (Bos Taurus) menggunakan teknik kalsinasi synthesis and characterization of hydroxyapatite from cow bones (Bos Taurus) using calcination techniques. *UNESA Journal of Chemistry*, 9(3), 189–196.
- Baiq, H. S., Yasuhara, H., Kinoshita, N., Putra, H., & Johan, E. (2020). Examination of calcite precipitation using plantderived urease enzyme for soil improvement. *GEOMATE Journal*, 19(72), 231–237.
- Beck, R., & Andreassen, J.-P. (2010). The onset of spherulitic growth in crystallization of calcium carbonate. *Journal of Crystal Growth*, 312(15), 2226–2238.
- Cuccurullo, A., Gallipoli, D., Bruno, A. W., Augarde, C., Hughes, P., & La Borderie, C. (2022). Earth stabilisation via carbonate precipitation by plant-derived urease for building applications. *Geomechanics for Energy and the Environment*, 30, 100230.
- Fondjo, A. A., Theron, E., & Ray, R. P. (2021). Stabilization of expansive soils using mechanical and chemical methods: a comprehensive review. *Civ Eng Archit*, 9(5), 1295–1308.
- Gao, Y., He, J., Tang, X., & Chu, J. (2019). Calcium carbonate precipitation catalyzed by soybean urease as an improvement method for fine-grained soil. *Soils and Foundations*, 59(5), 1631–1637.
- Kristianingrum, S. (2012). Kajian berbagai proses destruksi sampel dan efeknya. *Prosiding Seminar Nasional Penelitian, Pendidikan dan Penerapan MIPA, Fakultas MIPA, Universitas Negeri Yogyakarta*, 2.
- Lai, H.-J., Cui, M.-J., Wu, S.-F., Yang, Y., & Chu, J. (2023). Extraction of crude soybean urease using ethanol and its effect on soil cementation. *Soils and Foundations*, 63(3), 101300.
- Lee, S., & Kim, J. (2020). An experimental study on enzymatic-induced carbonate precipitation using yellow soybeans for soil stabilization. *KSCE Journal of Civil Engineering*, 24(7), 2026–2037.
- Loebis, A. R., & Putra, H. (2022). Efektivitas metode calcite precipitation dengan biocatalyst bubuk kedelai sebagai metode biogrouting untuk mencegah likuifaksi tanah pasir. *TERAS JURNAL: Jurnal Teknik Sipil*, 12(1), 23–34.
- Mulyaningsih, S. (2018). *Kristalografi & Mineralogi*. Akpind Press.
- Nemati, M., & Voordouw, G. (2003). Modification of porous media permeability, using calcium carbonate produced enzymatically in situ. *Enzyme and microbial technology*, 33(5), 635–642.
- Neupane, D., Yasuhara, H., Kinoshita, N., & Ando, Y. (2015). Distribution of mineralized carbonate and its quantification method in enzyme mediated calcite precipitation technique. *Soils and Foundations*, 55(2), 447–457.
- Peng, Y., Kersten, N., Kyriakopoulou, K., & van der Goot, A. J. (2020). Functional properties of mildly fractionated soy protein as influenced by the processing pH. *Journal of Food Engineering*, 275, 109875.
- Pratama, G. B. S., Yasuhara, H., Kinoshita, N., & Putra, H. (2021). Application of soybean powder as urease enzyme replacement on EICP method for soil improvement technique. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 622(1), 012035. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/622/1/012035>
- Putra, H., Erizal, Sutoyo, Simatupang, M., & Yanto, D. H. Y. (2021). Improvement of organic soil shear strength through calcite precipitation method using soybeans as bio-catalyst. *Crystals*, 11(9), 1044.
- Putra, H., Yasuhara, H., Erizal, Sutoyo, & Fauzan, M. (2020). Review of enzyme-induced calcite precipitation as a ground-improvement technique. *Infrastructures*, 5(8), 66.

- Putra, H., Yasuhara, H., Kinoshita, N., & Hirata, A. (2017). Optimization of enzyme-mediated calcite precipitation as a soil-improvement technique: The effect of aragonite and gypsum on the mechanical properties of treated sand. *Crystals*, 7(2), 59.
- Robinson, P. K. (2015). *Enzymes: principles and biotechnological applications*. Essays in biochemistry, 59, 1.
- Sand, K. K., Rodriguez-Blanco, J. D., Makovicky, E., Benning, L. G., & Stipp, S. L. S. (2012). Crystallization of CaCO₃ in water–alcohol mixtures: spherulitic growth, polymorph stabilization, and morphology change. *Crystal Growth & Design*, 12(2), 842–853.
- Shen, Y., Xie, A., Chen, Z., Xu, W., Yao, H., Li, S., Huang, L., Wu, Z., & Kong, X. (2007). Controlled synthesis of calcium carbonate nanocrystals with multi-morphologies in different bicontinuous microemulsions. *Materials Science and Engineering: A*, 443(1–2), 95–100.
- Wardoyo, S., Destiasari, F., Wayhudin, W., Hasibuan, G., & Sollu, W. P. (2019). Atlas Sebaran Tanah Lunak Indonesia. Kementerian Energi dan Sumber Daya Mineral.
- Whiffin, V. S. (2004). *Microbial CaCO₃ precipitation for the production of biocement*. Murdoch University.
- Wibawa, A., & Hisyam, E. S. (2015). Pengaruh penambahan limbah gypsum terhadap nilai kuat geser tanah lempung. *FROPIL (Forum Profesional Teknik Sipil)*, 3(2), 65–71.