

APLIKASI RESPONSE SURFACE METHODOLOGY (RSM) PADA OPTIMALISASI KONDISI PROSES BIOSORPSI CR(VI) MENGGUNAKAN IMMOBILIZED MICROALGAE BEADS

Nabila Muthia Indayana¹, Shinta Elystia^{1*}, David Andrio¹, Cory Dian Alfarizy²

¹Program Studi Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik, Universitas Riau, Indonesia

²Program Studi D3 Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Riau, Indonesia

Email: shinta.elystia@lecturer.unri.ac.id

ABSTRAK

Kromium heksavalen (Cr(VI)) merupakan salah satu jenis limbah yang bersifat karsinogenik dan bersifat persisten di lingkungan. Salah satu metode yang dapat digunakan untuk menyisihkan logam Cr(VI) dengan metode biosorpsi menggunakan mikroalga yang diimobilisasi menggunakan natrium alginat agar diperoleh struktur yang stabil. Penelitian ini bertujuan mendapatkan kondisi optimum dan model empiris penyisihan Cr(VI) dan optical density menggunakan *immobilized microalgae beads* dengan *Response Surface Methodology* (RSM) teknik *Box Behnken Design* (BBD) serta karakterisasi *immobilized microalgae beads* berdasarkan SEM, FTIR, dan kekuatan mekanik. RSM-BBD dipilih karena mampu mengevaluasi interaksi antar variabel proses serta menentukan kondisi optimum secara statistik. Tiga variabel proses yang diuji meliputi konsentrasi Cr(VI) (20-80 mg/L), dosis adsorben (3-7 g/L), dan waktu kontak (2-6 jam) terhadap efisiensi penyisihan (%) dan optical density dapat dioptimalkan secara statistik. Model regresi yang diperoleh mengikuti model kuadratik dengan nilai R^2 sebesar 0,9882. Kondisi optimum biosorpsi diperoleh pada konsentrasi Cr(VI) 59,395 mg/L, dosis adsorben 6,571 g/L, dan waktu kontak 4,418 jam dengan efisiensi penyisihan 71,070% dan nilai *optical density* 0,4. Analisis FTIR menunjukkan keterlibatan hidroksil (–OH), amina (–NH), karboksilat (–COO[–]) dalam biosorpsi. SEM mengungkap perubahan pori dan adanya endapan Cr(VI). Uji kekuatan mekanik menunjukkan peningkatan hardness, 48,01 menjadi 57,60 gForce dan *fracturability* menjadi 34,56 gForce. Hasil ini menunjukkan efektivitas biosorpsi Cr(VI) oleh *immobilized microalgae beads*, didukung oleh gugus fungsi dan karakteristik mekanik yang mendukung penggunaannya sebagai biosorben.

Kata kunci-Cr(VI); biosorpsi; immobilized microalgae beads; response surface methodology

ABSTRACT

Chromium Hexavalent (Cr(VI)) is a type of waste that is carcinogenic and persistent in the environment. One of method that can be used to remove Cr(VI) is biosorption, which utilizes microalgae immobilized with natrium alginate to achieve a stable structure. This study aims to obtain optimum conditions and empirical models for Cr(VI) removal and optical density using immobilized microalgae beads with the Response Surface Methodology (RSM) Box Behnken Design (BBD) technique and characterization of immobilized microalgae beads based on SEM, FTIR, and mechanical strength. RSM-BBD was chosen because it can evaluate interactions between process variables and determine optimum conditions statistically. Three process variables tested, including Cr(VI) concentration (20-80 mg/L), adsorbent dosage (3-7 g/L), and contact time (2-6 hours), can be optimized statistically to maximize removal efficiency (%) and optical density. The regression model obtained follows a quadratic model with good parameter values. The optimum biosorption conditions were obtained at a Cr(VI) concentration of 59.395 mg/L, an adsorbent dose of 6.571 g/L, and a contact time of 4.418 hours, resulting in a removal efficiency of 71.070% and an optical density of 0.4. FTIR analysis revealed the involvement hidroksil (–OH), amina (–NH), karboksilat (–COO[–]) groups in the biosorption process. SEM revealed changes in pores and the presence of Cr(VI) deposits. Mechanical strength tests showed an increase in hardness, from 48.01 to 57.60 gForce, and *fracturability* to 34.56 gForce. These results demonstrate the effectiveness of Cr(VI) biosorption by immobilized microalgae beads, supported by their functional groups and mechanical characteristics for application as a biosorben.

Keywords-Cr(VI); biosorption; immobilized microalgae beads; response surface methodology

PENDAHULUAN

Perkembangan sektor industri seperti industri logam, tekstil, cat, elektroplating, dan penyamakan kulit berkontribusi terhadap peningkatan pencemaran logam berat di lingkungan, salah satunya kromium heksavalen [Cr(VI)]. Cr(VI) menjadi perhatian khusus karena memiliki sifat toksik, mutagenik, dan karsinogenik serta termasuk dalam kelompok zat berbahaya yang berpotensi menimbulkan risiko serius terhadap kesehatan manusia dan ekosistem (U.S. EPA, 2022). Paparan Cr(VI) pada konsentrasi tinggi dapat menyebabkan kerusakan jaringan dan organ, gangguan fungsi sel, serta meningkatkan risiko kanker melalui pembentukan spesies oksigen reaktif dan kerusakan DNA. Selain itu, keberadaan Cr(VI) dalam badan air dapat mengganggu keseimbangan ekosistem dan meningkatkan risiko paparan terhadap organisme akuatik. Oleh karena itu, pengembangan teknologi pengolahan yang efektif dalam menyisihkan Cr(VI), sekaligus ekonomis dan ramah lingkungan, menjadi salah satu kebutuhan penting dalam pengendalian pencemaran logam berat.

Berbagai metode konvensional untuk penyisihan Cr(VI), seperti presipitasi kimia, pertukaran ion, membran, dan adsorpsi menggunakan material sintetis, telah banyak dikembangkan. Meskipun efektif, beberapa metode tersebut memiliki keterbatasan berupa kebutuhan bahan kimia yang relatif tinggi, biaya operasional, pembentukan lumpur sekunder, serta kebutuhan pengolahan lanjutan. Salah satu alternatif yang lebih berkelanjutan adalah biosorpsi, yaitu pemanfaatan biomassa biologis untuk mengikat dan mengakumulasi ion logam melalui mekanisme adsorpsi pada gugus fungsi yang terdapat pada permukaan sel. Mikroalga, khususnya *Chlorella* sp., memiliki potensi sebagai biosorben karena dinding selnya mengandung berbagai gugus fungsional, seperti hidroksil, karboksil, amino, dan fosfat, yang dapat berinteraksi dengan ion logam. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa biomassa *Chlorella* sp. mampu menyisihkan logam berat dengan efisiensi yang tinggi, termasuk penyisihan Cr hingga 90% (Hanifa & Zulaika, 2014; Li et al., 2019). Zhou et al. (2024), mengisolasi *Chlorella* sp. MQ-1 dari efluen tambang yang tercemar kromium. Strain *Chlorella* sp. mampu menyisihkan lebih dari 82% Cr(VI) pada konsentrasi awal 0,5–1 mg/L setelah lima hari inkubasi. Pada konsentrasi awal 2 mg/L, efisiensi penyisihan mencapai 84,28% dan 91,31% pada nilai OD awal masing-masing 4 dan 6 setelah 30 jam dalam kondisi pencahayaan.

Meskipun biomassa mikroalga memiliki potensi biosorpsi yang tinggi, penggunaan biomassa dalam bentuk bebas masih menghadapi kendala, terutama terkait dengan ukuran partikel yang kecil, sulitnya pemisahan biomassa dari larutan setelah proses biosorpsi, serta stabilitas biomassa selama penggunaan. Salah satu pendekatan untuk mengatasi keterbatasan tersebut adalah imobilisasi sel menggunakan matriks polimer, seperti natrium alginat. Imobilisasi dapat membentuk biomassa dalam bentuk *beads* yang lebih mudah dipisahkan, meningkatkan stabilitas dan kekuatan mekanik, serta memungkinkan penggunaan biosorben secara lebih terkontrol (Elystia et al., 2020; Irianto et al., 2022). Karakteristik *Immobilized Microalgae Beads* (IMB) juga dapat dikaji melalui analisis *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR), *Scanning Electron Microscopy* (SEM), dan pengujian kekuatan mekanik untuk mengidentifikasi gugus fungsi aktif, morfologi permukaan, serta ketahanan fisik biosorben (Kardena & Yusharani, 2022).

Efektivitas biosorpsi Cr(VI) menggunakan IMB tidak hanya ditentukan oleh karakteristik biosorben, tetapi juga dipengaruhi oleh kondisi operasi, seperti konsentrasi limbah, dosis biosorben, dan waktu kontak. Interaksi antarvariabel tersebut dapat menyebabkan kondisi optimum tidak dapat ditentukan secara akurat hanya melalui pendekatan *one-factor-at-a-time* karena metode tersebut mengabaikan interaksi antarvariabel dan membutuhkan jumlah percobaan yang relatif lebih banyak. Oleh karena itu, *Response Surface Methodology* (RSM) dapat digunakan sebagai pendekatan statistik untuk mengevaluasi pengaruh simultan berbagai variabel proses, termasuk pengaruh linier, kuadratik, dan interaksi antarvariabel, sekaligus menentukan kondisi operasi optimum. Desain Box-Behnken menjadi salah satu rancangan RSM yang sesuai karena mampu menghasilkan model prediktif dengan jumlah eksperimen yang relatif efisien dibandingkan rancangan faktorial penuh (Putri, 2021; Suparti, 2022).

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian sebelumnya telah menunjukkan potensi *Chlorella* sp. sebagai biosorben Cr(VI), sedangkan penggunaan IMB telah dikembangkan untuk meningkatkan kemudahan pemisahan dan penggunaan biosorben. Namun, kajian yang secara simultan mengintegrasikan imobilisasi *Chlorella* sp., karakterisasi perubahan struktur dan sifat mekanik IMB

setelah biosorpsi, serta optimasi kondisi biosorpsi Cr(VI) menggunakan pendekatan RSM masih terbatas. Oleh karena itu, kontribusi utama penelitian ini adalah mengembangkan dan mengoptimalkan IMB berbasis *Chlorella* sp. untuk biosorpsi Cr(VI), dengan mengevaluasi hubungan antara kondisi proses, efisiensi penyisihan, perubahan *optical density* (OD), karakteristik gugus fungsi, dan sifat mekanik beads. Pendekatan ini diharapkan dapat menghasilkan kondisi operasi optimum sekaligus memberikan pemahaman yang lebih komprehensif mengenai kinerja IMB sebagai biosorben Cr(VI).

METODOLOGI PENELITIAN

A. Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi, fotobioreaktor, peralatan gelas laboratorium standar, spatula, timbangan analitik, pH meter, suntikan, aerator dan alat-alat pendukung penelitian yang berhubungan dengan analisis parameter. Sementara bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi, limbah Cr(VI) artifisial, mikroalga *Chlorella* sp., Dahril Solution, Natrium Alginat, CaCl₂, NaOH, aquadest serta bahan kimia lain sebagai bahan pendukung penelitian yang berhubungan dengan analisis parameter.

B. Tahapan Penelitian

1. Persiapan Fotobioreaktor

Fotobioreaktor yang digunakan dalam penelitian ini berbahan polietilen berukuran 9 cm x 24 cm dengan volume efektif sebesar 1,5 L. Fotobioreaktor dilengkapi dengan saluran inlet sebagai tempat memasukkan limbah artifisial Cr(VI) dan dilengkapi dengan aerator dengan debit 3,5 L/menit. Serta dilengkapi dengan saluran outlet untuk sampling air limbah.

2. Pembuatan Larutan Artifisial Cr(VI)

Larutan induk Cr(VI) 500 mg/L dibuat dengan cara melarutkan 141,4 mg kalium dikromat (K₂Cr₂O₇) ke dalam labu ukur 100 mL dengan akuades. Larutan baku Cr(VI) 40; 80; dan 120 mg/L dibuat dari pengenceran larutan induk.

3. Kultivasi Mikroalga *Chlorella* sp.

Mikroalga *Chlorella* sp. dikultivasi dengan mencampurkan 100 ml mikrolaga *Chlorella* sp., 400 ml medium Dahril Solution, dan 3,5 liter akuades serta memanfaatkan cahaya matahari sebagai sumber energi. Perbanyakan dilakukan hingga mikroalga mencapai kepadatan sel 1×10^6 , dihitung menggunakan *thomacytometer* yang diamati oleh mikroskop cahaya, dan dipanen dengan cara disentrifugasi pada 4000 g *force* selama 10 menit.

4. Pembuatan *Immobilized Microalgae Beads*

Suspensi mikroalga *Chlorella* sp. dicampurkan ke dalam polimer Natrium Alginat 4% (w/v) dengan perbandingan sebesar 1:1. Larutan CaCl₂ disiapkan dengan menimbang 2 gram CaCl₂ dan dilarutkan dalam 100 ml air suling. Larutan alga-alginat semi cair disedot menggunakan pompa peristaltik dan diteteskan ke dalam larutan CaCl₂ 0,5 membentuk *beads* mikroalga dengan ukuran 2 mm. *Beads* mikroalga didiamkan di dalam larutan CaCl₂ selama 12 jam pada suhu 4°C hingga *beads* mengeras. *Beads* mikroalga yang telah terbentuk dicuci dengan larutan steril NaCl 0,85 % dan akuades (Elystia dkk., 2019).

5. Karakterisasi *Immobilized Microalgae Beads*

Karakterisasi ini dilakukan terhadap *immobilized microalgae beads* setelah kontak dengan limbah Cr(VI) artifisial, dimana dilakukan uji karakterisasi gugus fungsi dalam *immobilized microalgae beads* menggunakan *Fourier Transform Infrared* (FTIR), uji morfologi permukaan dengan *Scanning Electron Microscope* (SEM), dan uji kekuatan mekanik *beads*.

C. Rancangan Percobaan dan Analisis Data

1. Response Surface Methodology

Perancangan percobaan dilakukan menggunakan *Response Surface Methodology* teknik *Box Behnken Design* pada *software* Design Expert 13 dengan menentukan faktor-faktor yang dapat mempengaruhi respon. Tiga variabel kondisi proses yang ditetapkan akan menghasilkan 17 *run* percobaan. Data hasil percobaan kemudian akan menghasilkan model yang dapat digunakan untuk memprediksi respon optimum.

Tabel 1. Penentuan Faktor dan Level

Variabel	Simbol	Kode Level		
		-1	0	+1
Konsentrasi Limbah (mg/L)	X ₁	20	50	80
Dosis Adsorben (g/L)	X ₂	3	5	7
Waktu Kontak (jam)	X ₃	2	4	6

2. Analisis Variasi Respon

Setelah dilakukan pengujian variasi media RSM sebanyak 17 kali, hasil data respon berupa efisiensi penyisihan logam berat Cr(VI) dan *optical density* dimasukkan ke dalam *software* Design Expert 13 untuk dilakukan analisis desain permukaan respon berupa analisis variasi respon, regresi permukaan respon, determinasi signifikansi faktor, plot *residual* respon, plot kontur respon, plot permukaan respon, dan prediksi hasil respon hasil komposisi media dari setiap optimasi respon.

3. Uji ANOVA

Hasil uji ANOVA akan menunjukkan 2 term linier, 1 pengaruh interaksi, dan 2 pengaruh kuadratik. Pada uji ini nilai yang akan dilihat adalah p-value dengan kriteria pengujian jika p-value $\leq \alpha$ (0,05), maka nilai tersebut dikatakan berpengaruh signifikan pada model ini (Putra dkk., 2018).

4. Uji Lack of Fit

Uji *lack of fit* dilakukan untuk mengetahui kesesuaian model yang telah dihasilkan. Apabila p-value kurang dari α (0,05) yang berarti ada ketidaksesuaian antara model yang diduga dengan model sebenarnya. Adapun sebaliknya, hipotesis awal akan diterima jika p-value melebihi nilai α (0,05) (Hutama dkk., 2019).

5. Persamaan Regresi

Persamaan regresi umumnya berbentuk model kuadrat yang dapat menggambarkan hubungan antara variabel input dan output. Persamaan regresi untuk tiga variabel proses yakni konsentrasi limbah, dosis adsorben, dan waktu kontak dapat ditulis sebagai berikut:

$$y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3 + \beta_{11} x_1^2 + \beta_{22} x_2^2 + \beta_{33} x_3^2 + \beta_{12} x_1 x_2 + \beta_{13} x_1 x_3 + \beta_{23} x_2 x_3 \quad (1)$$

Keterangan:

y	= Respon
β_0	= Tetapan atau konstanta
x ₁	= Konsentrasi limbah
x ₂	= Dosis adsorben
x ₃	= Waktu kontak
$\beta_1, \beta_2, \beta_3$	= Koefisien linear tiap faktor
$\beta_{11}, \beta_{22}, \beta_{33}$	= Koefisien untuk efek kuadrat tiap faktor
$\beta_{12}, \beta_{13}, \beta_{23}$	= Koefisien untuk interaksi antara pasangan tiap faktor

6. Countour Plot dan Surface Plot

Response surface plot menggambarkan bagaimana pola pengaruh respon percobaan, apakah maksimum, minimum atau *saddle point*. *Surface plot* ini dapat diproyeksikan kedalam plot dua dimensi menjadi *contour plot*.

7. Optimasi Desain Response Surface Methodology

Optimasi dilakukan menggunakan fungsi *desirability*. Ketepatan optimasi ditunjukkan dengan nilai *desirability* mendekati nilai 1. Kriteria respon yang ditemukan yaitu efisiensi penyisihan Cr(VI) dan *optical density* dengan cakupan nilai tertinggi (*maximize*).

8. Konfirmasi Hasil Prediksi

Berdasarkan nilai optimum dari setiap faktor yang diperoleh, maka dilakukan konfirmasi hasil prediksi dengan cara melakukan percobaan sesuai hasil yang disarankan RSM. Percobaan dilakukan dengan tiga kali replikasi agar memberikan nilai yang lebih akurat.

9. Analisa Parameter Uji

a. Analisa Kadar Cr(VI)

Pengujian kadar Cr(VI) dilakukan dengan metode spektrofotometri menggunakan spektrofotometer UV-Vis yang diukur pada panjang gelombang 540 nm (SNI 6989.71:2009). Efisiensi penyisihan Cr(VI) dalam penelitian ini dapat ditunjukkan dengan persentase reduksi pencemar. Perhitungan persentase dapat dihitung dengan rumus berikut:

$$\text{Efisiensi (\%)} = \frac{C_{in}-C_{ef}}{C_{in}} \times 100 \quad (2)$$

Keterangan:

C_{in} : Konsentrasi Influen Cr(VI) (mg/l)

C_{ef} : Konsentrasi Efluen Cr (VI) (mg/l)

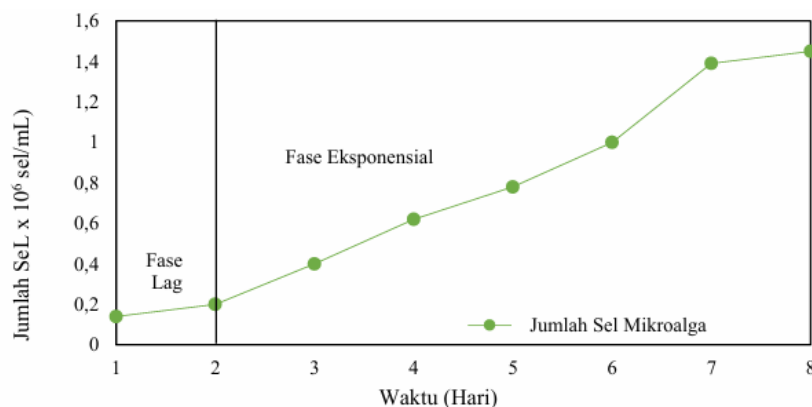
b. Optical Density (OD)

Optical Density (OD) atau disebut juga sebagai kerapatan optik dapat dihitung dengan cara memasukkan limbah cair dari masing masing sampel sebanyak 1 ml ke dalam kuvet dan aquades sebagai blanko. Suspensi tersebut kemudian diukur nilai absorbansi menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 610 nm. Dilakukan pengulangan hingga tiga kali untuk masing masing pengambilan sampel (Lizayana dkk., 2016).

HASIL DAN PEMBAHASAN

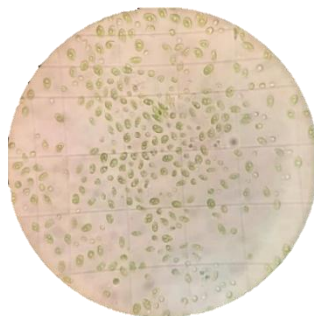
A. Hasil Kultivasi Mikroalga *Chlorella* sp.

Kultivasi mikroalga *Chlorella* sp. bertujuan untuk memperbanyak jumlah sel mikroalga *Chlorella* sp. hingga memiliki jumlah kepadatan sel sebesar 1×10^6 dan berada pada fase eksponensial. Proses kultivasi dilakukan selama 8 hari dengan melakukan perhitungan jumlah sel setiap 24 jam sekali menggunakan alat *thomacytometer* di bawah mikroskop cahaya. Grafik pertumbuhan sel mikroalga *Chlorella* sp. selama proses kultivasi dapat dilihat pada Gambar 1 berikut.



Gambar 1. Grafik Jumlah Sel Mikroalga *Chlorella* sp. Selama Kultivasi

Berdasarkan Gambar 1, pertumbuhan mikroalga *Chlorella* sp. menunjukkan pola kurva pertumbuhan mikroorganisme, dimulai dari fase lag hingga fase eksponensial. Pada hari ke-0 hingga ke-2, jumlah sel meningkat perlahan dari $0,14 \times 10^6$ menjadi $0,2 \times 10^6$ sel/mL, menandakan fase adaptasi awal terhadap lingkungan kultivasi yang berlangsung kurang dari 24 jam, sebagaimana dipengaruhi oleh umur inokulum dan komposisi media (Simamora dkk., 2017). Memasuki hari ke-3, mikroalga mulai mengalami pertumbuhan eksponensial dengan peningkatan jumlah sel signifikan hingga $0,4 \times 10^6$ sel/mL. Fase ini ditandai oleh aktivitas biosintesis yang tinggi akibat produksi enzim yang mendukung pembelahan sel (Mishbach dkk., 2022). Puncak pertumbuhan tercapai pada hari ke-8 dengan jumlah sel sebesar $1,45 \times 10^6$ sel/mL, menunjukkan berakhirnya fase eksponensial sebelum memasuki fase stasioner yang ditandai dengan melandainya kurva pertumbuhan jumlah sel mikroalga *Chlorella* sp.



Gambar 1. Bentuk Mikroskopis Sel Mikroalga *Chlorella* sp.

Morfologi mikroalga *Chlorella* sp. diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 100x. Berdasarkan hasil pengamatan, sel *Chlorella* sp. tampak berwarna hijau, uniseluler, dan berbentuk bulat (*coccus*) seperti Gambar 2. Karakterisasi ini sesuai dengan hasil penelitian El-Sheekh dkk., (2020), yang menyatakan bahwa *Chlorella* sp. berwarna hijau, uniseluler, berbentuk bulat (*coccoid*) atau sub bulat, dengan kloroplas berbentuk parietal dan berbentuk cawan dengan satu pirenoid, serta pada pengamatan morfometrik diameter sel adalah 3–12 μ m.

B. Hasil Pembentukan Immobilized Microalgae Beads

Proses imobilisasi dilakukan dengan mencampurkan suspensi sel mikroalga *Chlorella* sp. dengan Natrium Alginat 4% dengan perbandingan sebesar 1:1. *Beads* kemudian dibuat dalam ukuran 2 mm dengan bantuan suntikan. Menurut Rajmohan dan Bellmer (2019), Ukuran *beads* 2 mm memberikan keseimbangan optimal antara laju difusi dan kemantapan *beads* secara mekanis (memiliki ketahanan tekan cukup baik).



(a)



(b)

Gambar 2. (a) *Immobilized Microalgae Beads*, (b) Ukuran *Immobilized Microalgae Beads*

Hasil pengamatan mikroskop cahaya menunjukkan bahwa *Immobilized Microalgae Beads* memiliki bentuk bulat dengan permukaan sedikit kasar dan warna hijau merata akibat keberadaan *Chlorella* sp. yang kaya akan pigmen klorofil a, klorofil b, serta karotenoid seperti β -karoten, antheraxanthin, dan lutein (Fekete dkk., 2024). *Beads* yang disintesis menggunakan natrium alginat tampak transparan sehingga sel mikroalga di bagian inti terlihat jelas. Struktur berlapis dari lapisan hidrogel berperan penting sebagai penghalang fisik dan pelindung mekanis yang menjaga stabilitas serta melindungi mikroalga dari pengaruh lingkungan luar. Lapisan ini terbentuk melalui proses interaksi antara molekul natrium alginat dan ion kalsium dari larutan CaCl_2 2% (Tran dkk., 2024).

C. Optimasi Biosorpsi Logam Cr(VI) dengan *Immobilized Microalgae Beads* Menggunakan Response Surface Methodology

Proses optimasi dilakukan menggunakan *Response Surface Methodology* (RSM) pada aplikasi Design Expert 13 dengan Teknik *Box Behnken Design* (BBD). Adapun variabel faktor yang digunakan adalah konsentrasi Cr(VI), dosis adsorben, dan waktu kontak. Sedangkan respon yang diharapkan adalah efisiensi penyisihan Cr(VI) dan *Optical Density*. Kemudian, didapatkan 17 *running* percobaan yang dapat dilihat pada Tabel 4 berikut.

Tabel 4. Data Hasil Percobaan

Run	Faktor			Respon	
	X ₁ : Konsentrasi Cr(VI) (mg/L)	X ₂ : Dosis Adsorben (g/L)	X ₃ : Waktu (jam)	Y ₁ : Efisiensi Penyisihan (%)	Y ₂ : <i>Optical</i> <i>Density</i>
1	20	3	4	59,329	0,337
2	80	3	4	31,497	0,299
3	20	7	4	59,154	0,396
4	80	7	4	53,958	0,488
5	20	5	2	49,767	0,299
6	80	5	2	38,984	0,352
7	20	5	6	57,159	0,341
8	80	5	6	51,338	0,332
9	50	3	2	39,269	0,241
10	50	7	2	45,124	0,352
11	50	3	6	43,104	0,233
12	50	7	6	59,069	0,390
13	50	5	4	75,620	0,322
14	50	5	4	74,016	0,322
15	50	5	4	77,552	0,328
16	50	5	4	77,011	0,329
17	50	5	4	76,828	0,321

Data hasil optimasi kondisi proses ini kemudian akan diolah untuk menemukan model prediksi. Dari Tabel 4 didapatkan efisiensi penyisihan Cr(VI) dari proses biosorpsi menggunakan *Immobilized Microalgae Beads* berkisar antara 38,984% hingga 77,552%, sedangkan nilai *optical density* yang didapat berkisar antara 0,233-0,488.

D. Analisis Respon Efisiensi Penyisihan Cr(VI) Oleh *Immobilized Microalgae Beads*

Setelah diperoleh kondisi optimum proses biosorpsi Cr(VI) menggunakan *Immobilized Microalgae Beads*, dilakukan analisis terhadap respons efisiensi penyisihan Cr(VI). Berdasarkan analisis varians, model yang sesuai untuk menggambarkan hubungan antara konsentrasi Cr(VI), dosis adsorben, dan waktu kontak terhadap efisiensi penyisihan Cr(VI) adalah model *quadratic*. Model tersebut memiliki nilai R^2 sebesar 0,9882, yang menunjukkan bahwa model mampu menjelaskan 98,82% variasi respons efisiensi penyisihan Cr(VI), sedangkan sekitar 1,18% variasi respons tidak dapat dijelaskan oleh model. Nilai *adjusted R²* sebesar 0,9731 menunjukkan bahwa kemampuan model dalam menjelaskan variasi respons tetap tinggi setelah memperhitungkan jumlah prediktor yang digunakan. Sementara itu, nilai *predicted R²* sebesar 0,8437 menunjukkan bahwa model memiliki kemampuan prediksi yang baik terhadap respons. Interaksi antara konsentrasi Cr(VI), dosis adsorben, dan waktu kontak dengan model *quadratic* terhadap respon efisiensi penyisihan Cr(VI) dapat dilihat dari nilai *p-value* hasil perhitungan ANOVA seperti pada Tabel 5 berikut.

Hasil analisis ANOVA (Tabel 5) menunjukkan bahwa interaksi antar variabel proses berpengaruh signifikan terhadap efisiensi penyisihan Cr(VI), dengan nilai *p-value* model $< 0,05$ dan nilai $R^2 = 0,9882$, yang menandakan model memiliki kemampuan prediktif yang sangat baik. Nilai *Lack of Fit* sebesar 0,0627 yang tidak signifikan menunjukkan kesesuaian model dengan data eksperimen. Hubungan antara konsentrasi Cr(VI) (X_1), dosis adsorben (X_2), dan waktu kontak (X_3) menghasilkan model regresi berbentuk kuadrat. Beberapa variabel dieliminasi melalui refit model untuk menyederhanakan persamaan dan meningkatkan akurasi estimasi titik optimum (Smucker dkk., 2020). Penentuan kontribusi dan penapisan variabel dilakukan berdasarkan nilai *p-value* pada analisis ANOVA. Faktor atau interaksi dengan nilai *p-value* $< 0,05$ menunjukkan pengaruh yang signifikan, sedangkan variabel dengan *p-value* $> 0,1$ dianggap tidak signifikan dan dieliminasi dari model (Brahmi dkk., 2019). Berdasarkan kriteria tersebut, term interaksi X_1X_3 ($p = 0,3460$) dieliminasi melalui refit model. Sementara itu, term interaksi X_2X_3 ($p = 0,0785$) tetap dipertahankan dalam model akhir karena nilainya $< 0,10$ (signifikan secara marjinal), yang terbukti mempertahankan ketepatan prediksi dan

memberikan nilai Lack of Fit yang baik sebesar 0,0728, menandakan pengurangan penyimpangan akibat *noise*. Berikut persamaan regresi setelah *refit model*.

$$Y_1 = -81,35598 + 0,574417 (\text{Kons. Cr(VI)}) + 30,37754 (\text{Dos. Ads}) + 30,42240 (\text{Waktu}) + 0,094317 (\text{Kons. Cr(VI) x Dos. Ads}) + 0,631875 (\text{Dos. Ads x Waktu}) - 0,012528 (\text{Kons. Cr(VI)})^2 - 3,48642 (\text{Dos. Ads})^2 - 3,90455 (\text{Waktu})^2 \quad (3)$$

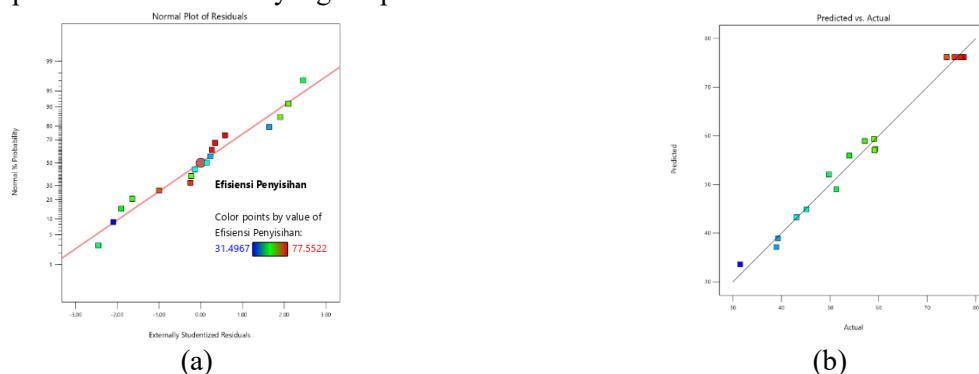
Persamaan regresi hasil reduksi menunjukkan bahwa konsentrasi Cr(VI), dosis adsorben, waktu kontak, serta interaksi antara keduanya (X_1X_2 dan X_2X_3) berpengaruh positif terhadap efisiensi penyisihan Cr(VI), sedangkan faktor kuadratik (X_1^2 , X_2^2 , X_3^2) berpengaruh negatif. Tanda positif menunjukkan adanya efek sinergis antar variabel, sementara tanda negatif menandakan efek antagonis atau hubungan berbanding terbalik antara variabel dan respon (Brahmi dkk., 2019).

Tabel 5. ANOVA Respon Efisiensi Penyisihan Cr(VI)

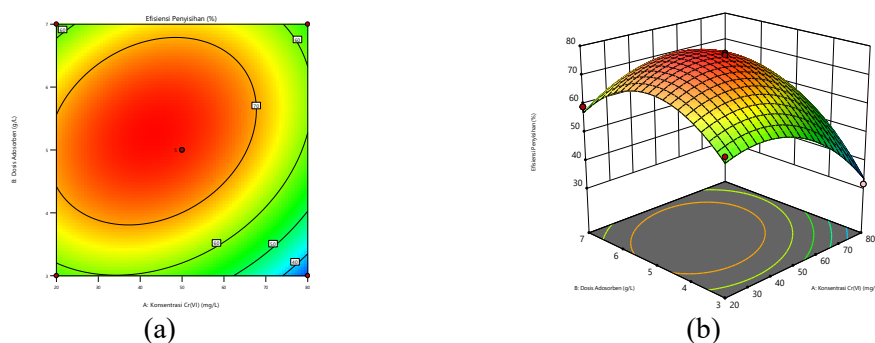
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	Keterangan
Model	3.541,51	9	393,50	65,25	<0,0001	S
X_1 -Konsentrasi Cr(VI)	307,92	1	307,92	51,06	0,0002	S
X_2 -Dosis Adsorben	243,17	1	243,17	40,32	0,0004	S
X_3 -Waktu Kontak	176,02	1	176,02	29,19	0,0010	S
X_1X_2	128,10	1	128,10	21,24	0,0025	S
X_1X_3	6,16	1	6,16	1,02	0,3460	NS
X_2X_3	25,55	1	25,55	4,24	0,0785	NS
X_1^2	535,29	1	535,29	88,76	<0,0001	S
X_2^2	818,87	1	818,87	135,78	<0,0001	S
X_3^2	1.027,07	1	1.027,07	170,31	<0,0001	S
Residual	42,22	7	6,03			
<i>Lack of Fit</i>	34,23	3	11,41	5,71	0,0627	NS
<i>Pure Error</i>	7,99	4	2,00			
Cor Total	3.583,72	16				
R²	0,9882					

Keterangan: S = *Significant*, NS = *Not Significant*

Validasi model dilakukan menggunakan metode grafik melalui analisis distribusi residual menggunakan plot probabilitas normal seperti ditunjukkan pada Gambar 3 Hasil plot menunjukkan bahwa titik-titik residual berada dekat dengan garis lurus, menandakan tidak adanya pelanggaran signifikan terhadap asumsi normalitas dan independensi residual. Selain itu, hubungan antara nilai prediksi dan nilai aktual efisiensi penyisihan Cr(VI) yang membentuk pola linear menunjukkan bahwa model memiliki validitas statistik yang baik serta kemampuan prediktif yang tinggi (Abdulhameed dkk., 2019). Grafik pada Gambar 4 menggambarkan hubungan ketiga faktor dengan menunjukkan pengaruh dua faktor pada salah satu faktor yang tetap.



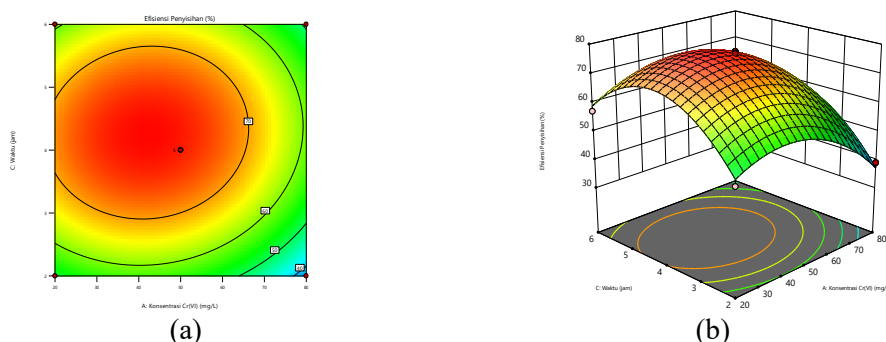
Gambar 3. (a) Grafik Nilai Residual terhadap *Normal Probability* untuk Respon Densitas (b) Grafik *Predicted vs Actual* Efisiensi Penyisihan Cr(VI)



Gambar 4. (a) *Countour Plot* dan (b) *Surface Plot* Faktor Konsentrasi Cr(VI) dan Dosis Adsorben pada Waktu Kontak 4 jam

Gambar 4 menunjukkan *contour plot* dan *surface plot* hubungan antara konsentrasi Cr(VI) dan dosis adsorben terhadap efisiensi penyisihan Cr(VI). Hasil analisis menunjukkan peningkatan efisiensi seiring dengan naiknya konsentrasi Cr(VI) dan dosis adsorben, dengan respon maksimum dicapai pada kisaran konsentrasi 20–65 mg/L dan dosis adsorben 2,8–6,8 g/L. Pada konsentrasi rendah, peningkatan muatan positif ion Cr(VI) mendorong adsorpsi pada situs aktif biomassa. Namun, pada konsentrasi di atas 50 mg/L, terjadi kejenuhan situs adsorpsi akibat kompetisi ion Cr(VI) untuk mengisi situs pengikatan, sehingga efisiensi penyisihan menurun meskipun dosis adsorben meningkat (Esmati dkk., 2023).

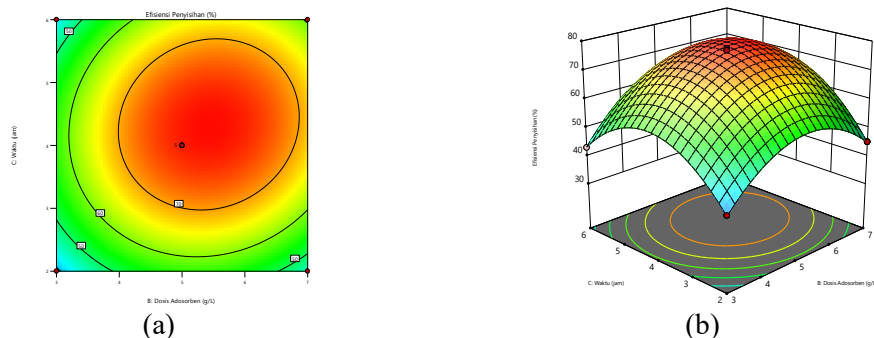
Mekanisme penyisihan Cr(VI) oleh *Immobilized Microalgae Beads* melibatkan proses adsorpsi sekaligus reduksi, bukan sekadar penjerapan anionik. Ion Cr(VI) diduga awalnya teradsorpsi pada gugus bermuatan positif di permukaan beads, kemudian direduksi menjadi Cr(III) oleh gugus donor elektron seperti C–O dan P–O (Adetya dkk., 2021). Dalam kondisi asam, reduksi berlangsung melalui reaksi $\text{HCrO}_4^- + 7\text{H}^+ + 3\text{e}^- \rightarrow \text{Cr}^{3+} + 4\text{H}_2\text{O}$ (Tatibayeva dkk., 2022). Ion Cr(III) yang terbentuk kemudian berikatan dengan gugus karboksil (–COOH) dan amina (–NH₂) pada matriks beads, membentuk ikatan kompleks atau koordinasi yang memperkuat proses biosorpsi. Hal ini dibuktikan dengan perubahan warna larutan dari kuning-oranye menjadi kehijauan setelah biosorpsi, yang menandakan terbentuknya kompleks Cr(III) seperti $(\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_6)^{3+}$ atau $(\text{Cr}(\text{OH})_6)^{3-}$ (Ashar dkk., 2022).



Gambar 5. (a) *Countour Plot* dan (b) *Surface Plot* Faktor Konsentrasi Cr(VI) dan Waktu Kontak pada Dosis Adsorben 5 g/L

Gambar 5 menunjukkan peningkatan konsentrasi Cr(VI) dan waktu kontak berpengaruh terhadap efisiensi penyisihan logam, dengan nilai maksimum dicapai pada rentang konsentrasi 20–65 mg/L dan waktu kontak 3–5,5 jam. Efisiensi biosorpsi meningkat seiring bertambahnya waktu kontak karena lebih banyak ion Cr(VI) yang berinteraksi dengan situs aktif pada permukaan *immobilized microalgae beads*. Namun, setelah mencapai titik optimum, efisiensi menurun akibat kejenuhan situs adsorpsi, di mana ion Cr(VI) yang berlebih tidak lagi dapat terikat secara efektif. Temuan ini sejalan dengan hasil penelitian Naseem dkk. (2020), yang menyatakan bahwa pada konsentrasi tinggi, penambahan waktu

tidak memberikan peningkatan signifikan terhadap efisiensi biosorpsi karena keterbatasan jumlah situs aktif yang tersedia.



Gambar 6. (a) *Countour Plot* dan (b) *Surface Plot* Faktor Dosis Adsorben dan Waktu Kontak pada Konsentrasi 50 mg/L

Gambar 6 menunjukkan interaksi antara dosis adsorben dan waktu kontak berpengaruh signifikan terhadap efisiensi penyisihan Cr(VI), dengan nilai maksimum dicapai pada dosis 4–6,8 g/L dan waktu kontak 3–5,5 jam. Permukaan respon berbentuk cembung simetris mengindikasikan adanya titik optimum, di mana peningkatan dosis adsorben menyediakan lebih banyak situs aktif, namun efisiensi menurun apabila waktu kontak terlalu singkat atau terlalu lama. Setelah mencapai kondisi kesetimbangan kinetik, penambahan waktu tidak lagi meningkatkan efisiensi biosorpsi, sebagaimana juga dilaporkan oleh Majumder dkk., (2017).

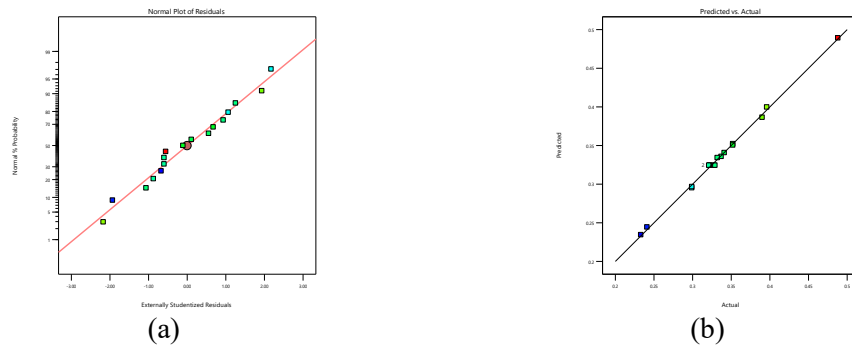
E. Analisis Respon Optical Density Pada *Immobilized Microalgae Beads*

Optical density (OD) digunakan sebagai metode tidak langsung untuk mengukur pertumbuhan dan estimasi biomassa dalam beads mikroalga melalui penyerapan cahaya menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Hashe dkk., 2025). Analisis menggunakan *Response Surface Methodology (RSM)* menunjukkan bahwa model terbaik untuk respon OD adalah model kuadratik dengan nilai R^2 sebesar 0,9976, yang menandakan akurasi prediksi model mencapai 99,76%. Nilai p -value < 0,05 juga mengindikasikan bahwa model yang diperoleh signifikan secara statistik dan dapat digunakan untuk memprediksi hubungan antara variabel proses dengan pertumbuhan mikroalga dalam *Immobilized Microalgae Beads*. Selanjutnya dilakukan analisis ANOVA, hasilnya menunjukkan bahwa interaksi antar variabel proses berpengaruh signifikan terhadap *optical density* Cr(VI) dengan p -value < 0,05 dan $R^2 = 0,9976$, menandakan model kuadratik memiliki kemampuan prediksi yang sangat baik. Nilai Lack of Fit yang tidak signifikan ($p = 0,3142$) juga membuktikan kesesuaian model dengan data eksperimen. Persamaan regresi yang terbentuk adalah.

$$Y_2 = 0,336876 - 0,005849 (\text{Kons. Cr(VI)}) - 0,042212 (\text{Dos. Ads}) + 0,071228 (\text{Waktu}) + 0,000541 (\text{Kons. Cr(VI)} \times \text{Dos. Ads}) - 0,000259 (\text{Kons. Cr(VI)} \times \text{Waktu}) + 0,002894 (\text{Dos. Ads} \times \text{Waktu}) + 0,000046 (\text{Kons. Cr(VI)})^2 + 0,003572 (\text{Dos. Ads})^2 - 0,008696 (\text{Waktu})^2 \quad (4)$$

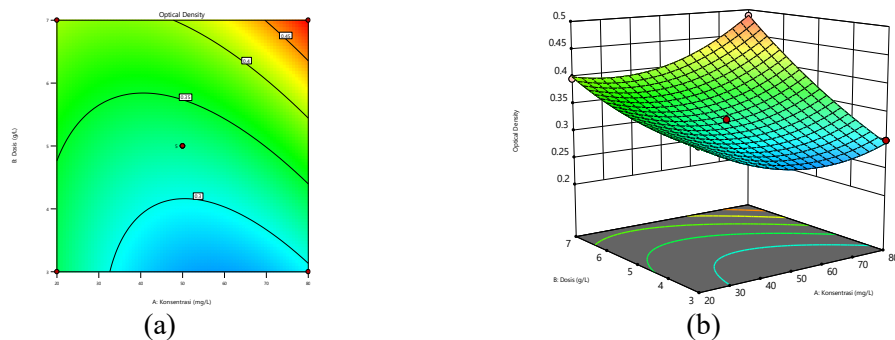
Faktor yang meningkatkan *optical density* adalah waktu kontak, interaksi konsentrasi Cr(VI)–dosis adsorben, dosis adsorben–waktu kontak, serta efek kuadratik konsentrasi dan dosis adsorben, sedangkan konsentrasi Cr(VI), dosis adsorben, dan waktu kontak berlebih menurunkan nilai *optical density*.

Validasi model *Response Surface Methodology* untuk respon *optical density* dilakukan menggunakan metode grafik yang menunjukkan distribusi residual menyebar normal dan tidak terdapat pelanggaran asumsi statistik. Hubungan antara nilai prediksi dan aktual juga menunjukkan kesesuaian yang baik, menegaskan bahwa model kuadratik yang diperoleh layak digunakan untuk memprediksi pertumbuhan mikroalga dalam *Immobilized Microalgae Beads* (Abdulhameed dkk., 2019).



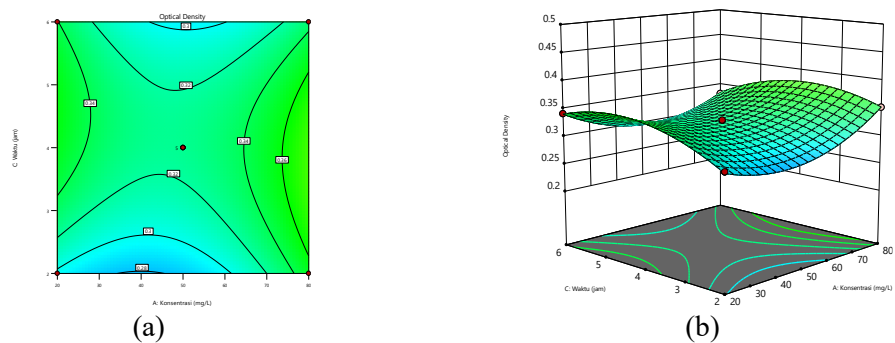
Gambar 7. (a) Grafik Nilai Residual terhadap *Normal Probability* (b) Grafik *Predicted vs Actual*
Optical Density

Visualisasi model *Response Surface Methodology* untuk respon *optical density* disajikan dalam bentuk *contour* dan *surface plot* guna menunjukkan interaksi antara konsentrasi Cr(VI), dosis adsorben, dan waktu kontak. Hasil visualisasi memperlihatkan pola perubahan *optical density* yang konsisten dengan prediksi model, menegaskan pengaruh simultan ketiga variabel terhadap pertumbuhan mikroalga dalam *Immobilized Microalgae Beads*.



Gambar 8. (a) *Countour Plot* dan (b) *Surface Plot* Faktor Konsentrasi Cr(VI) dan Dosis Adsorben pada Waktu Kontak 4 jam

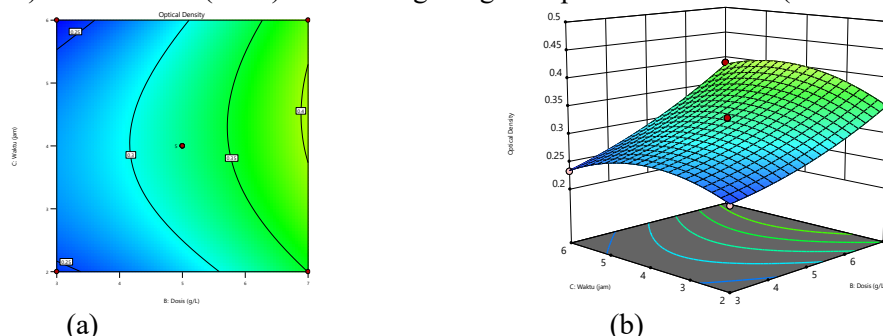
Gambar 8 menunjukkan bahwa interaksi antara konsentrasi Cr(VI) dan dosis adsorben menghasilkan area optimum *optical density* pada kisaran konsentrasi 70–80 mg/L dan dosis 6,4–7 g/L. Menariknya, nilai OD meningkat pada konsentrasi Cr(VI) tinggi, yang diduga bukan akibat peningkatan biomassa, melainkan efek *light scattering* dari perubahan morfologi sel mikroalga akibat stres logam berat (Zhou dkk., 2023). Fenomena ini menunjukkan bahwa nilai OD tinggi dapat pula mencerminkan keberadaan agregat atau debris sel nonviabel. Sementara itu, peningkatan dosis adsorben berkontribusi positif terhadap OD karena memperbanyak situs aktif biosorpsi dan menurunkan efek toksik logam, meskipun di luar kondisi optimum efisiensi dapat menurun akibat kerusakan sel mikroalga (Sbihi dkk., 2024).



Gambar 9. (a) *Countour Plot* dan (b) *Surface Plot* Faktor Konsentrasi Cr(VI) dan Waktu Kontak pada Dosis Adsorben 5 g/L

Gambar 9 menunjukkan bahwa nilai *optical density* meningkat pada waktu kontak menengah hingga tinggi (4–6 jam) dan konsentrasi Cr(VI) 20 serta 70–80 mg/L, yang menandakan viabilitas sel

mikroalga masih terjaga dalam kondisi tersebut. Sebaliknya, pada waktu kontak singkat (1–2 jam), OD lebih rendah karena sel belum sempat beradaptasi terhadap stres logam berat. Hal ini menunjukkan bahwa durasi kontak berperan penting dalam mempertahankan aktivitas sel, di mana pada waktu yang cukup lama mikroalga mampu mengaktifkan mekanisme pertahanan enzimatis seperti Superoksida Dismutase (SOD) dan Katalase (CAT) untuk mengurangi dampak stres oksidatif (Lu dkk., 2021).



Gambar 10. (a) *Countour Plot* dan (b) *Surface Plot* Faktor Dosis Adsorben dan Waktu Kontak pada Konsentrasi 50 mg/L

Gambar 10 menunjukkan bahwa nilai *optical density* (OD) meningkat seiring bertambahnya dosis adsorben (5–7 g/L) dan waktu kontak (2–6 jam), yang menandakan viabilitas sel mikroalga *Chlorella sp.* dan aktivitas biosorpsi yang lebih tinggi. Pada dosis rendah dan waktu singkat, OD cenderung rendah karena biomassa belum cukup berkembang untuk menyerap Cr(VI) secara optimal. Peningkatan OD mencerminkan bertambahnya biomassa aktif dan banyaknya gugus fungsional (-OH, -COOH, -NH₂) yang berperan dalam pengikatan ion Cr(VI). Hasil ini selaras dengan Musah dkk. (2022) yang menyatakan bahwa peningkatan dosis dan waktu kontak memiliki hubungan sinergis terhadap kapasitas biosorpsi, meskipun pada kondisi toksisitas logam tinggi nilai OD dapat menurun akibat kerusakan sel mikroalga.

F. Analisis Optimasi Kondisi Proses Biosorpsi Cr(VI)

Optimasi model dilakukan untuk menentukan kondisi terbaik dari variabel proses secara efisien melalui pendekatan matematis. Karena terdapat lebih dari satu respon, digunakan metode *desirability function* untuk menggabungkan seluruh respon menjadi satu nilai komposit dengan rentang 0–1, di mana nilai 1 menunjukkan kondisi optimum sempurna (Montgomery, 2017). Model dari persamaan 2 dan 3 dijadikan dasar dalam optimasi, dengan pembobotan kepentingan (*importance*) antara 1–5 untuk menentukan prioritas setiap respon, baik yang bertujuan meminimalkan, menargetkan, maupun memaksimalkan nilai tertentu.

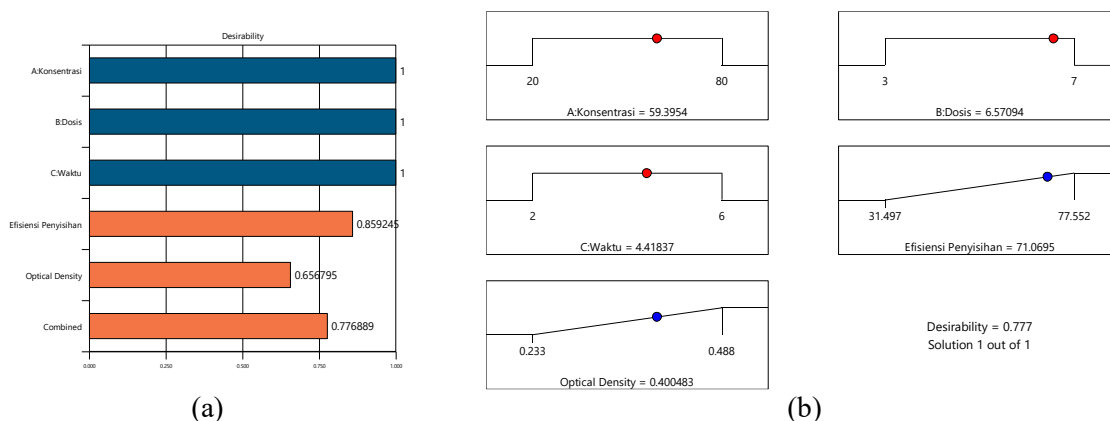
Nilai *importance* untuk variabel X_1 , X_2 , dan X_3 ditetapkan sama yaitu 3 (+++) karena memiliki tingkat kepentingan setara, sedangkan respon Y_1 (efisiensi penyisihan) diberi bobot tertinggi 5 (+++++) dan Y_2 (OD) sebesar 3 (+++). Hal ini karena efisiensi penyisihan merupakan indikator utama keberhasilan biosorpsi Cr(VI) oleh mikroalga, sedangkan OD hanya mendukung melalui representasi aktivitas biologis. Proses optimasi dilakukan dalam rentang variabel konsentrasi Cr(VI) 20–80 mg/L, dosis adsorben 3–7 g/L, dan waktu kontak 2–6 jam, dengan target respon berada dalam batas *in range*. Berikut hasil optimasi kondisi optimum model.

Tabel 6. Perbandingan Hasil Optimasi Kondisi Proses Biosorpsi Cr(VI) dengan Hasil Aktual Percobaan

Konsentrasi Cr(VI) (mg/L)	Dosis Adsorben (g/L)	Waktu Kontak (Jam)	Efisiensi Penyisihan (%)	<i>Optical Density</i>	<i>Desirability</i>	
59,395	6,571	4,4 18	71,070	0,4	0,777	<i>Selected</i>

Hasil optimasi dengan *Design Expert 13* menghasilkan satu solusi dengan nilai *desirability* gabungan 0,777, menunjukkan kondisi optimal yang efektif dan valid untuk kedua respon, yaitu efisiensi penyisihan dan *optical density* (OD). Nilai *desirability* individu masing-masing sebesar 0,859

untuk efisiensi dan 0,657 untuk OD, menandakan keduanya telah mendekati target maksimum. Pendekatan *desirability function* ini memungkinkan pencarian kondisi terbaik secara simultan melalui konversi setiap respon menjadi skor 0–1 dan penggabungan berbasis rata-rata geometrik. Berdasarkan grafik *ramp*, kondisi optimum dicapai pada konsentrasi Cr(VI) 59,395 mg/L, dosis adsorben 6,571 g/L, dan waktu kontak 4,42 jam dengan efisiensi penyisihan 71,01% dan OD 0,4005, yang mencerminkan keseimbangan optimal antara efektivitas biosorpsi dan viabilitas mikroalga.



Gambar 11. (a) *Desirability* dari Variabel Respon, (b) Fungsi *Ramp* Optimasi Biosorpsi Cr(VI)

G. Konfirmasi Hasil Prediksi

Setelah diperoleh kondisi optimal biosorpsi Cr(VI) menggunakan *Immobilized Microalgae Beads*, dilakukan uji validasi model RSM sebanyak tiga kali untuk memastikan keakuratan prediksi. Eksperimen dilakukan pada kondisi optimal (konsentrasi Cr(VI) 59,345 mg/L, dosis adsorben 6,569 g/L, dan waktu kontak 4,418 jam), kemudian hasil percobaan dibandingkan dengan nilai prediksi sebagaimana ditampilkan pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil Prediksi dan Konfirmasi Respon Biosorpsi Cr(VI)

Run	Faktor			Respon	
	Konsentrasi Cr(VI) (mg/L)	Dosis Adsorben (g/L)	Waktu Kontak (jam)	Efisiensi Penyisihan (%)	<i>Optical Density</i>
Prediksi	59,395	6,571	4,418	71,069	0,400
Konfirmasi (aktual)	1 58,8	6,6	4,5	71,220	0,401
	2 60,4	6,6	4,5	67,666	0,381
	3 61	6,6	4,5	67,820	0,382

Hasil ketiga pengulangan konfirmasi menunjukkan nilai yang tidak terlalu berbeda terhadap hasil prediksi. Selain itu, hasil prediksi menunjukkan bahwa hasil dapat dipercaya (95% CI) seperti yang ditunjukkan pada Tabel 8.

Tabel 8. *Confidence Interval* Hasil Prediksi

<i>Solution 1 of 1 Response</i>	<i>Predicted Mean</i>	<i>Predicted Median</i>	Std Dev	n	SE Pred	95% PI Low	Data Mean	95% PI High
Efisiensi Penyisihan	71,095	71.095	2.456	3	1.886	66.636	68.902	75.555
<i>Optical Density</i>	0,400	0.400	0.0043	3	0.003	0.393	0.394	0.408

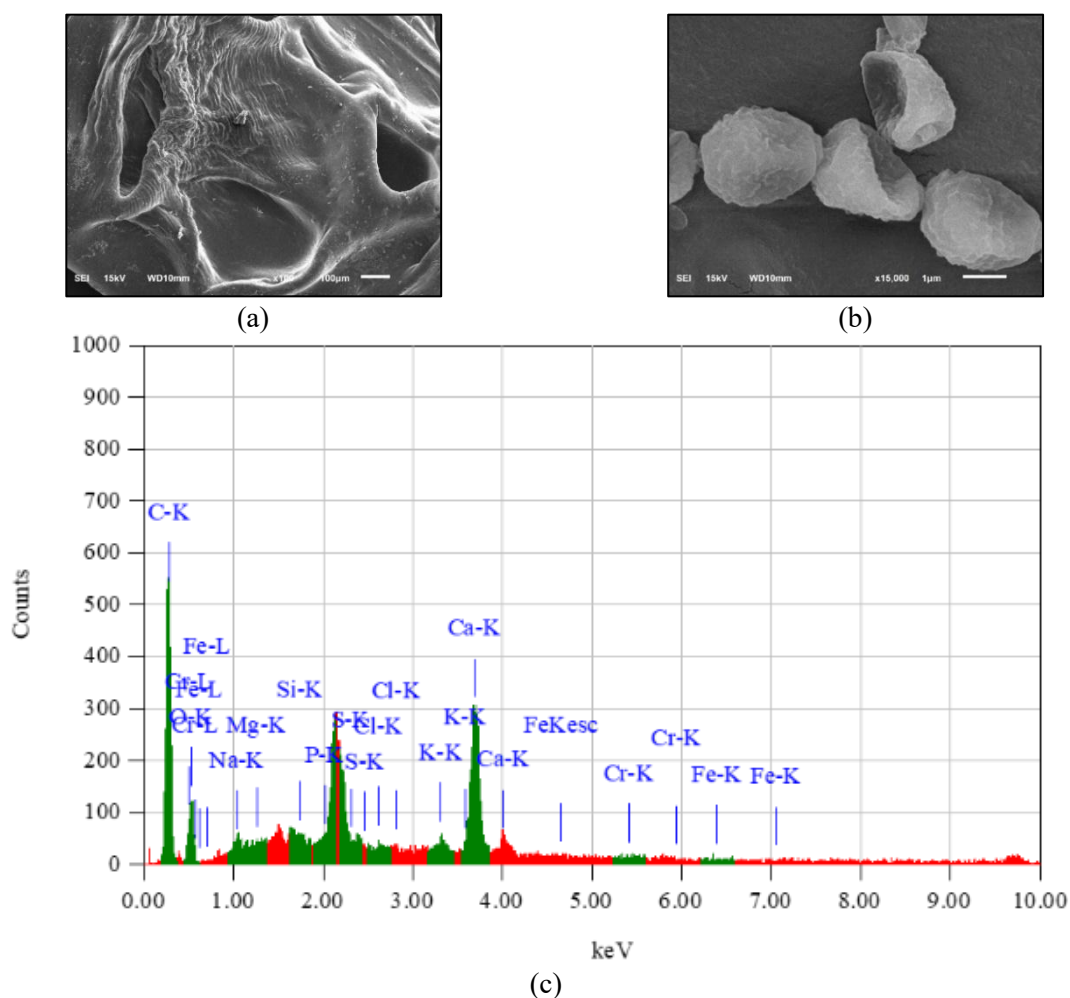
Validasi model dilakukan dengan membandingkan hasil prediksi dan eksperimen untuk efisiensi penyisihan dan *optical density*. Hasil menunjukkan perbedaan kecil antara nilai prediksi (71,069% dan 0,400) dengan hasil uji (67,66–71,22% dan 0,381–0,401), menandakan akurasi model yang baik. Uji statistik memperkuat hal ini dengan rentang prediksi 95% yang sempit dan nilai deviasi rendah, menunjukkan model presisi dan dapat diandalkan. Kondisi optimum diperoleh pada konsentrasi Cr(VI)

59,395 mg/L, dosis adsorben 6,571 g/L, dan waktu kontak 4,418 jam dengan efisiensi penyisihan 71,095% dan OD 0,400. Namun, sisa Cr(VI) sebesar 17,143 mg/L masih melebihi baku mutu PermenLH No. 5 Tahun 2014 (0,1 mg/L), sehingga diperlukan *pretreatment* sebelum pengolahan biologis lanjutan.

H. Hasil Uji Karakteristik Immobilized Microalgae Beads

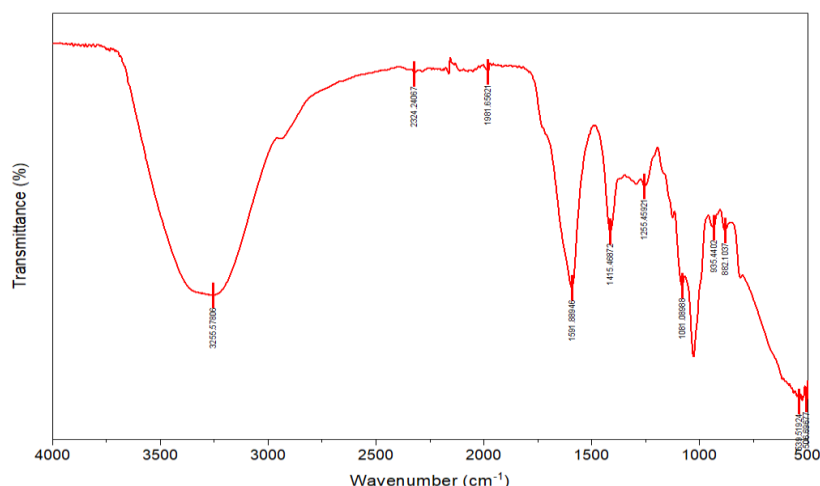
1. Hasil Uji SEM-EDS

Uji SEM-EDS dilakukan untuk menganalisis perubahan morfologi dan komposisi kimia immobilized *microalgae beads* sebelum dan sesudah biosorpsi Cr(VI). Hasil SEM menunjukkan permukaan beads menjadi lebih kasar, berpori, dan retak, menandakan terjadinya deformasi struktur akibat interaksi kimia antara gugus aktif (-OH, -COO⁻, -NH₂) dengan ion Cr(VI). Pada pembesaran tinggi, sel *Chlorella sp.* tampak tertutup endapan yang diduga sebagai Cr(VI) atau hasil reduksinya menjadi Cr(III). Analisis EDS mengonfirmasi perubahan unsur utama, di mana kandungan karbon menurun dan oksigen meningkat, menunjukkan keterlibatan gugus fungsional dalam proses adsorpsi. Unsur Na, Mg, Si, dan K sedikit menurun akibat pertukaran ion, sedangkan Ca tetap stabil, menandakan struktur matriks Ca-alginat tetap utuh. Munculnya unsur Cr (0,15%) setelah biosorpsi menjadi bukti keberhasilan penyerapan logam oleh beads, didukung oleh peningkatan Fe (0,10%) yang mengindikasikan respons seluler akibat stres logam berat. Temuan ini menegaskan bahwa proses biosorpsi terjadi melalui mekanisme kimia dan fisik yang efektif antara ion Cr(VI) dan permukaan biosorben.



Gambar 12. Hasil Uji SEM (a) perbesaran 100x, (b) 15.000x, dan (c) Hasil EDS

2. Hasil Uji FTIR



Gambar 14. Hasil Uji FTIR immobilized *microalgae beads*

Hasil analisis FTIR beads *Chlorella* sp. setelah biosorpsi Cr(VI) menunjukkan keberadaan beberapa gugus fungsi yang berpotensi berperan dalam proses pengikatan kromium. Pita serapan utama teridentifikasi pada 3295 cm^{-1} , yang berkaitan dengan vibrasi peregangan O–H/N–H dari gugus hidroksil dan protein; 1592 cm^{-1} yang dapat dikaitkan dengan vibrasi gugus C=O/COO⁻; serta 1415 cm^{-1} yang mengindikasikan vibrasi simetris –COO⁻. Sementara itu, pita pada 1265 cm^{-1} dapat berhubungan dengan vibrasi C–O/C–N dan/atau gugus fosfat, sedangkan pita pada 1098 cm^{-1} menunjukkan keberadaan gugus C–O–C yang berasal dari komponen polisakarida. Pita pada sekitar 935 dan 882 cm^{-1} berada pada daerah *fingerprint* dan kemungkinan berkaitan dengan struktur polisakarida pada biomassa dan matriks beads. Keberadaan gugus hidroksil, karboksilat, amina, fosfat, dan polisakarida tersebut menunjukkan bahwa permukaan beads *Chlorella* sp. menyediakan berbagai situs aktif yang berpotensi berinteraksi dengan spesies Cr(VI). spektrum FTIR mengindikasikan bahwa mekanisme biosorpsi Cr(VI) pada beads *Chlorella* sp. kemungkinan berlangsung melalui interaksi elektrostatis, pertukaran ion, dan kompleksasi permukaan yang melibatkan beberapa gugus fungsi secara simultan. Gugus amina yang dapat terprotonasi menjadi –NH₃⁺ berpotensi berinteraksi secara elektrostatis dengan anionik Cr(VI), terutama HCrO₄⁻, sedangkan gugus karboksilat dan hidroksil dapat berkontribusi terhadap pengikatan kromium pada permukaan biosorben. Selain proses adsorpsi, biomassa *Chlorella* sp. juga berpotensi berperan dalam reduksi Cr(VI) menjadi Cr(III), yang selanjutnya dapat berinteraksi dengan gugus oksigen seperti karboksilat pada permukaan biomassa.

3. Hasil Uji Kekuatan Mekanik

Uji kekuatan mekanik menunjukkan bahwa nilai *hardness* immobilized microalgae beads meningkat dari 48,01 gForce menjadi 58,60 gForce setelah biosorpsi, menandakan struktur beads menjadi lebih padat dan tahan tekanan. Peningkatan ini disebabkan oleh interaksi antara ion Cr(VI) dengan gugus fungsional aktif (-OH, -COOH, -NH₂) yang memperkuat jaringan polimer internal beads. Hasil ini sesuai dengan temuan Rajmohan & Bellmer (2019) yang menyebutkan bahwa kekuatan mekanik meningkat seiring peningkatan ikatan silang dan kepadatan struktur. Selain itu, munculnya nilai *fracturability* sebesar 34,56 gForce setelah biosorpsi menunjukkan bahwa meskipun kekuatan tekan meningkat, struktur beads menjadi lebih rapuh akibat tegangan internal dan kekakuan yang lebih tinggi.

KESIMPULAN

Kondisi proses yang optimum untuk biosorpsi Cr(VI) menggunakan *Immobilized Microalgae Beads* ada pada konsentrasi Cr(VI) 59,395 mg/L, dosis adsorben 6,571 g/L, dan waktu kontak 4,418 jam, dengan nilai efisiensi penyisihan sebesar 71,069% dan nilai *optical density* sebesar 0,400. Model empiris yang didapatkan untuk respon efisiensi penyisihan (Y_1) dan *optical density* (Y_2):

$$Y_1 = -81,35598 + 0,574417 (\text{Kons. Cr(VI)}) + 30,37754 (\text{Dos. Ads}) + 30,42240 (\text{Waktu}) + 0,094317 (\text{Kons. Cr(VI)} \times \text{Dos. Ads}) + 0,631875 (\text{Dos. Ads} \times \text{Waktu}) - 0,012528 (\text{Kons. Cr(VI)}^2 - 3,48642 (\text{Dos. Ads})^2 - 3,90455 (\text{Waktu})^2$$

$$Y_2 = 0,336876 - 0,005849 (\text{Kons. Cr(VI)}) - 0,042212 (\text{Dos. Ads}) + 0,071228 (\text{Waktu}) + 0,000541 (\text{Kons. Cr(VI)} \times \text{Dos. Ads}) - 0,000259 (\text{Kons. Cr(VI)} \times \text{Waktu}) + 0,002894 (\text{Dos. Ads} \times \text{Waktu}) + 0,000046 (\text{Kons. Cr(VI)}^2 + 0,003572 (\text{Dos. Ads})^2 - 0,008696 (\text{Waktu})^2$$

Immobilized microalgae beads berbasis *Chlorella* sp. efektif menyerap ion Cr(VI) melalui interaksi kimiawi antara gugus aktif (-OH, -COO⁻, -NH) dengan logam, sebagaimana ditunjukkan oleh analisis FTIR dan SEM-EDS. Peningkatan kekuatan mekanik setelah biosorpsi menegaskan stabilitas strukturalnya, sehingga beads ini berpotensi sebagai biosorben untuk pengolahan limbah logam berat.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Pusat Studi Alga Universitas Riau dan Laboratorium Pengendalian dan Pencegahan Pencemaran, Fakultas Teknik, Universitas Riau atas dukungan fasilitas, sarana, dan bantuan teknis selama pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdulhameed, A. S. Mohammad, A.T., &Jawad, A. H. (2019). Modeling and mechanism of reactive orange 16 dye adsorption by chitosan-glyoxal/ TiO₂ nanocomposite: application of response surface methodology. *Desalination and Water Treatment*, 164, 346-360.
- Adetya, N. P., Arifin, U. F., & Anggriyani, E. (2021). The removal of chromium (VI) from tannery waste using Spirulina sp. immobilized silica gel. *Turkish Journal of Chemistry*, 45(6), 1854-1864.
- Ashar, A., Bhatti, I. A., Mohsin, M., Yousaf, M., Aziz, H., Gul, A., Hussain, T., & Bhutta, Z. A. (2022). Enhanced Solar Photocatalytic Activity of Thermally Stable I:ZnO/ Glass Beads for Reduction of Cr(VI) in Tannery Effluent. *Front. Chem*, 10, 80513.
- Brahmi, L., Kaouah, F., Boumaza, S., & Trari, M. (2019). Response surface methodology for the optimization of acid dye adsorption onto activated carbon prepared from wild date stones. *Applied Water Science*, 9, 171.
- El-Seekh, M., Abu-Faddan, M., Abo-Shady, A., Nassar, M. Z. A., & Labib, W. (2020). Molecular identification, biomass, and biochemical composition of the marine chlorophyte *Chlorella* sp. MF1 isolated from Suez Bay. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 18(27), 1-10.
- Elystia, S., Muria, R. S., & Anggraini, L. (2019). Removal of COD and total nitrogen from palm oil mill effluent in flatphotobioreactor using immobilised microalgae *Chlorella* sp. *Food Research*, 3(2): 123-127.
- Elystia, S., Edward, H. S., & Putri, A. E. (2020). Removal of Chromium (VI) And Chromium (III) By Using *Chlorella* sp. Immobilized At Electroplating Wastewater. *International Conference of Sustainability Agriculture and Biosystem*.
- Esmati, F., Holliday, M. C., Zein, S. H., Jabbar, K. J., Tan, S. H., Putranto, A. (2025). Enhancing hexavalent chromium removal from textile effluent with low-cost adsorbent: simulation and a techno-economic study. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 22, 6345-6364.
- Fekete, G., Sebok, A., Klátyik, S., Varga, Z. I., Grósz, J., Czinkota, I., Székács, A., & Aleksza, L. (2024). Comparative Analysis of Laboratory Based and Spectroscopic Methods Used to Estimate the Algal Density of *Chlorella vulgaris*. *Microorganism*, 12, 1050.
- Hanifa, L., & Zulaika, E. (2014). Potensi Sel *Chlorella* sp. Inaktif Sebagai Biosorben Logam Berat Cd²⁺. *Jurnal Sains Dan Seni POMITS*, 3(2), 33-35.
- Hashe, L., Masudi, W. L., Chiyanzu, I., Schönfelder, S., Pleissner, D., & Cowan, A. K. (2025). Quantification of phototrophically grown *Galdieria sulphuraria* and other microalgae using diphenylamine. *Journal of Applied Phycology*, Springer.
- Hutama, T. S., Darsin, M. & Mulyadi, S. (2019). Optimasi Variasi Diameter Nozzle, Tekanan Udara, dan Suhu Pengeringan pada Pelapisan Baja St37 Menggunakan Metode Response Surface. *Jurnal SIMETRIS*, 10(2), 687-693.

- Irianto dkk., 2022, C. N. D., Yulianti, L. I. M., & Sidharta, B. B. R. (2022). Literature Review Microalga *Chlorella* sp. Sebagai Bioremediator Logam Berat. *Bioeksperimen*, 8(1), 45-56.
- Kardena, E., Himawan, P. G., dan Qomarudin, H. (2020). Imobilisasi Kultur Campuran Mikroba Dan Karakteristik Aktifitasnya dalam Menurunkan Organik dan Amoniak Pada Limbah Cair Domestik. *Jurnal Teknik Lingkungan*, 26 (1) : 73-86.
- Kumar, P & Chaucan, M. (2019). Adsorption of Chromium (VI) from the synthetic Aqueous Solution Using Chemically Modified Dried Water Hyacinth Roots. *Journal of Environmental Chemical Engineering* (7), 103218.
- Li, H., Zhang, Y., Liu, J., Shen, Z., Li, A., Ma., T., Feng, Q., & Sun, Y. (2019). Treatment of High-Nitrate Wastewater Mixtures From MnO₂ Industry by *Chlorella vulgaris*. *Bioresource Technology*, 291, 121-836.
- Lu, M. M., Gao, F., Li, C., & Yang, H. L. (2021). Response of microalgae *Chlorella vulgaris* to Cr stress and continuous Cr removal in a membrane photobioreactor. *Chemosphere*, 262, 128422.
- Majumder, R., Sheikh, L., Naskar, A., Vineeta., Mukherjee, M., & Tripathy, S. (2017). Depletion of Cr(VI) from aqueous solution by heat dried biomass of a newly isolated fungus *Arthrimum malaysianum*: A mechanistic approach. *Scientific Reports*, 7, 11254.
- Mishbach, I., Permatasari, N. S., Zainuri, M., Kusumaningrum, H. P., & Hastuti, D. (2022). Potensi Mikroalga *Anabaena* sp. Sebagai Bahan Utama Bioetanol. *Ekotonia*, 07(1), 69-76.
- Montgomery, D. C. (2013). *Design and Analysis of Experiment Ninth Edition*. Arizona State University: John Wiley & Sons, Inc.
- Musah, B. I., Xu, Y., Liang, C., & Peng, L. (2022). Biosorption of chromium (VI), iron (II), copper (II), and nickel (II) ions onto alkaline modified *Chlorella vulgaris* and *Spirulina platensis* in binary systems. *Environmental Science and Pollution Research*, 29, 62514-62536.
- Naseem, T., Bibi., F., Arif, S., Waseem, M., Haq, S., Azra, M. N., Liblik, T., & Zekker, I. (2022). Adsorption and Kinetics Studies of Cr (VI) by Graphene Oxide and Reduced Graphene Oxide-Zinc Oxide Nanocomposite. *Molecules*, 27(21), 7152.
- Putra, I. G. A. M., Widarta, I. W. R., & Ina, P. T. (2018). Optimasi Suhu dan Waktu Menggunakan *Response Surface Methodology* pada Ekstraksi Oleoresin Limbah Kulit Jeruk Lemon dengan Bantuan Gelombang Ultrasonik. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, 7(3) : 110 – 119.
- Putri, A. R. (2021). Optimasi Proses Ekstaksi Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) Secara Sonikasi Dengan Pendekatan *Response Surface Analysis*. Thesis. Makassar: Universitas Hasanuddin.
- Rajmohan, D. & Bellmer, D. (2019). Characterization of *Spirulina*-Alginate Beads Formed Using Ionic Gelation. *International Journal of Food Science*, 1-7.
- Sbihi, K., Elhamji, S., Lghoul, S., Aziz, K., Maallem, A. E., Mabrouki, J., EL Seekh, M., & Aziz, F. (2024). Biosorption of Hexavalent Chromium by Freshwater Microalgae *Craticula subminuscula* from Aqueous Solutions. *Sustainability*, 16, 918.
- Simamora, L. A., Sudarno., & Istirokhatun, T. (2017). Kultivasi Mikroalga Sebagai Metode Pengolahan Dalam Menyisihkan Kadar COD dan Amonium Pada Limbah Cair Tahu. *Jurnal Teknik Lingkungan*, 6(1), 1-14.
- Smucker, B. J., Edwards, D. J., & Weese, M. L. (2020). Response Surface Models: To Reduce or Not to Reduce?. *Journal of Quality Technology*, 53, 1-35.
- Suparti, W. (2022). Optimasi Proses Ekstraksi Protein Dari *Ulva Lactuca* Asal Kabupaten Takalar dengan *Response Surface Methodology* (RSM). Thesis. Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Tattibayeva, Z., Tazhibayeva, S., Kujawski, W., Zayadan, B., & Musabekov, K. (2022). Peculiarities of adsorption of Cr (VI) ions on the surface of *Chlorella vulgaris* ZBS1 algae cells. *Heliyon*, 2405-8440.
- Tran, D. T., Nguyen, N. K., Yadav, A. S., Chuang, A., Burford, M., Ooi, C. H., Sreejith, K. R., Nguyen, N. T. (2024). Calcium alginate elastic capsules for microalgal cultivation. *RSC Adv.*, 14, 15441-15448.
- U.S. EPA. (2022). *Toxicological review of hexavalent chromium (CAS No. 18540-29 9)*. EPA/635/R-22/XYZ. Washington, DC: U.S. EPA.
- Zhou, Z., Wu, Y., Liu, B., Yu, C., & Fu, H. (2023). Toxic Effects of Chromium (VI) on *Chlorella vulgaris* in Water. In X. Chen (Ed.), *Proceedings of the 2022 12th International Conference on Environment Science and Engineering (ICESE 2022)* (pp. 87–93). Springer.

Zhou, T., Xie, Z., Jiang, X., Zou, X., Cheng, J., Chen, C., Kuang, C., Ye, J., Wang, Y., & Liu, F. (2024). Efficient Solar-Powered Bioremediation of Hexavalent Chromium in Contaminated Waters by *Chlorella* sp. MQ-1. *Water*, 16(22), 3315. <https://doi.org/10.3390/w16223315>