

**BIODEGRADASI POLI(TRIMETILEN-SEBASAT) DALAM MEDIA
CAIR YANG MENGANDUNG *Mucor miehei***

SKRIPSI

oleh :

ENDANG CIPTAWATI

0510920021-92

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2009**

**BIODEGRADASI POLI(TRIMETILEN-SEBASAT) DALAM MEDIA
CAIR YANG MENGANDUNG *Mucor miehei***

SKRIPSI

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

oleh :

ENDANG CIPTAWATI
0510920021-92

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2009

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

BIODEGRADASI POLI(TRIMETILEN-SEBASAT) DALAM MEDIA CAIR YANG MENGANDUNG *Mucor miehei*

oleh :

ENDANG CIPTAWATI
0510920021-92

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. 131 960 436

Dra. Anna Roosdiana, M.App.Sc
NIP. 132 000 070

Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia
Fakultas MIPA Universitas Brawijaya

Dr. Sasangka Prasetyawan, MS
NIP. 131 653 134

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Endang Ciptawati

NIM : 0510920021-92

Jurusan : Kimia

Penulis skripsi berjudul :

**BIODEGRADASI POLI(TRIMETILEN-SEBASAT) DALAM
MEDIA CAIR YANG MENGANDUNG *Mucor miehei***

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, Maret 2009

Yang menyatakan,

Endang Ciptawati

NIM. 0510920021-92



**BIODEGRADASI POLI(TRIMETILEN-SEBASAT) DALAM
MEDIA CAIR YANG MENGANDUNG *Mucor miehei***

ABSTRAK

Poli(trimetilen-sebasat) sebagai hasil sintesis dari sumber monomer minyak jarak kepyar dan gliserol, merupakan poliester alifatik dengan struktur linier yang dimungkinkan dapat dibiodegradasi. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan seberapa besar pengurangan massa spesimen poli(trimetilen-sebasat) yang dibiodegradasi dengan menggunakan *Mucor miehei* dalam media cair dibandingkan dengan isolat kompos dan menentukan perubahan karakteristiknya. Biodegradasi dilakukan terhadap spesimen tipis berukuran 10 x 10 x 1 mm dengan variasi waktu 1, 2, 3, dan 4 minggu pada pH 5 dan temperatur ruang. Karakteristik setelah degradasi ditentukan berdasarkan perkiraan berat molekul melalui penentuan bilangan asam dan bilangan penyabunan. Perubahan karakter juga didukung dengan penentuan derajat kristalinitas serta gugus fungsi hasil analisis FTIR. Hasil penelitian menunjukkan bahwa biodegradasi menggunakan *Mucor miehei* dan isolat kompos, menyebabkan massa spesimen poli(trimetilen-sebasat) berkurang dan mencapai nilai maksimum berturut-turut sebesar 8,73% dan 6,41%. Setelah proses biodegradasi bilangan asam dan derajat kristalinitas menurun pada minggu pertama. Nilai maksimum derajat kristalinitas dan kenaikan bilangan penyabunan pada biodegradasi menggunakan *Mucor miehei* berturut-turut adalah 12,82% dan 12,96%, sedangkan biodegradasi menggunakan isolat kompos, derajat kristalinitas dan kenaikan bilangan penyabunan mencapai maksimum berturut-turut sebesar 36,59% dan 26,59%. Analisis spektrum FTIR setelah biodegradasi baik menggunakan *Mucor miehei* maupun isolat kompos menunjukkan adanya gugus fungsi hidroksil.

Kata kunci : Poli(trimetilen-sebasat), biodegradasi, *Mucor miehei*

repository.ub.ac

**BIODEGRADATION POLY(TRIMETHYLENE-SEBACATE)
IN THE LIQUID MEDIUM CONTAINING *Mucor miehei***

ABSTRACT

Poly(trimethylene-sebacate), a linear aliphatic polyester synthesized from raw material resources of castor oil and glycerol monomers was considered as biodegradable polymer. The aim of this research were to determine the reduction of mass value of biodegraded poly(trimethylene-sebacate) specimen using *Mucor miehei* in liquid media that compared to compost isolate and to determine the characteristic of biodegraded poly(trimethylene-sebacate). Biodegradation was conducted to the specimens with a 10 x 10 x 1 mm of size for 1, 2, 3, and 4 weeks at pH 5 and room temperature. The characteristic of biodegraded poly(trimethylene-sebacate) was evaluated by its molecular weight, based on the acid and the saponification numbers. In addition, the degree of crystallinity and functional groups of FTIR spectrum were also determined. The results showed that after biodegradation using *Mucor miehei* and compost isolate, the mass was reduced with the maximum value of 8.73% and 6.41% respectively. The acid number and degree of crystallinity of biodegraded poly(trimethylene-sebacate) decreased at 1 week. The degree of crystallinity and saponification number of biodegraded poly(trimethylene-sebacate) using *Mucor miehei* reach maximum value of 12.82% and 12.96% respectively. Whereas, the degree of crystallinity and saponification number of biodegraded poly(trimethylene-sebacate) in compost isolate reach maximum value of 36.59% and 26.59% respectively. According to FTIR spectrum, the hydroxyl functional groups appeared after biodegradation.

Keywords: Poly(trimethylen-sebacate), biodegradation, *Mucor miehei*.

KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi berjudul **Biodegradasi Poli(trimetilen-sebasat) dalam Media Cair yang Mengandung *Mucor miehei***. Maksud dan tujuan penulisan skripsi ini adalah sebagai syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains dalam bidang Ilmu Kimia.

Penulisan skripsi ini tidak lepas dari bantuan banyak pihak baik secara langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terimakasih 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. Hermin Sulistyarti, selaku Dosen Penasehat Akademik dan dosen penguji yang telah memberikan arahan, saran, dan bimbingan kepada penulis selama menempuh studi.
3. Drs. Sutrisno, M.Si, Dra. Tutik Setianingsih, M.Si, dan M. Farid Rahman, S.Si, M.Si selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran dalam perbaikan tugas akhir ini.
4. Dr. Sasangka Prasetyawan, MS, selaku Ketua Jurusan Kimia Universitas Brawijaya.
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.
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, Maret 2009

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
ABSTRAK/ABSTRACT	iv
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan Penelitian	3
1.5 Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Polimer Biodegradabel	4
2.2 Enzim Lipase	8
2.3 <i>Mucor miehei</i>	9
2.4 Media Pertumbuhan Mikroba	11
2.5 Karakterisasi	12
2.5.1 Bilangan Asam	12
2.5.2 Bilangan Penyabunan	12
2.5.3 Derajat Kristalinitas	13
2.5.4 Spektroskopi Inframerah	15
2.6 Hipotesis	16
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	18
3.2 Bahan dan Alat Penelitian.....	18
3.2.1 Sampel Penelitian	18
3.2.2 Bahan Penelitian	18
3.2.3 Alat Penelitian	18
3.3 Tahapan Penelitian	19
3.4 Cara Kerja Penelitian.....	19

3.4.1 Biodegradasi poli(trimetilen-sebasat) sintetik	
hasil pemurnian	19
1. pembuatan spesimen poli(trimetilen-sebasat)	
sintetik.....	19
2. pembuatan media padat.....	20
3. peremajaan biakan murni <i>Mucor miehei</i>	20
4. pembuatan media cair	20
5. pembuatan media produksi (inokulum)	
<i>Mucor miehei</i>	21
6. pembuatan media biodegradasi yang	
mengandung <i>Mucor miehei</i>	21
7. pembuatan <i>nutrient broth</i>	21
8. pembuatan media biodegradasi yang	
mengandung isolat kompos.....	21
9. biodegradasi dalam media cair.....	22
3.4.2 Karakterisasi poli(trimetilen-sebasat) hasil	
biodegradasi.....	22
1. penentuan perubahan massa.....	22
2. penentuan bilangan asam	22
3. penentuan bilangan penyabunan	23
4. penentuan derajat kristalinitas.....	23
5. penentuan struktur kimia secara FTIR	24
3.5 Analisis Data.....	24

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Biodegradasi Poli(trimetilen-sebasat)	25
4.2 Penurunan Massa Spesimen	25
4.3 Penentuan Bilangan Asam	27
4.4 Penentuan Bilangan Penyabunan	29
4.5 Penentuan Derajat Kristalinitas	31
4.6 Penentuan Gugus Fungsi	33

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan	35
5.2 Saran	35

DAFTAR PUSTAKA	36
LAMPIRAN	40

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1	Reaksi pembentukan poli(trimetilen-sebasat) dari 1,3-propanadiol dan asam sebasat..... 6
Gambar 2.2	Hidrolisis poliester-poliuretan..... 7
Gambar 2.3	Kurva pertumbuhan mikroba 10
Gambar 2.4	Polimer semikristalin..... 13
Gambar 2.5	Struktur <i>spherullite</i> 13
Gambar 2.6	Difraksi sinar-X dalam kristal 14
Gambar 2.7	Hamburan fasa amorf dan kristalin dari polimer..... 15
Gambar 2.8	Spektrum FTIR asam adipat..... 16
Gambar 4.1	Pengurangan massa spesimen Poli(trimetilen-sebasat)..... 26
Gambar 4.2	Bilangan asam poli(trimetilen-sebasat) 27
Gambar 4.3	Berat molekul rata-rata jumlah poli(trimetilen-sebasat)..... 28
Gambar 4.4	Bilangan penyabunan poli(trimetilen-sebasat)..... 29
Gambar 4.5	Mekanisme 1,3-propanadiol sebagai sumber energi..... 30
Gambar 4.6	Mekanisme reaksi penyabunan 31
Gambar 4.7	Derajat kristalinitas Poli(trimetilen-sebasat) 32
Gambar 4.8	Spektra IR Poli(trimetilen-sebasat) 33
Gambar L.4.1	Difraktogram sebelum biodegradasi 59
Gambar L.4.2	Difraktogram setelah 1 minggu degradasi menggunakan <i>Mucor miehei</i> 59
Gambar L.4.3	Difraktogram setelah 2 minggu degradasi menggunakan <i>Mucor miehei</i> 60
Gambar L.4.4	Difraktogram setelah 3 minggu degradasi menggunakan <i>Mucor miehei</i> 60
Gambar L.4.5	Difraktogram setelah 4 minggu degradasi menggunakan <i>Mucor miehei</i> 61
Gambar L.4.6	Difraktogram setelah 1 minggu degradasi menggunakan mikroba kompos 61
Gambar L.4.7	Difraktogram setelah 2 minggu degradasi menggunakan mikroba kompos 62
Gambar L.4.8	Difraktogram setelah 3 minggu degradasi menggunakan mikroba kompos 62
Gambar L.4.9	Difraktogram setelah 4 minggu degradasi menggunakan mikroba kompos 63

Gambar L.5.1	Spektrum FTIR sebelum biodegradasi	64
Gambar L.5.2	Spektrum FTIR setelah 3 minggu degradasi menggunakan <i>Mucor miehei</i>	64
Gambar L.5.3	Spektrum FTIR setelah 2 minggu degradasi menggunakan isolat kompos	65
Gambar L.6.1	Alat pencetak spesimen	66



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel L.3.1	Pengurangan massa spesimen45
Tabel L.3.2	Uji Q.....46
Tabel L.3.3	Data bilangan asam pada degradasi menggunakan <i>Mucor miehei</i>47
Tabel L.3.4	Analisis varian bilangan asam pada degradasi menggunakan <i>Mucor miehei</i>48
Tabel L.3.5	Selisih dua nilai rata-rata bilangan asam pada degradasi menggunakan <i>Mucor miehei</i>49
Tabel L.3.6	Data bilangan asam pada degradasi menggunakan isolat kompos.....49
Tabel L.3.7	Analisis varian bilangan asam pada degradasi menggunakan isolat kompos.....51
Tabel L.3.8	Selisih dua nilai rata-rata bilangan asam pada degradasi menggunakan isolat kompos51
Tabel L.3.9	Berat molekul rata-rata jumlah poli(trimetilen- sebasat)53
Tabel L.3.10	Data M_n pada degradasi menggunakan <i>Mucor</i> <i>miehei</i>53
Tabel L.3.11	Analisis varian M_n pada degradasi menggunakan <i>Mucor miehei</i>54
Tabel L.3.12	Data M_n pada degradasi menggunakan isolat kompos55
Tabel L.3.13	Analisis varian M_n pada degradasi menggunakan isolat kompos56
Tabel L.3.14	Bilangan asam57
Tabel L.3.15	Bilangan penyabunan58
Tabel L.4	Hasil perhitungan derajat kristalinitas.....63

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1	Diagram Alir Penelitian40
Lampiran 2	Preparasi dan Pembakuan Larutan41
Lampiran 3	Pengolahan Data Hasil Penelitian45
Lampiran 4	Difraktogram Sinar-X Poli(trimetilen-sebasat)59
Lampiran 5	Spektrum FTIR Poli(trimetilen-sebasat)64
Lampiran 6	Gambar Alat Pencetak Spesimen66

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Material plastik banyak digunakan karena mempunyai sifat unggul seperti ringan, memiliki kestabilan mekanik, termal, daya tahan yang tinggi dengan harga relatif murah, sehingga terjangkau oleh berbagai kalangan masyarakat. Selain sifat unggul, plastik mempunyai sifat kurang menguntungkan, karena sulit terurai oleh lingkungan, baik oleh hujan, sinar matahari, ataupun mikroba yang hidup dalam tanah, sehingga mengakibatkan timbunan limbah plastik yang mencemari tanah. Penanganan limbah plastik dengan cara dibakar berpotensi menghasilkan senyawa beracun seperti emisi dioxin dari pembakaran PVC (Mukai and Doi, 1995). Atas dasar inilah, dewasa ini dikembangkan berbagai material ramah lingkungan berbahan dasar tanaman, seiring dengan menipisnya minyak bumi sebagai bahan baku polimer sintetis (Saefudin, 2007).

Sintesis polimer menggunakan monomer asam dikarboksilat yang berasal dari asam lemak dan suatu diol akan menghasilkan suatu poliester dengan struktur linier. Poliester alifatik dengan struktur linier bersifat ramah lingkungan karena ikatan ester yang bersifat mudah dihidrolisis (Steven, 2001). Salah satu poliester alifatik linier berbahan dasar tanaman yang telah disintesis adalah 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). Untuk mengetahui sifat biodegradabel dari poli(trimetilen-sebasat) maka dalam penelitian ini dilakukan biodegradasi poli(trimetilen-sebasat).

Biodegradasi adalah proses perombakan suatu material oleh mikroorganisme yang akan menghasilkan molekul-molekul dengan berat molekul lebih kecil (Scnabel, 1981). Biodegradasi poliester dapat dilakukan dengan menginokulasikan mikroba penghasil lipase bersama dengan material polimer dalam suatu media yang mengandung nutrisi untuk pertumbuhannya (Belal, 2003). Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah media cair, karena media ini sesuai dengan biodegradasi di alam yang membutuhkan kelembaban, selain itu dalam media cair mikroba dapat menghasilkan enzim lebih banyak dari pada dalam media padat.

Enzim lipase tidak membutuhkan kofaktor, memiliki karakter yang stabil dan toleransi yang tinggi terhadap variasi struktur substrat, memiliki kinerja terbaik pada lapisan antar muka polar dan nonpolar dan mampu menghidrolisis poliester sintetik (Tadros *et al.*, 1999).

Mikroba penghasil enzim lipase yang digunakan pada penelitian ini adalah kapang *Mucor miehei*. *Mucor miehei* banyak ditemukan di tanah (Charlie and Wilkinson, 1994), mudah ditumbuhkan, dan bersifat non toksik (Jay, 1991). Sebagai pembanding untuk menyamai kondisi biodegradasi di alam, dalam penelitian ini juga dilakukan biodegradasi poli(trimetilen-sebasat) menggunakan *mix culture* yang diisolasi dari kompos, di mana 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 material ditentukan oleh laju perubahan sifat fisik akibat kinerja mikroba. Oleh karena itu, pada uji biodegradabilitas perlu dilakukan kajian waktu biodegradasi.

Perubahan sifat akibat biodegradasi dapat diketahui dari beberapa parameter, baik sifat fisik maupun sifat kimia. Parameter yang dipilih sebagai tolok ukur terjadinya biodegradasi adalah penurunan massa karena biodegradasi merupakan proses erosi permukaan yang dapat menyebabkan pengurangan massa, selain itu parameter yang digunakan untuk mengetahui karakteristik poli(trimetilen-sebasat) adalah perubahan berat molekul dan perubahan gugus fungsi akibat pemutusan ikatan pada proses biodegradasi (Belal, 2003). Sementara itu fasa amorf lebih mudah dibiodegradasi daripada fasa kristalin maka dilakukan penentuan perubahan derajat kristalinitas (Chandra and Rustigo, 1998). Analisis yang dilakukan mencakup gravimetri, volumetri, difraksi sinar-X dan spektrofotometri IR.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Bagaimanakah sifat biodegradabel poli(trimetilen-sebasat) yang didegradasi dengan menggunakan *Mucor miehei* dalam media cair dibandingkan dengan isolat kompos?

2. Bagaimanakah perubahan karakteristik poli(trimetilen-sebasat) sintetik setelah degradasi menggunakan *Mucor miehei* dibandingkan dengan isolat kompos?

1.3 Batasan Masalah

Dalam penelitian ini, masalah dibatasi pada :

1. Poliester yang dibiodegradasi adalah poli(trimetilen-sebasat) hasil sintesis asam dikarboksilat dari minyak jarak kepyar dengan 1,3-propanadiol sebagai produk biokonversi gliserol (Mardiana dkk., 2008), dengan ukuran spesimen 1 x 1 cm, dan tebal 0,95-1 mm.
2. Biodegradasi dilakukan pada pH optimum *Mucor miehei* yaitu 5 (Permatasari, 2002), kondisi anaerob, dan temperatur ruang.

1.4 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dalam penelitian ini adalah :

1. Menentukan sifat biodegradabel poli(trimetilen-sebasat) yang didegradasi dengan menggunakan *Mucor miehei* dalam media cair dibandingkan dengan isolat kompos.
2. Menentukan perubahan karakteristik poli(trimetilen-sebasat) sintetik setelah degradasi menggunakan *Mucor miehei* dibandingkan dengan isolat kompos.

1.5 Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai biodegradasi poli(trimetilen-sebasat), sehingga dapat digunakan sebagai alternatif pemecahan masalah sampah plastik.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Polimer Biodegradabel

Biodegradasi adalah suatu proses yang diinduksi oleh aktivitas biologis yang menghasilkan perubahan sifat kimia dari material, sedangkan polimer biodegradabel adalah polimer yang mudah hancur karena penguraian oleh mikroba yang hidup dalam tanah. Polimer yang bersifat biodegradabel memiliki struktur yang linier. 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).

Syarat dari suatu polimer dapat dikatakan biodegradabel adalah (Chandra and Rustigo, 1998) :

1. memiliki gugus yang dapat dihidrolisis sepanjang rantai polimer, sehingga dapat diputus oleh enzim;
2. interaksi antara sisi aktif enzim dengan polimer harus dapat dimungkinkan oleh stereokimia polimer, sifat hidrofilik dan hidrofobik polimer, dan sifat fleksibel rantai polimer;
3. morfologi polimer meliputi panjang rantai, ukuran, bentuk dan kristalinitas polimer (fasa amorf lebih mudah dibiodegradasi dari pada fasa kristalin);
4. berat molekul, polimer dengan berat molekul lebih kecil lebih mudah dibiodegradasi.

Polimer alam biodegradabel seperti protein, selulosa, pati, dan lignin memiliki kerangka atom karbon yang disisipi oleh heteroatom seperti nitrogen dan oksigen pada rantai utamanya. Heteroatom ini menjadi sisi aktif yang diserang oleh enzim penghidrolisis dan pengoksidasi (Timmins and Lenz, 1994). Saat ini polimer plastik biodegradabel yang telah diproduksi sebagian besar adalah poliester alifatik (Pranamuda, 1999).

Poliester merupakan makromolekul heteroatom yang memiliki gugus fungsi ester karboksilat dalam unit ulang yang terikat pada rantai utama. Berdasarkan strukturnya poliester terdiri dari struktur linier, bercabang, berikatan silang atau jaringan tiga dimensi (Sun, 1994). Poliester termasuk polimer sintetik serbaguna karena

dapat digunakan sebagai serat, plastik, dan bahan pelapis. Secara umum, suatu asam dibasa dengan semua jenis senyawa glikol akan berkondensasi membentuk poliester linier (Steven, 2001).

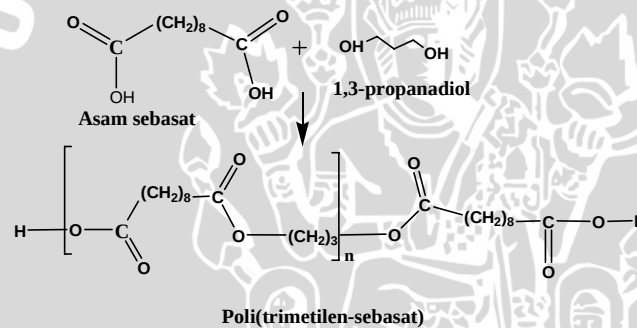
Poliesterifikasi antara diol dengan asam dikarboksilat merupakan reaksi bertahap. Reaksi esterifikasi terjadi di seluruh bagian dalam matriks monomer, di mana dua molekul monomer saling bertumbukan. Saat ester terbentuk, dengan melepaskan molekul air, reaksi polimerisasi akan terus berlanjut secara bertahap, karena kedua monomer masih memiliki gugus ujung yang reaktif, yaitu hidroksil dan karboksil. Berat molekul poliester sedikit demi sedikit bertambah hingga konsentrasi gugus ujung reaktif rendah (Steven, 2001). Berikut ini adalah beberapa contoh poliester alifatik (Pranamuda, 1999) :

- a. Poli (ε-kaprolakton) (PCL) : PCL adalah polimer hasil sintesis kimia menggunakan bahan baku minyak bumi. PCL mempunyai sifat biodegradabilitas yang tinggi, dapat dihidrolisis oleh enzim lipase yang tersebar luas pada tanaman, hewan dan mikroorganisme. Namun titik lelehnya yang rendah, $T_m = 60^\circ\text{C}$, menyebabkan bidang aplikasi PCL menjadi terbatas.
- b. Poli (β-hidroksi butirat) (PHB) : PHB adalah poliester yang diproduksi sebagai cadangan makanan oleh mikroorganisme seperti *Alcaligenes (Ralstonia) eutrophus* dan *Bacillus megaterium*. PHB mempunyai titik leleh yang tinggi ($T_m = 180^\circ\text{C}$), tetapi karena kristalinitasnya yang tinggi menyebabkan sifat mekanik dari PHB kurang baik. Kopolimer poli (β-hidroksi butirat-ko-valerat) (PHB/V) merupakan kopolimer hasil usaha perbaikan sifat kristalinitas dari PHB. Beberapa perusahaan yang memproduksi PHB telah menghentikan kegiatan produksinya, disebabkan karena mahalnya biaya produksi yang dibutuhkan.
- c. Poli (butilena suksinat) (PBS) : PBS mempunyai titik leleh yang setara dengan plastik konvensional polietilen, yaitu $T_m = 113^\circ\text{C}$. Kemampuan enzim lipase dalam menghidrolisis PBS relatif lebih rendah dibandingkan dengan kemampuannya menghidrolisis PCL. Untuk meningkatkan sifat biodegradabilitas PBS, dilakukan kopolimerisasi membentuk poli (butilen suksinat-ko-adipat) (PBS/A). PBS dan PBS/A memiliki sifat ketahanan hidrolisis kimiawi yang rendah, sehingga tidak dapat diaplikasikan untuk bidang aplikasi lingkungan lembab. Kopolimerisasi PBS dengan poli karbonat menghasilkan produk poliester karbonat yang

memiliki sifat biodegradabilitas, ketahanan hidrolisis kimiawi dan titik leleh yang tinggi.

- d. Poli asam laktat (PLA) : PLA merupakan poliester yang dapat diproduksi menggunakan bahan baku sumber daya alam terbaru seperti pati dan selulosa melalui fermentasi asam laktat. Polimerisasi secara kimiawi untuk menghasilkan PLA dari asam laktat dapat dilakukan dengan 2 cara, yaitu secara langsung dari asam laktat dan secara tidak langsung melalui pembentukan laktida (dimer asam laktat) terlebih dahulu, dan diikuti dengan polimerisasi menjadi PLA. PLA mempunyai titik leleh yang tinggi sekitar 175 °C, dan dapat dibuat menjadi lembaran film yang transparan. Perusahaan-perusahaan besar dunia, seperti Cargill-Dow Chemicals Co. memproduksi PLA dengan skala 140.000 ton/ tahun dengan memanfaatkan pati jagung.

Poliester alifatik dengan struktur linier bersifat ramah lingkungan karena ikatan ester yang mudah dihidrolisis (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 dibutyltin oksida. Reaksi polimerisasi poli(trimetilen-sebasat) dijelaskan pada Gambar 2.1 (Mardiana dkk., 2008).

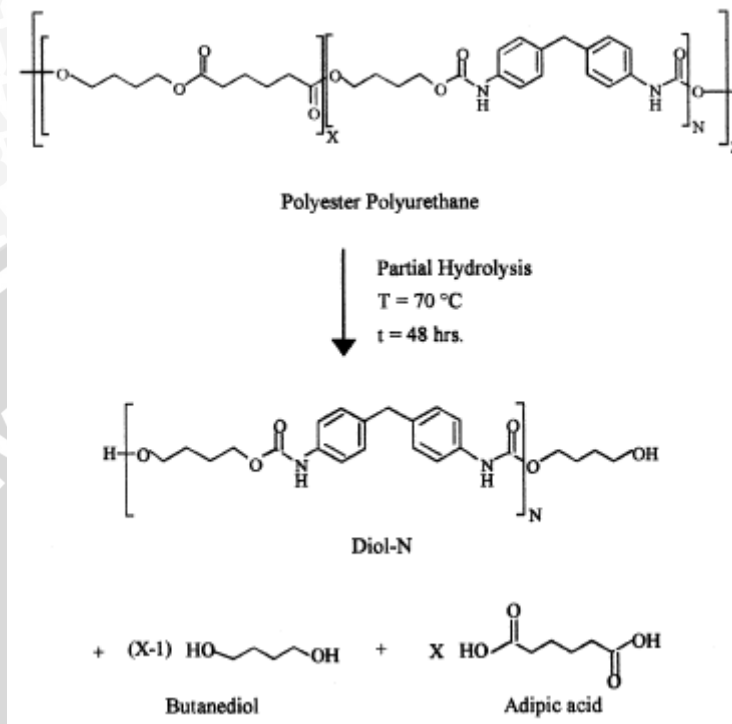


Gambar 2.1 Reaksi pembentukan poli(trimetilen-sebasat) dari 1,3-propanadiol dan asam sebasat

Berdasarkan uji kelarutan, poli(trimetilen-sebasat) dapat larut dengan baik dalam pelarut kloroform. Hasil fraksinasi poli(trimetilen-sebasat) pada temperatur 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).

Gambar 2.2 berikut adalah reaksi hidrolisis sebagian dari poliester-poliuretan yang disintesis dari difenilmetana diisositanat (MDI) dan poli(butilen adipat) (PBA)-poliol (Murgasova *et al.*, 2002).



Gambar 2.2 Hidrolisis poliester-poliuretan

Degradasi polimer sintetik oleh mikroba umumnya dilakukan melalui tes pertumbuhan pada media dengan cara inokulasi mikroba bersama material polimer baik dalam bentuk film, granul, atau bubuk. Media tersebut mengandung semua nutrisi yang diperlukan untuk pertumbuhan mikroba. Uji ini memerlukan waktu tertentu (Schnabel, 1981).

Penelitian mengenai biodegradasi poliester alami dan sintesis telah dilakukan dengan mengisolasi berbagai mikroba pada keadaan mesofil. 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 *Arthrobotrys amerospora*, *Acremonium strictum*, *Fusarium solani*, *Aspergillus fumigatus*, dan *Cladosporium herbarum*. Tiga strain actinomycetes telah diidentifikasi berdasarkan morfologi, fisiologi dan kemotaksonomikal. Dua diantaranya *Microbispora rosea subsp. rosea* dan *Streptomyces thermocarboxydus* (Kleeberg *et al.*, 1998).

Biodegradasi serat poliester aromatik dan alifatik yang tidak ditenun dari butilen glikol, asam adipat dan asam tereftalat menggunakan kompos mengakibatkan pengurangan massa poliester sebesar 40% dari berat awal setelah 8 minggu didegradasi, sementara itu degradasi dalam media cair yang mengandung mikroba dari tanah pekarangan dan dari limbah cair pengolahan pulp dan kertas di Swiece mengakibatkan penurunan massa sebesar 23% setelah degradasi selama 10 minggu (Schmidt and Maria, 2005).

2.2 Enzim lipase

Enzim adalah protein yang sangat spesifik dan kompleks, yang diproduksi oleh sel. Enzim berfungsi untuk mengkatalisis tipe reaksi kimia yang spesifik (Lehninger, 1982; Uyama and Kobayashi, 2002). Enzim lipase menempati urutan ketiga di pasar enzim dunia setelah protease dan karbohidrase dan merupakan 5% dari keseluruhan penjualan enzim dunia. Lipase terdapat di tanaman, hewan dan mikroorganisme. Sebagian besar lipase yang diproduksi fungi adalah ekstraselular, dengan berat molekul berkisar 33 - 65 kD. Lebih dari 50% dari lipase diproduksi fungi (Vakhlu and Avneet, 2005).

Pada poliester, enzim yang dapat mengkatalisis reaksi hidrolisis adalah lipase. Reaksi hidrolisis ini menyebabkan berat molekul rata-rata polimer menurun dan massa spesimen poliester berkurang (Belal, 2003). Lipase memiliki karakter yang sangat stabil dan toleransi yang tinggi terhadap variasi struktur substrat. Lipase memiliki kinerja terbaik pada antarmuka fase air-organik (Whiteside *et al.*, dalam Tadros *et al.*, 1999). Lipase dari *Rhizopus delemar* telah dilaporkan dapat memecah ikatan ester dan mendegradasi poliester menjadi monomer penyusunnya (Tokiwa, dalam Tadros *et al.*, 1999). Lipase efektif menghidrolisis poliester dari N-karbobenziloksi-asam L-glutamat (ZGluOH) menjadi monomernya (Tadros *et al.*, 1999).

Laju hidrolisis kopoliester polikaprolakton-diol dan poli(heksametilen adipat) oleh enzim lipase dari *Rizopus delemar* dan *Rizopus arrhizus* lebih besar dibandingkan laju hidrolisis homopolimer polikaprolakton-diol atau poli(heksametilen adipat). Sementara itu, hasil hidrolisis homopolimer polikaprolakton-diol, poli(heksametilen adipat) dan kopoliester dari polikaprolakton-diol dan poli(heksametilen adipat) oleh lipase dari *Candida cylindraceae* dan lipase pankreas babi memiliki laju hidrolisis yang hampir sama (Tokiwa *et al.*, 1988).

Enzim depolimerase tidak dapat menghidrolisis poliester sintetik namun dapat memecah ikatan ester dari PHB alami (Jaeger *et al.*, dalam Abou-Zeid, 2001). Disisi lain, enzim lipase dapat menghidrolisis poliester sintetik dari asam hidroksi alkanoat seperti PCL dan Bionolle. Enzim yang terlibat dalam hidrolisis poliester diantaranya PHB depolimerase, lipase dan cutinase (Abou-Zeid, 2001).

Lipase dapat diproduksi oleh tumbuhan, hewan, bakteri dan fungi (Macrae and Hammond, 1985). Lipase dari fungi dapat berasal dari *Aspergillus niger*, *Candida cylindraceae*, *Humicola lanuginosa*, *Mucor miehei*, *Rhizopus delemar*, *R. nivers*, dan *R. oryzae* (Saxena *et al.*, 1999).

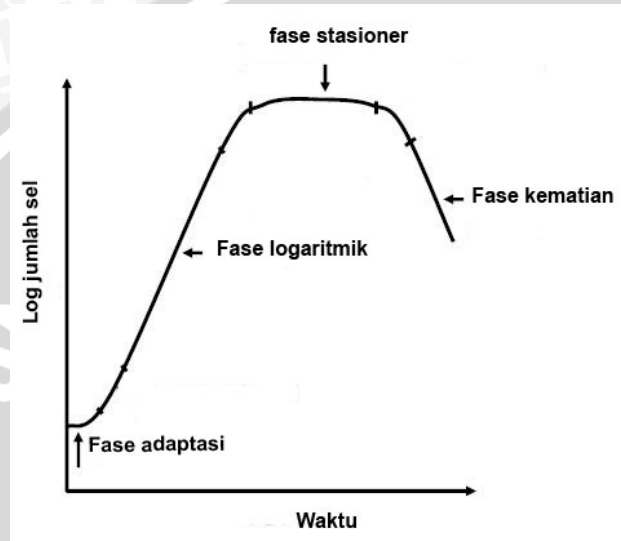
2.3 *Mucor miehei*

Mucor miehei adalah salah satu kapang penghasil lipase (Winarno, 1995). Kapang adalah kelompok mikroba yang tergolong dalam fungi. Perbedaan utama antara kapang dan khamir adalah kapang merupakan fungi berfilamen sedangkan khamir merupakan fungi bersel tunggal tanpa filamen. Temperatur optimum untuk pertumbuhan kapang adalah 25-30 °C (Fardiaz, 1992). Adapun klasifikasi dari *Mucor miehei* adalah sebagai berikut (Charlie and Wilkinson, 1994) :

Kingdom	: Thallophyta
Divisi	: Fungi
Sub divisi	: Eumycetes
Kelas	: Phycomycetes
Sub kelas	: Zygomycetes
Ordo	: Mucorales
Famili	: Mucoraceae
Genus	: Mucor
Spesies	: <i>Mucor miehei</i>

Mucor miehei merupakan fungi yang berfilamen, tidak memiliki rhizoid, bersifat non patogenik dan non toksik pada manusia dan hewan (Jay, 1991). *Mucor* banyak ditemukan di tanah, sisa tanaman, kotoran hewan herbivora, dan bahan organik lain. *Sporangiospore mucorales* dapat mengandung satu atau lebih nukleus seperti spora dalam media agar yang sesuai akan berkecambah (Charlie and Wilkinson, 1994). Selain itu *Mucor miehei* memiliki ketahanan temperatur sampai 57 °C sehingga disebut fungi termofilik (Maheshwari *et al.*, 2000).

Fase pertumbuhan *Mucor miehei* sama seperti fase pertumbuhan mikroba pada umumnya, seperti disajikan pada Gambar 2.3 (Volk, 1992).



Gambar 2.3 Kurva pertumbuhan mikroba

1. Fase adaptasi (fase lag)

Pada awal fase, mikroba masih menyesuaikan diri dengan lingkungannya. Sel baru mensintesis enzim-enzim yang dapat dirangsang dan menggunakan cadangan makanan, sehingga jumlah mikroba tetap.

2. Fase pertumbuhan logaritma (fase log)

Fase ini adalah periode pembiakan cepat dan merupakan periode yang didalamnya teramati ciri khas sel-sel yang aktif. Pertumbuhan sel mikroba berlangsung dengan cepat dan populasi mikroba bertambah.

3. Fase stasioner

Pada fase ini biakan menjadi tua dan mendekati populasi mikroba maksimum yang dapat ditunjang medium, laju pertumbuhan berkurang, dan beberapa sel mati disebabkan oleh penumpukan hasil metabolit yang bersifat toksik bagi mikroba. Pada fase ini laju pembiakan sama dengan laju kematian, sehingga jumlah keseluruhan mikroba akan tetap.

4. Fase kematian

Pada fase kematian pertumbuhan mikroba berhenti karena laju kematian melampaui laju pembiakan, sehingga jumlah mikroba menjadi menurun. Pada jenis-jenis tertentu hal ini mungkin memerlukan waktu berminggu-minggu, berbulan-bulan, bahkan mungkin lebih lama lagi sebelum sampai pada fase ini.

2.4 Media Pertumbuhan Mikroba

Media pertumbuhan mikroba meliputi *Chemically defined media*, *complex media*, *selective and differential media* dan *enrichment culture* (Tortora et al., 2001) :

1. *Chemically defined media* adalah media pertumbuhan mikroba yang komposisi kimianya telah ditetapkan secara pasti. Komposisi kimia nutrisi meliputi : $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, NaCl , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, K_2HPO_4 dan H_2O . Media ini digunakan di laboratorium untuk menumbuhkan bakteri autotrop.
2. *Complex media* merupakan media cair yang banyak digunakan untuk menumbuhkan bakteri heterotrop dan fungi. Media ini mengandung ekstrak yeast, namun komposisi kimianya bervariasi. Dalam kompleks 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.
3. *Selective and differential media* dipakai untuk menumbuhkan mikroba spesifik. *Selective media* digunakan untuk menekan pertumbuhan mikroba yang tidak diinginkan dan menumbuhkan mikroba yang diinginkan. *Differential media* digunakan untuk memudahkan mengenali koloni dari mikroorganisme yang diharapkan dari koloni lain yang tumbuh pada tempat yang sama.
4. *Enrichment culture* menyediakan nutrisi dan kondisi lingkungan yang diinginkan oleh mikroba tertentu dan tidak diinginkan oleh mikroba yang lain dengan tujuan untuk meningkatkan jumlah

mikroba yang diinginkan dari sedikit menjadi jumlah yang dapat dideteksi.

Selain media yang disebutkan diatas, terdapat pula media yang dikenal dengan *nutrient broth*. *Nutrient broth* yang merupakan salah satu media tidak selektif yang biasa digunakan untuk menumbuhkan berbagai jenis mikroba. Media ini dapat menyediakan nutrisi yang dibutuhkan mikroba untuk memperbaiki sel yang rusak atau terluka, melarutkan racun atau molekul inhibitor. pH dari media ini berkisar pada $7,2 \pm 0,2$ (Marshall, 1993).

2.5 Karakterisasi

2.5.1 Penentuan Bilangan Asam

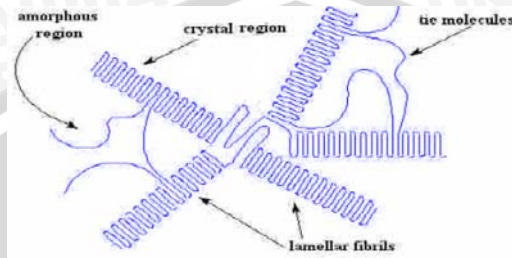
Bilangan asam sebanding dengan satu mol gugus asam pada 1 gram sampel yang dititrasi menggunakan 1 mol KOH. Bilangan asam ditentukan untuk memperkirakan berat molekul relatif polimer, melalui analisis gugus fungsi yang terikat pada polimer. Bilangan asam dapat ditentukan secara volumetri menggunakan basa (Rabek, 1980). Cara ini terutama dapat digunakan untuk polimer yang memiliki harga M_w lebih kecil dari 25.000. 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 putusnya 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 Bilangan Penyabunan

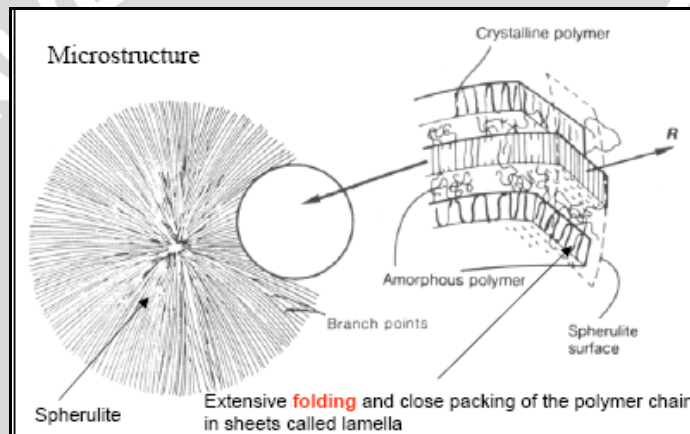
Bilangan penyabunan adalah massa KOH dalam satuan miligram yang dibutuhkan untuk menetralkan asam bebas dan menyabunkan ester minyak) dalam 1 gram sampel. Apabila sejumlah sampel ester disabunkan dengan larutan KOH berlebih dalam alkohol, maka KOH akan bereaksi dengan ester. Larutan alkali yang tertinggal ditentukan dengan titrasi menggunakan HCl sehingga KOH yang bereaksi dapat diketahui. jika semakin besar mol dari basa yang dibutuhkan untuk menyabunkan 1 gram poliester maka mol dari poliester semakin besar sehingga panjang rantai dari lemak tersebut relatif pendek (Al-Zahrani, 2003).

2.5.3 Penentuan Derajat Kristalinitas

Kristal adalah padatan yang terbentuk oleh pengulangan pola yang teratur dari atom atau molekul yang terhubung satu sama lain (campbell and campbell, 2008). Polimer tidak sepenuhnya merupakan kristal namun bersifat semikristalin. 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. Pada Gambar 2.4 disajikan contoh dari polimer semikristalin (Sperling, 1985).



Gambar 2.4 Polimer semikristalin



Gambar 2.5 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 2.5. Struktur *lamellar* pada *spherulite* disebabkan karena rantai polimer mengalami *folding* (lipatan) akibat ketebalan kristal yang hanya berkisar 100 Å

sementara panjang rantai dapat mencapai 10000 Å atau lebih (Sperling, 1985).

Derajat kristalinitas sebanding dengan integral hamburan fasa kristalin terhadap total hamburan (kristalin dan amorf), sesuai persamaan (2.1) (Rabek, 1980).

$$\chi_c = \frac{\int_0^\infty s^2 I_{c(s)} ds}{\int_0^\infty s^2 I_{(s)} ds} \dots (2.1)$$

Di mana:

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

$I_{c(s)}$ = intensitas fasa kristalin

$I_{(s)}$ = intensitas total fasa kristalin dan amorf

Derajat kristalinitas dapat diketahui dengan menggunakan difraksi sinar-X. Difraksi sinar-X didasarkan pada persamaan Bragg (2.2) (West, 1984; Rabek, 1980) dan prosesnya digambarkan pada Gambar 2.6 (Rabek, 1980).

$$n\lambda = 2d \sin \theta \dots (2.2)$$

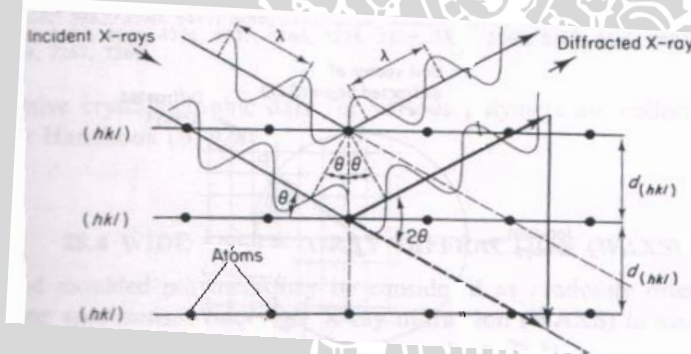
Di mana :

$n = 1$, di sebut juga order

λ = panjang gelombang sinar-X

d = jarak interplanar

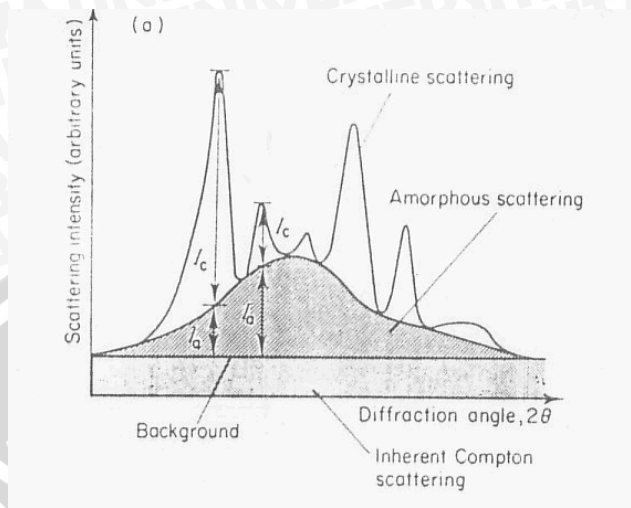
θ = Satu setengah sudut deviasi sinar terdifraksi dari sinar-X datang



Gambar 2.6 Difraksi sinar-X dalam kristal

Secara matematis, integral menyatakan luas kurva hubungan 2θ dengan intensitas hamburan, sehingga derajat kristalinitas dapat

dihitung berdasarkan perbandingan luas fase kristalin dengan total fase. Derajat kristalinitas (χ_c) dapat ditentukan jika hamburan fasa kristalin dan amorf pada pola difraksi dapat dipisahkan satu dengan yang lain. Hamburan fasa amorf dan kristalin dari polimer digambarkan pada Gambar 2.7 (Rabek, 1980).



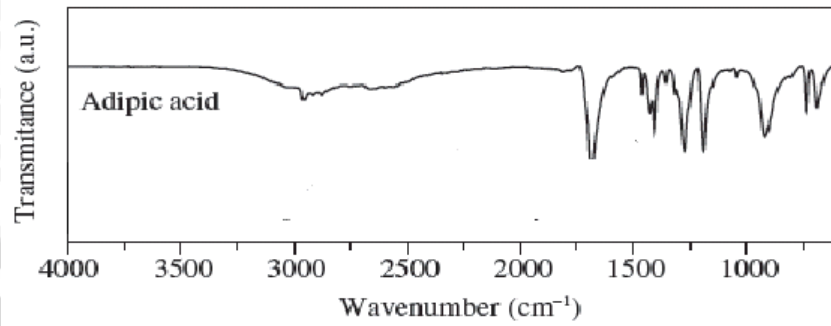
Gambar 2.7 Hamburan fasa amorf dan kristalin dari polimer

Pada proses biodegradasi, fasa amorf dari polimer lebih mudah didegradasi oleh enzim dari pada fasa kristalin, sehingga proses biodegradasi akan meningkatkan derajat kristalinitas (Chandra and 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.

2.5.4 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). Kemurnian polimer dapat diidentifikasi melalui puncak-puncak yang terbentuk pada spektrum

IR. Kedudukan puncak serapan IR dinyatakan sebagai bilangan gelombang (cm^{-1}). Terbentuknya poliester ditandai dengan vibrasi yang khas disekitar 1720 cm^{-1} , yang berasal dari vibrasi ulur gugus fungsi $\text{C}=\text{O}$, sedang untuk karbonil ester berada di daerah 1730 cm^{-1} dan di daerah $1300\text{-}1050 \text{ cm}^{-1}$ untuk vibrasi ulur $\text{C}-\text{O}$. Bila polimer mengandung suatu monomer asam, maka akan muncul puncak $\text{O}-\text{H}$ yang melebar dan overlap pada bilangan gelombang $2500\text{-}3300 \text{ cm}^{-1}$ (Pavia et al., 1986). Pada Gambar 2.8 disajikan spektrum FTIR dari asam adipat ($\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_4\text{-COOH}$) yang merupakan asam dikarboksilat yang memiliki rantai lebih pendek dari pada asam sebasat (Brioude et al., 2007).



Gambar 2.8 Spektrum FTIR asam adipat

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 $\text{O}-\text{H}$ yang melebar pada $3600\text{-}3000 \text{ cm}^{-1}$ dan vibrasi ulur $\text{C}-\text{O}$ 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).

2.6 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah poli(trimetilen-sebasat) dapat didegradasi dalam media cair yang mengandung *Mucor miehei* dan pengurangan massa dari spesimen

polimer dapat diamati. Karakteristik poli(trimetilen-sebasat) setelah proses biodegradasi yang meliputi : bilangan asam, bilangan penyabunan, dan kristalinitas akan meningkat. Sementara itu, analisis dengan spektrofotometer FTIR akan menunjukkan serapan OH pada spektrum yang dihasilkan setelah biodegradasi.



BAB III METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Fisik dan Biokimia, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang, mulai bulan September sampai dengan November 2008.

3.2 Bahan dan Alat Penelitian

3.2.1 Sampel penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Mucor miehei* yang diperoleh dari Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang, kompos yang diperoleh dari UPT Kompos Universitas Brawijaya, Malang, dan poli(trimetilen-sebasat) sintetik merupakan hasil fraksinasi pada temperatur 20-22 °C dalam pelarut kloroform dan non-pelarut metanol dengan perbandingan volume (1:5).

3.2.2 Bahan penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: *bacto* agar, KH_2PO_4 , K_2HPO_4 , yeast ekstrak, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, NaCl, dekstrosa, pepton, asam sitrat, NaOH, Na_2HPO_4 , indikator fenolftalein, $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$, KOH, HCl, $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$, kloroform, metanol, etanol (teknis), kentang (perdagangan), dan akuades. Semua bahan tersebut berkualitas pro analisis (p.a) kecuali disebutkan lain.

3.2.3 Alat penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah : 1 pasang plat *stainless steel* dengan ukuran 20 x 20 cm dan cetakan aluminium dengan ketebalan 0,5 mm, cawan petri, seperangkat alat gelas, spektrofotometer FTIR merek Shimadzu 8400 PC, alat difraksi sinar-X merek Philips tipe X'pert, neraca analitik Mettler tipe AE 50, buret 50 mL, buret mikro 10 mL, inkubator merek Heraeus tipe B-5042, autoclave merek All American Model 25X, kompor listrik, pH meter merek Schoot-Gerate tipe CG.820, oven, lampu spiritus, spatula, bola hisap, stirer magnetik, botol semprot, desikator, labu alas bulat,

kondensor, *heating mantel*, *shaker* merek Edmund tipe 25, aluminium foil, kapas, kasa steril, karet gelang, kertas minyak, lemari pendingin dan *cutter*.

3.3 Tahapan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam beberapa tahapan, meliputi :

1. Biodegradasi poli(trimetilen-sebasat) sintetik hasil pemurnian
 - 1.1. Pembuatan spesimen poli(trimetilen-sebasat) sintetik
 - 1.2. Pembuatan media padat
 - 1.3. Peremajaan biakan murni *Mucor miehei*
 - 1.4. pembuatan media cair
 - 1.5. pembuatan media produksi (inokulum) *Mucor miehei*
 - 1.6. pembuatan media biodegradasi yang mengandung *Mucor miehei*
 - 1.7. pembuatan *nutrient broth*
 - 1.8. pembuatan media biodegradasi yang mengandung isolat kompos
 - 1.9. biodegradasi dalam media cair
2. Karakterisasi poli(trimetilen-sebasat)
 - 2.1. Penentuan penurunan massa
 - 2.2. Penentuan bilangan asam
 - 2.3. Penentuan bilangan penyabunan
 - 2.4. Penentuan derajat kristalinitas
 - 2.5. Penentuan struktur kimia secara FTIR

3.4 Cara Kerja Penelitian

3.4.1 Biodegradasi poli(trimetilen-sebasat) sintetik hasil pemurnian

1. Pembuatan spesimen poli(trimetilen-sebasat) sintetik

Poli(trimetilen-sebasat) sintetik hasil fraksinasi pada temperatur 20-22 °C dalam pelarut kloroform dengan non-pelarut metanol (1:5) (Wijaya, 2008) diletakkan pada cetakan aluminium di antara 2 plat stainless steel. Setelah itu dipanaskan di atas titik lelehnya (71-85 °C), lalu ditekan dan dibiarkan beberapa saat. Lelehan Poli(trimetilen-sebasat) dalam cetakan didinginkan hingga mencapai temperatur ruang sampai lelehan menjadi kering dan keras. Setelah dingin, lempengan polimer diambil dan dipotong-potong dengan ukuran 1 x 1 cm. Lempeng yang diperoleh digunakan sebagai spesimen biodegradasi.

2. Pembuatan media padat

Media yang digunakan agar dekstrosa kentang PDA, yang terdiri atas : kentang 50 gram, dekstrosa 5 gram, agar 5 gram, dan akuades 200 mL. Kentang dipotong kecil-kecil, direbus dalam akuades selama 1 jam kemudian disaring dengan kertas saring, filtrat di tambah dekstrosa. Larutan didinginkan dan pHnya diatur dengan menambahkan larutan NaOH 10% atau asam sitrat 0,1 M sampai pH 5 kemudian ditambahkan larutan buffer sitrat fosfat pH 5 sebanyak 20 mL. Setelah itu, larutan ditambah tepung agar dan dididihkan sampai larut. Campuran di atas dipipet sebanyak 5 mL, dimasukkan dalam tabung reaksi, lalu disumbat dengan kapas yang sebelumnya telah dibalut kassa. Tabung tersebut kemudian ditutup dengan kertas minyak dan diikat dengan karet. Setelah itu disterilkan dalam autoclave pada 121 °C, 15 psi selama 15 menit. Tabung reaksi yang berisi bahan media tersebut disimpan pada temperatur kamar dalam keadaan miring dan dibiarkan memadat.

3. Peremajaan biakan murni *Mucor miehei*

Kapang dari biakan murni dipindahkan secara aseptik sebanyak 1 mata ose ke dalam media padat steril yang masih kosong. Selama perlakuan, mulut tabung disterilkan di atas pembakar bunsen. Selanjutnya diletakkan dalam inkubator pada 40 °C selama 4 hari.

4. Pembuatan media cair

Media pertumbuhan *Mucor miehei* untuk menghasilkan enzim lipase terdiri atas dua bagian, bagian pertama : pepton 0,75 g; ekstrak yeast 2,5 g; NaCl 2,5 g; KH_2PO_4 6,7 g; K_2HPO_4 8,4 g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,25 g; dan larutan aktivator 0,5 mL, semua bahan dilarutkan dalam 350 mL akuades. Kondisi pH diatur hingga 5 dengan penambahan asam sitrat, ditambah buffer sitrat fosfat hingga volume 400 mL. Tiap 200 mL dituang larutan ke dalam Erlenmeyer 500 mL dan masing-masing ditambahkan 0,08 g asam sebasat. Semua erlenmeyer ditutup dengan kapas dan kertas minyak. Disterilkan dalam autoklaf pada temperatur 121 °C, tekanan 15 psi selama 15 menit. Sedangkan bagian kedua : dekstrosa 10 g dilarutkan dalam 100 mL akuades, lalu tiap 50 mL larutan dituang ke dalam Erlenmeyer 250 mL. Semua Erlenmeyer ditutup kapas dan kertas minyak lalu disterilkan dalam autoclave pada temperatur 121

°C, 15 psi selama 15 menit. Setelah itu larutan didinginkan hingga mencapai temperatur ruang kemudian masing-masing larutan bagian kedua dipindah ke dalam bagian pertama.

5. Pembuatan media produksi (inokulum) *Mucor miehei*

Kapang yang telah tumbuh dalam setiap media padat miring berumur empat hari ditambah 10 mL akuades steril secara aseptis, kemudian dikocok. Suspensi spora ini dimasukkan ke dalam 250 mL media cair, diinkubasi pada temperatur kamar dengan pengocokan di atas shaker dengan kecepatan 100 rpm selama 40 jam.

6. Pembuatan media biodegradasi yang mengandung *Mucor miehei*

Inokulum yang dihasilkan pada percobaan 5 dipipet sebanyak 2 mL dan dimasukkan dalam 13 mL media cair tanpa dekstrosa. Penambahan inokulum dilakukan secara aseptis.

7. 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 aquades. Kemudian pH larutan diatur hingga mencapai 7 dan diencerkan 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.

8. Pembuatan media biodegradasi yang mengandung isolat 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 induser asam sebasat dan dikocok selama 4 hari pada kecepatan 100 rpm dan diperoleh inokulum. Inokulum diambil 2 mL dan dimasukkan ke dalam 13 mL *nutrient broth* yang mengandung 0,04% (b/v) asam sebasat sebagai induser.

9. Biodegradasi dalam media cair

Masing-masing spesimen ditimbang menggunakan neraca analitik hingga diperoleh massa konstan, yang dilakukan dengan cara menimbang spesimen kemudian meletakkan spesimen di dalam desikator lalu setelah 24 jam ditimbang kembali, demikian seterusnya hingga diperoleh massa konstan. Spesimen disterilkan dengan metanol dan dikeringkan dalam desikator kemudian dimasukkan ke dalam media biodegradasi secara aseptis. Waktu biodegradasi spesimen divariasi 1, 2, 3, dan 4 minggu dengan 4 kali ulangan. Setelah proses biodegradasi dilakukan, spesimen dipisahkan dari media biodegradasi, kemudian disterilkan dengan metanol dan sterilisasi dilakukan sebanyak tiga kali lalu diangin-anginkan setelah itu dikeringkan dalam desikator. Tujuan dilakukan sterilisasi dengan menggunakan metanol adalah untuk menghilangkan sisa sel mikroba dan komponen media yang berada pada spesimen.

3.4.2 Karakterisasi poli(trimetilen-sebasat) hasil biodegradasi

1. Penentuan penurunan massa

Penurunan massa ditentukan dengan cara menimbang massa spesimen sebelum dan sesudah biodegradasi. Spesimen setelah biodegradasi ditimbang menggunakan neraca analitik hingga diperoleh massa konstan. Penurunan massa yang terjadi kemudian dihitung dan dibuat kurva antara % pengurangan massa terhadap waktu.

2. Penentuan bilangan asam

Bilangan asam ditentukan secara volumetri. Sejumlah $40 \pm 8,3$ mg poli(trimetilen-sebasat) yang telah dibiodegradasi untuk semua variasi waktu dilarutkan dalam 10 mL campuran kloroform-metanol dengan perbandingan volume 1:1. Campuran kemudian dititrasi menggunakan KOH alkoholis 0,0223 M dengan indikator fenoltalein. Sebagai blanko, dilakukan titrasi untuk campuran kloroform-metanol (1:1). Adapun untuk pembakuan larutan KOH dilakukan dengan menggunakan larutan asam oksalat 0,01998 M. Bilangan asam ditentukan dengan menggunakan persamaan (3.1).

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

Dengan :

V_s = volume KOH untuk titrasi sampel polimer (mL)

V_B = volume KOH untuk titrasi blanko (mL)

w = berat sampel polimer (mg)

C_{KOH} = konsentrasi KOH alkoholis (mmol/mL)

3. Penentuan bilangan penyabunan

Bilangan penyabunan ditentukan secara volumetri. Sejumlah 43 ± 2 mg poli(trimetilen-sebasat) yang telah dibiodegradasi untuk semua variasi waktu dimasukkan ke dalam labu alas bulat, kemudian ditambah dalam 10 mL campuran kloroform-metanol dengan perbandingan volume 1:1. Campuran kemudian ditambah dengan 25 mL KOH alkoholis 0,49 M dan direfluks selama 30 menit. Setelah itu didinginkan hingga mencapai temperatur ruang. Campuran tersebut dipindahkan secara kuantitatif ke dalam Erlenmeyer dan dititrasi dengan HCl 0,104 M dengan menggunakan indikator metil merah hingga warna larutan berubah dari kuning menjadi merah muda. Sebagai blanko, dilakukan titrasi untuk 10 mL campuran kloroform-metanol (1:1) dan 25 mL KOH alkoholis 0,49 M dengan HCl 1,992 M. Adapun untuk pembakuan larutan HCl dilakukan dengan menggunakan larutan $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,0499 M. Bilangan asam ditentukan dengan menggunakan persamaan (3.2).

$$\text{Bilangan penyabunan} = \frac{(V_{HCl_1} \times [HCl]_1 - V_{HCl_2} \times [HCl]_2) \times Mr_{KOH}}{\text{massa sampel (g)}} \quad \dots(3.2)$$

Dengan:

V_{HCl_1} = volume HCl untuk titrasi blanko (mL)

V_{HCl_2} = volume HCl untuk titrasi sampel polimer (mL)

$[HCl]_1$ = konsentrasi HCl untuk titrasi blanko (M)

$[HCl]_2$ = konsentrasi HCl untuk sampel polimer (M)

4. Penentuan derajat kristalinitas

Spesimen dengan perubahan berat tertinggi untuk setiap minggu ditentukan derajat kristalinitasnya dengan instrumen difraksi sinar-X. Spesimen dimasukkan dalam *sample holder* dan diletakkan dalam alat. Kemudian dilakukan analisis untuk harga 2θ mulai 5° hingga 90° .

Data yang diperoleh dianalisis dengan bantuan program Microsoft excel hingga diperoleh difraktogram sinar-X. Daerah fasa kristalin dan amorf pada difraktogram diberi batas, kemudian luas masing-masing daerah dihitung dengan menggunakan AutoCAD. Derajat kristalinitas diperoleh dengan membandingkan luas fasa

kristalin terhadap luas total. Harga derajat kristalinitas dibuat kurva terhadap waktu biodegradasi.

5. Penentuan struktur kimia secara FTIR

Analisis gugus fungsi poli(trimetilen-sebasat) dengan FTIR dilakukan dengan terlebih dahulu dibuat pellet KBr. Sedikit serbuk dari spesimen poli(trimetilen-sebasat) yang sebelumnya disimpan di dalam desikator dengan laju biodegradasi tertinggi untuk setiap variasi waktu, ditambah dengan serbuk KBr, kemudian dibuat pellet dengan bantuan tekanan hidrolik sebesar 100 psi. Pellet diletakkan dalam *sampel holder* dan dimasukkan ke dalam alat FTIR. Spektrum FTIR yang diperoleh diinterpretasi untuk mengetahui adanya perubahan karakter puncak khas poliester.

3.5 Analisis Data

Data penentuan bilangan asam dianalisis dengan uji F menggunakan Pola rancangan Lacak (RAL) dan perlakuan diulang 2 kali yang dapat dilihat pada lampiran 5. Bila F hitung lebih besar dari F Tabel (α db) maka dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Biodegradasi Poli(trimetilen-sebasat)

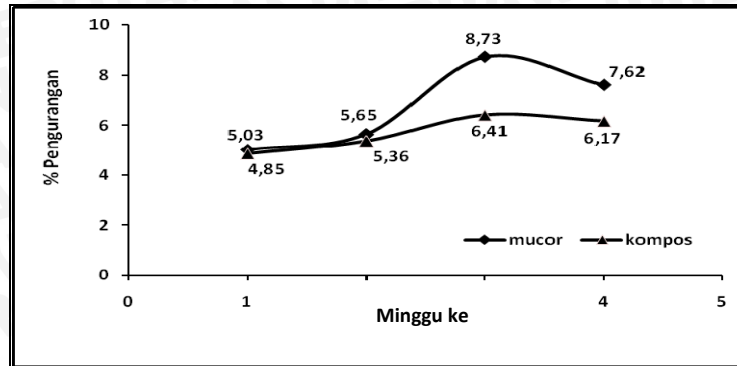
Mikroorganisme yang digunakan adalah kapang *Mucor miehei*. *Mucor miehei* banyak ditemukan di tanah (Charlie and Wilkinson, 1994), mudah ditumbuhkan, dan bersifat non toksik (Jay, 1991). Kapang ini memiliki kandungan enzim lipase dengan aktivitas 2,3555 unit pada pH optimum 5 (Permatasari, 2002). Dengan demikian, diharapkan kapang ini mampu mendegradasi poli(trimetilen-sebasat) hasil sintesis.

Media biodegradasi yang digunakan adalah media cair yang merupakan *complex media*. *Complex media* merupakan jenis media yang kaya nutrisi sehingga diharapkan kapang yang digunakan memiliki pasokan sumber makanan yang cukup untuk mempertahankan pertumbuhannya. Biodegradasi dilakukan dengan variasi waktu 1,2,3, dan 4 minggu karena dalam penelitian Iswanto *et al.*, 1999, biodegradasi poli(trimetilen-adipat) yang juga merupakan poliester alifatik linier dalam media padat lumpur aktif memiliki waktu optimum 4 minggu.

Sebagai pembanding, dilakukan biodegradasi menggunakan *mix culture* yang diisolasi dari kompos dengan menggunakan media *nutrient broth*. *Nutrient broth* digunakan sebagai media isolat kompos karena *nutrient broth* merupakan media yang biasa digunakan untuk menumbuhkan berbagai jenis mikroba (Marshall, 1993), sehingga diharapkan mikroba dalam kompos dapat tumbuh dengan baik. Isolat kompos diharapkan dapat memiliki kemiripan dengan kondisi alami biodegradasi poli(trimetilen-sebasat) di alam.

4.2.1 Penurunan massa Spesimen

Data yang diperoleh dari hasil penelitian menunjukkan bahwa poli(trimetilen-sebasat) dapat didegradasi dalam media cair yang mengandung *Mucor miehei* dan isolat kompos. Hal ini dibuktikan oleh terjadinya pengurangan massa spesimen setelah poli(trimetilen-sebasat) dibiodegradasi seperti dicantumkan pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Pengurangan massa spesimen Poli(trimetilen-sebasat) oleh *Mucor miehei* dan isolat kompos

Kecenderungan pengurangan massa yang terjadi adalah dengan bertambahnya waktu inkubasi dalam *Mucor miehei* maupun isolat kompos maka % pengurangan massa semakin besar hingga minggu ke-3 kemudian menurun pada minggu ke-4. Penurunan % pengurangan massa spesimen yang terjadi pada minggu ke-4 kemungkinan disebabkan *Mucor miehei* 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.

Poli(trimetilen-sebasat) memiliki ukuran yang besar dan kelarutan dalam air rendah, sehingga *Mucor miehei* tidak dapat mentranspor material polimer secara langsung ke dalam sel. *Mucor* pertama-tama harus mengeluarkan enzim lipase untuk memecah ikatan polimer menjadi senyawa yang larut dalam air. Setelah itu, intermediet tersebut ditranspor ke dalam sel dan dimetabolisme oleh *Mucor*, sehingga dihasilkan produk metaboliknya berupa biomassa yang baru dan terjadilah pengurangan massa. Enzim lipase terlalu besar untuk dapat melakukan penetrasi ke dalam polimer, sehingga enzim hanya bekerja pada permukaan. Akibatnya biodegradasi dari poli(trimetilen-sebasat) merupakan proses erosi permukaan (Belal, 2003).

Degradasi poliester dengan isolat kompos adalah praktis dan mirip dengan kondisi alami, namun hal ini dibatasi oleh hasil yang tidak reproduibel (Abou-Zeid, 2001). Media kompos merupakan *mix culture* yang sangat kompleks dan mengandung berbagai jenis

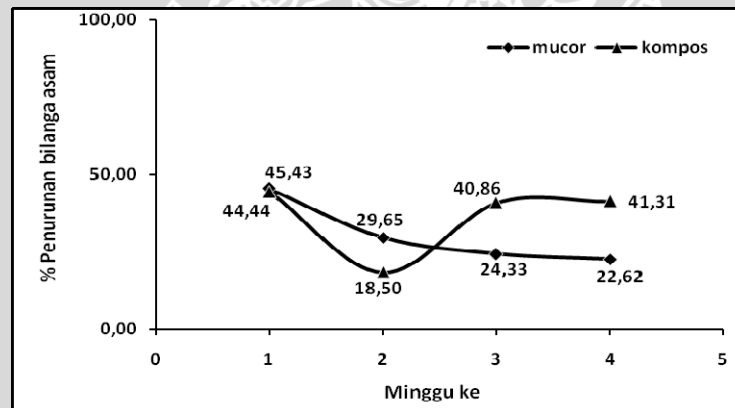
mikroba dan metabolit sehingga dimungkinkan terjadi kompetisi, sehingga reaksi kimia yang terjadi bukan hanya reaksi degradasi. Hal ini terlihat dari data minggu ke-3 dan ke-4 di mana pengurangan massa akibat degradasi dengan menggunakan *Mucor miehei* lebih besar dibandingkan dengan isolat kompos.

Secara kinetika, enzim pengurai polimer berantai panjang mengalami proses satu tahap, bukan reaksi berantai yang mengandung beberapa reaksi elementer. Berat rata-rata molekul dan sifat fisik lain polimer yang berkorelasi menurun dengan lambat sama halnya dengan laju biodegradasi (Schnabel, 1981). Secara umum polimer sintetik hanya diserang pada bagian ujung dari rantai. Adanya gugus ujung yang terorientasi ke arah dalam matriks polimer (*folding*) menyebabkan penyerangan oleh enzim berlangsung secara lambat.

Untuk menentukan karakteristik poli(trimetilen-sebasat) setelah biodegradasi, maka dilakukan analisis gugus ujung menggunakan penentuan bilangan asam.

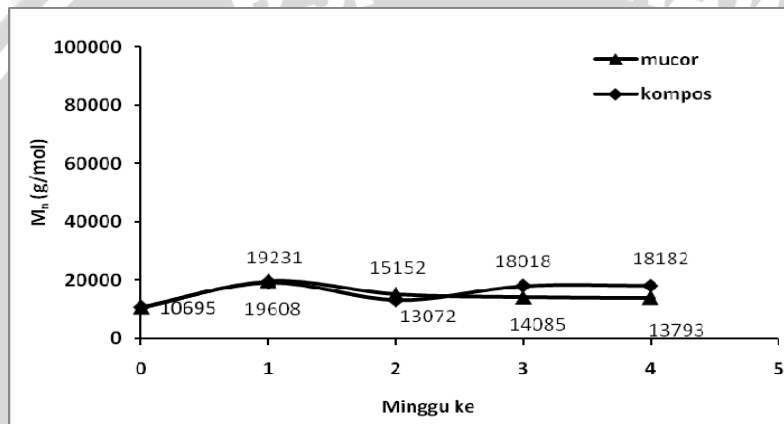
4.2.2 Penentuan Bilangan Asam

Bilangan asam sebanding dengan satu mol gugus asam pada sampel yang dititrasi menggunakan 1 mol KOH (Rabek, 1980). Pada penelitian ini harga berat molekul rata-rata diperkirakan dari bilangan asam, melalui analisis gugus fungsi yang terikat pada poli(trimetilen-sebasat). Harga bilangan asam yang semakin rendah menunjukkan bahwa rantai poli(trimetilen-sebasat) semakin panjang dan massa molekul relatif semakin besar (Bakar *et al.*, 2006).



Gambar 4.2 Bilangan asam Poli(trimetilen-sebasat)

Hasil pada Gambar 4.2 terlihat bahwa bilangan asam poli(trimetilen-sebasat) pada minggu pertama biodegradasi turun drastis. Hal ini menandakan karakter gugus ujung asam menjadi kurang dominan, akibat gugus ujung dari rantai poli(trimetilen-sebasat) yang panjang dan semula berada pada matriks poli(trimetilen-sebasat) serta mengalami folding menjadi lebih terbuka. Perubahan ini menyebabkan rantai menjadi lebih linier dan memanjang karena tidak lagi terlipat, sehingga gugus ujung poli(trimetilen-sebasat) dapat bereaksi dengan KOH. Kemungkinan ini sebagai akibat terjadinya hidrolisis ikatan antar rantai poli(trimetilen-sebasat) oleh air dalam media dan terjadi secara acak. Sebagai akibat dari proses ini maka berat molekul yang dapat dinyatakan sebagai bilangan asam, merupakan hasil rata-rata antara polimer rantai pendek dan rantai panjang yang tidak lagi mengalami folding. Dengan demikian diperoleh berat molekul rata-rata jumlah, M_n , meningkat seperti disajikan pada Gambar 4.3 Secara lengkap perhitungan berat molekul terdapat pada lampiran 5 (Tabel L.5.9).



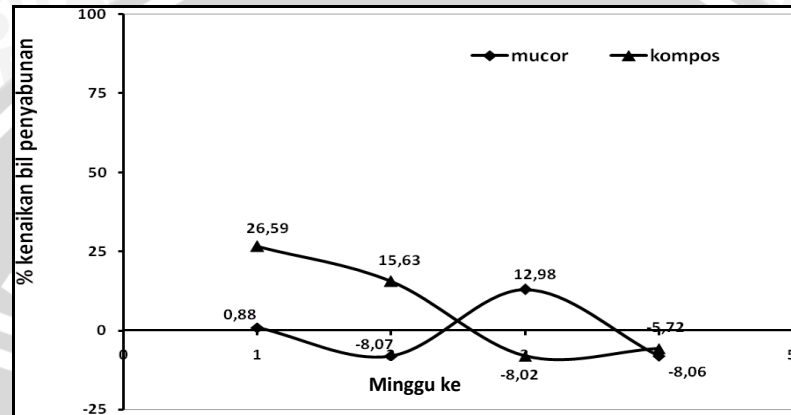
Gambar 4.3. Berat molekul rata-rata jumlah poli(trimetilen-sebasat)

Dari hasil uji beda nyata terkecil (BNT) dengan menggunakan $\alpha = 0,05$ yang terlampir pada Lampiran 3, diperoleh bahwa nilai bilangan asam hasil degradasi *Mucor miehei* pada minggu ke-2 hingga minggu ke-4 tidak berbeda nyata dan demikian pula hasil degradasi isolat kompos pada minggu ke-3 hingga minggu ke-4 tidak berbeda nyata. Sedangkan hasil uji beda nyata M_n baik pada degradasi menggunakan *Mucor miehei* maupun isolat kompos menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan nyata antar perlakuan,

yaitu lima perlakuan lama biodegradasi tidak berpengaruh terhadap M_n . Dengan demikian data bilangan asam masih belum dapat dijadikan parameter yang signifikan untuk proses biodegradasi.

4.2.3 Penentuan Bilangan Penyabunan

Penentuan bilangan penyabunan dilakukan untuk mengetahui seberapa besar perubahan panjang rantai karena proses biodegradasi. Semakin tinggi bilangan penyabunan (semakin banyak mg KOH yang dibutuhkan untuk menyabunkan 1 g poliester), berarti semakin besar mol poliester. Dengan demikian, massa molekul relatif rata-rata poliester semakin kecil, akibatnya semakin pendek rantai poliester. Hasil penentuan bilangan penyabunan disajikan sebagai kurva pada Gambar 4.4.



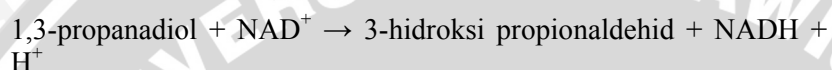
Gambar 4.4 Bilangan penyabunan poli(trimetilen-sebasat)

Dari data degradasi menggunakan *Mucor miehei* terlihat bahwa pola bilangan penyabunan pada awal minggu cenderung menurun dengan landai kemudian meningkat dan mencapai nilai maksimumnya pada minggu ketiga 15.986 mg/g (persen kenaikannya 12,98%) yang sejalan dengan nilai maksimum % pengurangan massa. Peningkatan bilangan penyabunan ini menunjukkan bahwa panjang rantai telah berkurang akibat proses biodegradasi.

Pada proses degradasi menggunakan isolat kompos, bilangan penyabunan mencapai nilai maksimum pada minggu pertama, di mana terdapat pola yang berbeda dengan bilangan asam. Hal ini dikarenakan pada penentuan bilangan asam, hanya gugus ujung yang bereaksi dengan KOH dan reaksi yang terjadi adalah netralisasi.

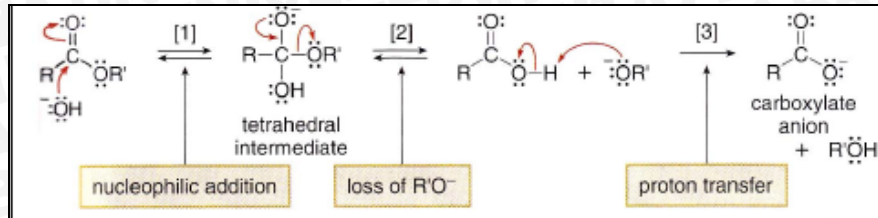
Sementara pada penentuan bilangan penyabunan, KOH bereaksi dengan semua gugus asam bebas dan ester yang terdapat pada molekul bukan hanya gugus ujung saja (dengan adanya tambahan energi dari proses refluks). Dengan demikian, bentuk *folding* dari poli(trimetilen-sebasat) pada awal biodegradasi tidak berpengaruh pada reaksi penyabunan dan panjang rantai dapat ditentukan.

Penurunan bilangan penyabunan pada minggu ketiga pada degradasi menggunakan isolat kompos dikarenakan asam sebasat yang dihasilkan dari proses biodegradasi mulai digunakan oleh mikroba sebagai sumber energi karena sumber energi lain yang lebih sederhana mulai habis. Sumber energi lain yang lebih sederhana adalah 1,3-propanadiol produk biodegradasi yang akan diubah menjadi gliserol dan selanjutnya oleh enzim glisero kinase diubah menjadi gliserol 3-fosfat setelah itu mengalami dehidrogenasi menjadi dihidroksiaseton fosfat yang kemudian mengalami isomerisasi menjadi d-gliseraldehida 3-fosfat dan dapat memasuki daur glikolisis seperti disajikan pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5 Mekanisme 1,3-propanadiol sebagai sumber energi

Mekanisme reaksi penyabunan yang terjadi sama dengan reaksi hidrolisis ester pada suasana basa, mekanisme tersebut disajikan pada Gambar 4.6 (Hunt, 2003).



Gambar 4.6 Mekanisme reaksi penyabunan

Keterangan :

$\text{R} = \text{HOOC}(\text{CH}_2)_8$

$\text{R}' = (\text{CH}_2)_3\text{OH}$

Tahap 1: Nukleofilik OH^- menyerang atom karbon elektrofilik pada gugus $\text{C}=\text{O}$ dari ester, memutuskan ikatan $\text{C}-\text{O}$ dan membentuk intermediet tetrahedral

Tahap 2: intermediet menjadi tidak stabil dan membentuk ikatan $\text{C}=\text{O}$ kembali dan kehilangan gugus pergi RO^- , dan terbentuklah asam karboksilat.

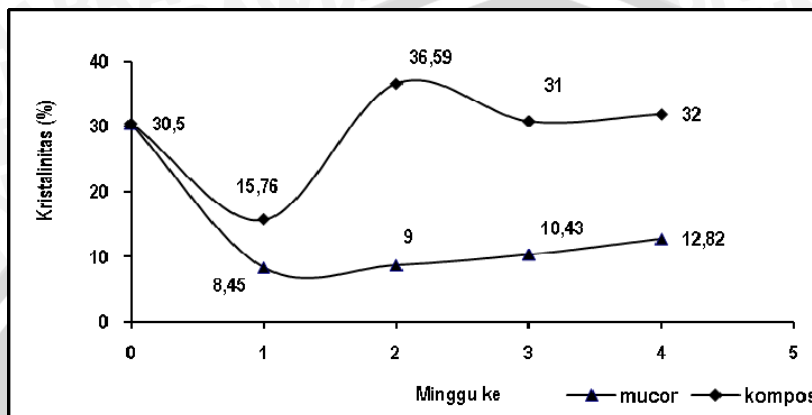
Tahap 3: Terjadi reaksi asam basa yang sangat cepat, di mana gugus RO^- bertindak sebagai basa yang mendeponasi asam karboksilat menjadi anion karboksilat RCOO^- .

4.2.4 Penentuan Derajat Kristalinitas

Parameter fisik lain yang digunakan untuk menganalisis hasil biodegradasi poli(trimetilen-sebasat) adalah derajat kristalinitas. Parameter ini digunakan karena poli(trimetilen-sebasat) adalah material semikristalin yang derajat kristalinitasnya akan berubah apabila terjadi proses biodegradasi. Hal ini dikarenakan fasa amorf lebih mudah dibiodegradasi dari pada fasa kristalin (Chandra and Rustigo, 1998).

Degradasi menggunakan *Mucor miehei* mulai minggu pertama hingga keempat menyebabkan derajat kristalinitas turun. Penurunan ini kemungkinan terjadi karena struktur antar rantai poli(trimetilen-sebasat) yang semula melipat atau *folding* mengalami hidrolisis menjadi lebih linier tetapi dengan tingkat keteraturan yang rendah karena hidrolisis terjadi secara acak (Vert *et al.*, dalam

Albertsson and Huang, 1995). Hasil ini juga didukung oleh adanya perubahan bilangan asam dengan pola yang sesuai. Kristalinitas yang rendah pada minggu pertama menyebabkan proses biodegradasi pada minggu selanjutnya meningkat karena mikroba yang digunakan cenderung lebih mudah mendegradasi fasa amorf sehingga daerah amorf menjadi berkurang dan derajat kristalinitas meningkat pada minggu-minggu selanjutnya. Hal ini sesuai dengan pengurangan massa yang terjadi di mana pengurangan massa juga semakin besar setelah minggu pertama. Hasil penentuan derajat kristalinitas disajikan sebagai kurva pada Gambar 4.7.



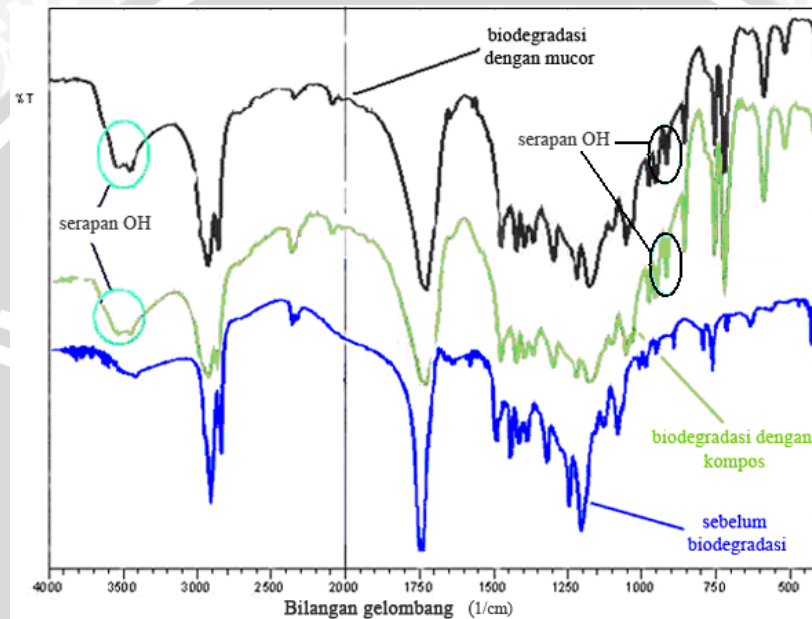
Gambar 4.7 Perubahan derajat kristalinitas poli(trimetilen-sebasat) setelah biodegradasi

Hasil degradasi menggunakan isolat kompos menunjukkan penurunan kristalinitas pada minggu pertama, naik drastis hingga mencapai 36,59% pada minggu kedua lalu cenderung turun hingga minggu keempat. Seperti halnya degradasi menggunakan *Mucor miehei*, penurunan pada minggu pertama, juga terjadi karena adanya hidrolisis secara acak oleh air dari media yang menyebabkan rantai poli(trimetilen-sebasat) lebih linier. Saat minggu kedua terjadi kenaikan derajat kristalinitas yang jauh lebih besar dibandingkan menggunakan *Mucor miehei*. Kemungkinan degradasi fasa amorf terjadi oleh berbagai jenis mikroba dalam kompos yang bekerja secara sinergis sehingga memiliki aktivitas yang jauh lebih tinggi saat degradasi daerah amorf (Pettigrew *et al.*, dalam Albertsson and Huang, 1995). Derajat kristalinitas setelah melampaui dua minggu cenderung turun diduga sumber nutrisi untuk kinerja mikroba

semakin sedikit sehingga aktivitas mikroba untuk mendegradasi fasa amorf semakin rendah. Biodegradasi menyebabkan metabolit produk biodegradasi terakumulasi dalam media sehingga sangat dimungkinkan metabolit ini dapat menghalangi sisi aktif enzim untuk bekerja lebih lanjut.

4.2.5 Penentuan Gugus Fungsi

Untuk mengetahui perubahan gugus fungsi akibat pemutusan ikatan, maka dilakukan analisis menggunakan spektrofotometer FTIR sebelum biodegradasi, setelah biodegradasi pada minggu maksimum biodegradasi yaitu minggu ketiga *Mucor miehei* dan minggu kedua isolat kompos. Hasil yang diperoleh dirangkum pada Gambar 4.8.



Gambar 4.8 Spektra IR Poli(trimetilen-sebatat)

Dari data tersebut dapat dilihat bahwa setelah biodegradasi, spektrum FTIR hasil degradasi menggunakan *Mucor miehei* dan isolat kompos memiliki pola yang sama. Selain itu terdapat O-H stretching pada bilangan gelombang 3442 cm^{-1} dan O-H out-of-plane bending pada $915,16 \text{ cm}^{-1}$ yang sebelumnya tidak ada. Hal ini menunjukkan bahwa poli(trimetilen-sebatat) yang pada awalnya

mengalami *folding* akibat proses biodegradasi akan mengalami perubahan yang mengakibatkan strukturnya menjadi cenderung linier akibatnya ikatan ester pada monomer ujung secara sterik tidak terhalangi, sehingga dapat dibiodegradasi dan dihasilkan asam sebasat yang menghasilkan serapan O-H pada spektrum IR.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

1. Poli(trimetilen-sebasat) dapat dibiodegradasi menggunakan *Mucor miehei* dan isolat kompos dengan nilai maksimum biodegradasi berturut-turut sebesar 8,73% dan 6,41%.
2. Karakter poli(trimetilen-sebasat) setelah proses biodegradasi yang ditentukan dengan bilangan asam dan derajat kristalinitas menurun pada minggu pertama kemudian cenderung meningkat hingga minggu keempat. Nilai maksimum derajat kristalinitas dan kenaikan bilangan penyabunan pada degradasi menggunakan *Mucor miehei* berturut-turut adalah 12,82% dan 12,96%, sedangkan degradasi menggunakan isolat kompos, derajat kristalinitas dan kenaikan bilangan penyabunan mencapai maksimum berturut-turut sebesar 36,59% dan 26,59%. Analisis spektrum FTIR setelah degradasi baik menggunakan *Mucor miehei* maupun isolat kompos menunjukkan adanya gugus fungsi hidroksil.

5.2 Saran

Aktivitas mikroba sangat ditentukan oleh ketersediaan nutrisi, karenanya perlu dikaji biodegradasi jika dilakukan dengan media yang selalu segar atau media diganti secara berkala. Selain itu perlu dilakukan penelitian biodegradasi poli(trimetilen-sebasat) dengan menggunakan mikroba penghasil enzim lipase lain yang mungkin dapat mendegradasi poli(trimetilen-sebasat) dengan lebih baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Abou-Zeid, D.M. 2001. Anaerobic Biodegradation of Natural and Synthetic Polyesters. Dissertation. Technical University Braunschweig. Germany. Internet:<http://opus.tubs.de/opus/volltexte/2001/246>. Diakses tanggal 16 Agustus 2008
- Albertsson, A.C. and S.J. Huang. 1995. Degradable Polymers, Recycling, and Plastics Waste Management. Marcell Dekker, Inc. New York. 195-204, 219-229
- Al-Zahrani, K.M. 2003. Determination of Saponification Number in Olive Oil. Thesis. King AbdulAziz University. Saudi Arabia. Diakses tanggal 16 Agustus 2008
- 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 Vol.8 No. 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
- Brioude, M.M., D.H. Guimardes, R.P. Fiuza, L.A.S Prado, J.S. Boaventura, and N.M. Jose. 2007. Synthesis and Characterization of Aliphatic Polyesters from Glycerol, by-Product of Biodiesel Production, and Adipic Acid. Material Research, Vol. 10, No.4, 335-339
- Campbell L.A. and H.A. Campbell. 2008. What is a Crystal? http://www.chemistry.co.nz/crystals_defined.htm. Diakses tanggal 24 Februari 2009
- Chandra, R. and R. Rustigo. 1998. Biodegradable Polymers. Prog. Polym. Sci. 23(7) : 1273-1335
- Charlie, M.J. and Wilkinson. 1994. The Fungi. Academic Press. London
- Cowie, J.M.G. 1991. Polymer: Chemistry and Physics polymers. Second edition. Chapman and Hall. New York
- Fardiaz. 1992. Microbiologi Pangan. PAU Pangan dan Gizi. IPB Bogor. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta
- Hummell, D.O. 1971. Infrared Analysis of Polymers, Resin and Additives An Atlas. volume I. Wiley-Interscience. New York

- Hunt, I. 2003. Hydrolysis of Esters <http://www.chem.ucalgary.ca/courses/351/Carey5th/Ch20/ch20-3-3-1.html>. Diakses tanggal 2 Januari 2009
- Iswanto, P., N.M. Surdia, and I Made A. 1999. Synthesis Poly(Trimethylene Adipate) and Its Biodegradability by Activated Sludge. Proceeding of The Second International Workshop on Green Polymer 15-20 Octobet 2000. Bandung-Bogor
- Jay, J.M. 1991. Modern Food Biotechnology. 4th ed. Van Nostrand Reinhold. New York
- Kleeberg, I., C. Hetz, R.M. Kroppenstedt, R.J. Müller, 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 Vol. 13, No 1, 59-68
- Lehninger, A.L. 1982. Principles of Biochemistry. Worth Publisher, Inc. Maryland
- Macrae A.R. and R.C. Hammond. 1985. Present and Future application of Lipases. Biotechnol. Genet. Eng. Rev. 3. 193-217
- Maheswari, R., G. Bharadwaj, and M.K. Bhat. 2000. Thermophilic Fungi: Their Physiology and Enzymes. J. Biotech. P 426
- 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. (ed.). 1993. Standard methods for the microbiological examination of dairy products, 16th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
- 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, Vol. 71, no 11, pp 21767-2188
- Mukai, K. and Y. Doi. 1995. Microbial Degradation of Polyesters. Prog. Ind. Microbiol. 32, 189-204

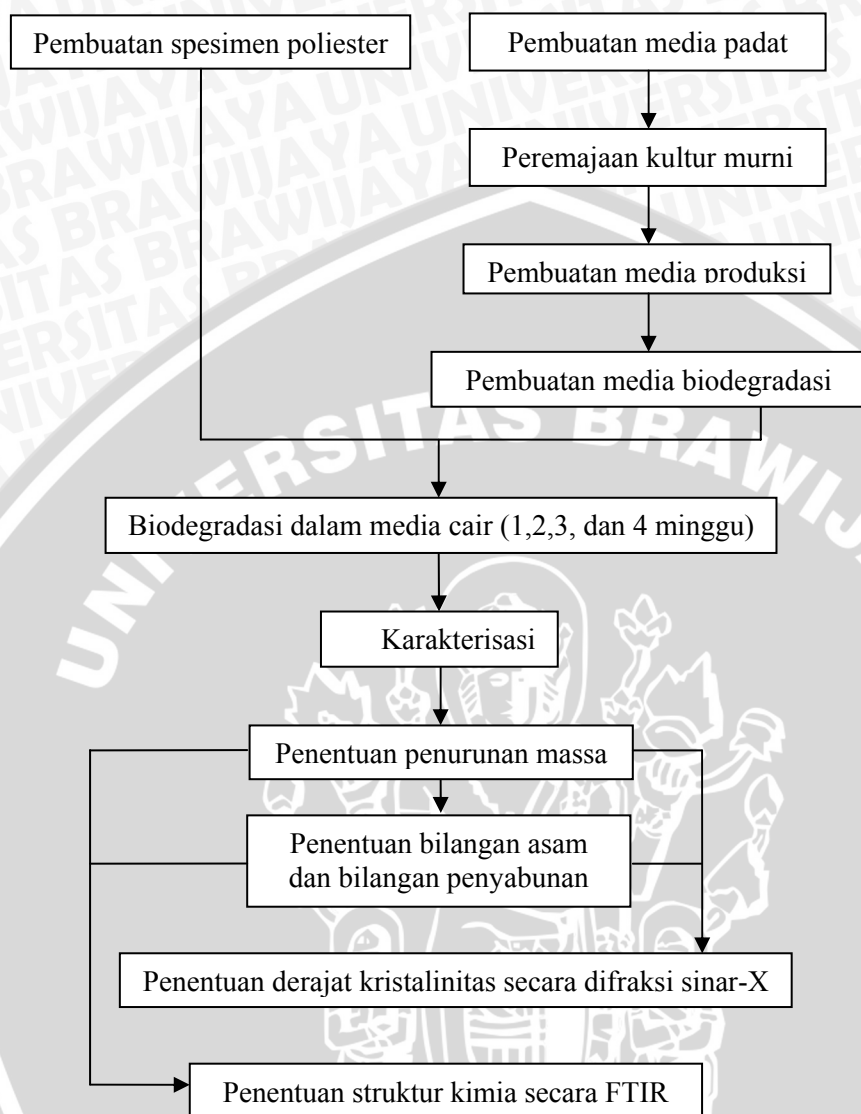
- Murgasova, R., E.L. Brantley, D.M. Hercules, and H. Nefzger. 2002. Characterization of Polyester–Polyurethane Soft and Hard Blocks by a Combination of MALDI, SEC, and Chemical Degradation. *Macromolecules*, 2002, 35 (22), 8338-8345. DOI: 10.1021/ma020879y
- Pavia, D.I., G.M. Lampman, and G.S. Kriz. 1996. Introduction to Spectroscopy A Guide For Student Of Organic Chemistry. second edition. Harcourt Brace College Publisher. USA
- Permatasari, E.F. 2002. Isolasi dan Karakterisasi Ekstrak Kasar Enzim Lipase dari *Mucor miehei*. Skripsi. Brawijaya. Malang
- Pranamuda, H. 1999. Pengembangan Bahan Plastik Biodegradabel Berbahanbaku Pati Tropis. BPPT. Jakarta. <http://ml.ryu.titech.ac.jp/~indonesia/zoa/paper/html/paperHardaningPranamuda.html>. Diakses tanggal 8 Agustus 2008
- Rabek, J.F. 1980. Experimental Method in Polymer Chemistry : Physical Principles and Applications. John Willey and Sons. New York
- Saefudin S, A. 2007. Bahan Plastik Ramah Lingkungan. Puslit Bioteknologi LIPI Bogor. <http://www.biotek.lipi.go.id/index.php?option=content&task=view&id=338&catid=8&Itemid=10>. Diakses tanggal 8 Agustus 2008
- Saxena, R.K., P.K. Ghod, R.Gupta, Davidson, W. Sheba, Bradoo, Sapna, and Gulati, R. 1999. Microbial Lipases: Potential Biocatalysts For the Future Industry. *Current Science*, July 1999, vol. 77, no. 1, p. 101- 115
- Schmidt, K.T. and M. Ratajska. 2005. Biodegradability of Non-Wovens Made of Aliphatic-Aromatic Polyester. Institute of Chemical Fibres. Poland FIBRES & TEXTILES in Eastern Europe Vol. 13, No. 1 (49)
- Schnabel, W. 1981. Polymer Degradation. Macmillan Publishing Co., Inc., New York
- Steven, M.P. 2001. Kimia Polimer. Cetakan pertama. Diterjemahkan oleh Sopyan L. PT Pradnya Paramita. Jakarta
- Sun, S.F. 1994. Physical Chemistry of Macromolecules. Basic Principles and Issues. Jhon Wiley and Sons, Inc, New York
- Sperling, L.H. 1985. Introducting to Physical Polimer Science. John Wiley & Sons, Inc. New York

- Tadros, R.M., H. Noureddini, and D.C. Timm. 1999. Biodegradation of Thermoplastic and Thermosetting Polyesters from Z-Protected Glutamic Acid. University of Nebraska. Lincoln
- Timmins, M.R. and R.W Lenz. 1994. Enzymatic biodegradation of polymers. TRIP. 2: 15-19
- Tokiwa, Y., T. Suzuki, and K. Takeda. 1988. TwoTypes of Lipases in Hydrolysis of Polyester. Fermentation Research Institute, Tsukuba, Japan. Agric. Biol. Chem., 52 (8)
- Tortora, G.J., B.R. Funke, and C.L. Case. 2001. Microbiology : An Introduction. Addison Wesley Longman, Inc. USA
- Uyama, H. and S. Kobayashi. 2002. Enzyme-catalyzed polymerization to functional polymers. J. Molecul. Catal. B: Enzyma. 19-20, 117-127
- Vakhlu, J. and A. Kour. 2005. Yeast Lipases : Enzyme Purification, Biochemical Properties and Gene Cloning. Electronic Journal of Biotechnology ISSN : 0717-3458 Vol.9 No.1. 69-70
- Volk, W.A. 1992. Basic Microbiology. Harper Collins. New York
- West, A.R. 1984. Solid State Chemistry and Its Applications. John Wiley and Sons, Ltd. Singapore
- Wijaya, S.C. 2008. Karakterisasi Poliester Sintetik dari Hasil Fraksinasi Secara Pelarutan. Skripsi. Brawijaya. Malang
- Winarno, F.G. 1995. Enzim Pangan. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta



LAMPIRAN

Lampiran I. Diagram Alir Penelitian



Lampiran II. Preparasi dan Pembakuan Larutan

L.2.1 Preparasi 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 aquades dalam gelas beaker. Kemudian dipindahkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditandabatkan dengan penambahan aquades. Larutan tersebut kemudian disterilkan selama 15 menit pada temperatur 121 °C dan tekanan 15 psi.

L.2.2 Preparasi larutan NaOH 10%

Larutan NaOH 10% dibuat dengan cara menimbang padatan NaOH sebanyak 2,5 g; lalu dilarutkan dengan 15 mL aquades dalam gelas beaker. Kemudian dipindahkan ke dalam labu ukur 25 mL dan ditandabatkan dengan penambahan aquades.

L.2.3 Preparasi larutan Na_2HPO_4 0,2 M

Jumlah Na_2HPO_4 yang dibutuhkan adalah :

$$\begin{aligned} m &= \text{Mr Na}_2\text{HPO}_4 \times M \times V \\ &= 142 \text{ g/mol} \times 0,2 \text{ mol/L} \times 0,1 \text{ L} = 2,84 \text{ g} \end{aligned}$$

Larutan Na_2HPO_4 0,2 M dibuat dengan cara menimbang 2,84 g Na_2HPO_4 lalu dilarutkan dengan 50 mL aquades dalam gelas beaker. Kemudian dipindahkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditandabatkan dengan penambahan aquades.

L.2.4 Preparasi larutan asam sitrat 0,1 M

Jumlah asam sitrat yang dibutuhkan adalah :

$$\begin{aligned} m &= \text{Mr} \times M \times V \\ &= 192 \text{ g/mol} \times 0,1 \text{ mol/L} \times 0,1 \text{ L} = 1,92 \text{ g} \end{aligned}$$

Larutan asam sitrat 0,1 M dibuat dengan cara menimbang asam sitrat sebanyak 1,92 g lalu dilarutkan dengan 50 mL aquades dalam gelas beaker. Kemudian dipindahkan ke labu ukur 100 mL dan ditandabatkan dengan penambahan aquades.

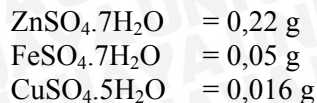
L.2.5 Preparasi larutan buffer sitrat fosfat pH 5

Sebanyak 60 mL larutan Na_2HPO_4 0,2 M dimasukkan dalam gelas beaker yang telah berisi pengaduk magnetik. Elektroda

dipasangkan dan dicelupkan dalam larutan. Dilakukan penambahan asam sitrat 0,1 M ke dalam larutan hingga pH mencapai 5.

L.2.6 Preparasi larutan aktivator

Komposisi bahan-bahan larutan aktivator sebagai berikut :



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

L.2.7 Preparasi larutan indikator fenolftalein 0,1%

Larutan indikator fenolftalein 0,1% dibuat dengan cara menimbang fenolftalein sebanyak 0,025 g; lalu dilarutkan dengan 30 mL etanol 96% dalam gelas beaker. Kemudian dipindahkan ke dalam labu ukur 25 mL dan ditandabatkan dengan penambahan etanol 96%.

L.2.8 Preparasi larutan KH_2PO_4 0,2 M

Jumlah KH_2PO_4 yang dibutuhkan adalah :

$$\begin{aligned}m &= \text{Mr } \text{KH}_2\text{PO}_4 \times M \times V \\ &= 136 \text{ g/mol} \times 0,2 \text{ mol/L} \times 0,1 \text{ L} = 2,72 \text{ g}\end{aligned}$$

Larutan KH_2PO_4 0,2 M dibuat dengan cara menimbang KH_2PO_4 sebanyak 2,72 g; lalu dilarutkan dengan 50 mL aquades dalam gelas beaker. Kemudian dipindahkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditandabatkan dengan penambahan aquades.

L.2.9 Preparasi larutan K_2HPO_4 0,2 M

Jumlah K_2HPO_4 yang dibutuhkan adalah :

$$\begin{aligned}m &= \text{Mr } \text{K}_2\text{HPO}_4 \times M \times V \\ &= 174 \text{ g/mol} \times 0,2 \text{ mol/L} \times 0,1 \text{ L} = 3,48 \text{ g}\end{aligned}$$

Larutan K_2HPO_4 0,2 M dibuat dengan cara menimbang K_2HPO_4 sebanyak 3,48 g; lalu dilarutkan dengan 50 mL aquades dalam gelas beaker. Kemudian dipindahkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditandabatkan dengan penambahan aquades.

L.2.10 Preparasi larutan buffer $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-K}_2\text{HPO}_4$ 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. Dilakukan penambahan larutan KH_2PO_4 0,2 M ke dalam larutan hingga pH mencapai 7.

L.2.11 Preparasi larutan KOH alkoholis 0,02 M

Jumlah KOH yang dibutuhkan adalah :

$$\begin{aligned} m &= M_r \text{ KOH} \times M \times V \\ &= 56,1 \text{ g/mol} \times 0,02 \text{ mol/L} \times 0,1 \text{ L} = 0,1122 \text{ g} \end{aligned}$$

Larutan KOH 0,02 M dibuat dengan cara menimbang KOH sebanyak 0,164 g; lalu dilarutkan dengan 80 mL etanol 96% dalam gelas beaker. Kemudian dipindahkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditandabatkan dengan penambahan etanol 96%. Sehingga didapat larutan KOH alkoholis dengan konsentrasi 0,0292 M.

L.2.12 Preparasi larutan asam oksalat 0,02 M

Jumlah asam oksalat yang dibutuhkan adalah :

$$\begin{aligned} m &= M_r \text{ asam oksalat} \times M \times V \\ &= 126,07 \text{ g/mol} \times 0,02 \text{ mol/L} \times 0,05 \text{ L} = 0,12607 \text{ g} \end{aligned}$$

Larutan asam oksalat 0,02 M dibuat dengan cara menimbang asam oksalat sebanyak 0,126 g; lalu dilarutkan dengan 350 mL aquades dalam gelas beaker. Kemudian dipindahkan ke labu ukur 500 mL dan ditandabatkan dengan penambahan aquades. Sehingga didapat Larutan asam oksalat dengan konsentrasi 0,01998 M.

L.2.13 Preparasi larutan $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,0499 M

Jumlah $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ yang dibutuhkan adalah :

$$\begin{aligned} m &= M_r \text{ Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \times M \times V \\ &= 201,22 \text{ g/mol} \times 0,05 \text{ mol/L} \times 25 \text{ L} = 0,251 \text{ g} \end{aligned}$$

Larutan $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,05 M dibuat dengan cara menimbang $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ sebanyak 0,2509 g; lalu dilarutkan dengan 18 mL aquades dalam gelas beaker. Kemudian dipindahkan ke labu ukur 25 mL dan ditandabatkan dengan penambahan aquades. Sehingga didapat Larutan $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ dengan konsentrasi 0,0499 M.

L.2.14 Preparasi larutan HCl 1 M

Jumlah HCl yang dibutuhkan adalah :

$$\begin{aligned} V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\ V_1 \times 12,06 \text{ M} &= 100 \text{ mL} \times 1 \text{ M} \\ V_1 &= 8,29 \text{ mL} \end{aligned}$$

Larutan HCl 1 M dibuat dengan cara memipet sebanyak 8,3 mL HCl 12,06 M; lalu dimasukkan ke dalam gelas beaker yang berisi 85 mL aquades. Kemudian dipindahkan ke labu ukur 100 mL dan ditandabatkan dengan penambahan aquades. Sehingga didapat Larutan HCl dengan konsentrasi 1 M.

L.2.15 Pembakuan Larutan KOH alkoholis 0,0292 M

Pembakuan larutan KOH alkoholis 0,0292 M dilakukan dengan titrasi menggunakan asam oksalat 0,01998 M. Sebanyak 5 mL Larutan asam oksalat 0,01998 M dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan ditambah dengan 3 tetes indikator fenolftalein. Kemudian larutan tersebut dititrasi dengan larutan KOH alkoholis dan dicatat volume KOH yang diperlukan, lalu dihitung molaritas larutan KOH :

$$\begin{aligned} \text{Ekiv}_{\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4} &= \text{Ekiv}_{\text{KOH alkoholis}} \\ 2 [\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}] &= [\text{KOH alkoholis}] \\ 2 \times 0,01998 \text{ M} \times 5 \text{ mL} &= [\text{KOH alkoholis}] \times 9 \text{ mL} \\ [\text{KOH alkoholis}] &= 0,0223 \text{ M} \end{aligned}$$

L.2.16 Pembakuan Larutan HCl 1 M

Pembakuan larutan HCl 1 M dilakukan dengan titrasi menggunakan $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,049 M. Sebanyak 5 mL Larutan $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,0499 M dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan ditambah dengan 3 tetes indikator metil merah. Kemudian larutan tersebut dititrasi dengan larutan HCl dan dicatat volume HCl yang diperlukan, lalu dihitung molaritas larutan HCl :

$$\begin{aligned} \text{Ekiv}_{\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7} &= \text{Ekiv}_{\text{HCl}} \\ 2 \times [\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7] &= [\text{HCl}] \\ 2 \times 0,0499 \text{ M} \times 5 \text{ mL} &= [\text{HCl}] \times 0,25 \text{ mL} \\ [\text{HCl}] &= 1,992 \text{ M} \end{aligned}$$

Lampiran III. Pengolahan Data Hasil Percobaan

Tabel L.3.1 pengurangan massa spesimen

minggu	massa spesimen (mg)									
	degradasi dengan mucor					degradasi dengan kompos				
	Sebelum	sesudah	pengurangan	% pengurangan(x)	$\bar{x}$	sebelum	sesudah	pengurangan	% pengurangan(x)	$\bar{x}$
1	82	78	4	4,88	5,03	117	110	7	5,98	4,85
	73	69	4	5,48		116	110	6	5,17	
	71	68	3	4,23		89	86	3	3,37	
	72	68	4	5,56		123	117	6	4,88	
2	99	94	5	5,05	5,65	125	118	7	5,60	5,36
	108	99	9	8,33		131	124	7	5,34	
	98	95	3	3,06		110	104	6	5,45	
	81	76	5	6,17		139	132	7	5,04	
3	69	65	4	5,80	8,73	117	110	7	5,98	6,41
	77	73	4	5,19		97	91	6	6,19	
	78	65	13	16,67		86	80	6	6,98	
	69	64	5	7,25		108	101	7	6,48	
4	68	62	6	8,82	7,62	104	98	6	5,77	6,17
	74	69	5	6,76		118	111	7	5,93	
	70	64	6	8,57		79	74	5	6,33	
	95	89	6	6,32		120	112	8	6,67	

L.3.1 Uji Q

Untuk menentukan apakah data akan dipakai atau dibuang, maka dilakukan uji Q.

Tabel L.3.2 Uji Q

	Mucor 2	Mucor 3	Mucor 4	kompos 1	kompos 4
Stand. Dev.	1,667E+00	5,365E+00	1,261E+00	1,106E+00	4,054E-01
Selang kepercayaan (90, 95, 99)	95	95	95	95	95
Nilai yang ditanyakan	8,33	16,67	6,32	3,37	5,77
Nilai terdekat dari yang ditanyakan	6,17	7,25	6,76	4,48	5,93
Nilai terjauh dari yang ditanyakan	3,06	5,19	8,82	5,98	6,67
Q hitung	0,659	0,821	0,176	0,425	0,178
Q Tabel	0,829	0,829	0,829	0,829	0,829
Hasil	diterima	diterima	diterima	diterima	diterima

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

Di mana:

x_n = Nilai yang ditanyakan

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

x_1 = Nilai terjauh dari yang ditanyakan

Contoh:

Pada minggu ke-3 degradasi dengan menggunakan *Mucor miehei*, apakah data % pengurangan massa 16,67% harus di buang :

$$Q_{hitung} = \frac{x_n - x_{n-1}}{x_n - x_1} = \frac{16,67 - 7,25}{16,67 - 5,19} = 0,821$$

Karena $Q_{hitung} < Q_{Tabel}$ maka data tidak dibuang.

L.3.2 Uji Beda Nyata Bilangan Asam

Untuk mengetahui apakah data bilangan asam berbeda nyata atau tidak, maka dilakukan Uji Statistik Pengaruh Lama Biodegradasi terhadap Bilangan Asam.

1. Degradasi menggunakan *Mucor miehei*

Tabel L.3.3 Data bilangan asam pada degradasi menggunakan *Mucor miehei*

Lama biodegradasi	pengulangan		Rata-rata	Standar Deviasi
	I	II		
0	0,192	0,182	0,187	0,007
1	0,087	0,117	0,102	0,021
2	0,134	0,129	0,132	0,004
3	0,145	0,138	0,142	0,005
4	0,162	0,1274	0,145	0,024

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

1. Menghitung faktor koreksi

$$FK = \frac{[\sum Y_i]^2}{n_i \times k}$$

$$= \frac{(1,4136)^2}{2 \times 5}$$

$$= 0,1999$$

Di mana : n_i = jumlah pengulangan
 k = jumlah kelompok
 n = $\sum n_i$

2. Menghitung jumlah kuadrat

$$JK_{\text{Total}} = \sum (Y_{ij}^2) - FK$$

$$= (0,192^2 + \dots + 0,1274^2) - 0,1999$$

$$= 0,2085 - 0,1999$$

$$= 0,00862$$

$$JK_{\text{Perlakuan}} = \frac{(\sum Y_{ij})^2}{n_i} - FK$$

$$= \{(0,204^2 + \dots + 0,374^2)/2\} - 0,1999$$

$$= 0,0074$$

$$\begin{aligned} JK_{\text{Galat}} &= JKT - JKP \\ &= 0,00862 - 0,0074 \\ &= 0,00115 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 3. \text{ Menghitung nilai kuadrat tengah tiap sumber keragaman} \\ KTG &= \frac{JKP}{k-1} = \frac{0,0074}{5-1} = 0,00187 \end{aligned}$$

$$KTG = \frac{JKG}{n-k} = \frac{0,00115}{10-5} = 0,00023$$

$$\begin{aligned} 4. \text{ Menghitung nilai F} \\ F_{\text{Hitung}} &= \frac{KTP}{KTG} = \frac{0,00187}{0,00023} = 8,09 \end{aligned}$$

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.3.4 Analisis varian pada degradasi menggunakan *Mucor miehei*

Sumber Keragaman	Db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F _{Hitung}	F _{Tabel} $\alpha = 0,05$
Perlakuan	4	0,0074	0,00187		
Galat	5	0,0017	0,00023	8,09	5,19
Total	9				

Berdasarkan Tabel L.3.4 diperoleh bahwa $F_{\text{Hitung}} > F_{\text{Tabel}}$ maka H_0 ditolak, berarti ada perbedaan nyata antar perlakuan, yaitu lima perlakuan lama biodegradasi pada Tabel L.3.3 berpengaruh terhadap bilangan asam.

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

$$\begin{aligned} \text{BNT } (\alpha) &= t_{(\alpha/2; db)} \sqrt{2KTG / ni} \\ &= t_{(0,025; 5)} \sqrt{2 * 0,00023 / 2} \\ &= 0,039 \end{aligned}$$

Tabel L.3.5 Selisih dua nilai rata-rata bilangan asam pada degradasi menggunakan *Mucor miehei*

	Minggu ke	0	1	2	3	4
	Bilangan Asam	0,187	0,10205	0,13155	0,1415	0,1447
0	0,187	0	0,085 b	0,055 b	0,045 b	0,042 b
1	0,10205		0	0,029 a	0,039 b	0,043 b
2	0,13155			0	0,010 a	0,013 a
3	0,1415				0	0,003 a
4	0,1447					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.3.5 diberi simbol :

a = tidak berbeda nyata

b = berbeda nyata

Hasil analisis analisis degradasi menggunakan *Mucor miehei* 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 tidak berbeda nyata
- perubahan bilangan asam minggu ke-3 dan ke-4 tidak berbeda nyata

2. Degradasi menggunakan isolat kompos

Tabel L.3.6 Data bilangan asam pada degradasi menggunakan isolat kompos

Lama biodegradasi	pengulangan		Rata-rata	Standar Deviasi
	I	II		
0	0,192	0,182	0,187	0,007
1	0,1022	0,1056	0,104	0,002
2	0,1338	0,171	0,152	0,026
3	0,0892	0,132	0,111	0,030
4	0,1115	0,108	0,110	0,002

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

1. Menghitung faktor koreksi

$$FK = \frac{[\sum Y_i]^2}{n_i \times k}$$

$$= \frac{(1,3273)^2}{2 \times 5}$$

$$= 0,1762$$

Di mana : n_i = jumlah pengulangan
 k = jumlah kelompok
 n = $\sum n_i$

2. Menghitung jumlah kuadrat

$$JK_{\text{Total}} = \sum (Y_{ij}^2) - FK$$

$$= (0,0192^2 + \dots + 0,108^2) - 0,1762$$

$$= 0,012$$

$$JK_{\text{Perlakuan}} = \frac{(\sum Y_{ij})^2}{n_i} - FK$$

$$= \{(0,2078^2 + \dots + 0,374^2)/2\} - 0,1762$$

$$= 0,0104$$

$$JK_{\text{Galat}} = JKP - JKT$$

$$= 0,012 - 0,0104$$

$$= 0,0017$$

3. Menghitung nilai kuadrat tengah tiap sumber keragaman

$$KTP = \frac{JKP}{k-1} = \frac{0,0104}{5-1} = 0,0026$$

$$KTG = \frac{JKG}{n-k} = \frac{0,0017}{10-5} = 0,00033$$

4. Menghitung nilai F

$$F_{\text{Hitung}} = \frac{KTP}{KTG} = \frac{0,0026}{0,00033} = 7,76$$

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.3.7 Analisis varian pada degradasi menggunakan isolat kompos

Sumber Keragaman	Db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel $\alpha = 0,05$
Perlakuan	4	0,0104	0,00187	7,76	5,19
Galat	5	0,0017	0,00033		
Total	9				

Berdasarkan Tabel L.3.7 diperoleh bahwa $F_{\text{Hitung}} > F_{\text{Tabel}}$ maka H_0 ditolak, berarti ada perbedaan nyata antar perlakuan, yaitu lima perlakuan lama biodegradasi pada Tabel L.3.6 berpengaruh terhadap bilangan asam.

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

$$\begin{aligned} \text{BNT}(\alpha) &= t_{(\alpha/2; db)} \sqrt{2KTG / ni} \\ &= t_{(0,025; 5)} \sqrt{2 * 0,00033 / 2} \\ &= 0,0469 \end{aligned}$$

Tabel L.3.8 Selisih dua nilai rata-rata bilangan asam pada degradasi menggunakan isolat kompos

Minggu ke	0	1	2	3	4
Bilangan asam	0,187	0,104	0,152	0,111	0,10
0	0,187	0,083 b	0,035 a	0,076 b	0,077 b
1	0,104	0	0,049 b	0,007 a	0,006 a
2	0,152		0	0,042 a	0,043 a
3	0,111			0	0,001 a
4	0,10				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.3.8 diberi simbol :

a = tidak berbeda nyata

b = berbeda nyata

Hasil analisis degradasi 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.3.9 Berat molekul rata-rata jumlah poli(trimetilen-sebasat)

Ket.	sebelum	M1	M2	M3	M4	K1	K2	K3	K4
Bil. asam	0,187	0,102	0,132	0,142	0,145	0,104	0,153	0,111	0,11
Mn	10.695	19.608	15.152	14.085	13.793	19.231	13.072	18.018	18.182

ket :

$$\text{Berat - molekul} = \frac{n \times 10^3}{\text{bil. asam}}$$

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

L.3.2 Uji Beda Nyata Berat Molekul Rata-Rata Jumlah (M_n)

Untuk mengetahui apakah data M_n berbeda nyata atau tidak, maka dilakukan uji statistik pengaruh lama biodegradasi terhadap M_n .

1. Degradasi menggunakan *Mucor miehei*

Tabel L.3.10 Data M_n pada degradasi menggunakan *Mucor miehei*

Lama biodegradasi	pengulangan		Rata-rata	Standar Deviasi
	I	II		
0	10.989	10.417	10.703	405
1	23.068	17.036	20.052	4.265
2	14.948	15.468	15.208	368
3	13.793	14.493	14.143	495
4	12.346	15.699	14.022	2.371

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

1. Menghitung faktor koreksi

$$FK = \frac{[\sum Y_i]^2}{n \times k}$$

$$= \frac{(148.255)^2}{2 \times 5}$$

$$= 2.197.960.846$$

Di mana : n_i = jumlah pengulangan

k = jumlah kelompok

n = $\sum n_i$

2. Menghitung jumlah kuadrat

$$JK_{\text{Total}} = \sum (Y_{ij}^2) - FK$$

$$= (10.417^2 + \dots + 15.699^2) - 2.197.960.846$$

$$= 115.497.386,1$$

$$JK_{\text{Perlakuan}} = \frac{(\sum Y_{ij})^2}{n_i} - FK$$

$$= \{ (21.405,7^2 + \dots + 40.103,8^2) / 2 \} - 2.197.960.846$$

$$= 91.138.355,95$$

$$JK_{\text{Galat}} = JKT - JKP$$

$$= 115.497.386,1 - 91.138.355,95$$

$$= 24.359.030,14$$

Menghitung nilai kuadrat tengah tiap sumber keragaman

$$KTP = \frac{JKP}{k-1} = \frac{91.138.355,95}{5-1} = 22.784.588,99$$

$$KTG = \frac{JKG}{n-k} = \frac{24.359.030,14}{10-5} = 4.871.806,03$$

3. Menghitung nilai F

$$F_{\text{Hitung}} = \frac{KTP}{KTG} = \frac{22.784.588,99}{4.871.806,03} = 4,7$$

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.3.11 Analisis varian pada degradasi menggunakan *Mucor miehei*

Sumber Keragaman	Db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel $\alpha = 0,05$
Perlakuan	4	91.138.356	22.784.589		
Galat	5	24.359.030	4.871.806	4,7	5,19
Total	9				

Berdasarkan Tabel L.3.11 diperoleh bahwa $F_{Hitung} < F_{Tabel}$ maka H_0 diterima, berarti tidak ada perbedaan nyata antar perlakuan, yaitu lima perlakuan lama biodegradasi pada Tabel L.3.10 tidak berpengaruh terhadap M_n .

2. Degradasi menggunakan isolat kompos

Tabel L.3.12 Data M_n pada degradasi menggunakan isolat kompos

Lama biodegradasi	Pengulangan		Rata-rata	Standar Deviasi
	I	II		
0	10.989	10.417	10.703	405
1	19.569	18.939	19.254	446
2	14.948	11.696	13.322	2.299
3	22.422	15.152	18.787	5.141
4	17.937	18.519	18.228	411

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

4. Menghitung faktor koreksi

$$FK = \frac{[\sum Y_i]^2}{n_i \times k}$$

$$= \frac{(160587)^2}{2 \times 5}$$

$$= 2.578.815.593$$

Di mana : n_i = jumlah pengulangan
 k = jumlah kelompok
 n = $\sum n_i$

5. Menghitung jumlah kuadrat

$$JK_{Total} = \sum (Y_{ij})^2 - FK$$

$$= (10.417^2 + \dots + 18.519^2) - 2.578.815.593$$

$$= 149.314.593,6$$

$$JK_{Perlakuan} = \frac{(\sum Y_{ij})^2}{n_i} - FK$$

$$= \{(21405,7^2 + \dots + 36455,7^2)/2\} - 2.578.815.593$$

$$= 117.069.806,6$$

$$\begin{aligned} JK_{\text{Galat}} &= JKT - JKP \\ &= 149.314.593,6 - 117.069.806,6 \\ &= 32.244.787,03 \end{aligned}$$

Menghitung nilai kuadrat tengah tiap sumber keragaman

$$KTP = \frac{JKP}{k-1} = \frac{117.069.806,6}{5-1} = 29.267.451,64$$

$$KTG = \frac{JKG}{n-k} = \frac{32.244.787,03}{10-5} = 6.448.957,41$$

6. Menghitung nilai F

$$F_{\text{Hitung}} = \frac{KTP}{KTG} = \frac{29.267.451,64}{6.448.957,41} = 4,54$$

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.3.13 Analisis varian pada degradasi menggunakan isolat kompos

Sumber Keragaman	Db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F _{Hitung}	F _{Tabel} $\alpha = 0,05$
Perlakuan	4	117.069.807	29.267.452	4,54	5,19
Galat	5	32.244.787	6.448.957		
Total	9				

Berdasarkan Tabel L.3.13 diperoleh bahwa $F_{\text{Hitung}} < F_{\text{Tabel}}$ maka H_0 diterima, berarti tidak ada perbedaan nyata antar perlakuan, yaitu lima perlakuan lama biodegradasi pada Tabel L.3.12 tidak berpengaruh terhadap M_n .



Tabel L.3.14 Bilangan asam

Mikroba	Keterangan	Minggu 0		Minggu I		Minggu II		Minggu III		Minggu IV	
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)	0,192	0,182	0,102	0,106	0,134	0,171	0,089	0,132	0,111	0,108
	$\bar{x}$	0,187		0,104		0,153		0,111		0,11	
	% penurunan	0		44,44		18,5		40,86		41,31	
<i>Mucor miehei</i>	V.KOH _{sample} (mL)	0,48	0,482	0,25	0,28	0,34	0,48	0,32	0,32	0,35	0,31
	V.KOH _{blanko} (mL)	0,2		0,18		0,19		0,19		0,19	
	Massa sampel (g)	0,033	0,035	0,018	0,019	0,025	0,05	0,02	0,021	0,022	0,021
	Bilangan asam (x)	0,192	0,182	0,087	0,117	0,134	0,129	0,145	0,138	0,162	0,127
	$\bar{x}$	0,187		0,102		0,132		0,142		0,145	
	% penurunan	0		45,43		29,65		24,33		22,62	

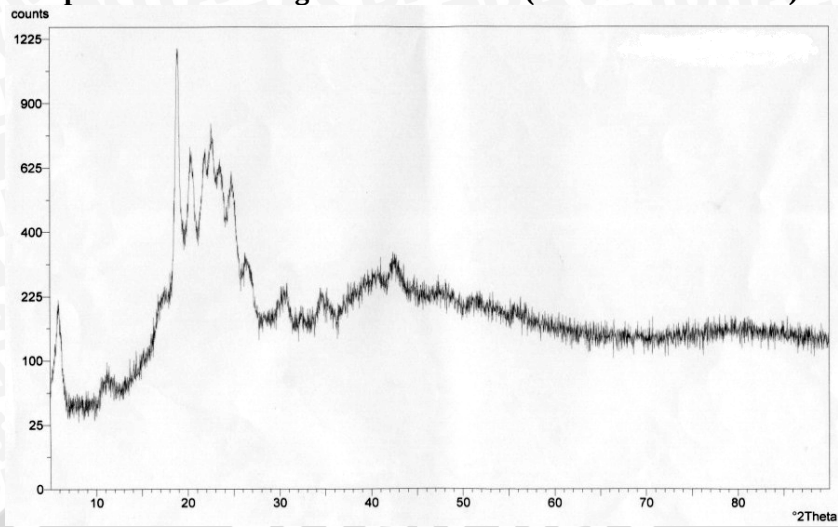
Keterangan : [KOH alkoholis] = 0,0223 M

Tabel L.3.15 Bilangan Penyabunan

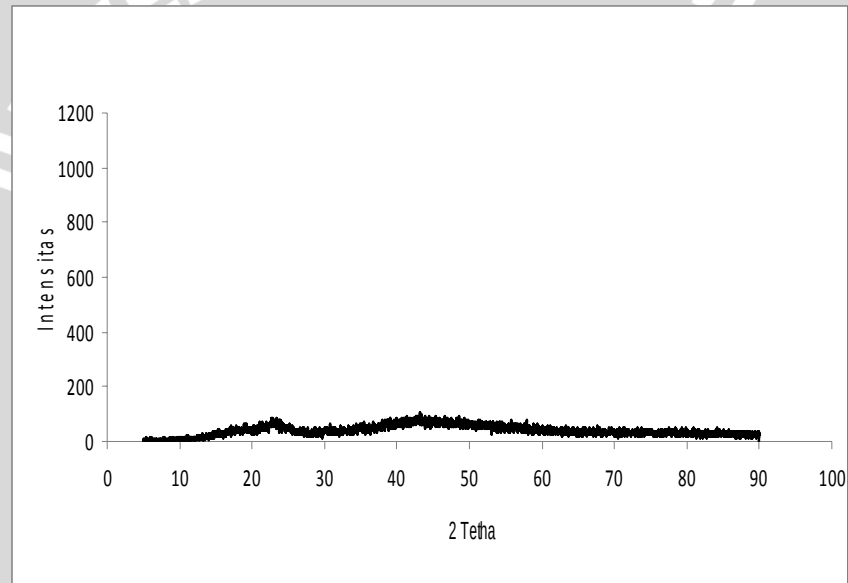
Ket	HCl_1 (M)	Volume HCl_1 (mL)	HCl_2 (M)	Volume HCl_2 (mL)	massa spesimen (g)	bil penyabunan (mg /g)	% kenaikan
Sebelum	1.992	5.26	0.104	1.31	0.041	14.150	0
K1	1.992	6.62	0.104	0.92	0.041	17.913	26,59
K2	1.992	6.62	0.104	0.60	0.045	16.362	15,63
K3	1.559	6.60	0.104	0.81	0.044	13.015	-8,02
K4	1.559	6.60	0.104	0.64	0.043	13.341	-5,72
M1	1.559	6.60	0.104	1.10	0.040	14.274	0,88
M2	1.559	6.60	0.104	0.86	0.044	13.008	-8,07
M3	1.992	6.62	0.104	0.76	0.046	15.986	12,98
M4	1.559	6.60	0.104	0.85	0.044	13.010	-8,06

$$\text{Bilangan penyabunan} = \frac{(\text{VHCl}_1 \times [\text{HCl}]_1 - \text{VHCl}_2 \times [\text{HCl}]_2) \text{mmol} \times \text{MrKOH} \text{ (mg / mmol)}}{\text{massa sampel (g)}}$$

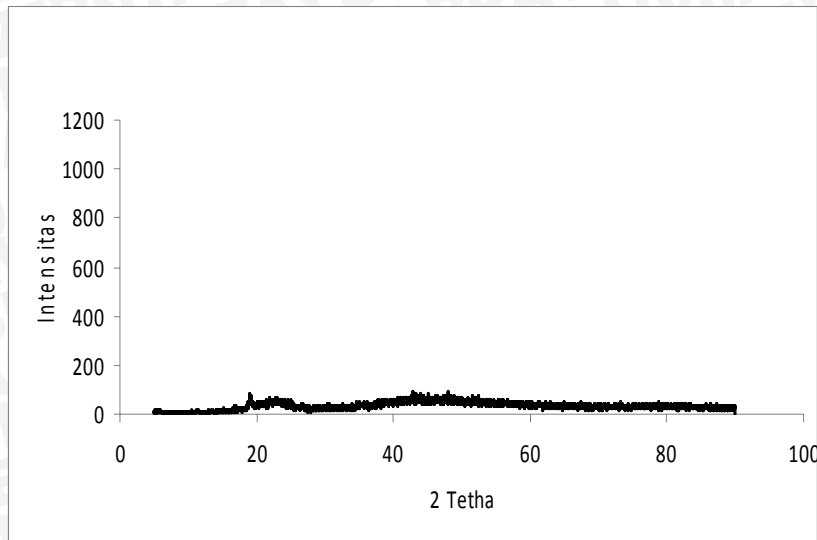
Lampiran IV. Difraktogram Sinar-X Poli(tri33metilen-sebasat)



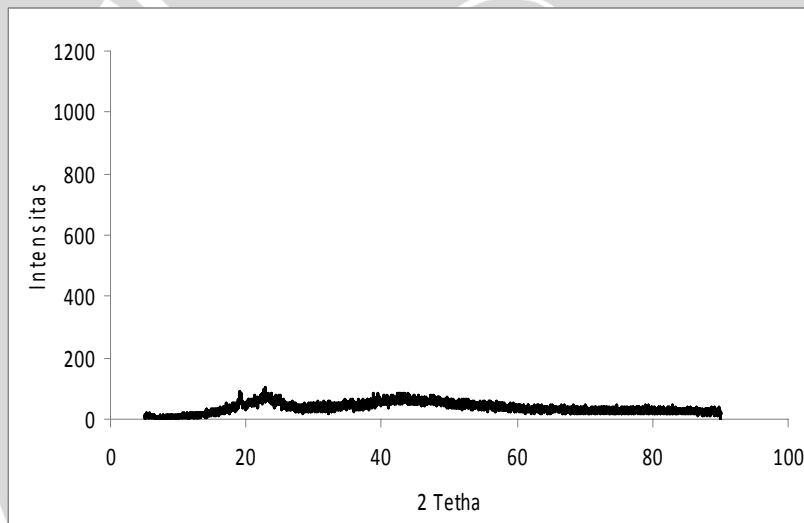
Gambar L.4.1 Difraktogram sebelum biodegradasi



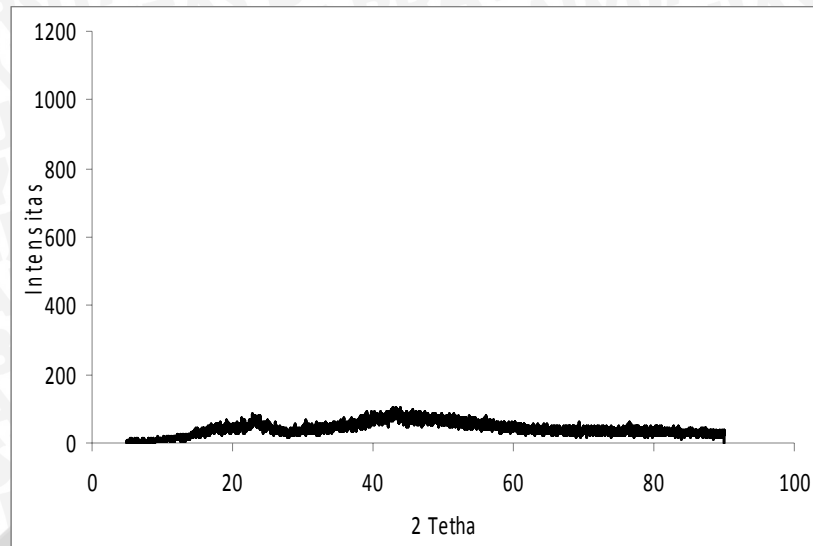
Gambar L.4.2 Difraktogram setelah 1 minggu degradasi menggunakan *Mucor miehei*



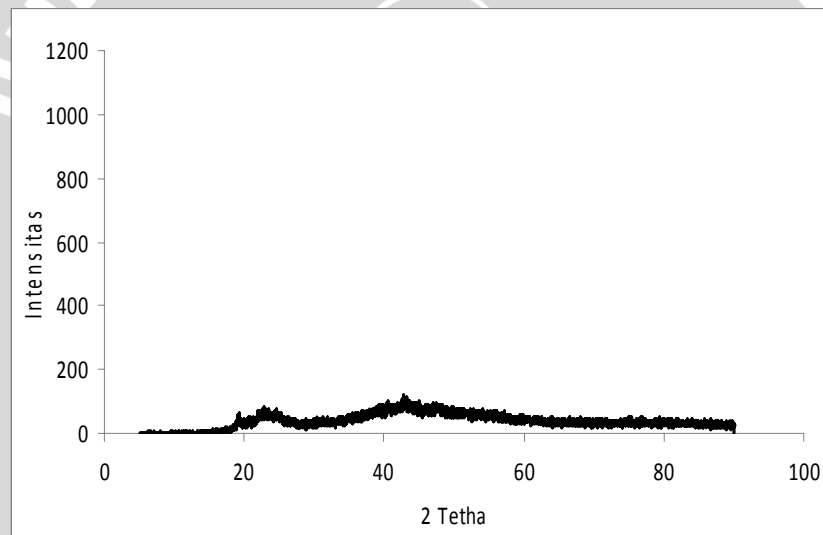
Gambar L.4.3 Difraktogram setelah 2 minggu degradasi menggunakan *Mucor miehei*



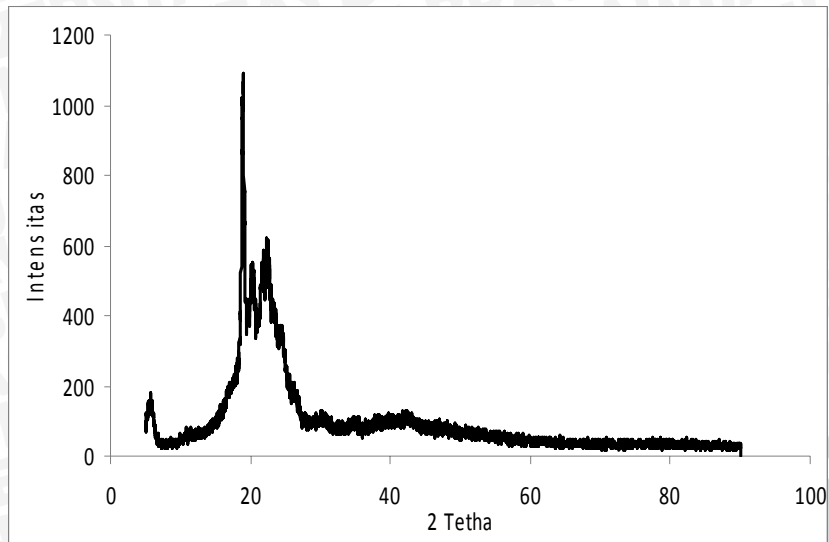
Gambar L.4.4 Difraktogram setelah 3 minggu degradasi menggunakan *Mucor miehei*



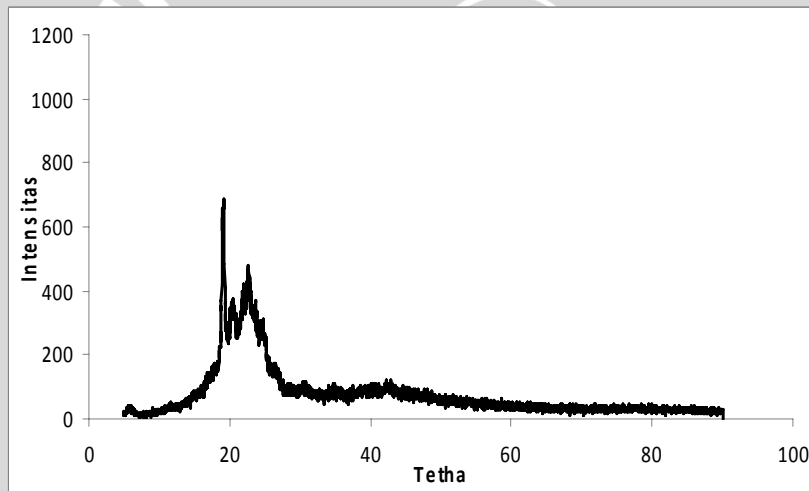
Gambar L.4.5 Difraktogram setelah 4 minggu degradasi menggunakan *Mucor miehei*



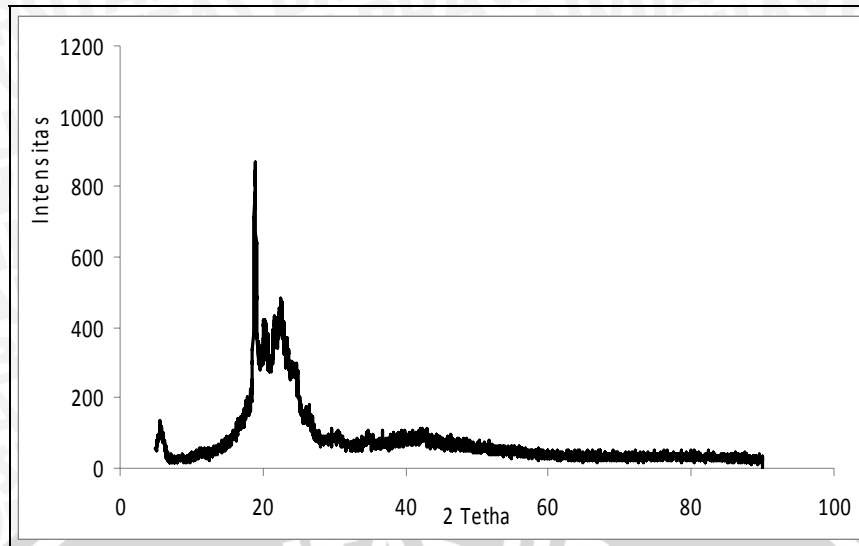
Gambar L.4.6 Difraktogram setelah 1 minggu degradasi menggunakan isolat kompos



Gambar L.4.7 Difraktogram setelah 2 minggu degradasi menggunakan isolat kompos



Gambar L.4.8 Difraktogram setelah 3 minggu degradasi menggunakan isolat kompos

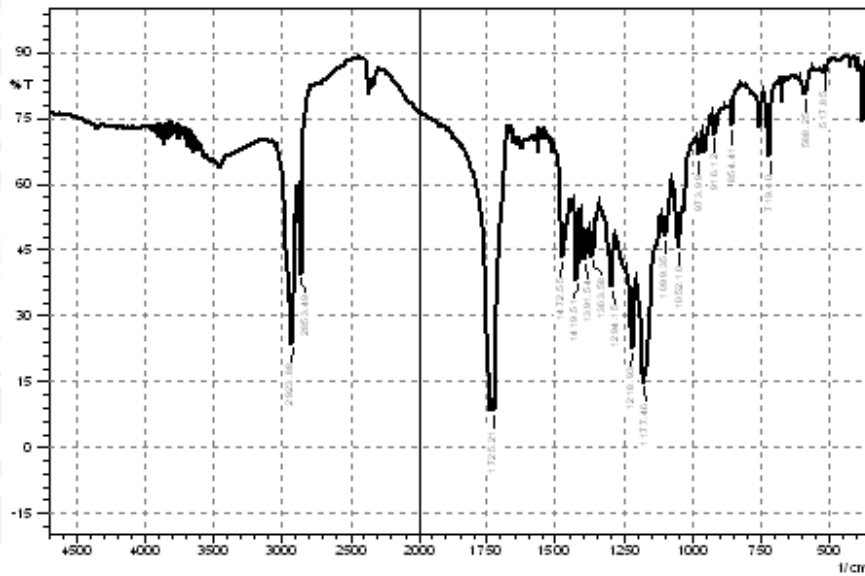


Gambar L.4.9 Difraktogram setelah 4 minggu degradasi menggunakan isolat kompos

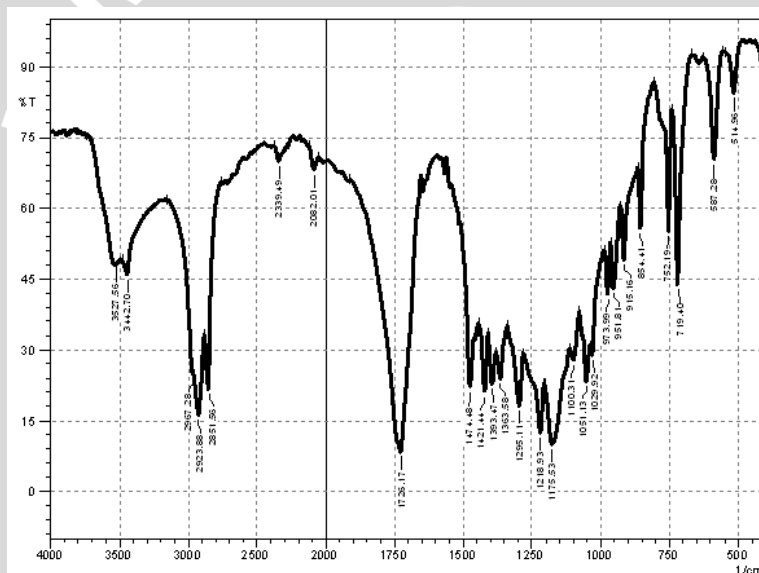
Tabel L.4 Hasil perhitungan derajat kristalinitas

Degradasi oleh <i>Mucor miehei</i>			
Minggu ke	Luas total difraktogram	Luas fasa kristalin	Derajat krisatalinitas, χ (%)
I	116	99	8,45
II	145	128	8,82
III	137	143	10,43
IV	160	205	12,82
Degradasi oleh isolat kompos			
I	116	18	15,76
II	326	119	36,59
III	283	87	31
IV	295	94	32

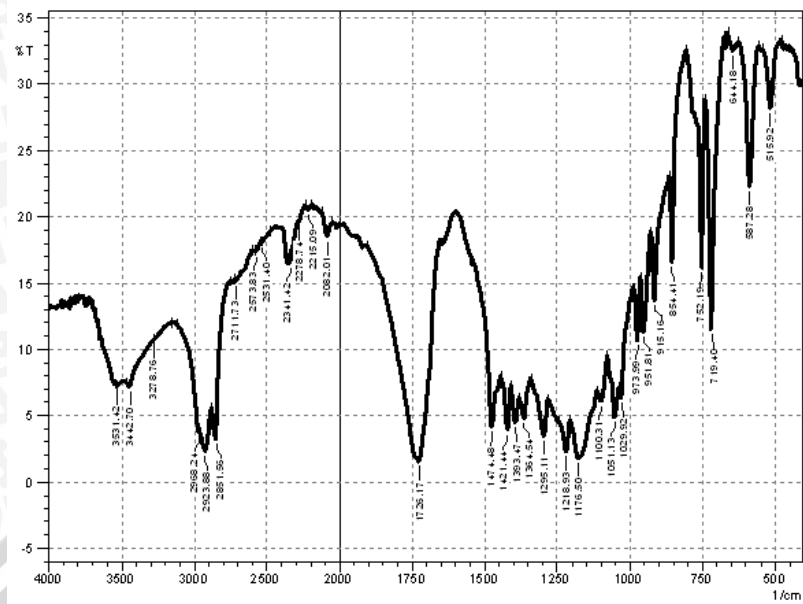
Lampiran V. Spektrum FTIR Poli(trimetilen-sebasat)



Gambar L.5.1 Spektrum FTIR sebelum degradasi



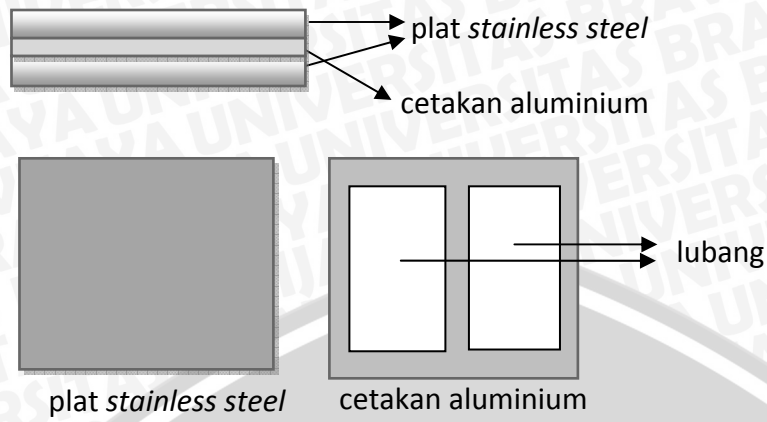
Gambar L.5.2 Spektrum FTIR setelah 3 minggu degradasi menggunakan *Mucormiehei*



Gambar L.5.3 Spektrum FTIR setelah 2 minggu degradasi menggunakan isolat kompos



Lampiran VI. Gambar Alat Pencetak Spesimen



Gambar L.6.1 Alat pencetak spesimen