

**BIODEGRADASI POLI(TRIMETILEN-SEBASAT)
MENGUNAKAN *Rhizopus oryzae***

SKRIPSI

oleh :

FITRI YUNIASTUTI

0410920024-92

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



JURUSAN KIMIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2009

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



**BIODEGRADASI POLI(TRIMETILEN-SEBASAT)
MENGUNAKAN *Rhizopus oryzae***

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam bidang Kimia

oleh :

FITRI YUNIASTUTI

0410920024-92

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



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

MALANG

2009

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**BIODEGRADASI POLI(TRIMETILEN-SEBASAT)
MENGUNAKAN *Rhizopus oryzae***

oleh :

**FITRI YUNIASTUTI
0410920024-92**

**Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
Pada tanggal.....
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam bidang Kimia**

Pembimbing I

Pembimbing II

**Dr. Diah Mardiana, MS
NIP. 19630529 199103 2 002**

**Dra. Anna Roosdiana, M.App.Sc
NIP. 19580711 199203 2 002**

**Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia
Fakultas MIPA Universitas
Brawijaya**

**Dr. Sasangka Prasetyawan, MS
NIP. 19630404 198701 1 001**

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Fitri Yuniastuti

NIM : 0410920024-92

Jurusan : Kimia

Penulis skripsi berjudul :

BIODEGRADASI POLI(TRIMETILEN-SEBASAT)

MENGGUNAKAN *Rhizopus oryzae*

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima. Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, Juni 2009

Yang menyatakan,

Fitri Yuniastuti

NIM. 0410920024-92

BIODEGRADASI POLI(TRIMETILEN-SEBASAT)

MENGGUNAKAN *Rhizopus oryzae*

ABSTRAK

Poliester alifatik poli(trimetilen-sebasat) yang disintesis dari asam sebasat dan 1,3-propanadiol dengan katalis dibutil timah oksida dimungkinkan dapat terbiodegradasi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mempelajari biodegradasi poli(trimetilen-sebasat) menggunakan *Rhizopus oryzae* dalam media cair dibandingkan dengan isolat kompos dan menentukan perubahan karakteristiknya. Spesimen berukuran 10 x 10 x 1 mm diinkubasi dengan adanya *R. oryzae* dan isolat kompos selama 1, 2, 3, dan 4 minggu berturut-turut pada pH 5 dan 7 serta pada temperatur ruang (27 °C). Pengaruh biodegradasi ditentukan dari kehilangan berat, berat molekul melalui penentuan bilangan asam, derajat kristalinitas, dan spektrum FTIR. Hasil penelitian menunjukkan bahwa setelah biodegradasi menggunakan *R. oryzae* dan isolat kompos, terjadi kehilangan berat maksimum spesimen berturut-turut 19,05 % dan 6,41 %. Bilangan asam dan derajat kristalinitas setelah proses biodegradasi menurun pada minggu pertama. Derajat kristalinitas poli(trimetilen-sebasat) setelah biodegradasi menggunakan *R. oryzae* dan isolat kompos mencapai nilai maksimum berturut-turut 38,64 % dan 40,51 %. Analisis spektrum FTIR poli(trimetilen-sebasat) setelah biodegradasi menunjukkan adanya gugus fungsi hidroksil.

Kata kunci : Poli(trimetilen-sebasat), biodegradasi, *Rhizopus oryzae*.

BIODEGRADATION POLY(TRIMETHYLENE-SEBACATE) USING *Rhizopus oryzae*

ABSTRACT

An aliphatic polyester poly(trimethylene-sebacate) was synthesized from sebacic acid and 1,3-propanediol in the presence of a catalyst dibutyltin oxide that considered as biodegradable polymer. The aims of this research were to study biodegradation of poly(trimethylene-sebacate) specimen using *Rhizopus oryzae* in liquid media that compared to compost isolate and to determine the characteristic of biodegraded poly(trimethylene-sebacate). Specimens, 10 x 10 x 1 mm, were incubated in the presence of *R. oryzae* and compost isolate for 1, 2, 3, and 4 weeks at pH 5 and 7, respectively at room temperature (27 °C). The effect of biodegradation on the specimens were determined by weight loss, molecular weight based on the acid number, the degree of crystallinity and FTIR spectrum. The result showed that after biodegradation using *R. oryzae* and compost isolate, maximum value of weight loss were 19.05 % and 6.41 %, respectively. The acid number and degree of crystallinity of biodegraded poly(trimethylene-sebacate) decreased at first week. The degree of crystallinity of poly(trimethylene-sebacate) after biodegradation using *R. oryzae* and compost isolate reached maximum value of 38.64 % and 40.51 %, respectively. FTIR spectrum poly(trimethylene-sebacate) indicated that the hydroxyl functional groups appeared after biodegradation.

Keywords: Poly(trimethylene-sebacate), biodegradation, *Rhizopus oryzae*.

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas segala limpahan rahmat, karunia dan hidayah-Nya yang telah diberikan sehingga dapat menyelesaikan penulisan skripsi dengan judul **“Biodegradasi Poli(trimetilen-sebasat) Menggunakan *Rhizopus oryzae*”**. Penulisan skripsi ini merupakan salah satu syarat kelulusan memperoleh gelar Sarjana Sains di Jurusan Kimia MIPA Universitas Brawijaya.

Penulisan tugas akhir ini tidak lepas dari dukungan dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. Diah Mardiana, MS, selaku dosen Pembimbing I dan Dra. Anna Roosdiana, M.App.Sc, selaku dosen Pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, arahan, inspirasi dan dukungan dalam penyelesaian tugas akhir ini.
2. Dr. Sasangka Prasetyawan, MS, selaku Ketua Jurusan Kimia Universitas Brawijaya.
3. Arie Srihardyastutie, S.Si., M.Kes., selaku Dosen Penasehat Akademik yang telah memberikan arahan, saran, dan bimbingan kepada penulis selama menempuh studi.
4. Anna Safitri, S.Si., M.Sc., Ulfa Andayani, S.Si., M.Si., Dra. Sri Wardhani, M.Si., dan Dr. Rurini Retnowati, M.Si. selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran dalam perbaikan tugas akhir ini.
5. Seluruh dosen dan karyawan Jurusan Kimia Universitas Brawijaya atas segala ilmu dan bantuan yang diberikan.
6. Ibu, bapak dan seluruh keluargaku yang selalu mendoakan, menyemangati dan memberi dukungan baik spirituil maupun materiil
7. Sahabat, teman-teman, dan segenap pihak yang telah memberikan dorongan, semangat, doa dan bantuan dalam menyelesaikan skripsi ini.

Akhir kata penulis hanya berharap bahwa skripsi ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan.

Malang, Juni 2009

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	2
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan Penelitian	3
1.5 Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Poliester	4
2.2 Polimer <i>Biodegradable</i>	6
2.3 Enzim Lipase	8
2.4 Kapang <i>Rhizopus oryzae</i>	10
2.5 Karakterisasi Poliester	11
2.5.1 Bilangan asam	12
2.5.2 Penentuan derajat kristalinitas	13
2.5.3 Spektroskopi inframerah.....	17
2.6 Hipotesis	18
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	
3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan	19
3.2 Bahan dan Alat Penelitian	19
3.2.1 Bahan penelitian.....	19
3.2.2 Bahan kimia.....	19
3.2.3 Alat penelitian	19
3.3 Tahapan Penelitian	20

3.4 Cara Kerja	20
3.4.1 Pembuatan spesimen poli(trimetilen-sebasat).....	20
3.4.2 Pembuatan media biodegradasi	21
3.4.2.1 Pembuatan media padat agar miring.....	21
3.4.2.2 Peremajaan biakan <i>R. oryzae</i>	21
3.4.2.3 Pembuatan media cair.....	21
3.4.2.4 Pembuatan inokulum <i>R. oryzae</i>	22
3.4.2.5 Pembuatan <i>nutrient broth</i>	22
3.4.2.6 Pembuatan inokulum kompos	22
3.4.3 Biodegradasi dalam media biodegradasi	22
3.4.4 Karakterisasi poli(trimetilen-sebasat).....	23
3.4.4.1 Penentuan kehilangan berat	23
3.4.4.2 Penentuan bilangan asam.....	23
3.4.4.3 Penentuan derajat kristalinitas	24
3.4.4.4 Penentuan struktur kimia secara spektrofotometri FTIR	24
3.5 Analisa Data.....	24
3.5.1 Penentuan bilangan asam	24
3.5.2 Penentuan derajat kristalinitas.....	25

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Biodegradasi Poli(trimetilen-sebasat)	26
4.1.1 Kehilangan berat spesimen poli(trimetilen-sebasat).....	26
4.1.2 Penentuan bilangan asam	28
4.1.3 Penentuan derajat kristalinitas	31
4.1.4 Penentuan gugus fungsi	33

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan	36
5.2 Saran.....	36

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Struktur sisi aktif lipase	8
Gambar 2.2 Mekanisme pemutusan poliester oleh aktivitas enzim lipase	10
Gambar 2.3 Morfologi kristal <i>spherulite</i>	14
Gambar 2.4 Struktur <i>spherulite</i>	14
Gambar 2.5 Difraksi sinar-X dalam kristal	15
Gambar 2.6 Fasa amorf dan fasa kristalin pada difraktogram XRD.....	16
Gambar 2.7 Spektrum FTIR asam sebasat	18
Gambar 4.1 Kehilangan berat rata-rata poli(trimetilen-sebasat) terhadap waktu biodegradasi	27
Gambar 4.2 Bilangan asam poli(trimetilen-sebasat) terhadap waktu biodegradasi	28
Gambar 4.3 Berat molekul rata-rata jumlah poli(trimetilen-sebasat) terhadap waktu biodegradasi.....	29
Gambar 4.4 Mekanisme asam sebasat sebagai sumber energi melalui proses β -oksidasi spiral.....	30
Gambar 4.5 Perubahan derajat kristalinitas poli(trimetilen-sebasat) setelah biodegradasi	32
Gambar 4.6 Spektrum FTIR dari spesimen poli(trimetilen-sebasat) a) sebelum biodegradasi, b) setelah inkubasi dengan <i>R. oryzae</i> selama 4 minggu dan c) kompos selama 2 minggu	35
Gambar L.7.1 Difraktogram sebelum biodegradasi	69
Gambar L.7.2 Difraktogram setelah 1 minggu biodegradasi menggunakan <i>R. oryzae</i>	69
Gambar L.7.3 Difraktogram setelah 2 minggu biodegradasi menggunakan <i>R. oryzae</i>	70
Gambar L.7.4 Difraktogram setelah 3 minggu biodegradasi menggunakan <i>R. oryzae</i>	70
Gambar L.7.5 Difraktogram setelah 4 minggu biodegradasi menggunakan <i>R. oryzae</i>	71
Gambar L.7.6 Difraktogram setelah 1 minggu biodegradasi menggunakan isolat kompos.....	71
Gambar L.7.7 Difraktogram setelah 2 minggu biodegradasi menggunakan isolat kompos.....	72

Gambar L.7.8	Difraktogram setelah 3 minggu biodegradasi menggunakan isolat kompos.....	72
Gambar L.7.9	Difraktogram setelah 4 minggu biodegradasi menggunakan isolat kompos.....	73
Gambar L.8.1	Alat pencetak spesimen tampak samping	77
Gambar L.8.2	Alat pencetak spesimen tampak atas.....	77

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1	Hasil interpretasi spektrum FTIR..... 34
Tabel L.5.1	Kehilangan berat spesimen 55
Tabel L.5.2	Uji Q untuk penentuan data kehilangan berat 56
Tabel L.6.3.1	Bilangan asam poli(trimetilen-sebasat) (mg KOH/g) dalam variasi waktu biodegradasi untuk penentuan waktu biodegradasi optimum 60
Tabel L.6.4.1	Pengaruh variasi waktu biodegradasi terhadap bilangan asam poli(trimetilen-sebasat) dengan menggunakan <i>R. oryzae</i> 61
Tabel L.6.4.2	Analisis ragam pengaruh variasi waktu biodegradasi terhadap bilangan asam poli(trimetilen-sebasat) dengan menggunakan <i>R. oryzae</i> 63
Tabel L.6.4.3	Hasil uji BNT 5 % pengaruh variasi waktu biodegradasi terhadap bilangan asam poli(trimetilen-sebasat) dengan menggunakan <i>R. oryzae</i> 64
Tabel L.6.4.4	Pengaruh variasi waktu biodegradasi terhadap bilangan asam poli(trimetilen-sebasat) dengan menggunakan kompos..... 65
Tabel L.6.4.5	Hasil uji BNT 5 % pengaruh variasi waktu biodegradasi terhadap bilangan asam poli(trimetilen-sebasat) dengan menggunakan isolat kompos 65
Tabel L.6.4.6	Berat molekul rata-rata jumlah poli(trimetilen-sebasat) 66
Tabel L.6.5.1	Pengaruh variasi waktu biodegradasi terhadap berat molekul rata-rata jumlah (Mn) poli(trimetilen-sebasat) dengan menggunakan <i>R. oryzae</i> 67
Tabel L.6.5.2	Hasil uji BNT 5 % pengaruh variasi waktu biodegradasi terhadap berat molekul rata-rata jumlah (Mn) poli(trimetilen-sebasat) dengan menggunakan <i>R. oryzae</i> 67

Tabel L.6.5.3	Pengaruh variasi waktu biodegradasi terhadap berat molekul rata-rata jumlah (Mn) poli(trimetilen-sebasat) dengan menggunakan isolat kompos.....	68
Tabel L.7.1	Kristalinitas poli(trimetilen-sebasat) dengan <i>R. oryzae</i>	73
Tabel L.7.2	Pengaruh variasi waktu biodegradasi terhadap kristalinitas poli(trimetilen-sebasat) dengan menggunakan <i>R. oryzae</i>	74
Tabel L.7.3	Hasil uji BNT 5 % pengaruh variasi waktu biodegradasi terhadap kristalinitas poli(trimetilen-sebasat) dengan menggunakan <i>R. oryzae</i>	74
Tabel L.7.4	Kristalinitas poli(trimetilen-sebasat) dengan isolat kompos.....	75
Tabel L.7.5	Pengaruh variasi waktu biodegradasi terhadap kristalinitas poli(trimetilen-sebasat) dengan menggunakan isolat kompos	75
Tabel L.7.6	Hasil uji BNT 5 % pengaruh variasi waktu biodegradasi terhadap kristalinitas poli(trimetilen-sebasat) dengan menggunakan isolat kompos.....	76

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Preparasi Larutan.....	42
Lampiran 2 Perhitungan Preparasi Larutan	45
Lampiran 3 Alur Penelitian	47
Lampiran 4 Diagram Kerja Penelitian	48
Lampiran 5 Penentuan % Kehilangan Berat.....	55
Lampiran 6 Penentuan Bilangan Asam	58
Lampiran 7 Difraktogram Sinar-X Poli(trimetilen-sebasat).....	69
Lampiran 8 Skema/Diagram Alat Pencetak Spesimen	77



UNIVERSITAS BRAWIJAYA



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Dewasa ini hampir semua produk menggunakan pembungkus plastik. Plastik banyak dipakai dalam kehidupan sehari-hari, karena mempunyai keunggulan-keunggulan antara lain kuat, ringan dan stabil, namun sulit terurai oleh mikroorganisme dalam lingkungan, sehingga menyebabkan masalah lingkungan yang sangat serius. Plastik yang tidak mudah terurai secara alami mengakibatkan terjadinya penumpukan limbah yang dapat menyebabkan kerusakan lingkungan hidup baik di daratan maupun di kawasan perairan (Anonim, 2008).

Menyadari akibat yang ditimbulkan oleh sampah plastik, pengembangan bahan plastik *biodegradable* merupakan salah satu alternatif untuk memecahkan masalah ini. Plastik *biodegradable* adalah plastik yang dapat digunakan layaknya seperti plastik konvensional, namun akan hancur terurai oleh aktivitas mikroorganisme dengan hasil akhir air dan gas karbondioksida sehingga bersifat ramah terhadap lingkungan (Pranamuda, 2008). Plastik *biodegradable* yang terbuat dari material berbahan dasar tanaman atau sumber terbaru dapat juga dijadikan alternatif untuk menggantikan plastik konvensional, mengingat plastik konvensional terbuat dari minyak mentah atau sumber tidak terbaru yang ketersediaannya semakin lama semakin berkurang.

Salah satu polimer alami yang dapat digunakan sebagai bahan baku dalam pembuatan plastik *biodegradable* adalah poliester alifatik linier poli(trimetilen-sebasat). Poli(trimetilen-sebasat) merupakan hasil sintesis asam dikarboksilat dari minyak jarak kepyar dengan 1,3-propanadiol sebagai produk biokonversi gliserol (Mardiana *dkk.*, 2008). Sintesis polimer menggunakan monomer asam dikarboksilat yang berasal dari asam lemak rantai panjang dan suatu diol akan menghasilkan suatu poliester dengan struktur yang cenderung linier (Mardiana, 2005). Poli(trimetilen-sebasat) dapat digunakan sebagai bahan pengemas makanan, bahan pelapis, botol, dan film. Poliester alifatik dengan struktur linier biasanya bersifat ramah lingkungan karena ikatan ester bersifat mudah dihidrolisis sehingga dapat terbiodegradasi (Steven, 2001). Untuk mengetahui

sifat *biodegradable* dari poli(trimetilen-sebasat) maka dalam penelitian ini dilakukan biodegradasi poli(trimetilen-sebasat).

Kondisi lingkungan biodegradasi dapat terjadi baik pada tempat kering atau basah. Media cair sesuai dengan biodegradasi di alam yang membutuhkan kelembaban, selain itu dalam media cair mikroba dapat menghasilkan enzim lebih banyak dibandingkan dalam media padat. Pada penelitian ini, biodegradasi poli(trimetilen-sebasat) dilakukan dalam media cair yang mengandung *Rhizopus oryzae* (penghasil enzim lipase). Lipase termasuk dalam kelas hidrolase yaitu enzim yang berfungsi menghidrolisis ikatan ester (Bolitz dan Grosh, 1987). Sebagai pembanding, dalam penelitian ini juga dilakukan biodegradasi poli(trimetilen-sebasat) menggunakan isolat kompos sehingga diharapkan menyerupai kondisi biodegradasi di alam. Kandungan mikroorganisme yang terdapat di dalamnya beragam (fungi, actinomycetes dan bakteri), diantaranya : *Arthrobotrys amerospora*, *Acremonium strictum*, *Fusarium solani*, *Aspergillus fumigatus*, *Cladosporium herbarum*, *Microbispora rosea subsp. rosea* dan *Streptomyces thermocarboxydus* (Kleeberg *et al.*, 1998).

Biodegradabilitas poli(trimetilen-sebasat) dapat diketahui dari kehilangan berat poliester terhadap variasi waktu biodegradasi. Selain kehilangan berat poliester akibat proses erosi permukaan, dapat juga ditentukan perubahan berat molekul dan gugus fungsi akibat pemutusan ikatan pada proses biodegradasi (Belal, 2003). Sementara itu fasa amorf lebih mudah dibiodegradasi dibandingkan fasa kristalin (Chandra dan Rustigo, 1998), maka dilakukan penentuan perubahan derajat kristalinitas. Analisis yang dilakukan meliputi gravimetri, volumetri, spektrofotometri inframerah, dan Difraksi sinar-X (XRD).

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas, maka rumusan masalah yang dapat diajukan dalam penelitian ini adalah:

1. Apakah poli(trimetilen-sebasat) sintetik dapat dibiodegradasi menggunakan *R. oryzae* dan isolat kompos?
2. Bagaimanakah perubahan karakteristik poli(trimetilen-sebasat) sintetik setelah dilakukan biodegradasi dengan *R. oryzae* dan isolat kompos?

1.3 Batasan Masalah

Berdasarkan rumusan masalah yang telah disebutkan maka penelitian ini dibatasi pada :

1. Poliester yang dibiodegradasi adalah spesimen poli(trimetilen-sebasat) dengan ukuran 10 x 10 mm serta tebalnya 0,95-1 mm.
2. Biodegradasi dilakukan dengan variasi 1-4 minggu pada kondisi anaerob, temperatur ruang dan pH optimum *R. oryzae* dan isolat kompos berturut-turut adalah 5 dan 7.

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah :

1. Mempelajari biodegradasi poli(trimetilen-sebasat) sintetik menggunakan *R. oryzae* dan isolat kompos.
2. Menentukan perubahan karakteristik poli(trimetilen-sebasat) sintetik untuk mengetahui perubahan sifat yang disebabkan biodegradasi oleh *R. oryzae* dan isolat kompos.

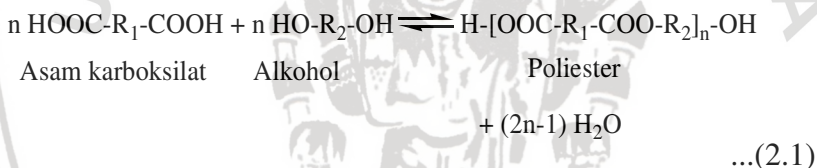
1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kemungkinan poliester alifatik, khususnya poli(trimetilen-sebasat), terbiodegradasi sehingga dapat dijadikan sebagai acuan dalam mengatasi masalah sampah plastik.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Poliester

Poliester merupakan makromolekul heteroatom (polimer) yang memiliki gugus fungsi ester karboksilat dalam unit ulang yang terikat pada rantai utama (Sun, 1994). Polimer dikelompokkan sebagai polimer linier, bercabang, dan jaringan. Polimer linier tidak memiliki cabang selain gugus-gugus pendek yang digambarkan sebagai monomer. Polimer bercabang biasanya mengandung tiga atau lebih rantai polimer yang berasal dari unit struktur pusat. Polimer jaringan atau ikatan silang terjadi bila rantai-rantai polimer terikat bersama-sama. Adanya pengikatan silang menyebabkan polimer jaringan mempunyai stabilitas dimensi yang baik, sulit melebur dan bersifat termoset. Berdasarkan jenis polimer di atas, hanya poliester linier yang bersifat *biodegradable* (Steven, 2001). Pembentukan poliester linier mengikuti reaksi 2.1 (Young dan Lovell, 1991) :

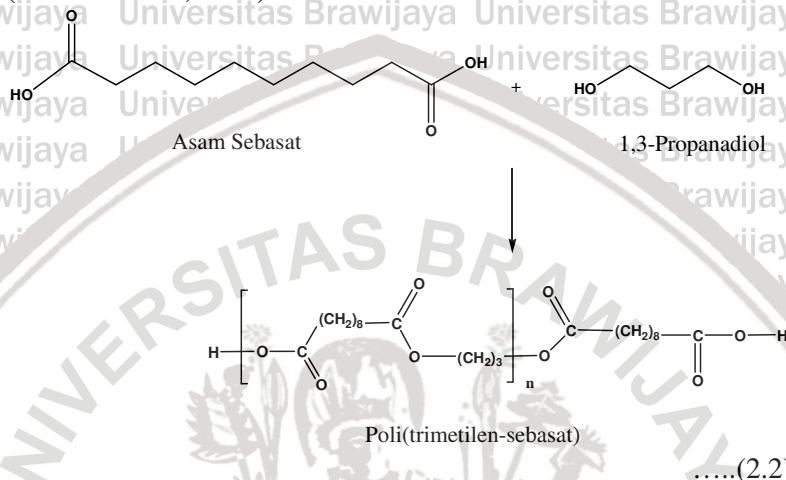


dimana R_1 dan R_2 pada umumnya merupakan gugus *aliphatic* (biasanya hidrokarbon).

Metode-metode umum untuk mensintesis ester sederhana dapat digunakan untuk membuat poliester. Metode ini mencakup esterifikasi langsung, transesterifikasi, reaksi alkohol dengan asil klorida atau dengan anhidrida. Poliester yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari hasil esterifikasi langsung secara polikondensasi antara suatu asam dikarboksilat dengan suatu glikol. Reaksi esterifikasi tersebut terjadi di seluruh bagian dalam matriks monomer, dimana dua molekul monomer yang mempunyai energi dan orientasi yang layak saling bertumbukan. Pada saat ester terbentuk, molekul air akan dilepaskan, kemudian ester juga dapat bereaksi lebih lanjut dengan memanfaatkan gugus-gugus hidroksil dan karboksilnya yang masih reaktif (Steven, 2001).

Poli(trimetilen-sebasat) merupakan poliester alifatik linier hasil sintesis asam dikarboksilat dari minyak jarak kepyar dengan

1,3-propanadiol sebagai produk biokonversi gliserol. Polimerisasi dilakukan dengan menggunakan katalis dibutil timah oksida. Reaksi polimerisasi poli(trimetilen-sebasat) dijelaskan pada persamaan 2.2 (Mardiana *dkk.*, 2008).



Produk polimer yang dihasilkan merupakan poliester alifatik dengan struktur linier yang merupakan polimer yang ramah lingkungan karena dapat terbiodegradasi (Steven, 2001). Produk polimerisasi secara polikondensasi merupakan campuran dimer, trimer, oligomer hingga polimer (Young dan Lovell, 1991). Poliester dengan panjang rantai yang lebih seragam dapat diperoleh dengan cara pemurnian, salah satunya adalah dengan metode fraksinasi berdasarkan kelarutan. Berdasarkan uji kelarutan, poli(trimetilen-sebasat) dapat larut dengan kloroform. Penambahan metanol ke dalam kloroform akan menurunkan kelarutan poliester yang mempunyai berat molekul lebih besar. Metanol merupakan non-pelarut yang berfungsi sebagai pengendap produk. Selanjutnya, penurunan temperatur mengakibatkan kelarutan produk semakin kecil sehingga sebagian poliester akan mengendap. Hasil fraksinasi poli(trimetilen-sebasat) pada temperatur fraksinasi 20-22 °C dalam pelarut kloroform dengan non-pelarut metanol (1:5) diperoleh poli(trimetilen-sebasat) yang memiliki titik leleh 44-52 °C dengan derajat kristalinitas 30,52±0,2 % (Wijaya, 2008). Hasil poli(trimetilen-sebasat) sintetik inilah yang digunakan sebagai spesimen dalam proses biodegradasi.

2.2 Polimer *Biodegradable*

Biodegradasi adalah proses perombakan suatu material oleh mikroorganisme yang akan menghasilkan molekul-molekul dengan berat molekul lebih kecil (Schnabel, 1981). Polimer *biodegradable* sintesis merupakan polimer yang dirancang akan terdekomposisi setelah tujuan fungsionalnya tercapai. Hal tersebut dapat dijadikan alternatif yang ramah lingkungan, tidak seperti pada polimer konvensional seperti polietilen dan polipropilen yang tidak dapat terbiodegradasi. Polimer *biodegradable* akan mulai terdegradasi dengan adanya aktivitas enzimatik dari mikroorganisme seperti bakteri, jamur, dan alga atau aktivitas non-enzimatik seperti aktivitas secara kimia. Biodegradasi akan mengubah rantai polimer menjadi CO_2 , CH_4 , H_2O , biomassa dan komponen dasar lainnya. Umumnya, polimer *biodegradable* berasal dari poliester (Takwa, 2008). Degradasi polimer dapat diinisiasi oleh perubahan temperatur, mekanik, fotokimia, radiasi, mikroba, maupun senyawa kimia. Degradasi polimer menyebabkan terjadinya perubahan sifat fisika dan kimia dari polimer yang diakibatkan oleh reaksi kimia yang memecah ikatan dalam polimer (Schnabel, 1981).

Istilah biodegradabilitas secara luas berkaitan dengan material-material yang dapat dihancurkan oleh alam melalui suatu mekanisme salah satunya dengan hidrolisis (Chu, 2003). Biodegradasi terdiri dari dua tahap yaitu depolimerisasi (pemutusan rantai) dan mineralisasi menjadi CO_2 , air, garam dan lain-lain (Kaplan dan Thomas, 1993). Proses degradasi pada mulanya berlangsung cepat dan selanjutnya berlangsung secara perlahan-lahan. Kecepatan degradasi tergantung pada sifat atau keadaan residu serta kondisi tempat degradasi berlangsung (Sutedjo *dkk.*, 1991). Dua bagian penting dalam biodegradasi yaitu mikroorganisme dan lingkungan tempat terjadinya degradasi material (Kaplan dan Thomas, 1993). Kondisi lingkungan dan kandungan unsur dalam material sangat mempengaruhi jenis mikroorganisme yang mendegradasi material tersebut (Sutedjo *dkk.*, 1991).

Sumber bahan yang dapat dibiodegradasi ada dua macam : polimer dari bahan alam dan polimer sintetik tertentu yang bisa dibiodegradasi, sehingga polimer *biodegradable* dapat

diklasifikasikan dalam empat jenis antara lain (Witt *et al.*, dalam Abou-Zeid, 2001) :

1. Polimer alam contoh pati dan selulosa
2. Polimer alam yang dimodifikasi secara kimia contoh selulosa asetat dan amilum asetat
3. Polimer sintetik dari bahan alam contoh poli asam laktat (PLA)
4. Polimer sintetik dari bahan petrokimia contoh poliester amida, poliester uretan, alifatik homopoliester dan alifatik –aromatik kopoliester

Sekitar 47 strain mikroba yang diisolasi dari kompos memiliki kemampuan untuk mendegradasi poliester alami dan sintetis, isolat ini meliputi fungi, actinomycetes dan bakteri. Lima strain fungi yang dapat mendegradasi poliester tersebut telah diidentifikasi berdasarkan koloni dan karakteristik morfologinya. Strain itu adalah *Arthrotrichum amerospora*, *Acremonium strictum*, *Fusarium solani*, *Aspergillus fumigatus*, dan *Cladosporium herbarum*. Tiga strain actinomycetes telah diidentifikasi berdasarkan morfologi, fisiologi dan kemitaksonomikal. Dua diantaranya *Microbispora rosea subsp. rosea* dan *Streptomyces thermocarboxydus* (Kleeberg *et al.*, 1998).

Biodegradasi polimer menunjukkan serangan mikroorganisme pada polimer yang tidak larut dalam air. Hal ini berarti biodegradasi polimer merupakan proses yang heterogen karena ukuran molekul polimer dan sifatnya yang kurang larut dalam air, mikroorganisme tidak dapat mentransport materi polimer secara langsung menuju sel dimana proses biokimia banyak terjadi. Mikroorganisme pertama-tama harus diekstrak enzim ekstraselulernya dimana dapat mendepolimerisasi polimer pada sisi luar sel (Belal, 2003). Berdasarkan tempat kerjanya, enzim yang dihasilkan mikroorganisme dikelompokkan menjadi dua, yaitu enzim intraseluler dan enzim ekstraseluler. Enzim ekstraseluler mempunyai aktivitas diluar sel, dihasilkan dalam medium cair. Untuk isolasi, tidak diperlukan tahap pemecahan dinding sel, karena enzim larut dalam medium (Kirk dan Ortmer, 1980).

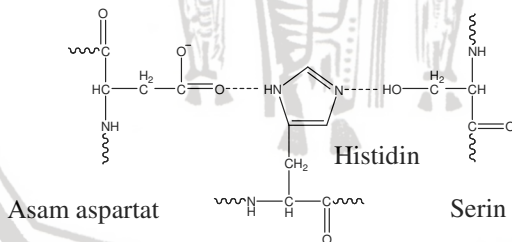
Biodegradasi poliester dipengaruhi oleh adanya enzim dan mikroorganisme; ketersediaan biotik dari struktur polimer meliputi kristalinitas, kemudahan pemutusan ikatan oleh enzim, dan pembentukan produk yang dapat dimetabolisme secara

mikrobiologi karena pemutusan enzimatik; dan faktor abiotik (lingkungan yang tepat seperti ada tidaknya oksigen, ketersediaan nutrisi, nilai pH, temperatur dan lainnya) (Abou-Zeid, 2001).

2.3 Enzim Lipase

Enzim merupakan protein yang terdapat dalam semua sel hidup, bekerja sebagai katalisator yang dapat menimbulkan perubahan kimiawi pada berbagai substrat yang sesuai (Smith, 1993). Salah satu jenis enzim adalah lipase. Lipase menunjukkan aktivitas esterifikasi, transesterifikasi dan hidrolisis (Nuraida, 2006). Lipase dapat diisolasi dari pankreas, susu, hewan, mikroba dan tumbuh-tumbuhan. Untuk mengkatalisis reaksi hidrolisis, lipase dapat diperoleh dari mikroba yaitu *Aspergillus niger*, *Candida cylindraceae*, *Humicola lanuginosa*, *Mucor miehei*, *Rhizopus delemar*, *R. nivers*, *R. oryzae* (Saxena *et al.*, 2005). Lipase mikroba dieksploitasi karena biaya proses ekstraksi yang murah, memiliki stabilitas yang tinggi terhadap pH, temperatur, dan substrat, serta aktifitasnya tinggi dalam pelarut organik (Saxena *et al.*, 2005).

Substrat alami dari lipase adalah asam lemak jenuh ataupun tak jenuh seperti asam oleat, asam palmitat, dan minyak zaitun. Lipase dari *Rhizopus sp.* menunjukkan aktivitas maksimum dengan substrat asam lemak rantai panjang (Saxena *et al.*, 2005). Lipase merupakan enzim yang akan menghidrolisis ikatan ester (Bolitz dan Grosh, 1987). Menurut Wong (1995), struktur sisi aktif lipase seperti pada Gambar 2.1.



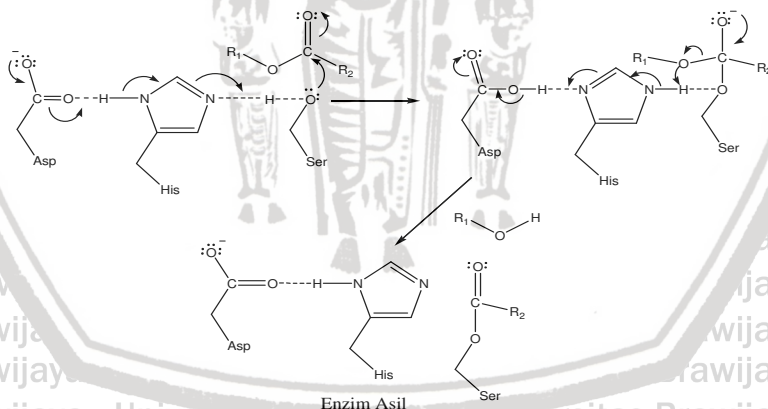
Gambar 2.1 Struktur sisi aktif lipase

Pada Gambar 2.1 menunjukkan bahwa lipase mengandung 3 asam amino utama yang sangat berperan dalam reaksi katalitiknya yaitu histidin, serin dan asam aspartat. Satu atom N pada cincin histidin berikatan hidrogen dengan atom H dari Serin, sedang N

yang lain berikatan dengan atom H gugus karboksilat dari asam aspartat.

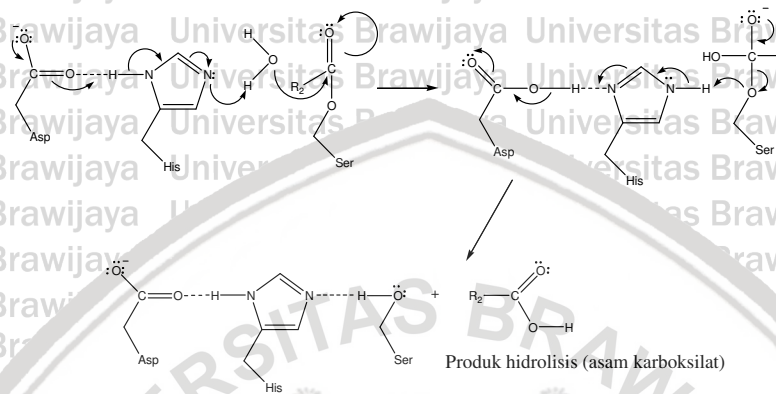
Poliester alifatik memiliki gugus yang dapat dihidrolisis dengan bantuan mikroorganisme penghasil lipase sehingga akan mengubah struktur molekulnya menjadi molekul yang lebih kecil (monomer, dimer, trimer atau oligomernya). Gambar 2.2 memperlihatkan mekanisme pemutusan poliester oleh aktivitas enzim lipase, di mana terjadi dengan dua tahap yaitu asilasi dan deasilasi. Pada tahap asilasi enzim asil dibentuk oleh serangan nukleofilik oleh OH⁻ dari serin pada atom C karbonil dari substrat. Deasilasi dari enzim asil terjadi dengan H₂O sebagai nukleofil menghasilkan produk dan enzim, keduanya melalui formasi intermediet tetrahedral. Oksianion dalam intermediet tetrahedral terbentuk baik pada asilasi maupun deasilasi yang stabil oleh ikatan hidrogen antara karbonil oksigen dan ikatan peptida. Pada katalis asam amino histidin mempunyai H dari N yang berikatan dengan O serin yang reaktif dan oksigen pada ester sehingga menghasilkan alkohol pada tahap asilasi. Sedangkan pada tahap deasilasi, N dari histidin membentuk ikatan hidrogen dengan sisi katalitik O serin dan OH⁻ dari H₂O sebagai nukleofilik (Wong, 1995).

1. Reaksi Asilasi



Enzim Asil

2. Reaksi Deasilasi



Gambar 2.2 Mekanisme pemutusan poliester oleh aktivitas enzim lipase

Lipase dari *Chromobacterium viscosum* dapat mendegradasi polibutilen suksinat-co-adipat (PBSA), polikaprolakton (PCL) dan polibutilen suksinat (PBS) selama 100 hari pada 37 °C dan pH 7. Lipase dari *Rhizopus niveus* mendegradasi PBSA dan PCL selama 4-17 hari. Lipase F-AP15 dari *R. oryzae* dapat mendegradasi PBSA dalam 22 hari. Dalam hal ini, PBS dan PBSA kebanyakan terdegradasi menjadi dimernya sedangkan PCL terdegradasi menjadi monomernya. PLA terdegradasi secara sempurna pada temperatur 55 °C, pH 8,5 dengan lipase PL selama 20 hari (Hoshino dan Isono, 2002).

Biodegradasi dilakukan dengan variasi 1, 2, 3, dan 4 minggu, karena dalam penelitian Zhu *et al.*, (2001), biodegradasi poli(heksalen-adipat) dengan Mn 20.125 g/mol dalam *Penicillium chrysogenumurve* menyebabkan kehilangan berat mencapai 9,1 % selama 4 minggu sedangkan *Staphylococcus aureus* hanya 2,2 % setelah 5 minggu.

2.4 Kapang *Rhizopus oryzae*

Kapang penghasil lipase diantaranya adalah *Mucor*, *Rhizopus*, dan *Aspergillus sp* (Rehm dan Reed, 1987). *Rhizopus oryzae* adalah produser lipase/esterase pada waktu yang sama dapat

disertai dengan produksi protease (Kirk dan Othmer, 1980).

Klasifikasi dari *R. oryzae* adalah sebagai berikut (Ellis, 2008):

Kingdom : Fungi
Filum : Zygomycota
Kelas : Zygomycetes
Sub Kelas : Insertae sedis
Ordo : Mucorales
Famili : Mucoraceae
Genus : Rhizopus
Spesies : *Rhizopus oryzae*

Rhizopus oryzae termasuk kapang, dicirikan dengan spora yang besar, dikelilingi dinding sel tebal yang tersusun atas makromolekul seperti kitin, kitosan, glukon dan lipid. *Rhizopus oryzae* berkembang biak dengan spora dan membentuk miselium seperti kapas. *Rhizopus oryzae* tumbuh membentuk bola jamur pada medium cair yang tidak goyang (Dwidjoseputro, 1984). *Rhizopus oryzae* memiliki ciri-ciri antara lain koloninya dapat tumbuh dengan baik pada medium yang kaya glukosa dengan kadar air yang rendah, tumbuh optimum pada temperatur kamar (25-30 °C) dengan pH antara 5-6 (Mc Kane dan Kandel, 1986). Temperatur pertumbuhan maksimum pada 44 °C. Ciri lain jenis kapang ini adalah koloninya pertama kali berwarna putih berangsur-angsur menjadi abu-abu kecoklatan hingga menjadi abu-abu kehitaman tergantung tingkat sporulasinya. Peremajaan spora dapat dilakukan dengan menumbuhkan biakan murni pada media agar seperti PDA. Perbanyakkan pada medium cair dapat dilakukan dalam Erlenmeyer berisi media cair yang sudah disterilkan, kemudian digoyang selama 44±4 jam (Mc Carty dan Ritmann, 2001).

2.5 Karakterisasi Poliester

Parameter terpenting dalam penentuan sifat polimer adalah massa molekul relatif rata-rata (Cook dan Guise, 1989). Analisis gugus ujung dapat digunakan untuk memperkirakan panjang rantai produk polimer (Mr). Sifat fisik poliester yang ditentukan dalam percobaan ini adalah derajat kristalinitas menggunakan XRD. Struktur kimia dapat diketahui dari analisa gugus fungsi menggunakan spektrofotometri inframerah.

2.5.1 Bilangan asam

Gugus ujung pada produk hasil polikondensasi asam sebasat dengan 1,3-propanadiol adalah gugus karbonil (asam), sehingga analisa bilangan asam dapat digunakan untuk memperkirakan rata-rata panjang rantai polimer (Rabek, 1980). Bilangan asam dapat ditentukan secara volumetri menggunakan basa alkoholis dan indikator warna. Titrasi poliester rantai linier oleh larutan natrium atau kalium hidroksida alkoholis biasa dilakukan dengan terlebih dahulu mendispersikan poliester dalam kloroform, kloroform-metanol, atau metanol-dioksan (Cowie, 1991). Bilangan asam sebanding dengan satu mol gugus asam pada sampel yang dititrasi menggunakan 1 mol KOH (Rabek, 1980). Jumlah mol polimer per gram diberikan melalui persamaan 2.3 dengan mempertimbangkan dua gugus ujung dihitung per molekul (Steven, 2001).

$$\text{Mol polimer per gram} = \frac{(V_{\text{KOH Sampel}} - V_{\text{KOH Blanko}}) \text{ mL} \times [\text{KOH}] \frac{\text{mol}}{\text{L}}}{2 \times 1000 \times \text{berat sampel (g)}} \quad \dots(2.3)$$

Berat molekul rata-rata jumlah (M_n) yang merupakan berat sampel per mol dapat ditentukan berdasarkan persamaan 2.4 (Steven, 2001).

$$\text{Berat molekul} = \frac{1}{\text{mol polimer per gram}} \quad \dots(2.4)$$

Dalam biodegradasi poliester ini, bilangan asam, yang didefinisikan sebagai jumlah miligram basa yang diperlukan untuk menetralkan gugus asam dalam 1 gram poliester, digunakan untuk memonitor berlangsungnya reaksi (Steven, 2001). Metode ini dapat digunakan untuk polimer yang memiliki harga M_n lebih kecil dari 50.000. Hasil akurat dapat diperoleh bila polimer tidak memiliki gugus ujung sebagai cabang. Menurut Bakar *et al.*, (2006) biodegradasi polimer menyebabkan harga bilangan asam meningkat. Hal ini disebabkan karena putusya ikatan polimer pada proses biodegradasi menyebabkan rantai polimer semakin pendek (berat molekul turun) sehingga jumlah mol dalam tiap gram polimer yang harus dinetralkan oleh KOH lebih banyak sehingga jumlah mol KOH yang dibutuhkan lebih besar (bilangan asam naik).

2.5.2 Penentuan derajat kristalinitas

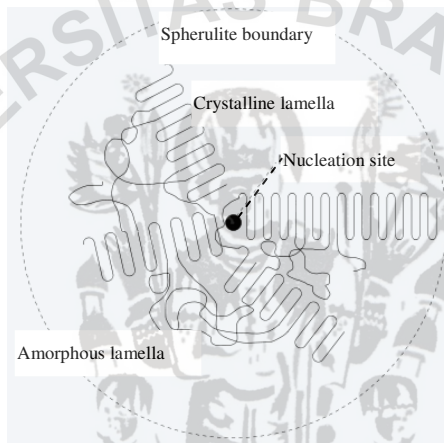
Kristalisasi adalah proses pembentukan padatan kristal dari larutan homogen. Kristalisasi juga merupakan teknik pemisahan padat-cair, dimana transfer massa zat terlarut dari larutan menjadi padatan kristal murni. Proses kristalisasi terdiri dari 2 tahap utama, yakni nukleasi dan pertumbuhan kristal. Nukleasi adalah tahap dimana molekul zat terlarut yang terdispersi dalam larutan mulai bergabung menjadi kelompok padat. Pada kelompok tersebut terdapat inti kristal. Pertumbuhan kristal adalah akibat pertumbuhan dari inti yang berhasil mencapai ukuran kritis kelompok kristal. Nukleasi dan pertumbuhan terjadi secara bertahap ketika kondisi lewat-jenuh terbentuk. Kondisi lewat jenuh adalah pemicu proses kristalisasi, oleh karena itu laju nukleasi dan pertumbuhan ditentukan adanya keadaan lewat jenuh dalam larutan. Laju nukleasi dan pertumbuhan kristal mempengaruhi ukuran dan jumlah kristal yang terbentuk. Keadaan lewat jenuh dapat diperoleh dengan cara pendinginan larutan dan penambahan non-pelarut yang mengurangi kelarutan dari zat terlarut ([Anonymous¹](#), 2008).

Secara termodinamika, kristalisasi merupakan perubahan orde satu yang terjadi setelah mampu melewati halangan energi tertentu. Kristalisasi merupakan proses yang dapat dikendalikan dengan berbagai cara baik saat pembentukan inti maupun pertumbuhan. Pertumbuhan inti pada arah lateral dapat dikendalikan dengan penurunan temperatur. Bila penurunan temperatur rendah maka pertumbuhan akan terjadi secara linier, tetapi jika penurunan temperatur tinggi maka laju pertumbuhan berlangsung secara eksponensial bergantung pada besarnya energi aktivasi. Pertumbuhan inti selama proses kristalisasi dapat mempengaruhi besarnya derajat kristalinitas. Bila selama kristalisasi entropi sistem menurun maka dimungkinkan terbentuk lipatan molekul linier akibat adanya antaraksi rantai intramolekul sehingga derajat kristalinitas meningkat (Cheng dan Lotz, 2003).

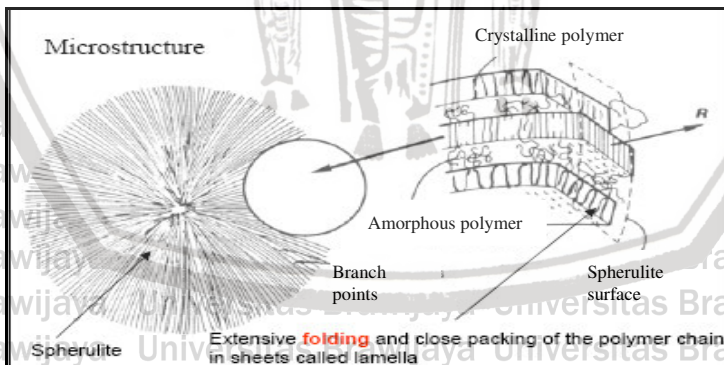
Sifat fisik poliester tergantung morfologi atau bentuk poliester. Beberapa morfologi poliester semikristalin antara lain bentuk *spherulite*, *fibrilar*, dan *epitaxial*. *Spherulite* adalah molekul dengan struktur poligonal dari agregat kristal. Morfologi *spherulite* terbentuk dari larutan dengan konsentrasi diatas 1%. *Fibrilar* terbentuk dari larutan encer (Rabek, 1980). Kekristalan *epitaxial*,

yang biasanya terjadi selama berlangsungnya kristalisasi dalam larutan-larutan atau leburan-leburan yang diaduk, dicirikan oleh satu pertumbuhan kristal di atas kristal yang lainnya dan mengandung pertumbuhan lamellar di atas fibrilar-fibrilar yang panjang (Steven, 2001).

Di dalam polimer linier tidak bercabang terdapat daerah *spherical semi-crystalline* yang di sebut *Spherulite*, seperti pada Gambar 2.3. Polimer semikristalin adalah polimer yang memiliki fasa amorf dan fasa kristalin. Fasa amorf adalah bagian yang tidak teratur sementara fasa kristalin adalah bagian yang memiliki keteraturan tinggi (Sperling, 1985).



Gambar 2.3 Morfologi kristal *spherulite*



Gambar 2.4 Struktur *spherulite*

Berdasarkan hasil analisis kristal poli(trimetilen-sebasat) menggunakan mikroskop polarisasi diperoleh bahwa morfologi dari kristal poli(trimetilen-sebasat) adalah *spherulite* (Mardiana dkk., 2008). Struktur *spherulite* terdiri atas plat-plat kristal *lamellar*, seperti dijelaskan pada Gambar 2.4. Struktur *lamellar* pada *spherulite* disebabkan karena rantai polimer mengalami *folding* (lipatan) antara atas dan bawah permukaan *lamellar* akibat ketebalan kristal yang hanya berkisar 100 Å sementara panjang rantai dapat mencapai 10000 Å atau lebih (Sperling, 1985).

Derajat kristalinitas dapat diketahui dengan menggunakan Difraksi Sinar X (*X-Ray Diffraction*). Kristalinitas ditentukan berdasarkan persamaan Bragg 2.5 (Cowie, 1991).

$$n\lambda = 2d \sin \theta \quad \dots(2.5)$$

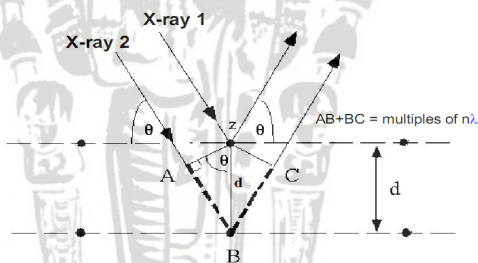
Dimana:

n = suatu bilangan 0,1,2,3,....., di sebut juga order

λ = panjang gelombang sinar X

d = jarak antara plan paralel dengan kristalinit

θ = satu setengah sudut deviasi sinar diffraksi dari sinar X yang terjadi.



Gambar 2.5 Difraksi sinar-X dalam kristal

Berdasarkan Gambar 2.5 persamaan Bragg dapat diturunkan dengan cara sebagai berikut (Anonymous³, 2009):

$$n\lambda = AB + BC$$

$$\text{jika } AB = BC$$

$$n\lambda = 2AB$$

$$\sin \theta = AB/d$$

$$AB = d \sin \theta$$

$$n\lambda = 2d \sin \theta$$

Derajat kristalinitas (χ_c) dapat ditentukan jika fasa kristalin dan amorf pada pola difraksi dapat dipisahkan satu dengan yang

lain. Derajat kristalinitas sebanding dengan integral hamburan kristalisasi terhadap total hamburan (kristalin dan amorf), sesuai persamaan 2.6 berikut (Rabek, 1980):

$$\chi_c = \frac{\int_0^{\infty} S^2 I_c(s) ds}{\int_0^{\infty} S^2 I(s) ds} \dots (2.6)$$

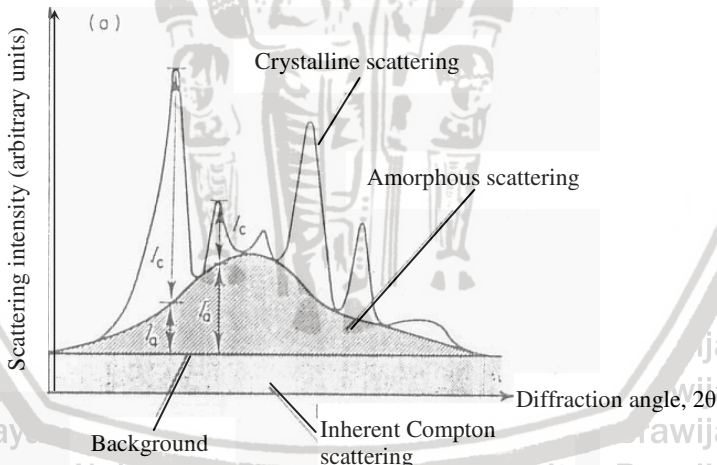
Dimana :

$$s = (2 \sin \theta) / \lambda$$

I_c = intensitas fasa kristalin

Secara matematis, integral menyatakan luas kurva hubungan 2θ dengan intensitas hamburan, sehingga kristalinitas dapat dihitung berdasarkan perbandingan luas fase kristalin dengan total fase.

Hasil analisa secara XRD berupa difraktogram. Derajat kristalinitas dapat ditentukan dengan terlebih dahulu menentukan fasa kristalin dan fasa amorf pada difraktogram hubungan 2θ dengan intensitas hamburan berdasarkan Gambar 2.6 (Rabek, 1980).



Gambar 2.6 Fasa amorf dan fasa kristalin pada difraktogram XRD.

Pada proses biodegradasi, fasa amorf dari polimer lebih mudah didegradasi oleh enzim dari pada fasa kristalin, sehingga

proses biodegradasi akan meningkatkan derajat kristalinitas (Chandra dan Rustigo, 1998). Sementara itu dari penelitian yang dilakukan oleh Mochizuki *et al.*, (1999), menyebutkan bahwa ketika poli (ε-kaprolakton) (PCL) dengan derajat kristalinitas 40 % dibiodegradasi dengan penguburan di dalam tanah, laju biodegradasinya mencapai $105 \text{ mg m}^{-2} \text{ hari}^{-1}$ sedangkan bila digunakan PCL dengan derajat kristalinitas 65 % laju biodegradasinya hanya $10 \text{ mg m}^{-2} \text{ hari}^{-1}$, hal ini menunjukkan bahwa polimer dengan derajat kristalinitas yang rendah lebih mudah dibiodegradasi.

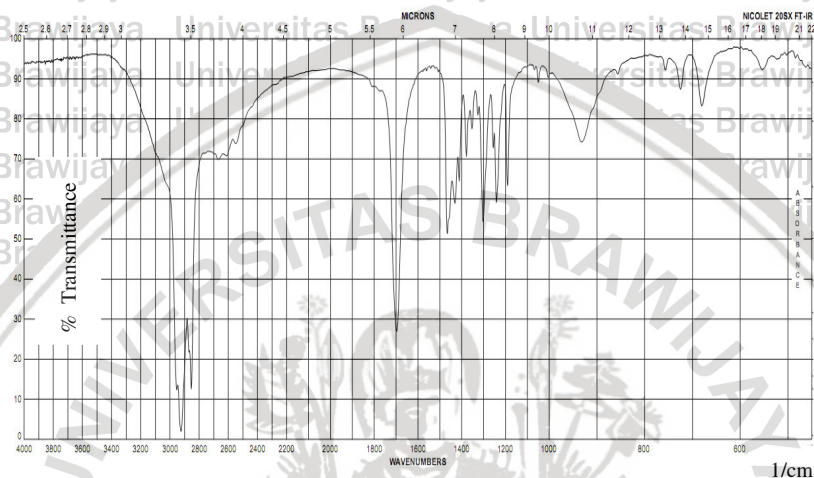
2.5.3 Spektroskopi inframerah

Spektroskopi inframerah (IR) dapat digunakan untuk mengkarakterisasi gugus fungsi suatu polimer karena gugus aktif polimer dapat menyerap radiasi sinar inframerah pada panjang gelombang tertentu (Cowie, 1991). Keberhasilan degradasi polimer dapat diidentifikasi melalui perubahan puncak-puncak yang terbentuk pada spektrum IR. Kedudukan puncak serapan IR dinyatakan sebagai bilangan gelombang (cm^{-1}). Poliester ditandai dengan vibrasi yang khas disekitar 1720 cm^{-1} , yang berasal dari vibrasi ulur gugus fungsi C=O, sedang untuk karbonil ester berada didaerah 1730 cm^{-1} dan di daerah $1300\text{-}1050 \text{ cm}^{-1}$ untuk vibrasi ulur C-O (Pavia *et al.*, 1996). Bila polimer mengandung suatu monomer asam, maka akan muncul puncak O-H yang melebar dan overlap dengan serapan C-H pada bilangan gelombang $2500\text{-}3400 \text{ cm}^{-1}$. Perubahan rantai poliester yang semakin pendek akibat biodegradasi akan meningkatkan intensitas gugus ujung asam, karena karakter CH_2 kurang nampak bila dibandingkan dengan karakter gugus ujung.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Labuzek *et al.*, (2003) disebutkan bahwa setelah polietilen yang dimodifikasi oleh poliester didegradasi dalam isolat fungi terjadi perubahan spektrum FTIR, di mana setelah biodegradasi terjadi puncak vibrasi ulur O-H yang melebar pada $3600\text{-}3000 \text{ cm}^{-1}$ dan vibrasi ulur C-O dengan intensitas kuat pada $1190\text{-}960 \text{ cm}^{-1}$ mengalami perubahan bentuk.

Teknik preparasi suatu polimer sering dilakukan dengan menggunakan sampel padat, seperti dibuat sebagai pellet KBr atau sebagai film tipis. Preparasi dengan menggunakan sampel larutan seringkali sulit dilakukan karena umumnya pelarut polimer juga

dapat mengabsorpsi di daerah inframerah (Hummell, 1971; Rabek, 1980). Sebagai pembanding pola spektrum FTIR pada Gambar 2.7 dicantumkan spektrum FTIR dari asam sebatat [HOOC-(CH₂)₈-COOH] (Anonymous², 2009).



Gambar 2.7 Spektrum FTIR asam sebatat

2.6 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah poli(trimetilen-sebatat) dapat didegradasi dalam media cair yang mengandung *R. oryzae* maupun isolat kompos dan kehilangan berat dari spesimen polimer dapat diamati. Karakteristik poli(trimetilen-sebatat) setelah proses biodegradasi yang meliputi : bilangan asam, dan kristalinitas akan meningkat. Analisis dengan spektrofotometer FTIR akan menunjukkan adanya serapan OH pada spektrum yang dihasilkan setelah terjadi biodegradasi.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Fisik dan Biokimia Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya mulai pertengahan bulan Oktober sampai Desember 2008.

3.2 Bahan dan Alat Penelitian

3.2.1 Bahan penelitian

Sampel kapang *R. oryzae* diperoleh dari Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya, Malang serta kompos yang diperoleh dari Unit Produksi Kompos Universitas Brawijaya, Malang. Poliester yang digunakan adalah poli(trimetilen-sebasat) sintetik hasil polikondensasi asam sebasat dan 1,3-propanadiol, dengan perbandingan mol 1:1 dan telah dimurnikan dengan cara fraksinasi pada temperatur 20-22 °C dalam pelarut kloroform dengan non-pelarut metanol (1:5).

3.2.2 Bahan kimia

Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah : dekstrosa, NaCl, KH_2PO_4 , K_2HPO_4 , ZnSO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, KOH, fenolftalin 0,1 %, NaOH, Na_2HPO_4 , asam sitrat ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$), asam sebasat [$\text{HOOC}(\text{CH}_2)_8\text{COOH}$], $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, CHCl_3 , dan CH_3OH . Semua bahan tersebut mempunyai kualitas pro analisis (p.a) kecuali ekstrak yeast, kentang, pepton (for biochemistry), nutrien agar (for biochemistry), etanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) 70 % dan 96 %, dan akuades.

3.2.3 Alat penelitian

Alat penelitian yang digunakan dalam percobaan ini antara lain sepasang plat stainless steel ukuran 20 x 20 cm dengan ketebalan 2 mm dan cetakan aluminium (3 x 9 cm) dengan ketebalan 0,5 mm, jarum ose, seperangkat alat gelas, aluminium

foil, pembakar bunsen, neraca analitik Mettler tipe AE 50, pH meter (Schott-Gerate tipe C6-820), pengaduk magnet, autoklaf model No. 25 All American, shaker (Edmund Buhler SM 25), inkubator (Memmert), oven (Memmert), pembakar spiritus, penangas air (Memmert NR 900660), lemari pendingin, spektrofotometer inframerah Shimadzu 8400S, dan instrumen XRD merk Philips.

3.3 Tahapan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam beberapa tahapan, meliputi:

1. Pembuatan spesimen poli(trimetilen-sebasat)
2. Pembuatan media biodegradasi meliputi :
 - 2.1 Pembuatan media padat agar miring
 - 2.2 Peremajaan biakan *R. oryzae*
 - 2.3 Pembuatan media cair
 - 2.4 Pembuatan inokulum *R. oryzae*
 - 2.5 Pembuatan *nutrien broth*
 - 2.6 Pembuatan inokulum kompos
3. Biodegradasi dalam media biodegradasi
4. Karakterisasi poli(trimetilen-sebasat)
 - 4.1 Penentuan kehilangan berat
 - 4.2 Penentuan bilangan asam
 - 4.3 Penentuan derajat kristalinitas secara Difraksi sinar-X
 - 4.4 Penentuan struktur kimia secara spektrofotometri FTIR

3.4 Cara Kerja

3.4.1 Pembuatan spesimen poli(trimetilen-sebasat)

Poli(trimetilen-sebasat) sintetik hasil fraksinasi dilelehkan dalam cetakan aluminium yang diletakkan antara 2 plat stainless steel dengan pemanasan 70-85 °C. Lelehan poli(trimetilen-sebasat) didinginkan hingga temperatur ruang sampai menjadi keras dan kering. Lempeng poli(trimetilen-sebasat) dipotong sesuai kebutuhan (1 x 1 cm), disterilisasi dengan etanol 70 %, dikeringkan dalam desikator dan ditimbang hingga diperoleh berat yang konstan. Lempeng yang diperoleh digunakan sebagai spesimen biodegradasi.

3.4.2 Pembuatan media biodegradasi

3.4.2.1 Pembuatan media padat agar miring

Media yang digunakan adalah agar dekstrosa kentang PDA. Bahan terdiri atas: 50 g kentang, 5 g dekstrosa, 5 g tepung agar, dan 200 mL akuades. Kentang dipotong kecil-kecil, direbus dalam akuades selama 1 jam kemudian disaring dengan kertas saring. Filtrat ditambah dekstrosa 5 g. Larutan didinginkan dan ditambah larutan 20 mL buffer sitrat fosfat pH 5. Setelah itu larutan ditambah tepung agar dan dididihkan sampai larut. Larutan di atas dipipet 5 mL dimasukkan dalam tabung, disterilkan dalam autoklaf pada 121 °C, 15 psi selama 15 menit. Disimpan dalam temperatur kamar dalam keadaan miring dan dibiarkan memadat.

3.4.2.2 Peremajaan biakan *R. oryzae*

Kapang dari biakan *R. oryzae* digoreskan pada media padat dengan ujung jarum ose secara aseptik yaitu dengan mendekatkan mulut tabung pada nyala api saat menggoreskan jarum ose. Tabung ditutup kembali dengan kapas dan diinkubasi pada temperatur 37 °C selama 2 hari dalam inkubator.

3.4.2.3 Pembuatan media cair

Media pertumbuhan *R. oryzae* untuk menghasilkan enzim lipase terdiri atas pepton 0,75 g, ekstrak yeast 2,5 g, NaCl 2,5 g, KH₂PO₄ 6,7 g, K₂HPO₄ 8,4 g, MgSO₄·7H₂O 0,25 g, larutan aktivator 0,5 mL dan dilarutkan dalam 350 mL akuades. Campuran ditambah asam sitrat hingga pH 5, ditambah larutan buffer sitrat fosfat hingga volumenya menjadi 400 mL. Sejumlah 100 mL larutan dituang ke dalam Erlenmeyer 250 mL dan 300 mL ke dalam Erlenmeyer 500 mL. Berturut-turut ditambahkan 0,025 g dan 0,075 g asam sebasat sebagai inducer ke dalam Erlenmeyer 250 mL dan 500 mL kemudian ditutup dengan kapas dan kertas. Selanjutnya disterilkan dengan autoklaf pada temperatur 121 °C, 15 psi selama 15 menit.

Dekstrosa 5 g dilarutkan dalam 50 mL akuades kemudian dituang ke dalam Erlenmeyer 100 mL, ditutup kapas dan kertas lalu disterilkan dengan autoklaf pada temperatur 121 °C, 15 psi selama 15 menit. Larutan didinginkan pada temperatur ruang kemudian dipindah ke dalam larutan pertama (100 mL dalam

Erlenmeyer 250 mL). Campuran ini digunakan dalam pembuatan inokulum *R. oryzae*.

3.4.2.4 Pembuatan inokulum *R. oryzae*

Kapang yang telah berumur 2 hari dan tumbuh dalam media padat (percobaan 3.4.2.2), disuspensikan dengan 10 mL akuades steril secara aseptis. Suspensi dikocok dan dipindahkan ke dalam ke dalam 150 mL campuran (percobaan 3.4.2.3), kemudian diinkubasi pada temperatur kamar di atas shaker pada kecepatan 100 rpm selama 40 jam.

3.4.2.5 Pembuatan *nutrient broth*

Media pertumbuhan isolat kompos yang digunakan adalah *nutrient broth* yang dibuat dengan cara mencampurkan 7,5 g pepton, 1,5 g ekstrak yeast, 3 g NaCl, dan 0,5 g dekstrosa dalam 460 mL akuades. Kemudian pH larutan diatur hingga mencapai 7, lalu dipindahkan ke dalam labu ukur dan ditambah buffer pH 7 hingga tepat 500 mL, lalu sebanyak 25 mL dipindahkan ke dalam Erlenmeyer. Setelah itu disterilisasi selama 15 menit pada 121 °C dan tekanan 15 psi.

3.4.2.6 Pembuatan inokulum kompos

Media biodegradasi ini dibuat dengan cara mencampurkan 6,75 g kompos ke dalam 25 mL pepton steril 0,1 % dan dikocok selama 1 jam dengan kecepatan 100 rpm. Bagian yang larut diambil 50 mL dan ditambah 25 mL *nutrient broth* steril lalu dikocok selama 24 jam pada kecepatan 100 rpm hingga dihasilkan biakan isolat kompos. Biakan isolat kompos diambil 5 mL dan dimasukkan ke dalam 50 mL *nutrient broth* yang mengandung 0,02 g inducer asam sebasat dan dikocok selama 4 hari pada kecepatan 100 rpm dan diperoleh inokulum kompos.

3.4.3 Biodegradasi dalam media biodegradasi

Media biodegradasi disiapkan dalam Erlenmeyer 100 mL dengan cara mencampurkan 2 mL inokulum *R. oryzae* / kompos dengan 13 mL media cair (tanpa dekstrosa) untuk biodegradasi menggunakan *R. oryzae* / 13 mL *nutrient broth* yang mengandung 0,04 % (b/v) asam sebasat sebagai inducer untuk biodegradasi

menggunakan kompos. Spesimen yang telah konstan beratnya dimasukkan dalam media biodegradasi. Semua pemindahan dilakukan secara aseptis. Waktu inkubasi spesimen divariasikan 1, 2, 3, dan 4 minggu pada temperatur ruang dengan 4 kali ulangan. Filtrat dan spesimen dipisahkan dengan cara dekantasi kemudian spesimen disterilisasi dengan etanol 70 % dan dikeringkan dalam desikator.

3.4.4. Karakterisasi poli(trimetilen-sebasat)

3.4.4.1 Penentuan kehilangan berat

Kehilangan berat ditentukan dengan cara menimbang berat spesimen poli(trimetilen-sebasat) sebelum dan sesudah biodegradasi dengan neraca analitik hingga diperoleh berat yang konstan. Kemudian dibuat kurva hubungan % kehilangan berat terhadap waktu.

3.4.4.2 Penentuan bilangan asam

Bilangan asam ditentukan secara volumetri. Poli(trimetilen-sebasat) sejumlah 28 ± 6 mg dilarutkan dalam 10,0 mL campuran kloroform-metanol dengan perbandingan volume 1:1. Campuran kemudian dititrasi menggunakan KOH alkoholis 0,0223 M dengan indikator fenolftalein 0,1 %. Sebagai blanko, dilakukan titrasi untuk campuran kloroform-metanol (1:1). Standarisasi larutan KOH dilakukan dengan menggunakan larutan asam oksalat 0,0201 M. Bilangan asam ditentukan dengan menggunakan persamaan (3.1).

$$\text{Bilangan asam} = \frac{(V_S - V_B) \times C_{\text{KOH}} \times \text{Mr KOH}}{w} \dots (3.1)$$

Dengan;

V_S = volume KOH untuk titrasi sampel polimer (mL)

V_B = volume KOH untuk titrasi blanko (mL)

w = berat sampel polimer (g)

C_{KOH} = konsentrasi KOH alkoholis (M)

3.4.4.3 Penentuan derajat kristalinitas

Spesimen poli(trimetilen-sebasat) dengan perubahan berat terbasar untuk setiap minggu ditentukan derajat kristalinitasnya dengan instrumen difraksi sinar-X. Spesimen poli(trimetilen-sebasat) dimasukkan dalam *sample holder* dan diletakkan dalam alat. Kemudian dilakukan analisis untuk harga 2θ mulai 5° hingga 90° . Difraktogram yang diperoleh dianalisa untuk menentukan derajat kristalinitasnya.

3.4.4.4 Penentuan struktur kimia secara spektrofotometri FTIR

Analisis gugus fungsi poli(trimetilen-sebasat) dilakukan dengan menggunakan pellet KBr. Sedikit serbuk poli(trimetilen-sebasat) dicampur dengan serbuk KBr. Campuran kemudian di buat pellet dengan menggunakan pompa hidrolik dengan tekanan 100 psi. Pellet kemudian dimasukkan ke dalam alat FTIR dan diperoleh spektrum IR kemudian dilakukan analisa berdasarkan tabel korelasi. Analisa FTIR dilakukan pada poli(trimetilen-sebasat) sebelum dibiodegradasi (Wijaya, 2008), setelah dibiodegradasi dengan *R. oryzae* (minggu keempat) serta kompos (minggu kedua).

3.5 Analisis Data

3.5.1 Penentuan bilangan asam

Data bilangan asam yang diperoleh dari variasi waktu biodegradasi dianalisis dengan menggunakan analisis ragam pola acak lengkap sederhana (RAL) dan dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT) 5 % yang dapat dilihat pada lampiran.

3.5.2 Penentuan derajat kristalinitas

Data yang diperoleh dibuat kurvanya dengan bantuan program microsoft excel sehingga diperoleh difraktogram sinar-X. Daerah fasa kristalin dan amorf pada difraktogram diberi batas, kemudian ditimbang dengan menggunakan neraca analitik. Derajat kristalinitas (χ_c) diperoleh dengan membandingkan luas fasa kristalin terhadap luas total yang dapat dituliskan sebagai perbandingan massa fasa kristalin terhadap massa total fasa menurut persamaan (3.2).

$$\chi_c = \frac{\text{massa fasa kristalin}}{\text{massa fasa total}} \times 100 \% \quad \dots (3.2)$$

Harga derajat kristalinitas dibuat kurva terhadap waktu degradasi.



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Biodegradasi Poli(trimetilen-sebasat)

Mikroorganisme yang digunakan dalam biodegradasi poli(trimetilen-sebasat) adalah *R. oryzae* yang mengandung ekstrak kasar lipase dengan aktivitas sebesar 14,204 µg/mL. menit pada pH 5, temperatur 50 °C dengan waktu inkubasi 24 jam (Anugrawati, 2007). Enzim lipase ekstraseluler termasuk enzim induktif yang bekerja di luar sel untuk mengubah nutrien di sekitarnya sehingga memungkinkan nutrien memasuki sel dan diuraikan untuk menyediakan energi yang cukup bagi metabolisme sel (Waluyo, 2004).

Media biodegradasi yang digunakan termasuk dalam *complex media* yaitu media cair yang banyak digunakan untuk menumbuhkan bakteri heterotrop dan fungi. Media ini mengandung ekstrak yeast, namun komposisi kimianya bervariasi. Dalam *complex media*, sumber energi, karbon, nitrogen dan sulfur yang dibutuhkan dalam menumbuhkan mikroba disediakan oleh protein dan atau pepton, sedangkan vitamin dan senyawa organik lainnya disediakan oleh ekstrak yeast, sehingga diharapkan pasokan sumber makanan cukup untuk pertumbuhannya.

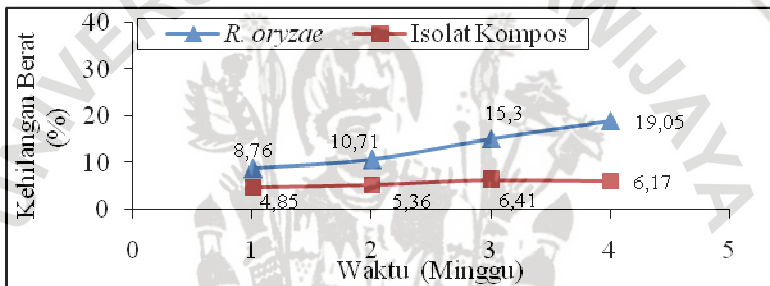
Biodegradasi dengan isolat kompos dalam media *nutrient broth* yang biasa digunakan untuk menumbuhkan berbagai jenis mikroba dilakukan sebagai perbandingan. Media ini dapat menyediakan nutrien yang dibutuhkan mikroba untuk memperbaiki sel yang rusak atau terluka, melarutkan racun atau molekul inhibitor (Marshall, 1993). Isolat kompos diibaratkan sebagai mikroorganisme yang dapat melakukan biodegradasi poli(trimetilen-sebasat) di alam.

Perubahan setelah biodegradasi dapat diamati dari kehilangan berat spesimen, perubahan berat molekul yang ditentukan dari bilangan asam, derajat kristalinitas dan perubahan gugus fungsi.

4.1.1 Kehilangan berat spesimen poli(trimetilen-sebasat)

Untuk menguji kemudahan biodegradasi poli(trimetilen-sebasat) oleh mikroorganisme dapat dilakukan dengan cara

menghitung persen kehilangan berat. Data perhitungan persen kehilangan berat terdapat pada lampiran 5 yakni pada Tabel L.5.1. Semakin tinggi persen kehilangan berat berarti semakin mudah polimer terbiodegradasi (Rohaeti *dkk.*, 2004). Pada Gambar 4.1 nampak kehilangan berat rata-rata poli(trimetilen-sebasat) yang masing-masing dibiodegradasi dengan *R. oryzae* dan isolat kompos. Perubahan kehilangan berat pada *R. oryzae* meningkat secara signifikan terhadap waktu dibandingkan dengan isolat kompos yang mencapai 19,05 % pada minggu keempat berbeda dengan isolat kompos yang hanya 6,41 % dan terjadi pada minggu ketiga. Dengan demikian *R. oryzae* lebih efektif dalam mendegradasi poli(trimetilen-sebasat) dibandingkan dengan isolat kompos.



Gambar 4.1 Kehilangan berat rata-rata poli(trimetilen-sebasat) terhadap waktu biodegradasi

Hal ini dapat disebabkan jenis enzim yang terdapat dalam *R. oryzae* yaitu enzim lipase yang memecah ikatan polimer menjadi intermediet yang larut dalam air. Setelah itu, intermediet tersebut ditranspor ke dalam sel dan dimetabolisme oleh *R. oryzae*, sehingga dihasilkan produk metaboliknya berupa biomassa yang baru dan terjadilah kehilangan berat. Enzim lipase memiliki ukuran yang terlalu besar untuk dapat melakukan penetrasi ke dalam polimer, sehingga enzim hanya bekerja pada permukaan. Oleh karena itu, biodegradasi dari poli(trimetilen-sebasat) merupakan proses erosi permukaan (Belal, 2003).

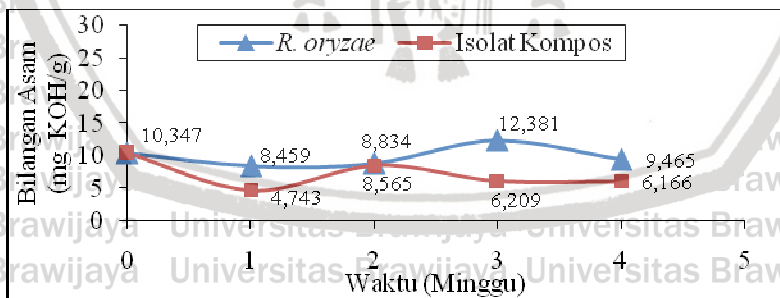
Media kompos mengandung berbagai jenis mikroba dan metabolit sehingga dimungkinkan terjadi kompetisi. Oleh karena itu, reaksi kimia yang terjadi bukan hanya reaksi degradasi. Hal ini terlihat dari Gambar 4.1 di mana kehilangan berat akibat degradasi dengan menggunakan *R. oryzae* lebih besar dibandingkan dengan isolat kompos.

Penurunan persentase kehilangan berat spesimen yang terjadi oleh isolat kompos pada minggu ke-4, kemungkinan disebabkan oleh mikroorganisme telah memasuki fase stasioner, akibatnya enzim yang dihasilkan jumlahnya berkurang (Tortora *et al.*, 2001). Selain itu sumber nutrisi untuk kinerja mikroba semakin sedikit sehingga aktivitas mikroba untuk mendegradasi fasa amorf semakin rendah.

4.1.2 Penentuan bilangan asam

Bilangan asam didefinisikan sebagai jumlah miligram basa yang diperlukan untuk menetralkan gugus asam dalam 1 gram poliester (Cowie, 1991). Basa yang digunakan adalah basa alkoholis. Penggunaan pelarut alkohol dilakukan agar perbedaan kepolaran sistem pelarut poliester (kloroform dan metanol) dengan pelarut KOH tidak terlalu besar. Hal ini dapat memudahkan reaksi basa dan gugus asam.

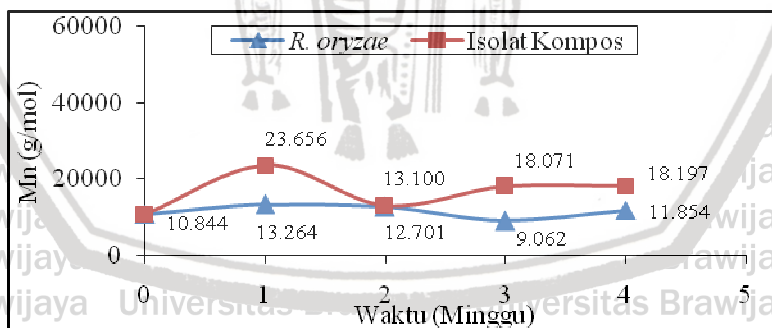
Nilai bilangan asam dari analisis gugus fungsi yang terikat pada ujung poli(trimetilen-sebasat) digunakan untuk menentukan nilai berat molekul rata-rata. Semakin tinggi harga bilangan asam menunjukkan bahwa rantai poli(trimetilen-sebasat) semakin pendek dan massa molekul relatif semakin kecil. Hal ini dikarenakan semakin pendek rantai, semakin tinggi karakter gugus ujung terhadap panjang rantai sehingga harga bilangan asam juga semakin tinggi (Belan *et al.*, 1997). Nilai bilangan asam setelah biodegradasi umumnya akan mengalami peningkatan, namun hasil pada Gambar 4.2 menunjukkan bahwa pada minggu pertama terjadi penurunan. Secara lengkap perhitungan bilangan asam terdapat pada lampiran 6 (Tabel L.6.3.1).



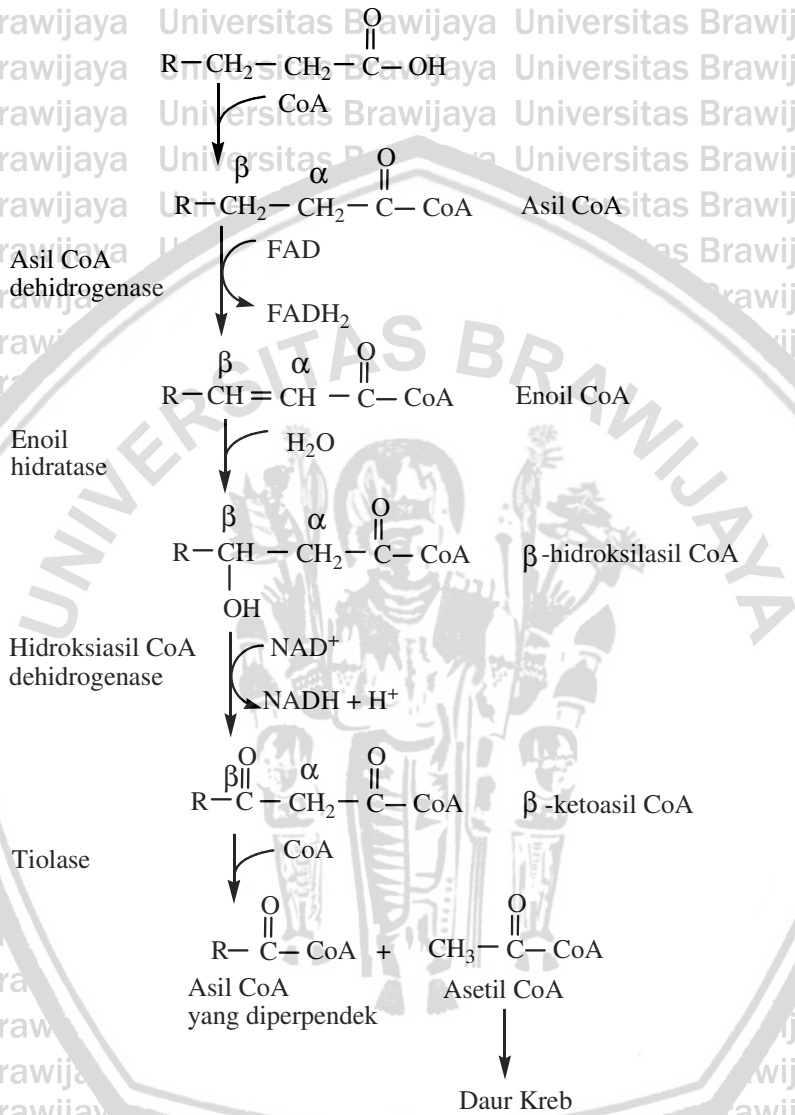
Gambar 4.2 Bilangan asam poli(trimetilen-sebasat) terhadap waktu biodegradasi

Hal ini terjadi karena sebelum biodegradasi, bilangan asam ditentukan dari rantai pendek bebas sedangkan setelah biodegradasi bilangan asam ditentukan dari hasil rata-rata antara polimer rantai pendek dan rantai panjang yang tidak mengalami *folding* (lipatan). Perubahan rantai, yang menjadi lebih linier dan memanjang karena tidak lagi terlipat, menyebabkan gugus ujung poli(trimetilen-sebasat) dapat bereaksi dengan KOH. Perubahan struktur lipatan menjadi linier disebabkan terjadinya hidrolisis ikatan antar rantai poli(trimetilen-sebasat) oleh air dalam media yang terjadi secara acak atau dekat rantai ujung (Hakkarainen, 2002). Kenaikan bilangan asam setelah minggu pertama menunjukkan semakin banyaknya asam sebasat yang terbentuk. Penurunan bilangan asam terjadi karena penggunaan asam sebasat oleh mikroorganisme sebagai sumber energi, seperti yang disajikan pada Gambar 4.4. Asam sebasat akan dipecah menjadi asetil CoA melalui proses β -oksidasi spiral. Aktivasi asam sebasat dengan CoA dan disertai hidrolisis ATP akan menghasilkan asil CoA. Oksidasi asil CoA menghasilkan asetil CoA dan asil CoA yang memiliki dua atom karbon lebih pendek dibandingkan dengan asil CoA sebelumnya. Selanjutnya, asetil CoA dapat memasuki daur kreb dan asil CoA yang diperpendek akan memasuki proses β -oksidasi spiral kembali (Atlas, 1989).

Nilai bilangan asam yang diperoleh digunakan untuk mengetahui berat molekul rata-rata hasil biodegradasi seperti yang disajikan pada Gambar 4.3. Perhitungan berat molekul secara lengkap terdapat pada lampiran 6 (Tabel L.6.4.6).



Gambar 4.3 Berat molekul rata-rata jumlah poli(trimetilen-sebasat) terhadap waktu biodegradasi



Gambar 4.4 Mekanisme asam sebatat sebagai sumber energi melalui proses β -oksidasi spiral

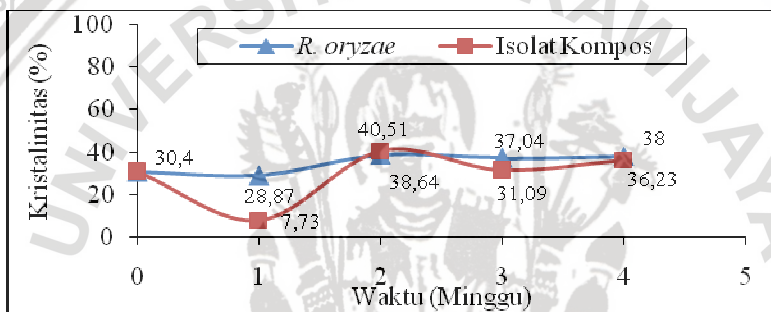
Uji analisis statistik menunjukkan bahwa $F_{hitung} > F_{tabel}$ (pada taraf nyata $\alpha = 0,05$), ini berarti bahwa waktu biodegradasi berpengaruh nyata terhadap bilangan asam poli(trimetilen-sebasat) baik dengan *R. oryzae* maupun dengan isolat kompos. Uji BNT (5%) (Tabel L.6.4.3) memperlihatkan bahwa bilangan asam dengan *R. oryzae* pada minggu ke-3 berbeda nyata dengan minggu ke-0, 1, 2, dan 4, sedangkan pada Tabel L.6.4.5 memperlihatkan bahwa bilangan asam dengan isolat kompos pada minggu ke-2 berbeda nyata dengan minggu ke-1 dan tidak berbeda nyata dengan minggu ke-0, 3, dan 4. Sehingga dapat disimpulkan bilangan asam optimum terjadi pada *R. oryzae* minggu ke-3 sebesar 12,381 mg KOH/g dan isolat kompos minggu ke-2 sebesar 8,565 mg KOH/g.

Uji statistik terhadap berat molekul rata-rata jumlah (Mn) menunjukkan $F_{hitung} > F_{tabel}$ (*R. oryzae*) dan $F_{hitung} < F_{tabel}$ (isolat kompos) pada taraf nyata $\alpha = 0,05$, ini berarti bahwa waktu biodegradasi berpengaruh nyata terhadap Mn poli(trimetilen-sebasat) dengan *R. oryzae* dan tidak berpengaruh nyata terhadap Mn poli(trimetilen-sebasat) dengan isolat kompos. Uji BNT (5%) (Tabel L.6.5.2) memperlihatkan bahwa Mn dengan *R. oryzae* pada minggu ke-3 tidak berbeda nyata dengan minggu ke-0 dan berbeda nyata dengan ke-1, 2, dan 4 sehingga Mn *R. oryzae* optimum terjadi pada minggu ke-3 sebesar 9.062 g/mol. Adanya ketidakselarasan waktu biodegradasi terhadap nilai optimum bilangan asam dan Mn, menunjukkan bahwa data bilangan asam belum memadai menjadi parameter untuk memperkirakan berat molekul rata-rata jumlah akibat proses biodegradasi.

4.1.3 Penentuan derajat kristalinitas

Degradasi polimer semikristalin dalam media cair terjadi dalam dua tahap. Pertama-tama air berpenetrasi dalam daerah amorf yang memiliki bagian tidak teratur. Setelah daerah amorf terdegradasi, selanjutnya menyerang daerah kristalin yang memiliki daerah keteraturan tinggi. Oleh karena itu, fasa amorf lebih mudah terbiodegradasi dibandingkan fasa kristalin (Chandra dan Rustigo, 1998). Sehingga untuk menganalisisnya perlu penentuan derajat kristalinitas. Difraktogram dicantumkan pada lampiran 7 dan perhitungan derajat kristalinitas terdapat pada Tabel L.7.1 dan Tabel L.7.4.

Berdasarkan perhitungan derajat kristalinitas dengan cara membagi luas daerah kristalin dengan luas daerah seluruhnya (kristalin + amorf) dan disajikan dalam bentuk kurva pada Gambar 4.5 diperoleh bahwa proses biodegradasi menurunkan derajat kristalinitas poli(trimetilen-sebasat) pada minggu pertama baik dengan *R. oryzae* maupun dengan isolat kompos. Penurunan ini terjadi kemungkinan karena struktur antar rantai poli(trimetilen-sebasat) yang semula melipat (*folding*) mengalami hidrolisis menjadi lebih linier dengan tingkat keteraturan yang rendah karena hidrolisis terjadi secara acak (Hakkarainen, 2002). Sehingga pada minggu pertama terjadi penambahan jumlah bagian amorf atau penurunan derajat kristalinitas poli(trimetilen-sebasat).



Gambar 4.5 Perubahan derajat kristalinitas poli(trimetilen-sebasat) setelah biodegradasi

Pada minggu kedua terjadi peningkatan kristalinitas mencapai 40,51 % (isolat kompos) dan 38,64 % (*R. oryzae*) karena mikroba yang digunakan cenderung mendegradasi fasa amorf sehingga daerah amorf berkurang atau derajat kristalinitas meningkat. Kenaikan derajat kristalinitas menggunakan isolat kompos lebih besar dibandingkan dengan *R. oryzae*. Kemungkinan hal ini terjadi karena degradasi fasa amorf yang terjadi pada berbagai mikroba dalam isolat kompos bekerja secara sinergis sehingga memiliki aktivitas lebih tinggi saat degradasi fasa amorf. Derajat kristalinitas cenderung turun setelah minggu ke-2 baik dengan isolat kompos maupun dengan *R. oryzae*, dimungkinkan sumber nutrisi untuk kinerja mikroba semakin sedikit sehingga aktivitas mikroba untuk mendegradasi fasa amorf semakin rendah. Biodegradasi menyebabkan hasil metabolit degradasi terakumulasi dalam media sehingga memungkinkan terjadinya penutupan sisi aktif enzim oleh metabolit untuk bekerja lebih lanjut.

Uji analisis statistik menunjukkan bahwa $F_{hitung} > F_{tabel}$ (pada taraf nyata $\alpha = 0,05$), ini berarti bahwa waktu biodegradasi berpengaruh nyata terhadap kristalinitas poli(trimetilen-sebasat) baik dengan *R. oryzae* maupun dengan isolat kompos.

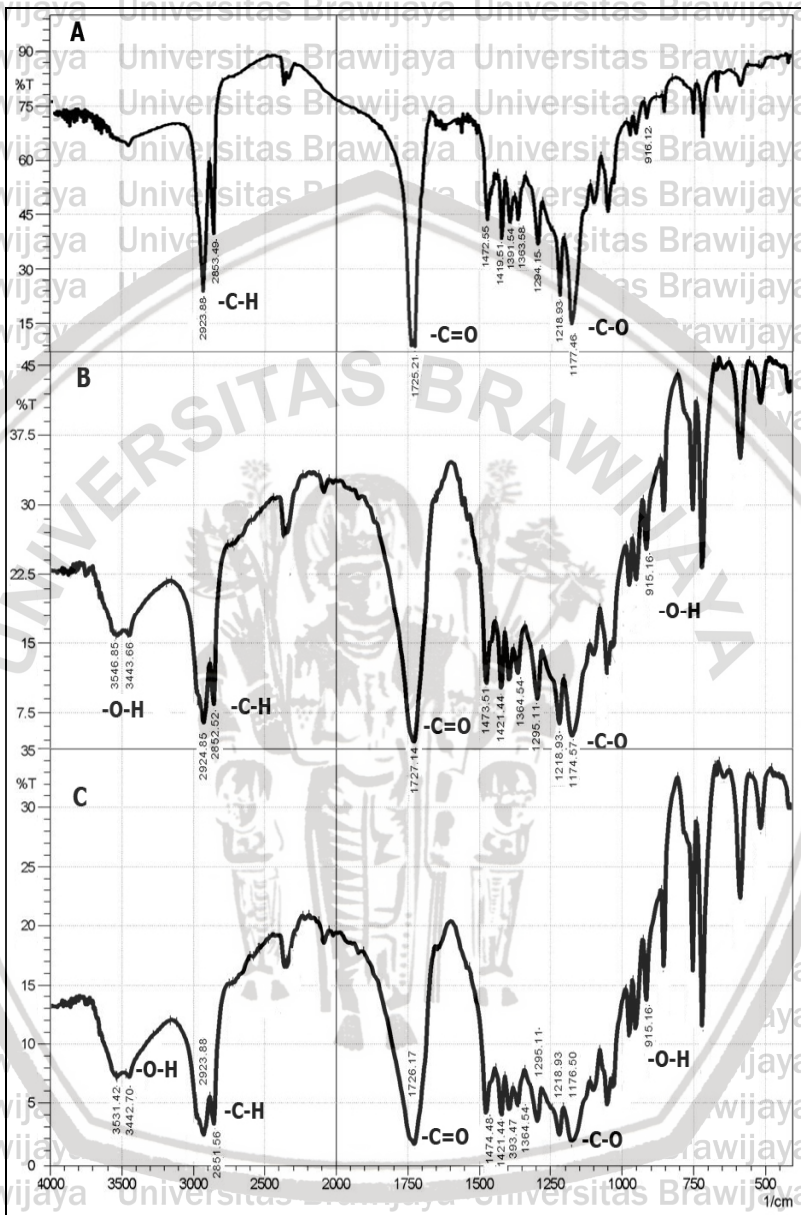
4.1.4 Penentuan gugus fungsi

Perubahan gugus fungsi akibat pemutusan ikatan dapat diamati dari hasil analisa dengan spektrofotometer FTIR pada poli(trimetilen-sebasat) sebelum biodegradasi dan setelah biodegradasi (minggu ke-4 untuk *R. oryzae* dan minggu ke-2 untuk isolat kompos). Analisa FTIR poli(trimetilen-sebasat) setelah biodegradasi dilakukan pada waktu (minggu) yang memiliki kehilangan berat spesimen terbesar.

Hasil yang diperoleh dapat dilihat pada Gambar 4.6, sedangkan hasil interpretasi dapat dilihat dalam Tabel 4.1. Berdasarkan spektrum FTIR tersebut dapat dilihat bahwa setelah biodegradasi baik menggunakan *R. oryzae* maupun isolat kompos memiliki pola yang sama. Perbedaan yang mencolok dengan adanya O-H *stretching* pada bilangan gelombang 3443 cm^{-1} dan O-H *out of plane bending* pada $915,16\text{ cm}^{-1}$. Hal ini menunjukkan adanya perubahan struktur poli(trimetilen-sebasat) yang semula mengalami *folding* (lipatan) dan karena biodegradasi, mengakibatkan strukturnya cenderung linier. Oleh karena itu, ikatan ester pada monomer ujung secara sterik tidak terhalangi, sehingga dapat didegradasi dan dihasilkan rantai lebih pendek yang menghasilkan serapan O-H sebagai gugus ujung pada spektrum IR.

Tabel 4.1 Hasil interpretasi spektrum FTIR (Pavia, 1996)

Bilangan gelombang (cm ⁻¹)	Gugus fungsi	Bilangan gelombang (cm ⁻¹) poli(trimetilen-sebasat)		
		Sebelum biodegradasi	Setelah biodegradasi	
			R. <i>oryzae</i>	Isolat kompos
3400-2400 (m)	O-H asam karboksilat <i>stretching</i>	3400, intensitas rendah	3443,66 (s), overlap dengan C-H	3442,7 (s), overlap dengan C-H
3000-2850 (s)	CH ₂ <i>stretching</i>	2923,88 (s) dan 2853,49 (m)	2924,85 (s) dan 2852,52 (m)	2923,88 (s) dan 2851,56 (m)
1750-1725(s)	C=O ester <i>stretching</i>	1725,21 (s); 3430 (w) overtone	1727,14 (s)	1726,17 (s)
1330-1050 (s) 2 puncak	C-O ester <i>stretching</i>	1218,93 dan 1177,46 (s)	1218,93 dan 1174,57 (s)	1218,93 dan 1176,50 (s)
Sekitar 920 (m)	O-H <i>out of plane bending</i>	916,12, intensitas rendah	915,16 (m)	915,16 (m)



Gambar 4.6 Spektrum FTIR dari spesimen poli(trimetilen-sebasat) a) sebelum biodegradasi, b) setelah inkubasi dengan *R. oryzae* selama 4 minggu dan c) isolat kompos selama 2 minggu.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari hasil penelitian adalah sebagai berikut:

1. Poli(trimetilen-sebasat) dapat dibiodegradasi dengan menggunakan *R. oryzae* dan isolat kompos dalam media cair dimana persen kehilangan berat maksimum berturut-turut sebesar 19,05 % dan 6,41 %.
2. Karakteristik poli(trimetilen-sebasat) setelah biodegradasi yang ditentukan adalah bilangan asam dan derajat kristalininitas yang menurun pada minggu pertama dan cenderung meningkat hingga minggu keempat. Nilai maksimum derajat kristalininitas poli(trimetilen-sebasat) pada biodegradasi dengan *R. oryzae* dan isolat kompos berturut-turut adalah 38,64 % dan 40,51 %. Analisa dengan spektrum FTIR setelah biodegradasi baik dengan *R. oryzae* maupun dengan isolat kompos menunjukkan adanya pemutusan rantai menjadi lebih pendek dengan meningkatnya intensitas gugus fungsi hidroksil.

5.2. Saran

Aktivitas optimum mikroba tergantung pada pH dan temperatur, karenanya perlu dikaji pengaruh pH dan temperatur terhadap laju biodegradasi.

DAFTAR PUSTAKA

Abou-Zeid, D.M., 2001, *Anaerobic Biodegradation of Natural and Synthetic Polyesters*, Dissertation. Technical University Braunschweig, Germany, <http://opus.tubs.de/opus/volltexte/2001/246>, diakses tanggal 16 Agustus 2008.

Anonim, 2008, *Masalah Plastik*, http://www.coolcitibags.com/masalah_plastik.html, tanggal akses 17 Juni 2008.

Anonymous¹, 2008, *Crystallization*, <http://en.wikipedia.org/wiki/Crystallization>, diakses tanggal 29 April 2008.

Anonymous², 2009, *Sebasic Acid*, http://www.sigmaaldrich.com/catalog/ProductDetail.do?N4=283258|ALDRICH&N5=SEARCH_CONCAT_PNO|BRAND_KEY&F=SPEC, tanggal akses 10 Maret 2009.

Anonymous³, 2009, *X-Ray Diffraction*, <http://www.physics.pdx.edu/~pmoeck/phy381/Topic5a-XRD.pdf>, tanggal akses 24 maret 2009.

Anugrawati, R., 2007, *Penentuan Kondisi Optimum Aktivitas Lipase Hasil Isolasi dari Rhizopus oryzae pada Esterifikasi Laktosa*, Skripsi, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya.

Atlas, R. M., 1989, *Microbiology : Fundamental & Applications*, 2nd ed., Macmillan Publishing co., New York.

Bakar, A.R.D., I. Ahmad, and A. Ramli, 2006, *Chemical Recycling of PET Waste from Soft Drink Bottles to Produce a Thermosetting Polyester Resin*, Malaysian Journal of Chemistry, 8(1), 022-026.

Belal, E.A., 2003, *Investigations on The Biodegradation of Polyesters by Isolated Mesophilic Microbes*, Dissertation, Technischen Universität Carolo Wilhelmina, diakses tanggal 12 Agustus 2008.

Belan F., V. Bellenger, B. Mortaigne and J. Verdu, 1997, *Relationship between the Structure and Hydrolysis Rate of*

Unsaturated Polyester Prepolymers, Polym. Degrad. Stab.,
56, 301-309.

Bolitz, H.D. and W. Grosh, 1987, *Food Chemistry*, Springer
Verlag, Berlin.

Chandra, R. and R. Rustigo, 1998, *Biodegradable Polymers*, Prog.
Polym. Sci, 23(7), 1273-1335.

Cheng, S.Z. and B. Lotz, 2003, *Nucleation Control in Polymer
Crystallization*, Mathematical, Physical and Engineering
Sciences, 361(1804), 517-537.

Chu, C.C., 2003, *Biodegradable Polymeric Biomaterial:An Update
Overview*, CRC Press, USA, pp 97-115.

Cook, W.D and G.B. Guise, 1989, *Polymer Update: Science and
Engineering*, Polymer Division Royal Australian Chemical
Institute, Australia.

Cowie, J.M.G., 1991, *Polymer: Chemistry and Physics Polymers*,
2nd edition, Chapman and Hall, New York.

Dwidjoseputro, 1984, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Penerbit
Jambatan, Jakarta, pp 72-75,150-151.

Ellis, 2008, *Rhizopus oryzae*, http://mycology.adelaide.edu.au/Fungal_Descriptions, diakses tanggal 7 Juni 2008.

Hakkarainen M., 2002, *Aliphatic Polyesters: Abiotic and Biotic
Degradation and Degradation Products*, in *Degradable
Aliphatic Polyesters.*, Adv. Polym. Sci. Berlin: Springer-
Verlag Berlin, 157:113-138.

Hoshino, A. and Y. Isono, 2002, *Degradation of Aliphatic
Polyester Film by Commercially Available Lipase with Special
Reference to Rapid and Complete Degradation of Poly(L-
lactide Film by Lipase PL Derived from Alcaligenes sp.*,
Kluwer Academic Publise, Netherlands, pp 141-147.

Hummell, D.O., 1971, *Infrared Analysis of Polymers, Resin and
Additives An Atlas*, volume I, Wiley-Interscience, New York.

Kaplan and E. Thomas, 1993, *Edible and Biodegradable Polymer
Film*, Department of Food Science & Technology, University
of California, Davis.

Kirk and Othmer, 1980, *Encyclopedia of Chemical Technology*, 3rd edition, vol. 9, John Wiley and Sons, New York, pp. 186.

Kleeberg, I., C. Hetz, R.M. Kroppenstedt, R.J. Muller, and W.D. Deckwer, 1998, *Biodegradation of Aliphatic-Aromatic Copolyester by Thermomonospora fusca and Other Thermophilic Compost Isolates*, Appl. Environ. Microbiol., 64(5), 731-1735

Labuzek, S., B. Nowak, and S. Pajak, 2003, *The Susceptibility of Polyethylene Modified with Bionolle to Biodegradation by Filamentous Fungi*, Polish Journal of Environmental Studies, 13(1), 59-68.

Mardiana, D., 2005, *Pengaruh Penambahan Gliserol terhadap Pembentukan Poliester dari Asam Dikarboksilat dan Polihidroksi 1,3-Propanadiol*, Disertasi, ITB, Bandung.

Mardiana, D., S.B. Widjanarko, R. Retnowati, dan A. Roosdiana, 2008, *Pembuatan Bahan Pengemas Makanan Ramah Lingkungan dengan Menggunakan Monomer Minyak Jarak dan Gliserol*, Laporan Penelitian Hibah Bersaing XV-1, Brawijaya, Malang.

Marshall, R.T., 1993, *Standard Methods for the Microbiological Examination of Dairy Products*, 16th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.

Mc Carty and Ritmann, 2001, *Environmental Biotechnology : Principles and Application*, Mc Graw Hill, Singapore.

Mc Kane, L. and J. Kandel, 1986, *Microbiology Essential and Application*, Mc Graw Hill, Singapore.

Mochizuki, M., T. Hayashi, K. Nakayama, and T. Masuda, 1999, *Studies on Biodegradable Poly(Hexano-6-lactone) Fibers. Part 2: Environmental Biodegradation*, Pure Appl. Chem., 71(11), 2177-2188.

Nuraida, P., 2006, *Production of Lipase with Esterification Activity from Moulds Isolated from Indonesian Fermented Foods*, J. Chem., Japan, 25:135-139.

Pavia, D.I., G.M. Lampman, and G.S. Kriz, 1996, *Introduction to Spectroscopy a Guide for Student of Organic Chemistry*, 2nd edition, Harcourt Brace College Publisher, USA.

Pranamuda, H., 2008, *Pengembangan Bahan Plastik Biodegradabel Berbahanbaku Pati Tropis*, Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi, <http://www.mail-archive.com/zoa-biotek@sinergy-forum.net/msg00180.html>, Tanggal akses 7 Juni 2008.

Rabek, J.F., 1980, *Experimental Method in Polymer Chemistry : Physical Principles and Applications*, John Willey and Sons, New York.

Rehm and Reed, 1987, *Biotechnology*, Vol. 7a, Enzyme Technology Wein helm Deerfield Beach, Boston, pp 54-59.

Rohaeti E., N. M. Surdia, C. L. Radiman dan E. Ratnanin, 2004, *Pengaruh Dua Macam Perlakuan Mikroorganisme terhadap Kemudahan Degradasi Poliuretana Hasil Sintesis dari Monomer Polietilen Glikol Berat Molekul 400 dengan Metilen-4,4'- difenildiisosiinat*, Proc. ITB Sains & Tek, 36A(1), 1-9.

Saxena, R.K., P.K. Ghod, and R. Gupta, 2005, *Microbial of Lipase*, <http://www.ias.ac.in/currsci/jur10/article18.html>, tanggal akses: 16 Mei 2008.

Schnabel, W., 1981, *Polymer Degradation*, Macmillan Publishing Co., Inc., New York.

Smith, J.C., 1993, *Prinsip Bioteknologi*, alih bahasa: A Dharma, PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta, hal 66.

Sperling, L.H., 1985, *Introducing to Physical Polimer Science*, John Wiley & Sons, Inc. New York.

Steven, M.P., 2001, *Kimia Polimer*, Cetakan pertama, diterjemahkan oleh Sopyan L., PT Pradnya Paramita, Jakarta.

Suns, S.F., 1994, *Physical Chemistry of Macromolecules, Basic Principles and Issues*, John Wiley and sons, Inc., New york.

Sutedjo, M.M., A.G. Kartosapoetra dan S. Sastroatmodjo, 1991, *Mikrobiologi Tanah*, Rineka Cipta, Jakarta.

Takwa, M., 2008, *Enzymatic Synthesis of Functional Polyesters*, Thesis, School of Biotechnology, Stockholm, Swedia.

Tortora, G.J., B.R. Funke, and C.L. Case. 2001, *Microbiology : An Introduction*, Addison Wesley Longman, Inc: USA.

Waluyo, L., 2004, *Mikrobiologi Umum*, UMM Press, Malang.

Wijaya, S.C., 2008, *Karakterisasi Poliester Sintetik dari Hasil Fraksinasi Secara Pelarutan*, Skripsi, Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya, Malang.

Wong, D.W., 1995, *Food Enzymes*, Chapman & Hall, New York, pp 175-181.

Young, R.J. and P.A. Lovell, 1991, *Introduction to Polymers*, 2nd edition, Chapman & Hall, London.

Zhu, C. Y., X. D. Kou, Z. Q. Zhang, Y. C. You, and D. H. Xin, 2001, *Study on Synthesis and Biodegradation of Aliphatic Polyester*, Chinese Chemical Letter, 12(7), 589-592.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Preparasi Larutan

L.1.1 Pembuatan larutan asam sitrat 0,1 M

Sebanyak 1,92 g asam sitrat dilarutkan dengan 50 mL akuades dalam gelas beaker 100 mL, kemudian dipindahkan dalam labu ukur 100 mL dan diencerkan dengan akuades sampai tanda batas.

L.1.2 Pembuatan larutan Na_2HPO_4 0,2 M

Asam sitrat 2,84 g dilarutkan dengan 50 mL akuades dalam gelas beaker 100 mL, kemudian dipindahkan dalam labu ukur 100 mL dan diencerkan dengan akuades sampai tanda batas.

L.1.3 Pembuatan larutan buffer sitrat fosfat pH 5

Sebanyak 100 mL larutan dinatrium hidrogen fosfat 0,2 M dimasukkan dalam gelas beaker, lalu kedalamnya dimasukkan batang pengaduk magnetik. Elektroda dipasang dan dicelupkan dalam larutan. Asam sitrat ditambahkan sedikit demi sedikit ke dalam larutan hingga mencapai pH 5.

L.1.4 Pembuatan larutan aktivator

Komposisi bahan-bahan larutan aktivator sebagai berikut:

$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ = 0,220 g

$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ = 0,050 g

$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ = 0,016 g

Semua bahan dilarutkan dengan akuades sebanyak 50 mL dalam gelas beaker 100 mL, kemudian dipindahkan dalam labu ukur 100 mL dan diencerkan dengan akuades sampai tanda batas.

L.1.5 Pembuatan larutan pepton steril 0,1 %

Larutan pepton steril 0,1 % dibuat dengan cara menimbang padatan pepton sebanyak 0,1 g, lalu dilarutkan dengan 70 mL akuades dalam gelas beaker. Larutan kemudian dipindahkan ke dalam labu ukur 100 mL dan diencerkan dengan penambahan akuades hingga tanda batas. Larutan tersebut kemudian disterilkan selama 15 menit pada temperatur 121 °C dan tekanan 15 psi.

L.1.6 Pembuatan larutan NaOH 10%

Larutan NaOH 10 % dibuat dengan cara menimbang padatan NaOH sebanyak 2,5 g, lalu dilarutkan dengan 15 mL akuades dalam gelas beaker. Larutan kemudian dipindahkan ke dalam labu ukur 25 mL dan diencerkan dengan penambahan akuades hingga tanda batas.

L.1.7 Pembuatan larutan KH_2PO_4 0,2 M

Larutan KH_2PO_4 0,2 M dibuat dengan cara menimbang KH_2PO_4 sebanyak 2,72 g, lalu dilarutkan dengan 50 mL akuades dalam gelas beaker. Larutan kemudian dipindahkan ke dalam labu ukur 100 mL dan diencerkan dengan penambahan akuades hingga tanda batas.

L.1.8 Pembuatan larutan K_2HPO_4 0,2 M

Larutan K_2HPO_4 0,2 M dibuat dengan cara menimbang K_2HPO_4 sebanyak 3,48 g, lalu dilarutkan dengan 50 mL akuades dalam gelas beaker. Larutan kemudian dipindahkan ke dalam labu ukur 100 mL dan diencerkan dengan penambahan akuades hingga tanda batas.

L.1.9 Pembuatan larutan buffer KH_2PO_4 - K_2HPO_4 pH 7

Sebanyak 50 mL larutan K_2HPO_4 0,2 M dimasukkan dalam gelas beaker yang telah berisi pengaduk magnetik. Elektroda dipasangkan dan dicelupkan dalam larutan. Larutan KH_2PO_4 0,2 M ditambahkan ke dalam larutan hingga pH mencapai 7.

L.1.10 Pembuatan larutan indikator fenolftalein 0,1 %

Larutan indikator fenolftalein 0,1 % dibuat dengan cara menimbang fenolftalein sebanyak 0,025 g, lalu dilarutkan dengan 10 mL etanol 96 % dalam gelas beaker. Larutan kemudian dipindahkan ke dalam labu ukur 25 mL dan diencerkan dengan penambahan etanol 96 % hingga tanda batas.

L.1.11 Pembuatan larutan KOH alkoholis 0,02 M

$M_r \text{ KOH} = 56,1 \text{ g/mol}$

Larutan KOH 0,02 M diperoleh dengan cara melarutkan 0,1122 g KOH dengan etanol 96 % dalam gelas ukur 50 mL kemudian dituangkan ke dalam labu ukur 100 mL dan diencerkan dengan etanol 96 % hingga tanda batas.

L.1.12 Pembakuan larutan KOH alkoholis 0,02 M

Asam oksalat 0,126 g dilarutkan dalam gelas beaker 50 mL, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL dan diencerkan dengan akuades sampai tanda batas. Larutan asam oksalat 5 mL dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 50 mL, setelah itu ditambahkan 2-3 tetes indikator pp, dititrasi dengan KOH alkoholis 0,02 M sampai larutan berwarna merah muda dan dicatat volume KOH yang dibutuhkan.



Lampiran 2. Perhitungan Preparasi Larutan

L.2.1 Pembuatan larutan asam sitrat ($C_6H_8O_7$) 0,1 M

Larutan asam sitrat 0,1 M dibuat sebanyak 100 mL ($M_r C_6H_8O_7 = 192 \text{ g/mol}$)

$$\begin{aligned}n C_6H_8O_7 &= [C_6H_8O_7] \times V_{\text{larutan}} \\&= 0,1 \text{ mol/L} \times 0,1 \text{ L} \\&= 0,01 \text{ mol} \\m C_6H_8O_7 &= n C_6H_8O_7 \times M_r C_6H_8O_7 \\&= 0,01 \text{ mol} \times 192,06 \text{ g/mol} \\&= 1,92 \text{ g}\end{aligned}$$

Jadi, asam sitrat yang harus ditimbang untuk membuat larutan asam sitrat 0,1 M adalah 1,92 g.

L.2.2 Pembuatan larutan Na_2HPO_4 0,2 M

Larutan dinatrium hidrogen fosfat 0,2 M dibuat sebanyak 100 mL ($M_r Na_2HPO_4 = 142 \text{ g/mol}$)

$$\begin{aligned}n Na_2HPO_4 &= [Na_2HPO_4] \times V_{\text{larutan}} \\&= 0,2 \text{ mol/L} \times 0,1 \text{ L} \\&= 0,02 \text{ mol} \\m Na_2HPO_4 &= n Na_2HPO_4 \times M_r Na_2HPO_4 \\&= 0,02 \text{ mol} \times 142 \text{ g/mol} \\&= 2,84 \text{ g}\end{aligned}$$

Jadi, dinatrium hidrogen fosfat yang harus ditimbang untuk membuat larutan dinatrium hidrogen fosfat 0,2 M adalah 2,84 g.

L.2.3 Pembuatan larutan buffer sitrat fosfat pH 5

Untuk mendapatkan larutan buffer dengan pH yang diharapkan dibuat dengan mencampur larutan asam sitrat dan larutan dinatrium hidrogen fosfat berdasarkan persamaan dibawah ini:

$$pH = pK_a + \log \frac{[\text{Garam}]}{[\text{Asam}]}$$

Misalkan untuk membuat larutan buffer sitrat-fosfat dengan pH 5, larutan dinatrium hidrogen fosfat 0,2 M yang dicampurkan sebanyak 100 mL, maka volume larutan asam sitrat yang ditambahkan adalah:

$$pK_a \text{ Asam sitrat} = 4,62$$

$$5 = 4,62 + \log \frac{(100 \text{ mL} \times 0,2 \text{ mmol/mL})}{(V \text{ mL} \times 0,1 \text{ mmol/mL})}$$

$$0,38 = \log \frac{20}{0,1V}$$

$$2,399 = \frac{20}{0,1V}$$

$$V = 83,37 \text{ mL}$$

L.2.4 Pembuatan larutan buffer $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-K}_2\text{HPO}_4$ pH 7

Misalkan untuk membuat larutan buffer $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-K}_2\text{HPO}_4$ pH 7, larutan K_2HPO_4 0,2 M yang dicampurkan sebanyak 50 mL, maka volume larutan KH_2PO_4 yang ditambahkan adalah:

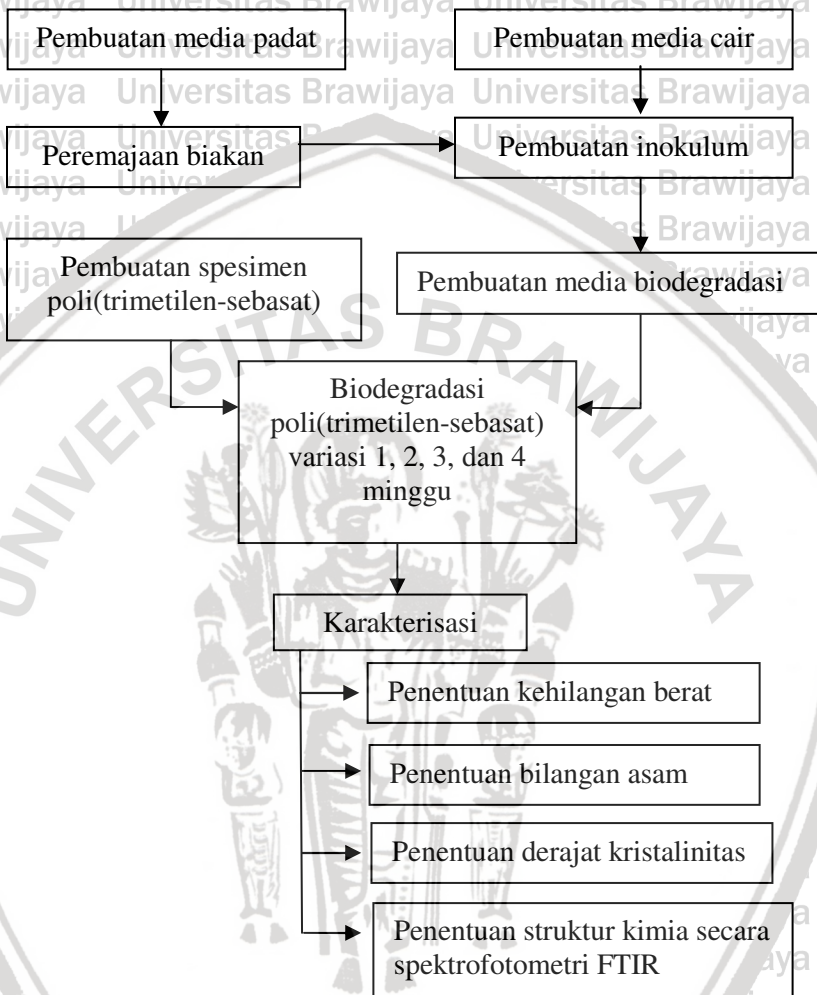
$$\begin{aligned} \text{pKa } \text{KH}_2\text{PO}_4 &= 7,21 \\ 7 &= 7,21 + \log \frac{(50 \text{ mL} \times 0,2 \text{ mmol/mL})}{(V \text{ mL} \times 0,2 \text{ mmol/mL})} \end{aligned}$$

$$-0,21 = \log \frac{10}{0,2V}$$

$$0,616 = \frac{10}{0,2V}$$

$$V = 81,17 \text{ mL}$$

Lampiran 3. Alur Penelitian



Lampiran 4. Diagram Kerja Penelitian

L.4.1 Pembuatan spesimen poli(trimetilen-sebasat)

Serbuk poli(trimetilen-sebasat)

- dilelehkan pada temperatur 70-80 °C
- dibiarkan mengeras pada temperatur ruang
- dipotong kira-kira 1 x 1 cm
- disterilisasi dengan etanol 70 %
- disimpan dalam desikator dan ditimbang hingga diperoleh berat konstan

Spesimen poli(trimetilen-sebasat)

L.4.2 Pembuatan media biodegradasi

L.4.2.1 Pembuatan media padat agar miring

50 g Kentang

- dipotong kecil-kecil
- ditambah 200 mL akuades
- direbus selama 1 jam
- disaring

Filtrat

- ditambah dekstrosa 5 g sambil dipanaskan
- ditambah buffer sitrat fosfat pH 5
- ditambah agar 5 g sambil dipanaskan hingga mendidih
- dipipet 5 mL
- dimasukkan tabung reaksi lalu ditutup kapas
- disterilkan dengan autoklaf pada 121 °C, 15 psi selama 15 menit
- diletakkan dalam posisi miring
- dibiarkan mengeras hingga 24 jam pada temperatur ruang

Media padat

L.4.2.2 Peremajaan biakan

Kultur murni *R. oryzae*

- dipindah secara aseptis sebanyak 1 mata ose ke dalam tabung reaksi yang berisi media padat
- dibakar mulut tabung dengan api dari bunsen, kemudian ditutup dengan kapas
- diinkubasi selama 2 hari pada temperatur 37 °C

Biakan

L.4.2.3 Pembuatan media cair

Pepton 0,75 g, ekstrak yeast 2,5 g, NaCl 2,5 g, KH₂PO₄ 6,7 g, K₂HPO₄ 8,4 g, MgSO₄.7H₂O 0,25 g, larutan aktivator 0,5 mL

- dilarutkan dalam 350 mL akuades
- ditambah asam sitrat hingga pH 5
- ditambah akuades hingga volume 400 mL
- dituang 100 mL larutan ke dalam Erlenmeyer 250 mL dan 300 mL ke dalam Erlenmeyer 500 mL
- ditambah berturut-turut 0,025 g dan 0,075 g asam sebasat ke dalam Erlenmeyer 250 mL dan 500 mL
- disterilkan dalam autoklaf pada 121 °C, 15 psi selama 15 menit

Dektrosa 5 g

- dilarutkan dalam 50 mL akuades
- dituang 50 mL larutan ke dalam Erlenmeyer 100 mL
- ditutup kapas dan kertas dan disterilkan dalam autoklaf pada 121 °C, 15 psi selama 15 menit
- dicampurkan 50 mL larutan dektrosa ke dalam 100 mL larutan pertama

Media cair

L.4.2.4 Pembuatan inokulum *R. orizae*

Kapang dari media padat

- ditambah 10 mL akuades steril dan dikocok

Suspensi kapang

- dimasukkan dalam Erlenmeyer yang berisi 150 mL media cair
- diinkubasi pada temperatur kamar dengan pengocokan pada shaker dengan kecepatan 100 rpm selama 40 jam

Inokulum

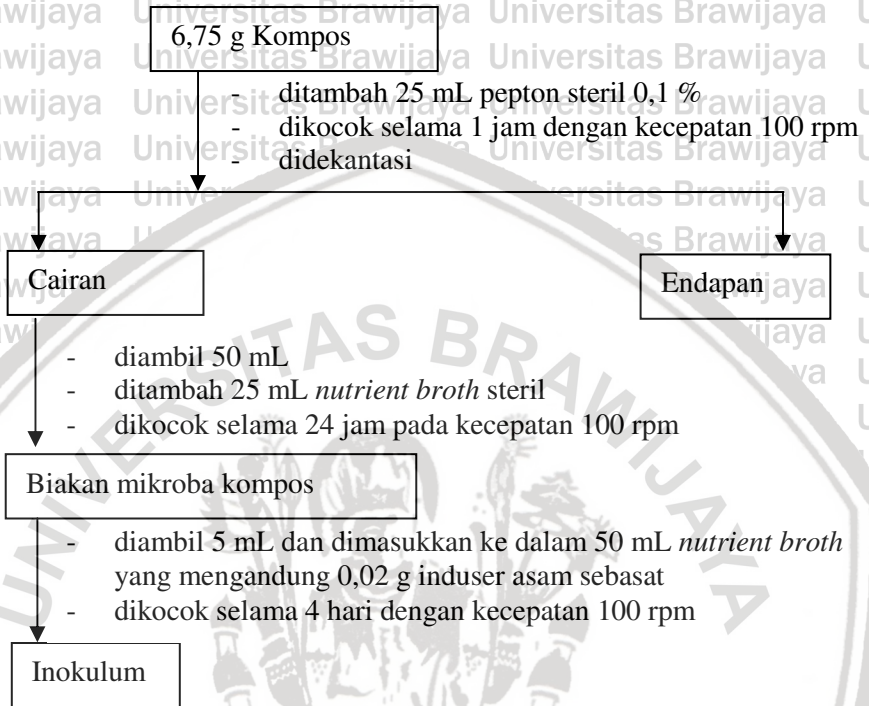
L.4.2.5 Pembuatan *nutrient broth*

7,5 g pepton, 1,5 g ekstrak yeast, 3 g NaCl, dan 0,5 g dekstrosa

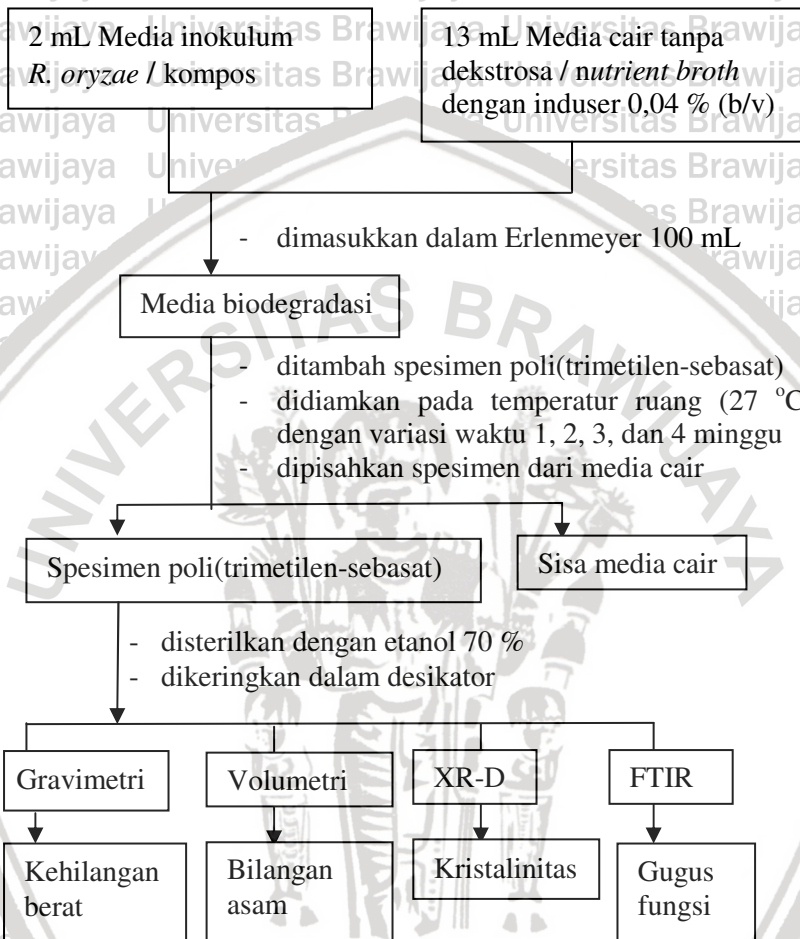
- dilarutkan dalam 460 mL akuades
- ditetapkan pH-nya hingga 7
- dipindahkan ke dalam labu ukur dan ditambah buffer pH 7 hingga tepat 500 mL
- dipipet 25 mL ke dalam Erlenmeyer
- disterilisasi selama 15 menit pada 121 °C 15 psi

Nutrient broth

L.4.2.6 Pembuatan inokulum kompos



L.4.3 Biodegradasi dalam media biodegradasi



L.4.4 Karakterisasi poli(trimetilen-sebasat)

L.4.4.1 Penentuan % kehilangan berat

Spesimen poli(trimetilen-sebasat)

- ditimbang spesimen sebelum biodegradasi
- ditimbang spesimen sesudah biodegradasi
- dihitung % kehilangan berat spesimen

% Kehilangan berat

L.4.4.2 Penentuan bilangan asam

Spesimen poli(trimetilen-sebasat)

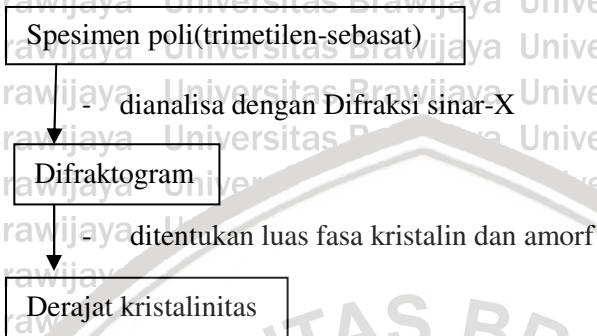
- dilarutkan 28 ± 6 mg dalam 10 mL campuran kloroform-metanol (1:1)
- ditambah indikator fenolftalein 0,1 %
- dititrasi dengan KOH alkoholis 0,0223 M
- dititrasi blangko campuran kloroform-metanol (1:1)

Volume KOH

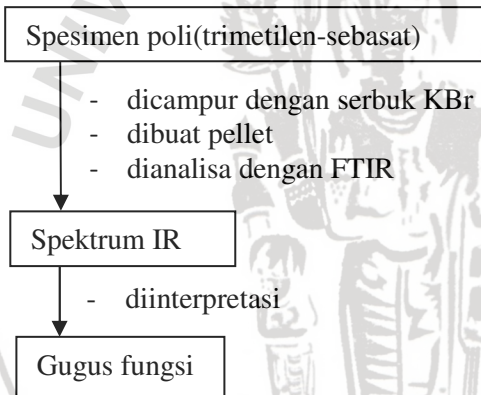
-dihitung bilangan asam

Bilangan asam

L.4.4.3 Penentuan derajat kristalinitas



L.4.4.4 Penentuan struktur kimia secara spektrofotometri FTIR



Lampiran 5. Penentuan % Kehilangan Berat

Tabel L.5.1 Kehilangan berat spesimen

Waktu (Minggu)	Berat Spesimen (x) dalam mg									
	Biodegradasi dengan <i>R. oryzae</i>					Biodegradasi dengan isolat kompos				
	sebelum	setelah	Δx	% Δx	% Δx	sebelum	setelah	Δx	% Δx	% Δx
1	86	78	8	9,30	8,76	117	110	7	5,98	4,85
	74	67	7	9,45		116	110	6	5,17	
	120	108	12	10		89	86	3	3,37	
	95	89	6	6,31		123	117	6	4,88	
2	110	96	14	12,73	10,71	125	118	7	5,60	5,36
	119	108	11	9,24		131	124	7	5,34	
	153	134	19	12,42		110	104	6	5,45	
	83	76	7	8,43		139	132	7	5,04	
3	94	77	17	18,08	15,30	117	110	7	5,98	6,41
	187	162	25	13,37		97	91	6	6,19	
	115	104	11	9,56		86	80	6	6,98	
	104	83	21	20,19		108	101	7	6,48	
4	81	66	15	18,52	19,05	104	98	6	5,77	6,17
	114	101	13	11,40*		118	111	7	5,93	
	127	103	24	18,89		79	74	5	6,33	
	76	61	15	19,74		120	112	8	6,67	

*)Data dibuang

Untuk menentukan apakah data akan dipakai atau dibuang, maka dilakukan uji Q
 Tabel L.5.2 Uji Q untuk penentuan data kehilangan berat

	<i>R. oryzae</i> 1	<i>R. oryzae</i> 2	<i>R. oryzae</i> 3	<i>R. oryzae</i> 4	Isolat Kompos 1	Isolat Kompos 3	Isolat Kompos 4
Stand. dev.	1,694	2,188	4,772	3,858	1,091	0,433	0,405
Selang kepercayaan (90,95,99)	95	95	95	95	95	95	95
Nilai yang Ditanyakan	6,31	8,43	9,56	11,40	3,37	6,98	6,67
Nilai terdekat dari yang ditanyakan	9,30	9,24	13,37	18,52	4,88	6,48	6,33
Nilai terjauh dari yang ditanyakan	10	12,73	20,19	19,74	5,98	5,98	5,77
Q hitung	0,810	0,188	0,358	0,854	0,578	0,500	0,378
Q tabel	0,829	0,829	0,829	0,829	0,829	0,829	0,829
Hasil	diterima	diterima	diterima	ditolak	diterima	diterima	diterima

$$Q_{hitung} = \frac{x_n - x_{n-1}}{x_n - x_1}$$

Di mana:

χ_n = Nilai yang ditanyakan

χ_{n-1} = Nilai terdekat dari yang ditanyakan

χ_1 = Nilai terjauh dari yang ditanyakan

Contoh:

Pada minggu ke-4 biodegradasi dengan menggunakan *R. oryzae*, apakah data % kehilangan berat 11,40 % harus di buang?

$$Q_{hitung} = \frac{x_n - x_{n-1}}{x_n - x_1} = \frac{11,40 - 18,52}{11,40 - 19,74} = 0,854$$

Karena $Q_{hitung} > Q_{tabel}$ maka data 11,40 % dibuang (*).



Lampiran 6. Penentuan Bilangan Asam

L.6.1 Pembakuan larutan KOH alkoholis 0,02 M dengan asam oksalat 0,02 M

Konsentrasi asam oksalat:

$$\frac{w_{\text{asam oksalat}}}{Mr_{\text{asam oksalat}}} = \frac{1,269 \text{ g}}{126,07 \text{ g/mol}} = 1,006 \times 10^{-3} \text{ mol}$$

$$M = \frac{1,006 \times 10^{-3} \text{ mol}}{50 \times 10^{-3} \text{ L}} = 0,0201 \text{ M}$$

Reaksi antara asam oksalat dengan KOH:



1 mol asam oksalat akan bereaksi dengan 2 mol KOH, sehingga:

$$\begin{aligned} M_{\text{KOH}} &= \frac{2 \times \text{vol. asam oksalat} \times [\text{asam oksalat}]}{\text{vol. KOH}} \\ &= \frac{2 \times 5 \text{ mL} \times 0,0201 \text{ M}}{9,02 \text{ mL}} = 0,0223 \text{ M} \end{aligned}$$

L.6.2 Menghitung berat rerata beserta standard deviasi sampel yang digunakan dalam penentuan bilangan asam

$$\bar{x} = \frac{(0,033 + 0,035 + \dots + 0,027 + 0,021)}{18} = 0,028$$

$$\text{Deviasi} = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$

$$D = \sqrt{\frac{1}{18-1} (0,033-0,027)^2 + (0,35-0,027)^2 + \dots + (0,027-0,027)^2 + (0,021-0,027)^2}$$
$$D = 0,006$$

Berat sampel dalam penentuan bilangan asam adalah $0,028 \pm 0,006 \text{ g}$.

L.6.3 Persamaan bilangan asam

$$\text{Bilangan Asam} = \frac{(V_{\text{KOH Sampel}} - V_{\text{KOH Blanko}}) \times [\text{KOH}] \times \text{Mr}_{\text{KOH}}}{\text{Massa Sampel}}$$

Contoh perhitungan:

Penentuan bilangan asam pada minggu pertama biodegradasi kompos dengan volume KOH sampel 0,32 mL, volume KOH blanko 0,21 mL dan massa sampel 0,024 g adalah

$$\begin{aligned} \text{Bilangan Asam} &= \frac{(0,32 - 0,21) \text{ mL} \times 0,0223 \frac{\text{mmol}}{\text{mL}} \times 56,1 \text{ mg/mmol}}{0,024 \text{ g}} \\ &= 5,734 \text{ mg KOH/g} \end{aligned}$$

Ket : [KOH] yang digunakan adalah 0,0223 M kecuali pada *R. oryzae* minggu ke-3 menggunakan [KOH] = 0,016 M



Tabel L.6.3.1 Bilangan asam poli(trimetilen-sebasat) (mg KOH/g) dalam variasi waktu biodegradasi untuk penentuan waktu biodegradasi optimum

Mikroba	Keterangan	Minggu 0		Minggu I		Minggu II		Minggu III		Minggu IV	
Isolat Kompos	V.KOH _{sample} (mL)	0,48	0,482	0,32	0,27	0,36	0,38	0,31	0,35	0,37	0,36
	V.KOH _{blanko} (mL)	0,2		0,21		0,18		0,19		0,19	
	Massa sampel (g)	0,033	0,035	0,024	0,02	0,03	0,026	0,03	0,027	0,036	0,035
	Bilangan asam (x)	10,615	10,080	5,734	3,753	7,506	9,623	5,004	7,414	6,255	6,076
	\bar{x}	10,347		4,743		8,565		6,209		6,166	
	Standard deviasi	0,378		1,401		1,497		1,704		0,126	
<i>R. oryzae</i>	V.KOH _{sample} (mL)	0,48	0,482	0,3	0,34	0,36	0,36	0,8	0,76	0,38	0,36
	V.KOH _{blanko} (mL)	0,2		0,19	0,21	0,18		0,36		0,19	
	Massa sampel (g)	0,033	0,035	0,015	0,021	0,026	0,025	0,031	0,028	0,027	0,021
	Bilangan asam (x)	10,615	10,080	9,174	7,744	8,661	9,007	12,740	12,823	8,804	10,127
	\bar{x}	10,347		8,459		8,834		12,781		9,465	
	Standard deviasi	0,378		1,011		0,245		0,058		0,936	

L.6.4 Uji statistik terhadap bilangan asam poli(trimetilen-sebasat)

Untuk mengetahui pengaruh variasi waktu biodegradasi terhadap bilangan asam poli(trimetilen-sebasat) maka harus dianalisis dengan menggunakan pola RAL sebagai berikut:

Tabel L.6.4.1 Pengaruh variasi waktu biodegradasi terhadap bilangan asam poli(trimetilen-sebasat) dengan menggunakan *R. oryzae*

Waktu (Minggu)	Bilangan Asam (mg KOH/g)		Rerata (mg KOH/g)
	I	II	
0	10,615	10,080	10,347
1	9,174	7,744	8,459
2	8,661	9,007	8,834
3	12,740	12,021	12,381
4	8,804	10,127	9,465

Untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh tiap-tiap perlakuan, maka dilakukan uji F dengan langkah-langkah sebagai berikut:

1. Menghitung Faktor Korelasi (FK)

$$\begin{aligned} \text{FK} &= \frac{\left[\sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^n Y_{ij} \right]^2}{np} \\ &= \frac{(10,615 + \dots + 10,127)^2}{2 \times 5} = 979,587 \end{aligned}$$

2. Menghitung Jumlah Kuadrat (JK)

$$\begin{aligned} \text{a. JK total} &= \left[\sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^n (Y_{ij})^2 \right] - \text{FK} \\ &= (10,615^2 + \dots + 10,127^2) - 979,587 \\ &= 21,869 \end{aligned}$$

$$b. JK_{\text{perlakuan}} (JK_p) = \frac{\left[\sum_{i=1}^p \left(\sum_{j=1}^n Y_{ij} \right)^2 \right]}{n_1} - FK$$

$$= (20,695^2 + \dots + 18,931^2) / 2 - 979,587$$

$$= 19,509$$

$$c. JK_{\text{galat percobaan}} (JK_G) = JK_{\text{total}} - JK_{\text{perlakuan}}$$

$$= 21,869 - 19,509$$

$$= 2,360$$

3. Menghitung kuadrat tengah (KT) setiap sumber karagaman

$$a. \text{Kuadrat Tengah}_{\text{perlakuan}} (KT_p) = \frac{JK_p}{db_{\text{perlakuan}}}$$

$$= \frac{19,509}{4}$$

$$= 4,877$$

$$b. \text{Kuadrat Tengah}_{\text{galat percobaan}} (KT_G) = \frac{JK_{GP}}{db_{\text{percobaan}}}$$

$$= \frac{2,360}{5}$$

$$= 0,472$$

4. Menghitung nilai F

$$F_{\text{hitung}} = \frac{KT_p}{KT_G} = \frac{4,877}{0,472}$$

$$= 10,344$$

Keterangan: Y_{ij} = bilangan asam poli(trimetilen-sebasat)
 P = banyaknya percobaan
 n = banyaknya ulangan

Untuk mengetahui perbedaan nyata tiap perlakuan, maka dibuat hipotesis nol statistik (H_0) dan hipotesis alternatif (H_1) sebagai berikut:

$$H_0 : P_1 = P_2 = P_3 = P$$

$$H_1 : P_1 \neq P_2 \neq P_3 \neq P$$

Selanjutnya dibuat tabel analisis varian satu arah sebagai berikut :

Tabel L.6.4.2 Analisis ragam pengaruh variasi waktu biodegradasi terhadap bilangan asam poli(trimetilen-sebasat) dengan menggunakan *R. oryzae*

Sumber	db	JK	KT	F _{hitung}	F _{tabel}
Perlakuan	4	19,509	4,877	10,344	5,19
Galat	5	2,360	0,472		
Total	9	21,869			

Berdasarkan Tabel L.6.4.2 diperoleh bahwa $F_{hitung} > F_{tabel}$ maka H_0 ditolak, berarti ada perbedaan nyata antar perlakuan, yaitu lima perlakuan waktu biodegradasi pada Tabel L.6.4.1 berpengaruh terhadap bilangan asam.

5 Menghitung nilai BNT 5 %

Untuk mengetahui perlakuan mana saja yang berpengaruh terhadap bilangan asam dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan $\alpha = 0,05$

$$\begin{aligned}
 BNT(\alpha) &= t_{\alpha/2, dbg} \sqrt{\frac{2 KTgalat}{n}} \\
 &= 2,571 \sqrt{\frac{2 \times (0,472)}{2}} \\
 &= 1,766
 \end{aligned}$$

Tabel L.6.4.3 Hasil uji BNT 5 % pengaruh variasi waktu biodegradasi terhadap bilangan asam poli(trimetilen-sebasat) dengan menggunakan *R. oryzae*

Waktu (Minggu)	0	1	2	3	4
Rataan	10,347	8,459	8,834	12,381	9,465
0	10,347	0			
1	8,459	1,888 b	0		
2	8,834	1,513 a	0,375 a	0	
3	12,381	2,034 b	3,921 b	3,547 b	0
4	9,465	0,882 a	1,006 a	0,631 a	2,915 b
					0

Selanjutnya, selisih dua nilai rata-rata tersebut dibandingkan dengan nilai BNT (5 %), jika nilainya lebih besar dari nilai BNT (5 %), maka terdapat perbedaan pengaruh yang sangat nyata dari setiap perlakuan. Pada Tabel L.6.4.3 diberi simbol :

- a = tidak berbeda nyata
- b = berbeda nyata

Hasil analisa biodegradasi menggunakan *R. oryzae* menunjukkan bahwa:

- perubahan bilangan asam minggu ke-0 dan ke-1 berbeda nyata
- perubahan bilangan asam minggu ke-1 dan ke-2 tidak berbeda nyata
- perubahan bilangan asam minggu ke-2 dan ke-3 berbeda nyata
- perubahan bilangan asam minggu ke-3 dan ke-4 berbeda nyata

Tabel L.6.4.4 Pengaruh variasi waktu biodegradasi terhadap bilangan asam poli(trimetilen-sebasat) dengan menggunakan isolat kompos

Waktu (Minggu)	Bilangan Asam (mg KOH/g)		Rerata (mg KOH/g)
	I	II	
0	10,615	10,080	10,347
1	5,734	3,753	4,743
2	7,506	9,623	8,565
3	5,004	7,414	6,209
4	6,255	6,076	6,166

FK	519,267
JKT	46,973
JKP	39,708
JKG	7,265
KTP	9,927
KTG	1,453
F _{hitung}	6,832
F _{tabel}	5,19
BNT 5 %	3,099

Tabel L.6.4.5 Hasil uji BNT 5 % pengaruh variasi waktu biodegradasi terhadap bilangan asam poli(trimetilen-sebasat) dengan menggunakan isolat kompos

Waktu	(Minggu)	0	1	2	3	4
	Rataan	10,347	4,743	8,565	6,209	6,166
0	10,347	0				
1	4,743	5,604 b	0			
2	8,565	1,782 a	3,822 b	0		
3	6,209	4,138 b	1,466 a	2,356 a	0	
4	6,166	4,181 b	1,423 a	2,399 a	0,043 a	0

Hasil analisa biodegradasi menggunakan isolat kompos menunjukkan bahwa:

- perubahan bilangan asam minggu ke-0 dan ke-1 berbeda nyata
- perubahan bilangan asam minggu ke-1 dan ke-2 berbeda nyata
- perubahan bilangan asam minggu ke-2 dan ke-3 tidak berbeda nyata
- perubahan bilangan asam minggu ke-3 dan ke-4 tidak berbeda nyata

Tabel L.6.4.6 Berat molekul rata-rata jumlah poli(trimetilen-sebasat)

Waktu (Minggu)	<i>R. oryzae</i>		Isolat Kompos	
	Bil. Asam (mg KOH/g)	Mn (g/mol)	Bil. Asam (mg KOH/g)	Mn (g/mol)
0	10,347	10.844	10,347	10.844
1	8,459	13.264	4,743	23.656
2	8,834	12.701	8,565	13.100
3	12,381	9.062	6,209	18.071
4	9,465	11.854	6,166	18.197

ket:

$$\text{Berat molekul} = \frac{n \times 10^3 \text{ mg/g} \times 56,1 \text{ g/mol}}{\text{bil. asam (mg KOH/g)}}$$

n = 2, jumlah gugus ujung yang dapat ditentukan pada tiap 1 makromolekul.

L.6.5 Uji statistik terhadap berat molekul rata-rata jumlah (Mn) poli(trimetilen-sebasat)

Tabel L.6.5.1 Pengaruh variasi waktu biodegradasi terhadap berat molekul rata-rata jumlah (Mn) poli(trimetilen-sebasat) dengan menggunakan *R. oryzae*

Waktu (Minggu)	Mn (g/mol)		Rerata (g/mol)
	I	II	
0	10.417	10.989	10.703
1	12.195	14.493	13.344
2	12.987	12.422	12.705
3	8.811	8.734	8.772
4	12.739	11.050	11.894

FK	1.318.723.819,362
JKT	30.557.105,916
JKP	26.164.804,732
JKG	4.392.301,184
KTP	6.541.201,183
KTG	878.460,237
F _{hitung}	7,446
F _{tabel}	5,19
BNT 5 %	2.409,701

Tabel L.6.5.2 Hasil uji BNT 5 % pengaruh variasi waktu biodegradasi terhadap berat molekul rata-rata jumlah (Mn) poli(trimetilen-sebasat) dengan menggunakan *R. oryzae*

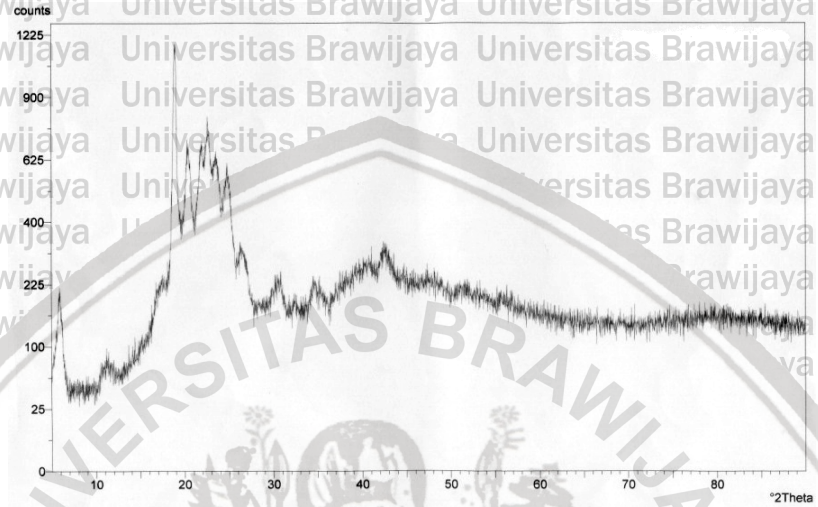
Waktu (Minggu)	Rataan	0	1	2	3	4
		0	10.703	0		
1	13.344	2.641 b	0			
2	12.705	2.002 a	639 a	0		
3	8.772	1.931 a	4.572 b	3.933 b	0	
4	11.894	1.191 a	1.450 a	811 a	3.122 b	0

Tabel L.6.5.3 Pengaruh variasi waktu biodegradasi terhadap berat molekul rata-rata jumlah (Mn) poli(trimetilen-sebasat) dengan menggunakan isolat kompos

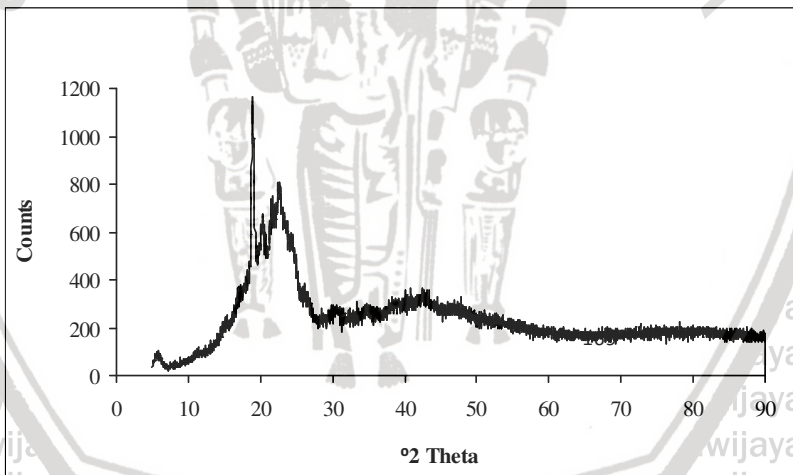
Waktu (Minggu)	Mn (g/mol)		Rerata (g /mol)
	I	II	
0	10.417	10.989	10.703
1	19.608	18.868	19.238
2	14.925	11.696	13.310,5
3	22.472	15.152	18.812
4	18.018	18.518	18.268

FK	2.581.259.957
JKT	150.177.718
JKP	117.610.905,5
JKG	32.566.812,5
KTP	29.402.726,375
KTG	6.513.362,5
F _{hitung}	4,5142
F _{tabel}	5,19
BNT 5 %	6561,52

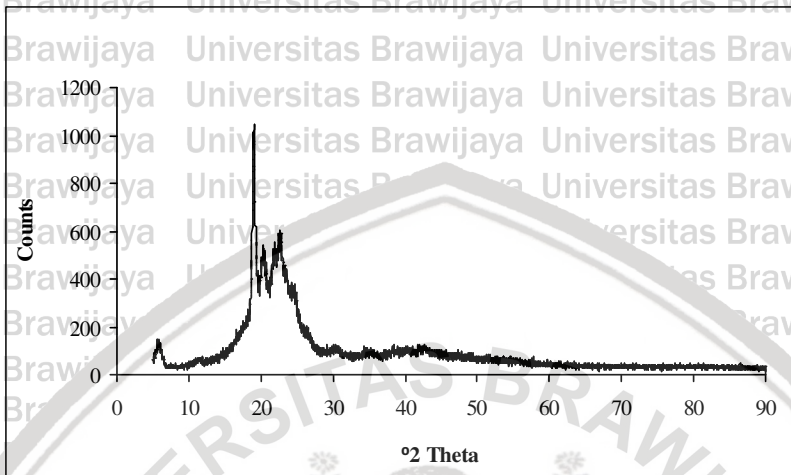
Lampiran 7. Difraktogram Sinar-X Poli(trimetilen-sebasat)



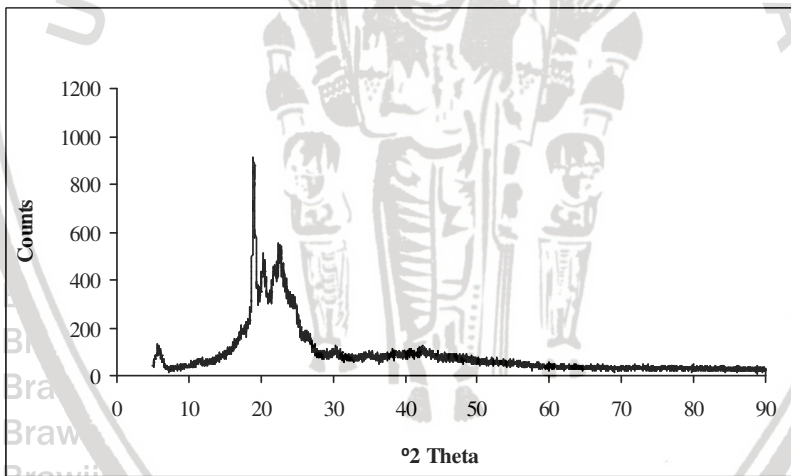
Gambar L.7.1 Difraktogram sebelum biodegradasi



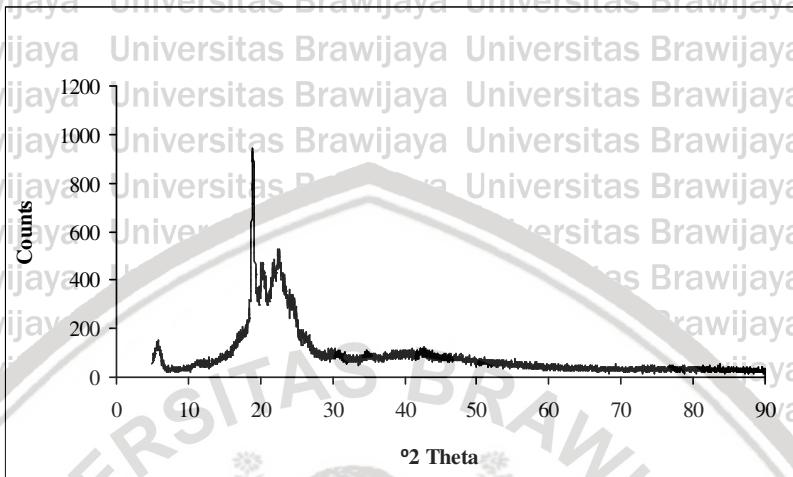
Gambar L.7.2 Difraktogram setelah 1 minggu biodegradasi menggunakan *R. oryzae*



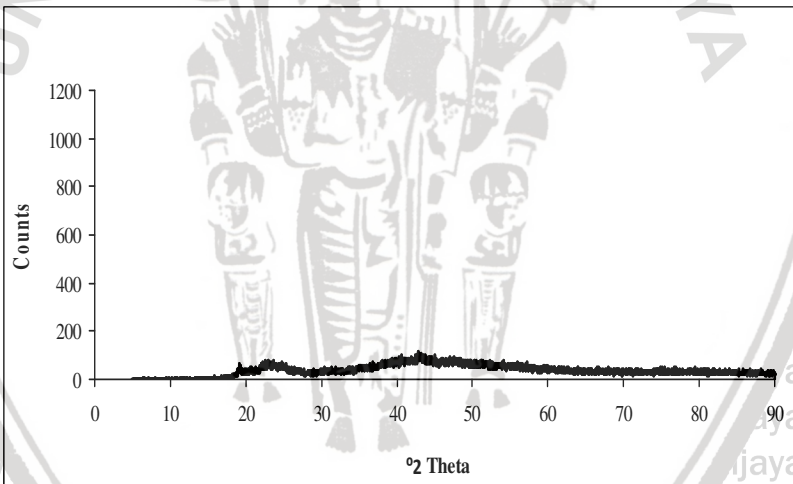
Gambar L.7.3 Difraktogram setelah 2 minggu biodegradasi menggunakan *R. oryzae*



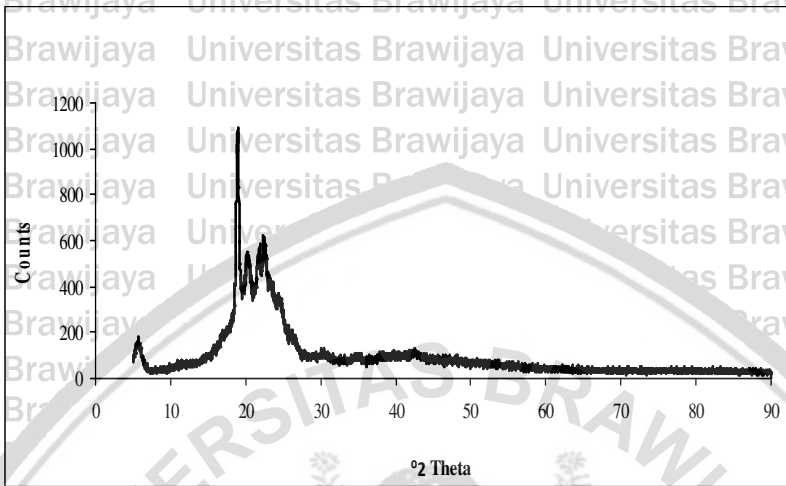
Gambar L.7.4 Difraktogram setelah 3 minggu biodegradasi menggunakan *R. oryzae*



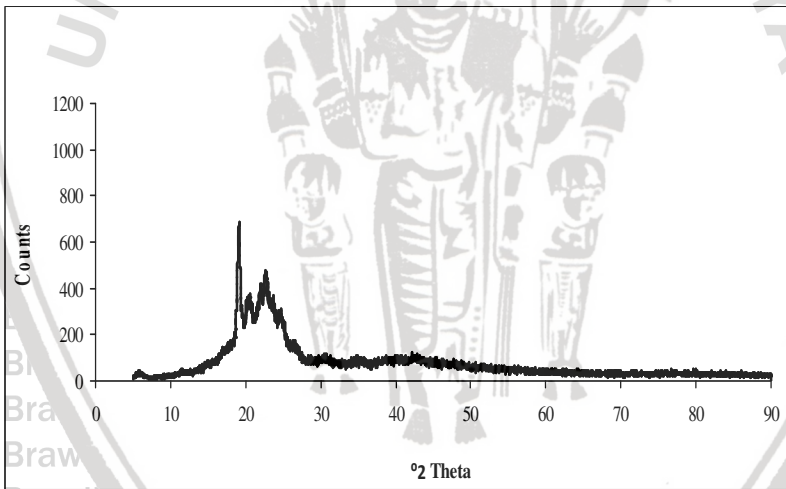
Gambar L.7.5 Difraktogram setelah 4 minggu biodegradasi menggunakan *R. oryzae*



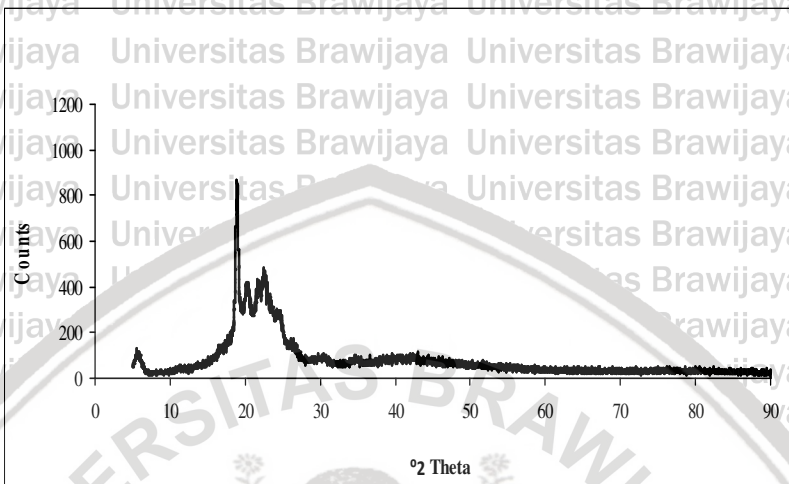
Gambar L.7.6 Difraktogram setelah 1 minggu biodegradasi menggunakan isolat kompos



Gambar L.7.7 Difraktogram setelah 2 minggu biodegradasi menggunakan isolat kompos



Gambar L.7.8 Difraktogram setelah 3 minggu biodegradasi menggunakan isolat kompos



Gambar L.7.9 Difraktogram setelah 4 minggu biodegradasi menggunakan isolat kompos

Tabel L.7.1 Kristalinitas poli(trimetilen-sebasat) dengan *R. oryzae*

Waktu (Minggu)	Luas total Difraktogram	Luas Fasa Kristalin	% Kristalinitas	Rataan (%)
0	0,485	0,147	30,31	30,40
	0,479	0,146	30,48	
	0,477	0,145	30,40	
1	0,201	0,100	28,90	28,87
	0,201	0,100	28,82	
	0,201	0,100	28,90	
2	0,180	0,077	38,31	38,64
	0,180	0,078	38,81	
	0,180	0,078	38,81	
3	0,174	0,066	36,67	37,04
	0,174	0,067	37,22	
	0,173	0,067	37,22	
4	0,069	0,066	37,93	38,00
	0,069	0,066	37,93	
	0,069	0,066	38,15	

Tabel L.7.2 Pengaruh variasi waktu biodegradasi terhadap kristalinitas poli(trimetilen-sebasat) dengan menggunakan *R. oryzae*

Waktu (Minggu)	Kristalinitas (%)			Rerata (%)	Std. Dev.
	I	II	III		
0	30,31	30,48	30,40	30,40	0,08
1	28,90	28,82	28,90	28,87	0,05
2	38,31	38,81	38,81	38,64	0,29
3	36,67	37,22	37,22	37,04	0,31
4	37,93	37,93	38,15	38,00	0,13

FK	17.947,7133
JKT	253,4119
JKP	252,9926
JKG	0,4193
KTP	63,2481
KTG	0,0419
F _{hitung}	1.509,5012
F _{tabel}	3,4800
BNT 5%	0,3724

Tabel L.7.3 Hasil uji BNT 5 % pengaruh variasi waktu biodegradasi terhadap kristalinitas poli(trimetilen-sebasat) dengan menggunakan *R. oryzae*

Waktu (Minggu)	0	1	2	3	4	
	Rataan	30,40	28,87	38,64	37,04	38,00
0	30,40	0				
1	28,87	1,53 b	0			
2	38,64	8,24 b	9,77 b	0		
3	37,04	6,64 b	8,17 b	1,60 b	0	
4	38,00	7,60 b	9,13 b	0,64 b	0,96 b	0

Tabel L.7.4 Kristalinitas poli(trimetilen-sebasat) dengan isolat kompos

Waktu (Minggu)	Luas total Difraktogram	Luas Fasa Kristalin	% Kristalinitas	Rataan (%)
0	0,485	0,147	30,31	30,40
	0,479	0,146	30,48	
	0,477	0,145	30,40	
1	0,069	0,005	7,25	7,73
	0,069	0,006	8,69	
	0,069	0,005	7,25	
2	0,195	0,079	40,51	40,51
	0,195	0,079	40,51	
	0,195	0,079	40,51	
3	0,173	0,054	31,21	31,09
	0,174	0,054	31,03	
	0,174	0,054	31,03	
4	0,188	0,068	36,17	36,23
	0,187	0,068	36,36	
	0,188	0,068	36,17	

Tabel L.7.5 Pengaruh variasi waktu biodegradasi terhadap kristalinitas poli(trimetilen-sebasat) dengan menggunakan isolat kompos

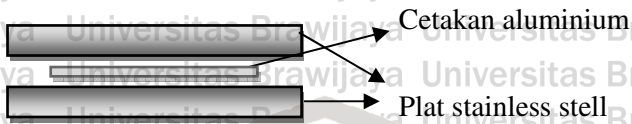
Waktu (Minggu)	Kristalinitas (%)			Rerata (%)	Std. Dev.
	I	II	III		
0	30,31	30,48	30,40	30,40	0,08
1	7,25	8,69	7,25	7,73	0,83
2	40,51	40,51	40,51	40,51	0,00
3	31,21	31,03	31,03	31,09	0,10
4	36,17	36,36	36,17	36,23	0,11

FK	12.782,5930
JKT	1.931,4882
JKP	1.930,0457
JKG	1,4425
KTP	482,5114
KTG	0,1442
F _{hitung}	3.346,1262
F _{tabel}	3,48
BNT 5 %	0,6908

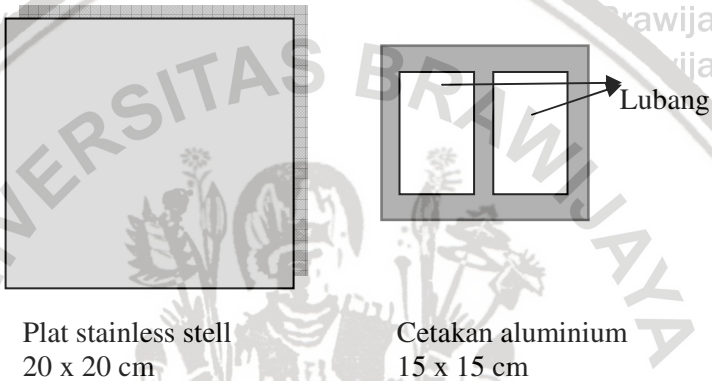
Tabel L.7.6 Hasil uji BNT 5% pengaruh variasi waktu biodegradasi terhadap kristalinitas poli(trimetilen-sebasat) dengan menggunakan isolat kompos

Waktu (Minggu)	0					
	Rataan	30,4	7,73	40,51	31,09	36,23
0	30,4	0				
1	7,73	22,67 b	0			
2	40,51	10,11 b	32,78 b	0		
3	31,09	0,69 b	23,36 b	9,42 b	0	
4	36,23	5,83 b	28,5 b	4,28 b	5,14 b	0

Lampiran 8. Skema/Diagram Alat Pencetak Spesimen



Gambar L.8.1 Alat pencetak spesimen tampak samping



Gambar L.8.2 Alat pencetak spesimen tampak atas