

Pengaruh Variasi Ukuran Butiran Tepung Kedelai pada Metode *Calcite Precipitation* untuk Peningkatan Kekuatan Tanah Pasir

Luthfi Lofianda^{1*}, Heriansyah Putra² dan Hideaki Yasuhara³

¹ Department of Civil and Environmental Engineering, Matsuyama, Japan 790-0825

² Departemen of Civil and Environmental Engineering, IPB University, Bogor, Indonesia 16680

³ Departemen of Urban Management, Kyoto University, Kyoto, Japan 606-8501

* Penulis koresponden: luthfi.lofianda.22@cee.ehime-u.ac.jp

Abstrak: Kedelai merupakan alternatif penggunaan enzim urease murni komersial dalam metode *calcite precipitation*. Ukuran butiran tepung kedelai merupakan salah satu faktor penting karena berpengaruh terhadap jumlah material yang tidak terlarut dan selanjutnya terhadap reaksi pembentukan kalsit. Tepung kedelai yang digunakan dalam penelitian ini telah diayak dengan saringan No. 300 (50 μm), No. 150 (100 μm), dan No. 75 (200 μm) dan bagian yang tertahan di setiap saringan digunakan dalam penelitian. Larutan tepung kedelai dengan konsentrasi sebanyak 20 g/L digunakan dan disaring melalui saringan No. 400 (40 μm), untuk mendapatkan ekstrak. Pasir Bangka digunakan sebagai sampel tanah pasir dan memiliki koefisien keseragaman sebesar 1.53. Evaluasi kemudian dilakukan dengan menggunakan tiga parameter yaitu pengendapan kalsit, laju hidrolisis urea, dan evaluasi *calcite content* menggunakan asam klorida. Berdasarkan uji pengendapan kalsit dengan menggunakan tabung, semakin kecil ukuran biji kedelai, semakin banyak bahan tak terlarut yang dihasilkan. Rasio presipitasi kalsit dan massa kalsit yang diendapkan optimum tercapai pada ukuran butiran kedelai 100 μm . Laju hidrolisis tertinggi terjadi pada ukuran butiran kedelai 50 μm pada 752 U/g. Persentase kalsit tertinggi di dalam sampel terbentuk pada sampel dengan ukuran butiran kedelai 50 μm dengan persentase massa kalsit sebesar 0.60% atau setara dengan 43.81 kPa. Berdasarkan parameter yang dievaluasi, tepung kedelai dengan ukuran 50 μm memiliki hasil terbaik dan penurunan ukuran butiran tepung kedelai sejalan dengan peningkatan kekuatan tanah pasir.

Kata kunci: *Calcite precipitation method*; tanah pasir; kekuatan tanah, ukuran tepung kedelai;

Diterima: 15 Maret 2023
Disetujui: 14 April 2023

Sitasi:

Lofianda, L.; Putra, H.; Yashura, H. Pengaruh Variasi Ukuran Butiran Tepung Kedelai pada Metode *Calcite Precipitation* untuk Peningkatan Kekuatan Tanah Pasir. *J. Teknik Sipil dan Lingkungan*. 2023; 8 [1]: 29-36., <https://doi.org/10.29244/jsil.8.1.29-36>

1. Pendahuluan

Calcite precipitation method merupakan salah satu metode alternatif perbaikan tanah dengan menggunakan enzim urease sebagai katalisator untuk mengendapkan kristal kalsit pada butiran tanah. Berdasarkan penelitian yang pernah dilakukan sebelumnya, terdapat dua sumber yang digunakan untuk menghasilkan enzim urease yaitu melalui media mikroba ureolitik dan enzim urease murni. Akan tetapi, penggunaan mikroba ureolitik memerlukan teknik penanganan mikroba yang kompleks. Oleh karena itu, digunakan enzim urease murni dalam rangka penyederhanaan metode tersebut. Metode ini dapat meningkatkan UCS dari 0,4-1,6 MPa [1]. Menurut Putra *et al.* [2], penggunaan enzim urease dengan kemurnian tinggi dalam skala besar tidak efisien secara ekonomi, sehingga diperlukan alternatif lain seperti bubuk kedelai untuk mengurangi biaya dan telah dievaluasi untuk menggantikan penggunaan enzim

urease [3]. Menurut Putra *et al.* [4], kedelai memiliki tingkat hidrolisis yang cukup tinggi untuk digunakan sebagai pengganti enzim urease komersial. Namun, penggunaan bubuk kedelai akan menghasilkan massa bubuk kedelai yang tidak terlarut. Massa yang tidak terlarut tersebut dapat mempengaruhi reaksi pembentukan kalsit menjadi kurang efektif dan menyumbat pori-pori tanah sehingga kalsit tidak dapat terdistribusi secara merata di dalam tanah [2]. Ukuran butiran serbuk kedelai yang berbeda dapat menghasilkan viskositas larutan dan laju hidrolisis urea yang berbeda [5]. Penelitian ini mengevaluasi pengaruh ukuran butiran bubuk kedelai yang berbeda pada metode presipitasi kalsit dengan menggunakan larutan ekstrak kedelai yang diperoleh dengan perlakuan saring dan pengaruhnya terhadap nilai UCS pada tanah.

2. Metode

2.1. Material

Material yang digunakan pada penelitian ini yaitu Pasir Silika, kedelai yang telah digiling menjadi bentuk bubuk, saringan No. 300 (50 μm), No. 150 (100 μm), No. 75 (200 μm), dan No. 400 (40 μm) sebagai penyaring larutan kedelai, reagen urea ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) dan kalsium klorida (CaCl_2) dengan standar *laboratory grade* yang diproduksi oleh Kanto Chemical Inc., serta asam klorida (HCl) kemurnian 37% yang telah diencerkan dengan perbandingan 1:9 menggunakan air distilasi.

2.2. Prosedur Penelitian

2.2.1. Uji sifat fisik tanah

Uji sifat fisik tanah bertujuan untuk mengetahui karakteristik fisik tanah pasir yang digunakan untuk pengujian. Adapun pengujian yang dilakukan antara lain pengukuran berat jenis, gradasi ukuran butiran tanah, dan pengujian angka pori sampel tanah pasir.

2.2.2. Uji laju hidrolisis urea

Uji laju hidrolisis bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan kedelai sebagai pengganti enzim urease dalam menghidrolisis urea. Tahapan ini dilakukan untuk ketiga variasi tepung kedelai tersebut dan 1 mol/L urea sebanyak 100 mL. Larutan kemudian diaduk secara otomatis menggunakan *magnetic stirrer* selama 10 menit dan perubahan *electrical conductivity* diukur setiap 30 detik.

2.2.3. Uji pengendapan kalsit

Uji pengendapan kalsit mengacu pada metode yang dikembangkan oleh Putra *et al.* [6] dan untuk mengevaluasi jumlah massa presipitasi kalsit yang dihasilkan selama masa *curing time* tertentu. Uji pengendapan kalsit bertujuan untuk mengetahui besarnya endapan kalsit yang dihasilkan oleh tiap variasi ukuran butiran tepung kedelai sehingga dapat diketahui ukuran butiran tepung kedelai yang menghasilkan massa presipitasi kalsit optimum. Tahapan ini dilakukan dengan mencampurkan bahan reagen (kalsium klorida dan urea) dengan masing-masing konsentrasi sebesar 1 mol/L dengan larutan tepung kedelai dari ketiga variasi tersebut dengan konsentrasi 20 g/L. Ekstrak larutan kedelai yang didapat kemudian disaring menggunakan saringan No. 400 (40 μm). Larutan kemudian dicampurkan dan dibiarkan selama 7 hari di dalam *tube*, selanjutnya dikeringkan untuk mengevaluasi massa presipitasi yang terbentuk.

2.2.5. Evaluasi presipitasi kalsit pada sampel tanah

Sampel tanah pasir dimasukkan ke dalam *mold* dengan menggunakan kepadatan relatif (D_r) sebesar 50%. Aplikasi larutan ke dalam sampel tanah dilakukan dengan penuangan secara langsung dari bagian atas sampel. Penuangan diatur sedemikian rupa sehingga meminimalisir dampak jatuhnya

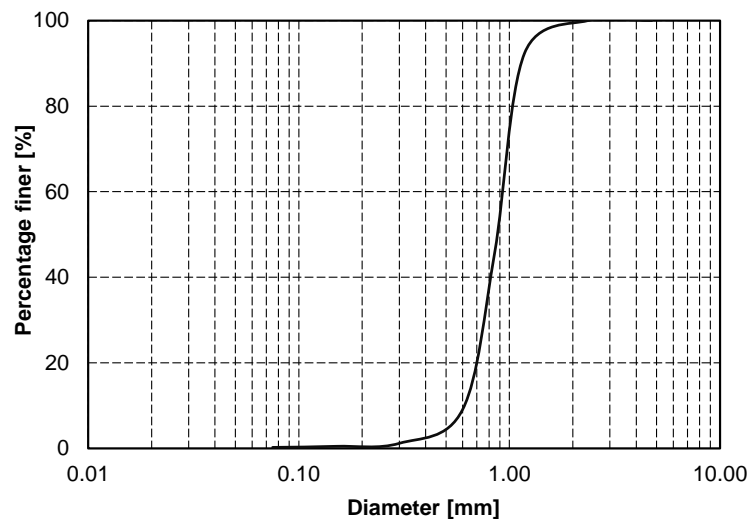
larutan terhadap permukaan tanah. Adapun jumlah larutan yang dituangkan ke dalam sampel adalah sebesar 1 pore volume (PV). Sampel kemudian diberi *curing time* selama 1 minggu.

Setelah *curing time* selesai, sampel dikeluarkan dari *mold* kemudian dihancurkan dan diaduk hingga merata. Sampel kemudian dibilas menggunakan akuades untuk menghilangkan sisa amonia yang tersisa. Setelah itu sampel dioven dengan suhu 100°C selama 24 jam kemudian diambil sebanyak 50 g berat sampel kering dari masing-masing sampel untuk dicampurkan dengan larutan asam klorida yang telah diencerkan hingga 10% untuk menghilangkan kristal kalsit yang terdapat pada sampel. Selisih berat sampel sebelum dan setelah dilarutkan dengan larutan asam klorida dapat menghasilkan nilai berat kalsit yang terdapat pada sampel. Massa kalsit yang terbentuk di dalam tanah digunakan untuk memprediksi kekuatan tanah berdasarkan grafik korelasi massa kalsit dan kekuatan tanah pasir yang dilaporkan Putra et al.[2]

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Sifat Fisik Sampel Tanah

Penelitian ini menggunakan pasir silika. Berdasarkan hasil pengujian berat jenis sampel tanah yang digunakan pada pengujian adalah sebesar 2.64. Selain itu, dilakukan pengukuran angka pori maksimum dan angka pori minimum, masing-masing dengan nilai 0.83 dan 0.59. Hasil pengujian distribusi ukuran butiran sampel tanah menunjukkan nilai koefisien keseragaman (C_u) adalah sebesar 1.53, sehingga menurut klasifikasi USCS tergolong sebagai pasir bergradasi buruk (SP). Sampel disiapkan dengan menggunakan kepadatan relatif (D_r) sebesar 50%. Adapun hasil pengujian gradasi butiran sampel tanah dapat dilihat pada Gambar 1.

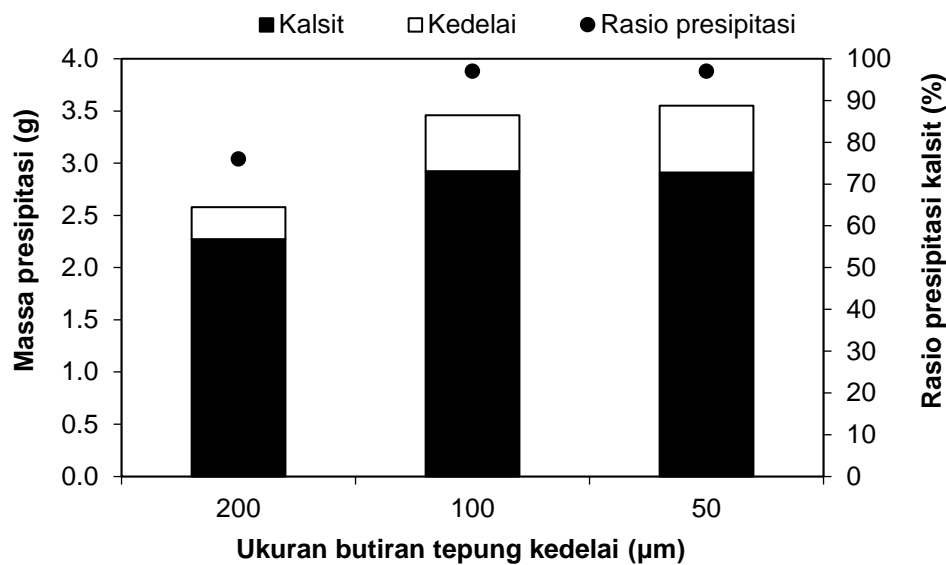


Gambar 1. Hasil pengujian gradasi butiran sampel tanah

3.2. Uji Pengendapan Kalsit

Adapun konsentrasi kalsium klorida dan urea yang digunakan dipertahankan pada 1 mol/L dengan konsentrasi ekstrak kedelai yang digunakan sebesar 20 g/L untuk ketiga jenis sampel. Konsentrasi ekstrak kedelai sebesar 20 g/L telah dievaluasi oleh Lofianda *et al.* [3] dan Putra et al. [4] menghasilkan rasio presipitasi kalsit paling optimum. Berdasarkan hasil evaluasi yang telah dilakukan untuk ketiga ekstrak kedelai dengan diameter butiran yang berbeda pada konsentrasi sebesar 20 g/L Ekstrak kedelai dengan ukuran butiran lolos saringan 200 μm memiliki rasio presipitasi sebesar 76%, sedangkan ekstrak kedelai dengan ukuran butiran lolos saringan 100 μm dan 50 μm keduanya memiliki rasio presipitasi sebesar 97%. Hal tersebut menunjukkan terjadinya peningkatan rasio presipitasi kalsit seiring dengan

menurunnya diameter ukuran butiran tepung kedelai yang digunakan pada ekstrak kedelai yang mana nilai optimum tercapai pada ekstrak kedelai dengan ukuran butiran tepung kedelai sebesar 100 μm . Semakin kecil ukuran diameter tepung kedelai yang digunakan, menghasilkan presipitasi kalsit yang semakin optimum. Berdasarkan kalsit yang dihasilkan dari *urease activity*, tepung kedelai dengan ukuran 0-0.250 mm merupakan ukuran terbaik yang digunakan pada metode *calcite precipitation* karena menghasilkan presipitasi kalsit yang optimum [7]. Nilai rasio presipitasi kalsit pada uji pengendapan kalsit dapat dilihat pada Gambar 2.



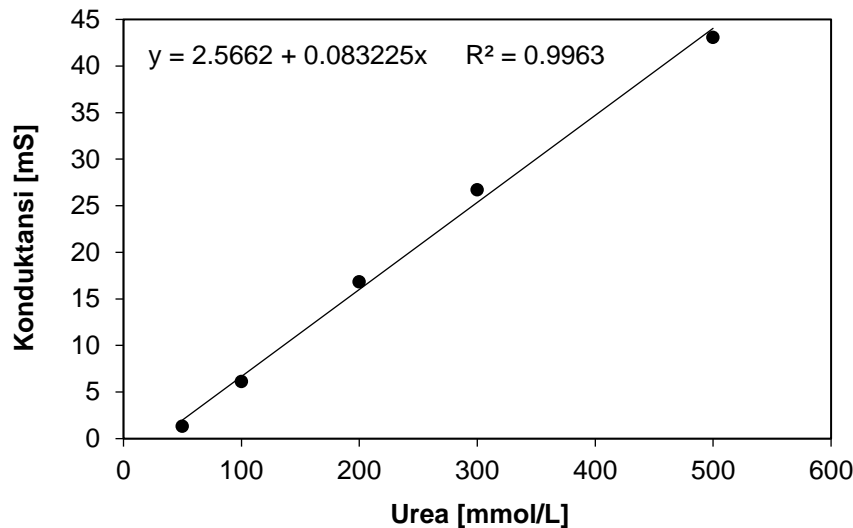
Gambar 2. Hasil pengujian pengendapan kalsit

Berdasarkan Gambar 2 dapat diketahui bahwa semakin kecil ukuran tepung kedelai yang digunakan, semakin tinggi massa presipitasi yang dihasilkan. Ukuran butiran tepung kedelai 200 μm menghasilkan 2.27 g kalsit, sedangkan ukuran butiran tepung kedelai 100 μm dan 50 μm menghasilkan 2.92 g kalsit. Menurut Almajed et al. [8], peningkatan nilai *urease activity* menyebabkan meningkatnya laju reaksi pembentukan kalsit dan berimplikasi pada jumlah presipitasi kalsit yang semakin tinggi. Akan tetapi, hal tersebut juga menunjukkan semakin besar massa endapan kedelai yang dihasilkan. Hal ini dikarenakan larutan tepung kedelai disaring kembali dengan menggunakan saringan No. 400 untuk mendapatkan larutan ekstrak kedelai yang akan digunakan. Semakin kecil ukuran butiran tepung kedelai yang digunakan menyebabkan semakin banyak butiran kedelai tak larut yang lolos saringan sehingga menyebabkan endapan yang terbentuk semakin besar. Endapan yang dihasilkan dari proses penyaringan tersebut memiliki konsistensi tinggi, tak larut dalam air, dan tidak mengandung kalsit sehingga endapan tak larut dapat menyebabkan proses pembentukan kalsit kurang efektif karena endapan dapat mempengaruhi reaksi pembentukan material kalsit [9,10]. Hal tersebut dapat dilihat pada ukuran butir tepung kedelai 50 μm yang menghasilkan massa kalsit yang sama dengan ukuran 100 μm , namun menghasilkan massa endapan yang lebih besar.

3.3. Uji Laju Hidrolisis Urea

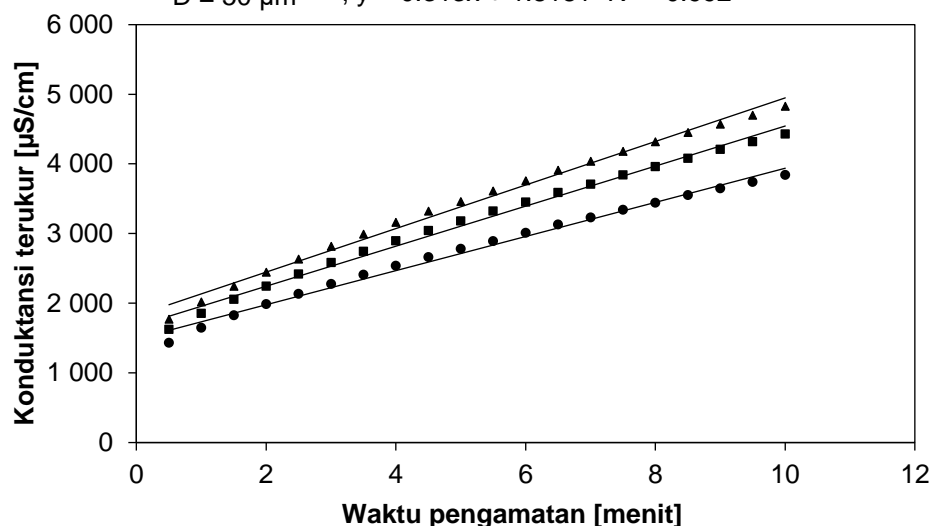
Pengujian laju hidrolisis urea bertujuan untuk mengetahui kemampuan ekstrak tepung kedelai dalam menghidrolisis urea. Adapun perubahan nilai konduktansi diukur hingga semua konsentrasi urea terhidrolisis, yang mana hal tersebut berarti nilai konduktansi mencapai titik maksimum. Nilai-nilai tersebut diolah menjadi kurva standar yang mana pada penelitian ini mengacu pada kurva standar yang diuji oleh Putra et al. [4]. Perubahan nilai konduktansi pada kurva standar urea dapat dilihat pada Gambar 3. Setelah itu sebanyak 1 mol/L urea dicampurkan pada 20 g/L larutan ekstrak kedelai dari

ketiga jenis tepung kedelai dengan diameter yang berbeda. Perubahan konduktansi yang terukur diukur dalam rentang waktu selama 10 menit. Hasil perubahan konduktansi terhadap perubahan waktu pengamatan dapat dilihat pada Gambar 4. Berdasarkan pengukuran konduktansi diketahui bahwa ekstrak kedelai yang didapat dari tepung kedelai dengan diameter 50 μm memiliki nilai konduktansi tertinggi yaitu mencapai nilai 4830 $\mu\text{S/cm}$ pada menit kesepuluh, dibanding dengan 3840 $\mu\text{S/cm}$ oleh tepung kedelai lolos diameter 200 μm dan 4430 $\mu\text{S/cm}$ oleh tepung kedelai lolos diameter 100 μm . Terjadi peningkatan nilai konduktansi seiring dengan semakin kecilnya ukuran tepung kedelai.



Gambar 3. Kurva standar urea menggunakan ekstrak tepung kedelai (dimodifikasi dari Putra et al. [4])

- D = 200 μm , $y = 0.245x + 1.489$ $R^2 = 0.9912$
- D = 100 μm , $y = 0.2876x + 1.6674$ $R^2 = 0.9922$
- ▲ D = 50 μm , $y = 0.313x + 1.8181$ $R^2 = 0.992$

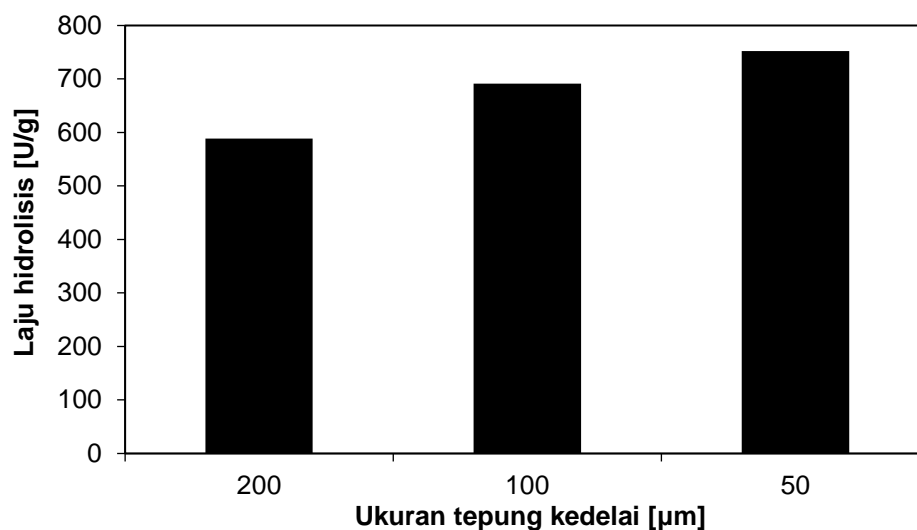


Gambar 4. Perubahan konduktansi pada setiap ukuran tepung kedelai terhadap waktu pengamatan

Tren perubahan nilai konduktansi pada setiap waktu pengamatan dapat dinilai berdasarkan persamaan garis linear dengan gradien tertentu yang dapat dilihat pada Gambar 4. Dikarenakan pada prosedur ini tidak menggunakan kalsium klorida sehingga terjadi ketiadaan ion kalsium, nilai laju hidrolisis dapat ditentukan berdasarkan metode pengukuran konduktansi [11]. *Urease activity*

mempunyai peranan penting dalam menentukan jumlah enzim urease yang dibutuhkan untuk memaksimalkan laju reaksi, namun menghindari pembatasan katalisis pada konsentrasi reagen yang tinggi [9]. Pengukuran *urease activity* atau laju hidrolisis urea dapat dihitung dengan menggunakan perbandingan antara gradien garis konduktansi-waktu dengan gradien garis kurva standar yang mengacu pada Whiffin *et al.* [11] dan Putra *et al.* [4]. Hasil perhitungan laju hidrolisis dapat dilihat pada Gambar 5.

Nilai *urease activity* yang terukur pada ekstrak kedelai dengan konsentrasi 20 g/L pada ukuran tepung kedelai sebesar 200 μm , 100 μm , dan 50 μm berturut-turut sebesar 589 U/g, 691 U/g, dan 752 U/g. Shu *et al.* [5] membuktikan bahwa semakin kecil ukuran tepung kedelai yang digunakan menyebabkan adanya peningkatan nilai *urease activity* terukur. Nilai tersebut sedikit lebih rendah dibandingkan pengukuran yang dilakukan oleh Putra *et al.* [4] yaitu dengan laju hidrolisis sebesar 800 U/g untuk konsentrasi kedelai 20 g/L. Nilai laju hidrolisis pada tepung kedelai dengan ukuran 100 μm atau lebih kecil mengalami peningkatan yang lebih signifikan dibanding tepung kedelai ukuran 200 μm . Gao *et al.* [12] juga membuktikan bahwa ukuran tepung kedelai dengan ukuran lolos 100 μm dapat menghasilkan *urease activity* yang optimum. Evaluasi yang dilakukan juga menunjukkan bahwa semakin besar ukuran tepung kedelai dari 200 μm , secara statistik, tidak menghasilkan peningkatan *urease activity* yang signifikan.



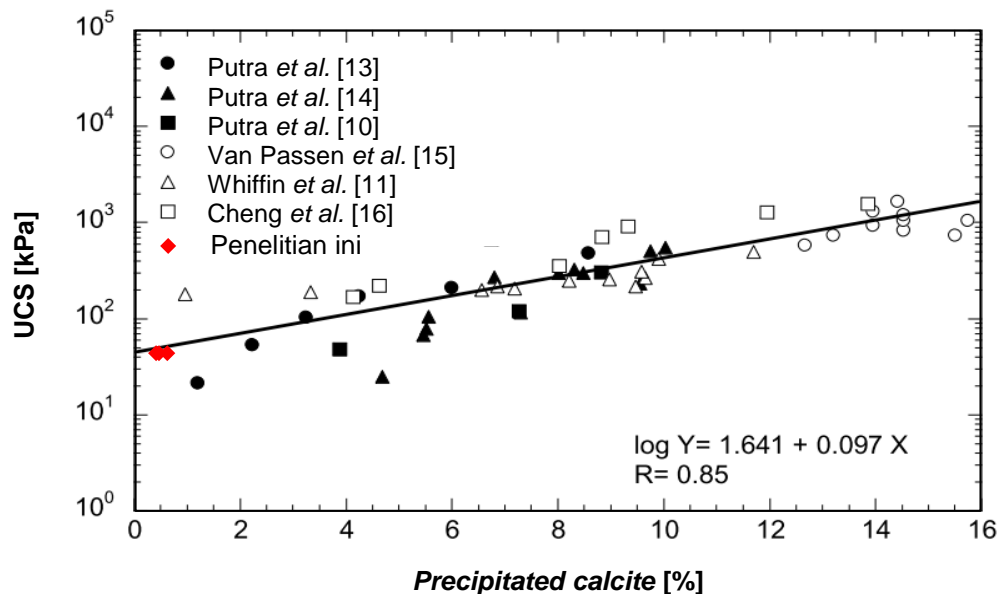
Gambar 5. Hasil evaluasi laju hidrolisis pada setiap ukuran tepung kedelai dengan konsentrasi 20 g/L

3.3. Kandungan Kalsit dan Kekuatan Tanah Pasir

Peningkatan kekuatan sampel tanah pasir dievaluasi menggunakan grafik korelasi kuat tekan bebas (UCS) dan massa presipitasi kalsit yang terdapat pada sampel tanah pasir yang dikembangkan Putra *et al.* [2]. Penentuan massa presipitasi kalsit dilakukan dengan menggunakan sampel yang telah dihancurkan dan dikeringkan kemudian dilarutkan dengan larutan asam klorida (*acid leaching*). Presentase massa kalsit yang terbentuk dihitung melalui perbandingan antara selisih massa sampel sebelum dan setelah dilarutkan menggunakan larutan asam klorida. Jumlah kalsit yang terbentuk di dalam tanah selanjutnya diplotkan pada Gambar 6 untuk mendapatkan nilai UCS. Gambar 6 menunjukkan korelasi jumlah kalsit yang terbentuk di dalam tanah dengan nilai UCS hasil dari beberapa penelitian sebelumnya pada tanah pasir baik menggunakan metode enzim urease, kedelai maupun bakteri sebagai bio-katalis untuk menghidrolisis urea [2,10,11,13-16].

Hasil evaluasi massa kalsit yang terbentuk pada ketiga ukuran tepung kedelai yaitu sebesar 0.44% pada ukuran 200 μm , 0.39% pada ukuran 100 μm , dan 0.60% pada ukuran 50 μm . Kandungan massa

kalsit tersebut dikonversi melalui persamaan logaritmik yang mengacu pada Putra *et al.* [2] sehingga didapat nilai prediksi UCS untuk tepung kedelai dengan 200 μm , 100 μm , dan 50 μm masing-masing sebesar 43.80 kPa, 43.79 kPa, dan 43.81 kPa. Jika dibandingkan, tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada nilai UCS ketiga sampel tersebut. Nilai yang didapat lebih kecil dibandingkan yang dievaluasi oleh Shu *et al.* [5] yang mencapai 4% untuk konsentrasi 20 g/L. Lofianda *et al.* [3], juga melaporkan bahwa teknik sentrifugasi pada ekstrak kedelai dapat menghasilkan massa kalsit dan nilai UCS yang lebih tinggi dibandingkan teknik saring. Penelitian ini juga menunjukkan bahwa laju hidrolisis tidak berpengaruh signifikan terhadap massa kalsit yang terbentuk pada tanah pasir.



Gambar 6. Hubungan antara persentase *precipitated calcite* pada sampel tanah pasca-*curing time* dan estimasi nilai UCS (dimodifikasi dari Putra *et al.* [2])

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil evaluasi yang dilakukan terhadap tepung kedelai dengan ukuran 50 μm , 100 μm , dan 200 μm menggunakan parameter uji pengendapan kalsit, uji laju hidrolisis urea, dan uji presipitasi kalsit, diketahui bahwa ukuran tepung kedelai dengan ukuran terkecil yaitu 50 μm menghasilkan hasil terbaik, dengan rasio presipitasi sebesar 97% dan laju hidrolisis urea sebesar 752 U/g, serta persentase *precipitated calcite* di dalam tanah sebesar 0.60%. Adapun nilai kekuatan tanah yang diperoleh dari variasi ukuran kedelai menunjukkan hasil yang relatif sama, yaitu dengan nilai UCS 43 - 44 kPa. Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa ukuran tepung kedelai berpengaruh terhadap laju hidrolisis urea dan jumlah massa yang terbentuk pada uji presipitasi, namun tidak berpengaruh terhadap massa kalsit yang terbentuk pada tanah.

Daftar Pustaka

- [1] Yasuhara H, Neupane D, Hayashi K, Okamura M. Experiments and predictions of physical properties of sand cemented by enzymatically-induced carbonate precipitation. *Soils and Foundations*. 2012;52[3]:539–49.
- [2] Putra H, Yasuhara H, Erizal, Sutoyo, Fauzan M. Review of enzyme-induced calcite precipitation as a ground-improvement technique. Vol. 5, *Infrastructures*. MDPI AG; 2020.
- [3] Lofianda L, Putra H, Erizal, Sutoyo, Yasuhara H. Potentially of soybean as bio-catalyst in calcite precipitation methods for improving the strength of sandy soil. *Civil Engineering and Architecture*. 2021 Dec 1;9[7]:2317–25.

- [4] Putra H, Erizal, Sutoyo, Simatupang M, Yanto DHY. Improvement of organic soil shear strength through calcite precipitation method using soybeans as bio-catalyst. *Crystals* [Basel]. 2021 Sep 1;11[9].
- [5] Shu S, Yan B, Ge B, Li S, Meng H. Factors Affecting Soybean Crude Urease Extraction and Biocementation via Enzyme-Induced Carbonate Precipitation [EICP] for Soil Improvement. *Energies* [Basel]. 2022 Aug 1;15[15].
- [6] Putra H, Yasuhara H, Kinoshita N, . E, Sudibyo T. Improving Shear Strength Parameters of Sandy Soil using Enzyme-Mediated Calcite Precipitation Technique. *Civil Engineering Dimension*. 2018 Oct 8;20[2]:91–5.
- [7] Shu S, Yan B, Ge B, Li S, Meng H. Factors affecting soybean crude urease extraction and biocementation via enzyme-induced carbonate precipitation [EICP] for soil improvement. *Energies* [Basel]. 2022;15[5566]:1–18.
- [8] Almajed A, Khodadadi Tirkolaei H, Kavazanjian E. Baseline Investigation on Enzyme-Induced Calcium Carbonate Precipitation. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*. 2018 Nov;144[11].
- [9] Cuccurullo A, Gallipoli D, Bruno AW, Augarde C, Hughes P, La Borderie C. Earth stabilisation via carbonate precipitation by plant-derived urease for building applications. *Geomechanics for Energy and the Environment*. 2021;100230.
- [10] Putra H, Yasuhara H, Kinoshita N, Hirata A. 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* [Basel]. 2017;7[2].
- [11] Whiffin VS, van Paassen LA, Harkes MP. Microbial carbonate precipitation as a soil improvement technique. *Geomicrobiol J*. 2007 Jul;24[5]:417–23.
- [12] Gao Y, He J, Tang X, Chu J. Calcium carbonate precipitation catalyzed by soybean urease as an improvement method for fine-grained soil. *Soils and Foundations*. 2019 Oct 1;59[5]:1631–7.
- [13] Putra H, Yasuhara H, Kinoshita N, Neupane D, Lu CW. Effect of magnesium as substitute material in enzyme-mediated calcite. *Front Bioeng Biotechnol*. 2016; 4[37]:1-9.
- [14] Putra H, Yasuhara H, Kinoshita N, Hirata A. Application of magnesium to improve uniform distribution of precipitated minerals in 1-m column specimens. *Geomech Eng*. 2017; 12[5]:803-13.
- [15] Van Paassen LA, Ghose R, van der Linden TJM, van der Star WRL, van Loosdrecht MCM. 2010. Quantifying biomediated ground improvement by ureolysis: Large-scale biogROUT experiment. *Journal of Geotechnic and Geoenvironmental Engineering*. 2010; 136[12]:1721-8.
- [16] Cheng L, Cord-Ruswicz R, Shahin MA. 2013. Cementation of sand soil by microbially induced calcite precipitation at various degrees of saturation. *Canadian Geotechnical Journal*. 2013; 50[1]:81-90.