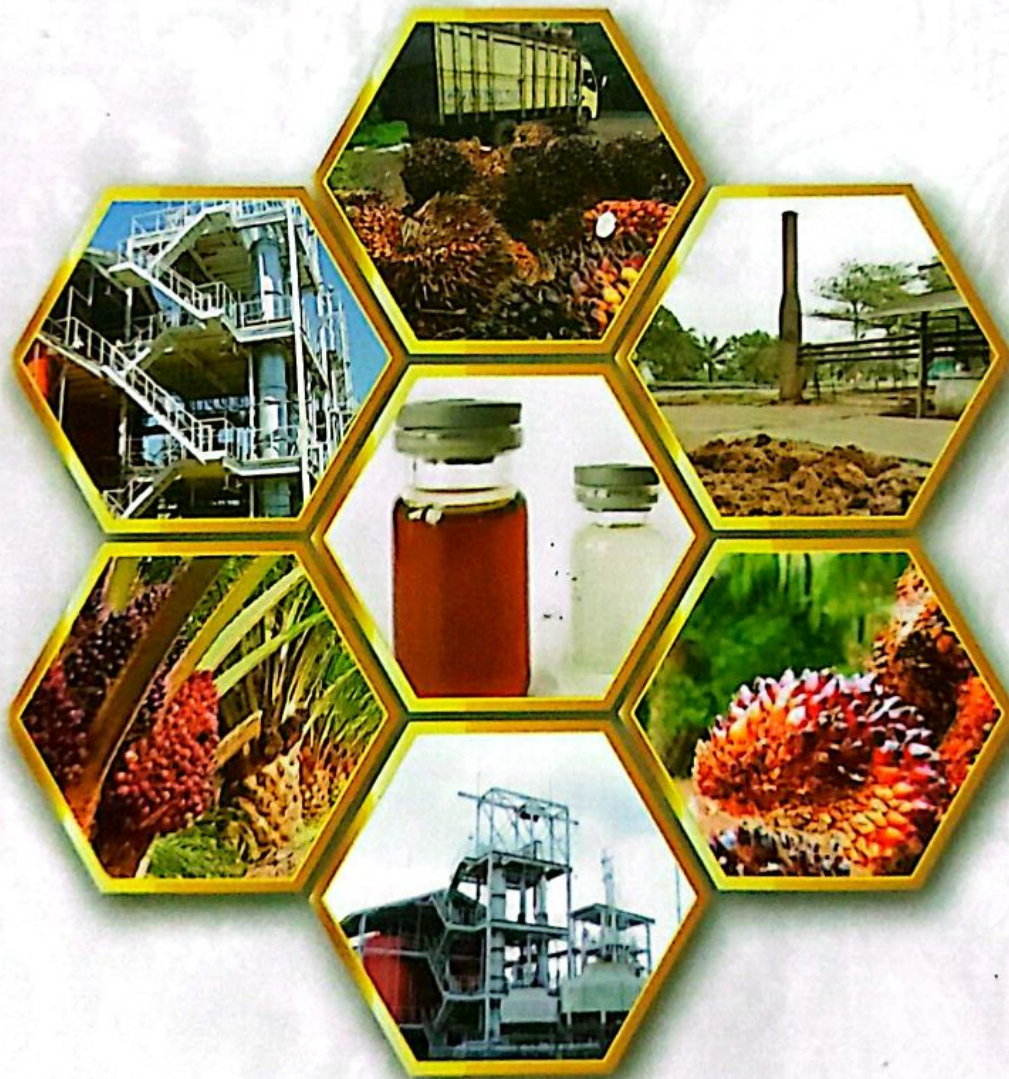


# EMAS HITAM

## DARI TANDAN KOSONG

# SAWIT



Misri Gozan, Abdurachman, Andre Fahriz Perdana Harahap, Azhar A. Rahman, Bambang Prasetya, Jabosar Ronggur Harmonangan Panjaitan, Muhammad Yusuf Arya Ramadhan, Nadia C. Natasha, Rahmayetty, Said Zul Amraini, Samsuri Abdurrahman, Siswa Setyahadi, Sukirno

## KATA PENGANTAR EDITOR

Indonesia adalah penghasil kelapa sawit terbesar di dunia. Pertumbuhan industri kelapa sawit jauh melampaui industri hasil perkebunan lainnya di tanah air seperti gula, kopi, teh, kakao dan karet. Selain memberikan berkah keekonomian, Indonesia perlu memikirkan produksi limbah yang tidak terelakkan dari setiap perkebunan hingga pengolahan kelapa sawit yang menghasilkan minyak sawit. Dengan produksi 36 juta ton CPO di tahun 2018 lalu, maka diperkirakan ada sekitar 40-42 juta ton TKS di tanah air yang harus dikelola dengan bijak. Limbah padat, juga dikenal sebagai biomassa perkebunan kelapa sawit, termasuk batang dan pelepah daun sawit, dan tandan kosong sawit (TKS), serat mesocarp (MF) dan cangkang inti sawit (PKS) dari pabrik pengolahan.

Buku ini berupaya menyajikan alternatif pengolahan limbah TKS untuk menjadi produk-produk kimia yang sebagian besar dapat masuk ke dalam platform industri kimia yang selama ini didominasi oleh platform gas dan petrokimia. Pada bab pertama, penulis menyajikan beragam jenis limbah padat industri sawit dan pengolahannya. Bab kedua mengetengahkan beragam metode praperlakuan untuk memisahkan lignin, selulosa dan hemiselulosa agar mudah diolah dalam proses selanjutnya. Ada begitu banyak produk kimia yang dapat dikembangkan dari tandan kosong sawit. Namun, buku ini hanya menyajikan sebagian kecil saja pada buku ini yaitu: Bioetanol (bab 3), Asam Levulinat, Furfural, dan Asam Format (bab 4), Bioplastik Poli Asam Laktat (bab 5) dan Enzim Selulase (bab 6). Pada bab 3 hingga bab 6 dihadirkan kajian teknis maupun keekonomian. Limbah dan bahan alam yang melimpah adalah sesuatu yang sangat layak disyukuri sebagai karunia Allah Yang Maha Kuasa, Pengasih dan Penyayang bagi bangsa Indonesia.

Awalnya bahan-bahan buku ini dipersiapkan dari laporan hibah-hibah riset yang dipimpin oleh editor sejak beberapa tahun silam. Penulis berusaha mengumpulkan hasil-hasil penelitian dalam negeri (terutama dari *International Conference on Biomass* yang secara rutin diadakan oleh BPDP SAWIT setiap tahun) dan juga jurnal internasional sehingga materi yang terkumpul dalam buku ini dirasakan layak dan telah digunakan dalam perkuliahan yang diampu oleh editor pada program sarjana dan pascasarjana di Departemen Teknik

Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Indonesia. Seiring dengan kebutuhan dan berkembangnya program studi di tanah air yang terkait dengan pengembangan material, produk dan pabrik berbasis biomassa, maka buku ini diharapkan mampu mengisi kebutuhan akan bahan ajar beberapa mata kuliah yang terkait tersebut, seperti pada program studi Teknik Kimia, Teknik Bioproses, Teknik Pertanian, Teknik Rekayasa Hayati, Teknik Industri, dan Teknik Lingkungan. Buku ini ditujukan juga bagi akademisi dan praktisi industri kimia maupun pengolahan limbah perkebunan, sawit khususnya.

Atas nama seluruh penulis, perkenankan saya memberikan penghargaan tinggi atas dukungan pimpinan Universitas Indonesia melalui program hibah publikasi QQ 2019. Dukungan moril yang besar diberikan oleh Konsorsium Bioteknologi Indonesia (KBI) dan Badan Kejuruan Kimia Persatuan Insinyur Indonesia (BKKPII) sehingga para penulis terpacu menuntaskan penerbitan buku ini. Editor mengucapkan terima kasih yang tak terhingga atas kerja keras para penulis, serta kepada seluruh pihak lainnya yang tak dapat disebutkan di sini satu persatu. Hanya atas berkah rahmat Allah SWT maka buku ini dapat hadir. Kami mengharap keridhoan-Nya agar kehadiran buku ini membawa berkah dan manfaat bagi bangsa Indonesia.

**Misri Gozan**

# Daftar Isi

Daftar Isi .....	xi
Daftar Gambar .....	xv
Daftar Tabel .....	xxi
<b>BAB 1</b>	
<b>MENGOLAH LIMBAH PADAT SAWIT:</b>	
<b>EMAS HITAM LAINNYA? .....</b>	<b>1</b>
Konversi dan Sintesis secara Fisik .....	3
Proses Konversi Biokimia .....	14
Produk Kimia .....	26
Enzim .....	28
Produk Pertanian .....	29
Proses Konversi Termokimia .....	31
Sintesis Produk Berbasis Lignin .....	37
<b>BAB 2</b>	
<b>PRAPERLAKUAN .....</b>	<b>38</b>
Pendahuluan .....	38
Metode Fisika .....	40
Metode Kimia .....	43
Metode Fisikokimia .....	49
Metode Hayati .....	57
Studi Kasus: Perendaman dalam Larutan Amonia .....	60
Studi Kasus: Metode Hayati dengan Jamur <i>Pleurotus ostreatus</i> .....	63
Studi Kasus: Simulasi dengan <i>Steam Explosion</i> .....	66
<b>BAB 3</b>	
<b>BIOETANOL .....</b>	<b>67</b>
Pendahuluan .....	67
Teknologi Proses Produksi Bioetanol .....	71
Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKS ) sebagai bahan baku Bioetanol ...	86
Kapasitas Produksi dan kesediaan Bahan baku TKS .....	87

Penanganan bahan baku .....	88
Detoksifikasi Evaporasi .....	88
Hidrolisis Enzimatis .....	89
Sakarifikasi dan Fermentasi Terpisah .....	90
Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak .....	90
Dehidrasi Bioetanol .....	91
Analisis Ekonomi Hasil Simulasi .....	92
Analisis Keuntungan .....	99
Analisis Sensitivitas .....	101
<b>BAB 4</b>	
<b>ASAM LEVULINAT, FURFURAL, DAN ASAM FORMAT .....</b>	<b>105</b>
Latar Belakang .....	105
Tandan Kosong Kelapa Sawit .....	107
Asam Levulinat .....	108
Furfural .....	110
Bioetanol .....	111
Permodelan Kinetika .....	113
Analisis Tekno-Ekonomi Pabrik Terintegrasi .....	123
Produksi Asam Format .....	129
Penentuan Model Produksi Asam Format .....	130
Hasil Optimisasi Kinetika Reaksi Produksi Asam Format .....	135
<b>BAB 5</b>	
<b>BIOPLASTIK POLI ASAM LAKTAT .....</b>	<b>139</b>
Pendahuluan .....	139
Asam Laktat .....	145
Laktida .....	148
Poli asam laktat (PLA) .....	152
Lipase .....	160
Polimerisasi Pembukaan Cincin dengan Lipase .....	167
Berat Molekul Polimer .....	174
Polikondensasi Asam Laktat tanpa Katalis dengan Variasi Suhu .....	175
Depolimerisasi Oligomer Asam Laktat (OLLA) .....	190

Depolimerisasi Oligomer (OLLA) dengan Katalis SnCl <sub>2</sub> .....	197
Residu Oligomer .....	209
Polimerisasi Laktida dengan Lipase <i>C. rugosa</i> (CRL) .....	213

<b>BAB 6</b>	
<b>ENZIM SELULASE .....</b>	<b>233</b>
Pendahuluan .....	233
Mikroorganisme Penghasil Enzim Selulase .....	240
Penentuan Waktu Inkubasi Optimum .....	243
Penentuan pH dan Suhu Inkubasi Optimum .....	247
Pengaruh Substrat TKS terhadap Aktivitas Enzim Selulase .....	249
Penentuan Vmaks dan Km pada Substrat TKS .....	251
Produksi Selulase Berbagai Mikroorganisme dan Substrat .....	252
Produksi Enzim Selulase berbasis TKS .....	254
<b>Daftar Pustaka .....</b>	<b>275</b>
<b>Indeks Subjek .....</b>	<b>307</b>
<b>Riwayat Singkat Editor dan Para Penulis .....</b>	<b>317</b>

Tabel 4.9 Perbandingan Parameter Kinetik dari Produksi Asam Format

Reaction rate constants		(Girisuta <i>et al.</i> , 2013)	(Dussan <i>et al.</i> , 2013)	
Pre-exponential factor A (s <sup>-1</sup> )	k <sub>1</sub>	1.59 × 10 <sup>18</sup>	2.69 × 10 <sup>21</sup>	5.13 × 10 <sup>9</sup>
	k <sub>2</sub>	6.56 × 10 <sup>18</sup>	2.36 × 10 <sup>17</sup>	1.92 × 10 <sup>11</sup>
	k <sub>3</sub>	6.94 × 10 <sup>19</sup>	2.38 × 10 <sup>20</sup>	1.12 × 10 <sup>9</sup>
	k <sub>4</sub>	2.71 × 10 <sup>14*</sup>	6.58 × 10 <sup>14*</sup>	5.04 × 10 <sup>9</sup>
Activation energy Ea (kJ/mol)	k <sub>1</sub>	144.85	188.9	86.7
	k <sub>2</sub>	152.14	155.5	104.2
	k <sub>3</sub>	161.41	186.2	74.4
	k <sub>4</sub>	101.63*	121.3*	86.7

\*Pre-exponential factor and activation energy of levulinic acid production

Berdasarkan tabel di atas, setelah membandingkan dengan model kinetik yang sama dari Girisuta *et al.*, (2013) dan Dussan *et al.*, (2013), energi aktivasi hidrolisis selulosa, pembentukan HMF, dan pembentukan humin dalam penelitian yang telah kami lakukan cukup rendah yaitu 86,7 kJ / mol, 104,2 kJ / mol dan 74,4 kJ / mol. Selain itu, Shuai dan Pan (2012) menyatakan bahwa energi aktivasi umum hidrolisis selulosa pada berbagai suhu dan konsentrasi asam adalah 170-180 kJ / mol. Rendahnya energi aktivasi hidrolisis selulosa, pembentukan HMF, dan pembentukan humin dalam penelitian yang kami lakukan dapat disebabkan oleh pengurangan ukuran partikel TKS dan praperlakuan amonia sebelum proses hidrolisis TKS. Ukuran partikel yang lebih kecil dan praperlakuan amonia dapat membuat aksesibilitas TKS lebih efektif untuk menghasilkan asam format. Sehingga, energi aktivasi yang dibutuhkan dalam produksi asam format menjadi lebih rendah.



## BAB 5 Bioplastik Poli Asam Laktat

Rahmayetty, Sukirno, dan Misri Gozan

### Pendahuluan

Poli asam laktat (PLA) merupakan polimer yang biokompatibel. Polimer ini dapat digunakan untuk ditanam dalam jaringan makhluk hidup. PLA juga dapat terurai di alam (*biodegradable*), tidak beracun dan berasal dari sumber daya terbarukan (Tsukegi *et al.*, 2007; Huang *et al.*, 2014). Karena itu PLA banyak digunakan dalam berbagai aplikasi terutama di bidang biomedis dan pengemasan makanan. PLA digunakan sebagai bahan pembuat benang jahit untuk keperluan operasi (*surgical implant*) dan bahan pembungkus kapsul untuk sistem pengantaran obat (*drug delivery*) serta perbaikan jaringan tubuh manusia (tempat penambatan pertumbuhan sel baru). Memperhatikan sifatnya yang tidak beracun, maka di bidang pengemasan makanan PLA digunakan sebagai bahan pembungkus makanan (*edible film*) termasuk bagi kue, sayuran dan buah-buahan (Nampoothiri *et al.*, 2010, Kamel *et al.*, 2011).

Aplikasi PLA pada bidang biomedis sangat ditentukan oleh berat molekul PLA. Berat molekul merupakan faktor yang sangat memengaruhi sifat polimer berupa penguraian, kekuatan mekanis, dan kristalinitas (Garlotta, 2001). PLA dengan berat molekul tinggi (>100.000) digunakan sebagai bahan implan ortopedi. PLA dengan berat molekul rendah berkisar 2-3 × 10<sup>3</sup> dan suhu leleh rendah digunakan sebagai bahan pembungkus kapsul untuk sistem pengantaran

obat (*drug delivery*) (Choubisa et al., 2013). Wichert dan Rohdewald (1993) menggunakan PLA dengan berat molekul 2000 gr/mol sebagai bahan polimer dalam pembuatan mikroenkapsul. PLA dengan berat molekul 2000–20.000 gr/mol dapat digunakan sebagai sistem pelepasan antibiotik (Andreopoulos et al., 2000; Savioli et al., 2012).

Pembuatan PLA secara komersial umumnya melalui metode polikondensasi asam laktat dan polimerisasi pembukaan cincin laktida. Metode polikondensasi menghasilkan oligomer dengan berat molekul rendah ( $M_w < 5000$ ) dan terjadi reaksi samping, seperti transesterifikasi yang membentuk struktur cincin sebagai laktida. Reaksi samping ini memiliki pengaruh negatif pada kualitas PLA yang dihasilkan (Lopes dan Jardini, 2012). Reaksi pembukaan cincin merupakan metode yang paling baik untuk menghasilkan polimer dengan berat molekul yang tinggi.

Pembuatan PLA melalui polimerisasi pembukaan cincin laktida umumnya menggunakan katalis logam seperti oksida zink (Zn) dan timah (Sn). Kelemahan penggunaan katalis logam adalah terkontaminasinya produk polimer oleh logam yang digunakan sehingga bila produk digunakan untuk aplikasi biomedis dan makanan dapat membahayakan kesehatan (Yu et al., 2004). Badan Pengawasan Makanan dan Obat Amerika Serikat (US-FDA) telah menetapkan batas maksimum timah yang diperbolehkan berada dalam produk komersial dan untuk kebutuhan medis sebesar 20 ppm. Pada reaksi pembukaan cincin, pengurangan katalis timah tidak mungkin dilakukan karena fungsi timah sebagai inisiator reaksi (Stjerndahl et al., 2008).

Pengembangan penelitian untuk mengganti katalis timah dengan katalis yang tidak beracun terus dilakukan, salah satunya adalah menggunakan lipase. Kelompok lipase merupakan biokatalis yang mempunyai kemampuan mengatalisis pembentukan senyawa organik khususnya sintesis poliester (Yang et al., 2011). Penggunaan katalis lipase dalam pembuatan PLA memiliki keuntungan di antaranya pengurangan suhu proses dari 200–250°C menjadi 60–110°C sehingga mengurangi konsumsi energi (Idris dan Bukhari, 2012). Lipase berasal dari sumber daya terbarukan dan ramah lingkungan yang dihasilkan dari berbagai mikroorganisme, mulai dari lipase mesophilik hingga termophilik.

Beberapa peneliti telah melaporkan keberhasilan sintesis PLA melalui polimerisasi pembukaan cincin laktida menggunakan katalis lipase dari berbagai sumber. Bahan baku yang digunakan dalam sintesis PLA oleh peneliti sebelumnya berupa L-laktida (3,6-dimetil-1,4-dioxan-2,5-dion) komersial dengan kemurnian tinggi. Diantara sumber lipase yang telah digunakan sebagai katalis dalam polimerisasi pembukaan cincin L-laktida adalah lipase *Candida antarctica* (García-Arrazola et al., 2009; Hans et al., 2009), *Burkholderia cepacia* (Guzmán-Lagunes et al., 2012) dan *Porcine pancreatic* (Matsumura et al., 1999).

Lipase *Candida rugosa* digunakan cukup luas sebagai biokatalis. Beberapa peneliti terdahulu telah membuktikan bahwa lipase *Candida rugosa* efektif sebagai katalis pada polimerisasi pembukaan cincin monomer di antaranya adalah lakton (propil malolaktonat) (Varma, et al., 2005) dan 1,4-dioxan-2-one (Albertsson dan Srivastava, 2008). Lipase *C. rugosa* merupakan enzim yang stabil dan toleran terhadap media reaksi dan mempunyai harga yang lebih murah dibandingkan dengan lipase yang berasal dari sumber lain.

Tahap pembuatan PLA berbahan baku laktida dari asam laktat dilakukan melalui tiga tahapan proses yaitu polikondensasi, depolimerisasi dan polimerisasi. Ketiga tahapan proses ini akan menentukan yield dan berat molekul PLA yang dihasilkan. Tahap polikondensasi asam laktat merupakan tahap pembentukan oligomer. Pada tahap polikondensasi, berat molekul oligomer ditentukan oleh suhu, tekanan, jenis dan konsentrasi katalis yang digunakan (Feerzet et al., 2009). Berat molekul oligomer sangat memengaruhi *yield* dan kemurnian optikal laktida yang dihasilkan pada tahap depolimerisasi (Upare et al., 2012). Tahap depolimerisasi merupakan tahap pembentukan laktida dari oligomer asam laktat. Selain dipengaruhi oleh berat molekul oligomer, *yield* dan kemurnian optikal laktida ditentukan juga oleh suhu, tekanan, jenis dan konsentrasi katalis yang digunakan pada tahap depolimerisasi (Yoo et al., 2006). *Yield* dan kemurnian optikal laktida yang tinggi akan memengaruhi *yield*, berat molekul serta kemurnian optikal PLA yang dihasilkan pada tahap akhir yaitu tahap polimerisasi. Selain kemurnian optikal laktida, faktor yang mempengaruhi berat molekul PLA pada tahap polimerisasi adalah sumber lipase, konsentrasi lipase, dan temperatur.

Tahap polikondensasi asam laktat berlangsung mudah pada suhu di atas 150°C (Yoo et al., 2006). Reaktan asam dapat menjadi katalis bagi reaksi tersebut atau disebut juga sebagai *self-oligomerized* (Harshe et al., 2007). Pada suhu polikondensasi > 210°C, laju pembentukan rantai panjang oligomer akan berlangsung sangat cepat di awal reaksi. Namun, laju pembentukan produk samping berupa meso-laktida semakin meningkat (Yoo et al., 2005). Peningkatan suhu polikondensasi secara cepat ( $\geq 200^\circ\text{C}$ ) menyebabkan terjadinya degradasi termal oligomer (Feerzet et al., 2009). Untuk mendapatkan oligomer dengan berat molekul berbeda, maka tahap polikondensasi dilakukan pada tekanan atmosferik tanpa katalis dengan variasi suhu. Polikondensasi dilakukan pada suhu konstan (150; 180; 200°C) selama 4 jam dan pada suhu bertahap (150°C selama 2 jam dan 180°C selama 2 jam). Tabel di bawah ini menunjukkan jejak penelitian pembuatan oligomer asam laktat dengan beberapa variasi parameter polikondensasi serta jenis katalis.

Tabel 5.1 Jejak Penelitian Polikondensasi Asam Laktat

Suhu (°C)	Tekanan (atm)	Waktu (jam)	Katalis	Sumber
155	0,040	5	Tanpa Katalis	Huang et al., 2014
105	0,003	4	Amberlyst-15	Ren et al., 2013
		4	SnCl <sub>2</sub>	
		7	Tanpa Katalis	
180	1 0,013	6 5	Tanpa Katalis	Upare et al., 2012
120	0,0013	20	Maghnite-H*	Harrane et al., 2012
170	1	3	Zinc powder	Yang dan Liu., 2008
80 W (Microwave)	1	3	SnCl <sub>2</sub>	Yang dan Liu., 2008
180	1	24	Tanpa Katalis	Harshe et al., 2007
200	0,013- 0,026	6	Tanpa Katalis	Yoo et al., 2006
150, 180, 200, bertahap(150-180)	1	4	Tanpa Katalis	Rahmayetty et al., 2017 dan 2018

Tahap depolimerisasi dapat berlangsung melalui reaksi *back-biting* dan *end-biting*. Reaksi depolimerisasi akan berlangsung efektif pada suhu di atas 180°C. Reaksi ini dikatalisis dengan baik oleh senyawa logam seperti Sn, Zn,

Al dan Sb (Upare et al., 2012; Huang et al., 2014). Penggunaan katalis timah (SnO, Sn(II)oct dan SnCl<sub>2</sub>) pada sintesis laktida berbahan baku oligomer asam laktat menunjukkan bahwa Sn-base sangat efisien mengkatalisis sintesis laktida dengan tingkat rasemisasi yang rendah. *Yield crude* laktida secara berurutan dihasilkan oleh katalis SnCl<sub>2</sub> > SnOct<sub>2</sub> > SnO (Yoo et al., 2006). Penggunaan Zn powder, ZnO dan Zn-laktat juga telah berhasil digunakan dalam reaksi depolimerisasi. *Yield* laktida tertinggi secara berurutan dihasilkan oleh Zn powder > Zn-laktat > ZnO (Yang dan liu, 2008). Pada penelitian Rahmayetty et al., (2018), tahap depolimerisasi dilakukan dengan variasi berat molekul oligomer, suhu 190; 200; 210 dan 220°C, jenis katalis (ZnCl<sub>2</sub>, Zn-asetat dan SnCl<sub>2</sub>) dan konsentrasi katalis (0,05; 0,1; 0,2% (b/b)). Beberapa penelitian pembuatan laktida yang telah dilakukan dengan variasi suhu, tekanan, berat molekul oligomer dan katalis tertera pada tabel berikut ini.

Tabel 5.2 Oligomer Jejak Penelitian Pembuatan Laktida dengan Variasi Berat Molekul, Suhu dan Katalis

Bahan Baku	Mw	Mn	T, P, t depolimerisasi	Katalis	Sumber
OLLA	1374		180°C; 0,013 atm	Sn(Oct) <sub>2</sub>	Upare et al., 2012
OLLA	1374		210°C; 0,013 atm	Sn(Oct) <sub>2</sub>	
OLLA		960;1280; 1430; 2800	140-380W	Zn powder	Yang dan Liu, 2008
PLLA	170.000	98.000	260°C	MgO	Motoyama, 2007
OLLA	-	1380	220°C; 0,026 atm	SnCl <sub>2</sub> , Sn(Oct) <sub>2</sub> , SnO	Yoo et al., 2006
OLLA	variasi	variasi	190-230°C; 0,1-0,5 atm	SnCl <sub>2</sub> , Zn- asetat, ZnCl <sub>2</sub>	Rahmayetty et al., 2017 dan 2018

Pada tahap polimerisasi pembukaan cincin laktida menggunakan katalis lipase, faktor yang menentukan keberhasilan pembentukan PLA adalah sumber lipase, suhu, waktu reaksi, media reaksi serta kandungan air. Lipase yang dihasilkan dari berbagai mikroorganisme mempunyai kereaktifan yang berbeda terhadap suatu substrat, walaupun memiliki kesamaan struktur.

Beberapa sumber lipase telah berhasil mengatalisis polimerisasi pembukaan cincin laktida, seperti tertera pada tabel di atas. Lipase *Candida rugosa* (CRL) merupakan biokatalis yang aplikasinya sudah cukup luas di bidang biokimia. Aplikasi CRL di antaranya adalah mengatalisis reaksi hidrolisis, transesterifikasi, esterifikasi, dan enantioselektivitas biotransformasi (Bezbradica et al., 2006; Yang et al., 2011).

Suhu polimerisasi merupakan faktor yang menentukan laju reaksi polimerisasi. Laju reaksi polimerisasi enzimatis semakin tinggi dengan meningkatnya suhu (Herbst et al., 2014). Suhu optimum untuk aktivitas lipase pada reaksi pembukaan cincin akan berbeda-beda. Reaksi pembukaan cincin laktida dengan katalis immobilisasi *Candida antarctica* (Novozyme 435), menghasilkan konversi monomer tertinggi pada suhu 50°C (Hans et al., 2009). Polimerisasi pembukaan cincin  $\epsilon$ -caprolakton menggunakan enzim esterase, menghasilkan konversi monomer tertinggi pada suhu 80°C menjadi 100% (Ma, et al., 2009). Polimerisasi pembukaan cincin dengan lipase *Candida rugosa* berbahan baku lakton (propil malolaktinat) berlangsung pada suhu 45–60°C (Varma et al., 2005) dan 1,4-dioxan-2-one (PDO) pada suhu 100°C (Albertsson dan Srivastava, 2008). Pada penelitian Rahmayetty et al., (2018) polimerisasi pembukaan cincin laktida dilakukan pada suhu mesophilik (35, 45 dan 55°C) dan termophilik (70, 90, 110 dan 130°C).

Pada reaksi polimerisasi pembukaan cincin monomer, konsentrasi enzim sangat memengaruhi tingkat konversi monomer dan berat molekul produk. Polimerisasi  $\epsilon$ -caprolakton pada 80°C selama 72 jam menunjukkan bahwa penambahan konsentrasi enzim akan meningkatkan konversi monomer. Pada konsentrasi enzim melebihi 25 mg/ml, konversi monomer lebih dari 99%, namun nilai Mn tetap konstan dan tidak tergantung pada konsentrasi enzim (Ma et al., 2009b). Deng dan Gross, (1999) melaporkan hasil yang berbeda yaitu peningkatan konsentrasi enzim pada polimerisasi  $\epsilon$ -caprolakton menyebabkan penurunan Mn polimer yang dihasilkan.

Tabel 5.3 Lipase Polimerisasi Pembukaan Cincin Laktida Menggunakan Katalis

Bahan baku	Sumber lipase	Kondisi operasi		Pelarut	Peneliti
		T°C	t (jam)		
D,L-laktida	<i>Burkholderia cepacia</i>	80-130	168	Bulk	Matsumura et al., 1997
L-, D-, D,L-laktida	<i>Burkholderia cepacia</i>	100		Bulk	Matsumura et al., 1998
L-, D-, D,L-laktida	<i>Porcine pancreatic</i>	100	168	Bulk	Matsumura et al., 1999
D,L-laktida	<i>Porcine pancreatic</i>	100	168	Bulk	Feng et al., 2004
L- laktida	<i>Novozym 435</i>	100	24	Bulk	Fujioka et al., 2006
L-laktida	<i>C. Antarctica</i>	T= 65±2 P= 345±5 atm	72	CO2 Superkritis	García-Arrazola et al., 2009
L-laktida	Immobilisasi <i>C. Antarctica</i>	50-90			Hans et al., 2009
L-laktida	<i>Candida antarctica/ Novozym435</i>	90		1-heksil-3-metilimidazolium	Chanfreau et al., 2010
L-laktida	<i>B. cepacia/Ps</i>	125	96	Etilen glikol	Målberg, et al., 2010a
L-laktida	<i>Burkholderia cepacia</i>	T=105 P= 49 atm	120	sc1,1,1,2-tetrafluoroetana	Guzmán-Lagunes et al., 2012
L-laktida	Immobilisasi <i>Candida Antarctica</i>	37	1920	Bulk	Jiang dan Zhang, 2013
Laktida mentah	<i>Candida rugosa</i>	35-130°C	72	Tanpa pelarut	Rahmayetty et al., 2017 dan 2018

### Asam Laktat

Asam laktat merupakan senyawa serbaguna yang banyak digunakan untuk aroma dan pengawet dalam industri makanan, obat-obatan, dan tekstil. Asam laktat selain digunakan sebagai bahan pengawet juga merupakan bahan baku (*feedstock*) industri polimer dapat terurai, bahan kimia beroksigen, pengatur pertumbuhan tanaman, dan pelarut yang ramah lingkungan. Salah



satu terapan yang paling menjanjikan dari asam laktat adalah sebagai bahan baku pembuatan PLA (Poli asam laktat) yang bersifat *dapat terurai* dan *biocompatible* sebagai alternatif pengganti plastik non-*dapat terurai* yang dihasilkan dari minyak bumi, batu bara atau gas alam (Huang et al., 2005; Zhou et al., 1999; Efremenko et al., 2006).

### Sifat Fisik dan Kimia Asam Laktat

Asam laktat yang memiliki nama resmi (IUPAC) *2-hydroxypropanoic acid* dengan rumus kimia  $\text{CH}_3\text{CHOHCOOH}$ . Senyawa ini termasuk asam lemah dengan tingkat penguapan yang rendah. Asam ini memiliki sebuah atom asimetri, dimana di alam terdapat dalam bentuk D- (dekstro), L- (levo), dan DL- (rasemik) (Lasprilla et al., 2012; Nampoothiri et al., 2010).



Gambar 5.1 Struktur L- dan D-Asam Laktat

Walaupun asam laktat memiliki dua bentuk enansiomer, namun secara umum kedua enansiomer asam laktat memiliki sifat fisik yang sama. Sifat fisik asam laktat terangkum dalam tabel berikut ini.

Tabel 5.4 Sifat Fisik Asam Laktat

Sifat Fisik	Simbol	Nilai	Satuan
Rumus molekul	$\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$	-	-
Berat molekul	Mr	90,098	gram/mol
Titik leleh (D atau L)	Tm	52,8-54	$^{\circ}\text{C}$
Kelarutan dalam air ( $20^{\circ}\text{C}$ , monomer L-asam laktat)		86	%(b)
Titik didih (14 mmHg)	Td	122	$^{\circ}\text{C}$
Densitas ( $20^{\circ}\text{C}$ )	P	1,224	gram/ml
Viskositas ( $25^{\circ}\text{C}$ )	$\mu$	28,5	mPa.s
Kapasitas panas ( $C_p$ pada $20^{\circ}\text{C}$ )	$C_p$	190	J/mol $^{\circ}\text{C}$

(Vink et al., 2003)

### Produksi Asam Laktat

Asam laktat dapat dihasilkan melalui proses fermentasi dan kimiawi. Fermentasi merupakan metode yang paling banyak digunakan oleh industri untuk menghasilkan asam laktat. Sekitar 90 % total produksi asam laktat di seluruh dunia dibuat melalui fermentasi oleh bakteri dan sisanya diproduksi melalui hidrolisis laktonitril (Lasprilla et al., 2012; Lopes dan Jardini, 2012). Proses fermentasi untuk mendapatkan asam laktat dapat diklasifikasikan sesuai dengan jenis bakteri yang digunakan. Fermentasi bisa berlangsung dengan kondisi anaerob atau aerob (Matsumoto dan Taguchi, 2010). Sumber karbon mikroba dalam memproduksi asam laktat dapat berupa gula dalam bentuk murni seperti glukosa, sukrosa, laktosa, gula yang berasal dari molase, whey, ampas tebu, singkong dan gula dari bahan tepung dari ubi, gandum dan barley. Ampas tebu digunakan untuk memproduksi asam laktat oleh *Rhizopus oryzae* dan *Lactobacillus* dalam fermentasi solid-state dengan menambah gula atau hidrolisat pati sebagai sumber karbon (Lopes dan Jardini, 2012).

Sumber utama mikroba asam laktat adalah bakteri asam laktat dan beberapa jamur berfilamen. Organisme utama yang menghasilkan L-asam laktat adalah *amylophilus Lactobacilli*, *Lactobacilli bavaricus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus maltaromicus* dan *Salivarius lactobacilli*. Strain seperti *Lactobacilli*, *Lactobacillus delbrueckii jensenii* atau *Lactobacillus acidophilus* menghasilkan D-asam laktat atau campuran dari keduanya (Nampoothiri et al., 2010). Kisaran pH untuk memproduksi asam laktat adalah 5,4–6,4 dan suhu  $38\text{--}42^{\circ}\text{C}$  serta konsentrasi oksigen rendah. Mikroorganisme yang berperan dalam menghasilkan asam laktat dari berbagai bahan baku dapat terlihat pada tabel berikut ini (Nampoothiri et al., 2010).

Tabel 5.5 Mikroorganisme untuk Memproduksi Asam Laktat

Substrat	Mikroorganisme	Asam Laktat
Dedak Padi dan Gandum	<i>Lactobacillus sp.</i>	129 g/l
Bonggol Jagung	<i>Rhizopus sp. MK-96-1196</i>	90 g/l
Kayu dengan Praperlakuan	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	48-62 g/l
Selulosa	<i>Lactobacillus coryniformis ssp. Torquens</i>	0,89 g/g
Jelai	<i>Lactobacillus casei NRRLB-441</i>	0,87-0,98
Bagas Singkong	<i>L. delbrueckii NCIM 2025, L casei</i>	0,9-0,98

Substrat	Mikroorganisme	Asam Laktat
Pati Gandum	<i>Lactococcus lactis ssp. lactis</i> ATCC 19435	0,77-1 g/g
Gandum Utuh	<i>Lactococcus lactis</i> and <i>Lactobacillus delbrueckii</i>	0,93-0,95 g/g
Pati Kentang	<i>Rhizopus oryzae</i> , <i>R. arrhizus</i>	0,87-0,97 g/g
Pati Jagung, Beras, dan Gandum	<i>Lactobacillus amylovorus</i> ATCC	< 0,70 g/g
Pati Jagung	<i>L. amylovorus</i> NRRL B-4542	0,935 g/g

(Nampoothiri et al., 2010)

Produksi asam laktat juga dapat dilakukan melalui konversi katalitik dari senyawa triosa yang mengandung dihidroksi-aseton dan gliseraldehid dengan bantuan katalis  $AlCl_3$  dengan % yield yang cukup tinggi berkisar 17% (Rasrendra et al., 2011). Senyawa triosa yang digunakan dalam reaksi konversi ini dapat diperoleh dari bahan baku yang mengandung selulosa yang umumnya terdapat dalam pati dan lignoselulosa. Reaksi konversi katalitik ini berlangsung lebih sederhana dibandingkan dengan jalur enzimatik karena selain menghasilkan produk spesifik, produk asam laktat juga tidak memerlukan banyak perlakuan seperti jalur hayati sehingga produksi dapat berlangsung secara lebih ekonomis.

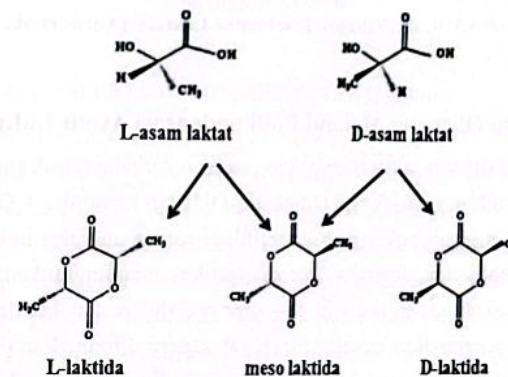
### Laktida

Laktida merupakan siklik dimer yang mengandung dua molekul asam laktat. Laktida digunakan sebagai monomer untuk pembentukan PLA melalui reaksi pembukaan cincin (*ring opening polymerization*).

### Sifat Fisik dan Kimia Laktida

Laktida memiliki nama IUPAC 3,6-dimetil-1,4-dioxana-2,5-diona. Laktida umumnya didapatkan dengan cara dehidrasi asam laktat. Asam laktat dengan kemurnian 85-90%wt dipanaskan pada suhu 150°C selama 2 jam pada tekanan atmosfer. Setelah itu asam laktat dipanaskan pada suhu yang sama selama 4 jam pada tekanan mendekati 10 mmHg. Padatan transparan yang lembap akan didapatkan (Yoda et al., 2004). Laktida mempunyai 3 bentuk stereoisomer yaitu L- (levo), D-(dekstro) dan rasemik (meso) laktida. L-laktida dihasilkan dari L-asam laktat, D-laktida dihasilkan dari D-asam laktat dan resemik (*rac*)

laktida dihasilkan dari campuran 50:50 L- dan D- laktida (Garlotta, 2001). Stereoisomer laktida ditunjukkan pada Gambar 5.2. Stereoisomer laktida ditentukan dengan menggunakan polarimeter. Laktida mempunyai sifat fisik seperti tertera pada Tabel 5.6.



Gambar 5.2 Struktur Stereoisomer dari Laktida (Lopes dan Jardini, 2012; Nampoothiri et al., 2010)

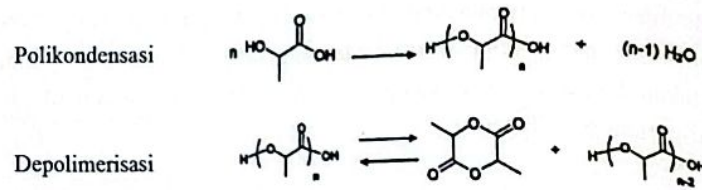
Tabel 5.6 Sifat Fisik Laktida

Sifat Fisik	Simbol	Nilai	Satuan
Rumus molekul	$C_6H_8O_4$		
Nama kimia	-	3,6-dimetil-1,4 dioxane-2,5-dione	
Berat molekul	Mr	144	gram/mol
Titik lebur		116-119	°C
Titik didih (8 mmHg)	Td	142	°C
Densitas (20°C)	$\rho$	1,340	g/ml

(Garlotta, 2001)

### Tahapan Pembuatan Laktida

Pembuatan laktida dilakukan melalui dua tahapan proses yaitu polikondensasi dan depolimerisasi. Reaksi polikondensasi adalah tahapan pembentukan oligomer asam laktat dan tahap depolimerisasi merupakan tahap pembentukan siklik dimer asam laktat. Reaksi polikondensasi dan depolimerisasi pada pembuatan laktida terlihat pada gambar di bawah ini.

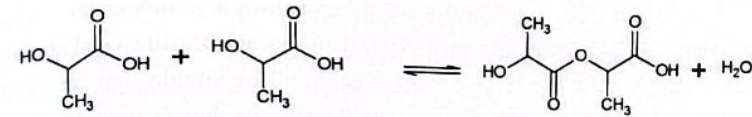


Gambar 5.3 Reaksi Tahapan Pembuatan Laktida (Auras et al., 2010)

### Pembuatan Oligomer Melalui Polikondensasi Asam Laktat

Polikondensasi asam laktat merupakan proses sederhana untuk memproduksi PLA. Keberadaan gugus fungsi hidroksil (-OH) dan karbonil (-COOH) dalam asam laktat, mengakibatkan reaksi esterifikasi karena interaksi intermolekuler dan intramolekuler. Interaksi intermolekuler memungkinkan terjadinya pembentukan dimer, trimer dan oligomer melalui reaksi kondensasi asam laktat dan menghasilkan molekul air ( $\text{H}_2\text{O}$ ), seperti ditunjukkan pada gambar di bawah ini. Dimer asam laktat ini sering disebut dengan asam laktat laktoil. Interaksi intramolekuler dapat mengakibatkan perubahan bentuk melalui reaksi kondensasi dalam molekul asam laktat laktoil. Produk yang dihasilkan akibat interaksi intramolekuler asam laktat laktoil adalah laktida yang juga memiliki jenis enansiomer yang berbeda.

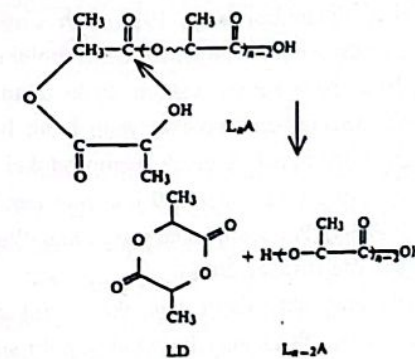
Reaksi esterifikasi akibat interaksi intermolekuler merupakan reaksi keseimbangan sehingga molekul air yang terbentuk harus disingkirkan agar reaksi polikondensasi terus ke kanan (Sinclair et al., 1993). Ketidaksempurnaan penyingkiran molekul air akan menyebabkan terhidrolisisnya PLA yang terbentuk. Air pada umpan perlu dihilangkan melalui evaporasi pada suhu di atas titik didih air dan tekanan atmosferik. Setelah tahap evaporasi, dilakukan tahap oligomerisasi. Pada tahap ini, asam laktat mengalami reaksi polikondensasi menjadi Poli asam laktat (PLA) dengan berat molekul rendah. Tahap ini tidak memerlukan katalis padatan karena umpan yang bersifat asam dapat menjadi katalis bagi reaksi polikondensasi. Oligomer atau PLA dengan berat molekul rendah dapat dihasilkan dari sistem sederhana dalam reaktor berpengaduk yang dikombinasikan dengan pemanas dan kondensor (Maharana et al., 2009).



Gambar 5.4 Reaksi Polikondensasi Asam Laktat Membentuk Dimer (Asam Laktat Laktoil)

### Pembuatan Laktida Melalui Depolimerisasi Oligomer

Depolimerisasi oligomer asam laktat merupakan reaksi pembentukan siklik diester. Masaki dan Okuyama (1999) mempelajari pengaruh perbedaan katalis logam dalam depolimerisasi katalitik termal dari oligomer asam laktat menghasilkan L-laktida. Pembentukan laktida melibatkan reaksi *back-biting* dan *end-biting*. Reaksi *back-biting* disebut juga dengan reaksi transesterifikasi yang mengacu pada pembentukan senyawa siklik (laktida). Pembentukan laktida terjadi melalui reaksi intramolekul antara gugus karboksilat pada rantai akhir dan ikatan ester pada rantai grup pertama dalam PLA, seperti ditunjukkan pada gambar di bawah ini. Reaksi *end-biting* merupakan reaksi penutupan cincin dari rantai dimer oligomer. Reaksi *back-biting* menghasilkan siklik dan senyawa linear dan *end-biting* menghasilkan siklik dan air (Sinclair, 1993). Kedua reaksi ini merupakan reaksi kesetimbangan yang sangat dipengaruhi suhu, sehingga diperlukan kondisi operasi yang sesuai agar reaksi berjalan ke sebelah kanan.



Gambar 5.5 Reaksi Back-Biting Pembentukan Laktida (Sinclair, 1993)

Masaki dan Okuyama (1999) melaporkan bahwa depolimerisasi terjadi pada suhu 190–240°C pada tekanan 4–5 torr dengan waktu destilasi maksimum 3 jam. Penggunaan katalis Ti dan Al menghasilkan laktida dengan yield 40–50% dalam 2 jam, dengan kemurnian 80–90%. Zn dan Zr menghasilkan laktida 70–90% dengan kemurnian 90–97%. Katalis zinc dan zirconium menghasilkan yield tinggi, dengan konsentrasi 1% mol. Katalis terbaik adalah tin octoat diikuti dengan zinc dan zirconium.

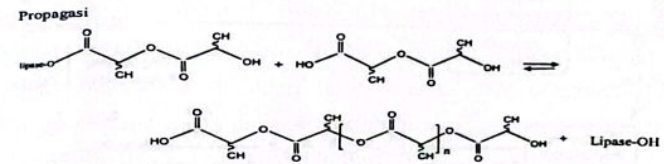
Yoo et al., (2006) mempelajari pengaruh suhu, tekanan, dan perbedaan katalis (SnO, Sn(II)oct dan SnCl<sub>2</sub>) pada sintesis laktida dimulai dari PLA oligomerisasi. Reaksi terjadi pada suhu 200–240°C dan tekanan antara 10–100 torr. Didapatkan bahwa pada suhu dan tekanan reaksi lebih tinggi, laktida dengan yield rendah dan kemurnian lebih tinggi dihasilkan. Katalis berbasis timah (Sn) sangat efisien mengatalisis sintesis laktida dengan tingkat rasemisasi yang rendah. Yield *crude* laktida secara berurutan dihasilkan oleh katalis SnCl<sub>2</sub> > SnOct<sub>2</sub> > SnO. Untuk katalis SnO ditemukan bahwa konversi PLA menjadi laktida maksimum didapatkan dengan berat molekul 1380 Da dan tergantung pada konsentrasi katalis di atas 0,1% (Yoo et al., 2006).

### Poli Asam Laktat (PLA)

Poli asam laktat (PLA) merupakan polimer yang penggunaannya cukup luas, dapat terurai dan berasal dari 100% sumber daya terbarukan sehingga PLA telah banyak diteliti untuk digunakan dalam aplikasi medis dan makanan. Poli asam laktat (PLA) ditemukan tahun 1932 oleh Carothers (DuPont). PLA yang diproduksi pada saat itu mempunyai berat molekul rendah dengan memanaskan asam laktat pada kondisi vakum. Pada tahun 1954, Du Pont menghasilkan polimer dengan berat molekul yang lebih besar. Pada tahun 2002, Cargill Dow mendirikan pabrik untuk memproduksi Poli asam laktat dari pati jagung manis dengan kapasitas 300 juta pon per tahun (di bawah nama dagang *Nature Works*). Poli asam laktat yang dihasilkan memiliki berat molekul rendah. (Kiran dan Divakar, 2003).

Dua stereoisomer asam laktat dapat digunakan untuk membentuk PLA yaitu L- dan D-asam laktat. Oleh karena itu, produk polimer dapat disintesis dalam bentuk poli (L-asam laktat) (PLLA), poli (D-asam laktat) (PDLA), atau produk rasemat (PDLLA) (Lasprilla et al., 2012; Lopes dan Jardini, 2012).

Isotaktik dan optik aktif PLLA dan PDLA adalah kristal, sedangkan yang relatif ataktis dan optik PDLLA aktif adalah amorf (Bouapao et al., 2009). Adapun rumus molekul PLA seperti pada gambar di bawah ini. Sifat PLLA, PDLA dan PDLLA dapat dilihat pada tabel di bawah ini.



Gambar 5.6 Struktur Poli Asam Laktat

Tabel 5.7 Sifat Fisik dan Kimia PLA

Sifat	PDLA	PLLA	PDLLA
Kelarutan	Larut dalam benzen, kloroform, asetonitril, tetrahydrofuran (THF), dioxan ,dll, tetapi tidak larut dalam etanol, metanol, dan alipatik hidrokarbon		
Struktur kristal	Kristal	Hemikristal	Amorphous
Suhu leleh ( <i>T<sub>m</sub></i> )/ °C	~180	~180	tidak tetap
Suhu transisi gelas ( <i>T<sub>g</sub></i> )/ °C	50-60	55-60	tidak tetap
Suhu dekomposisi/°C	~200	~200	185-200
Elongation at break/ (%)	20-30	20-30	tidak tetap
Breaking strength/ (g/d)	4,0-5,0	5,0-6,0	tidak tetap
Half-life pada 37°C normal saline	4-6 bulan	4-6 bulan	2-3 bulan

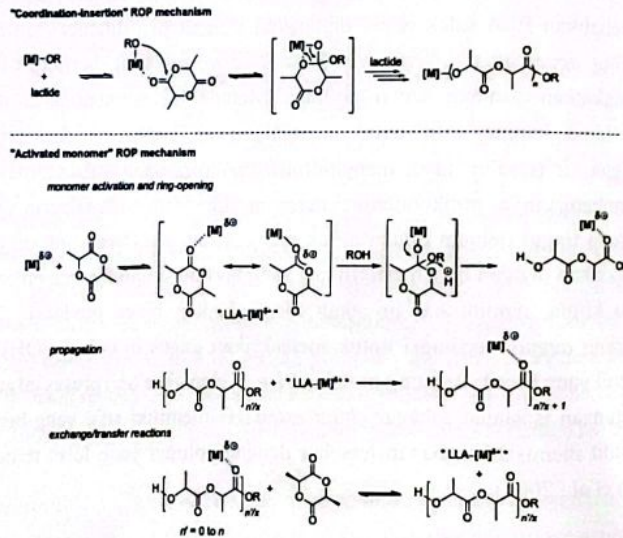
(Xiao et al., 2005)

PLA dapat dibuat dari asam laktat dengan berbagai proses yaitu polikondensasi, polimerisasi pembukaan cincin, dan metode langsung seperti dehidrasi azeotrop dan polimerisasi enzim. Saat ini, metode yang banyak digunakan untuk memproduksi PLA adalah polimerisasi langsung dan polimerisasi pembukaan cincin (Lasprilla et al., 2012). Gambar di bawah ini menunjukkan metode utama untuk menyintesis PLA.

katalis logam berupa timah untuk mempercepat reaksi pembentukan PLA. Polikondensasi azeotrop dapat mencegah pembentukan laktida dan reaksi degradasi PLA (US Patent 5310865).

### Polimerisasi Pembukaan Cincin (ROP) Laktida

Berbeda dengan reaksi polikondensasi, pada reaksi polimerisasi pembukaan cincin (ROP) tidak dihasilkan air dan alkohol (Zhang et al., 2014). Reaksi pembukaan cincin merupakan metode yang paling baik untuk menghasilkan polimer dengan berat molekul yang tinggi. Reaksi pembukaan cincin laktida umumnya berlangsung pada suhu tinggi. Katalis yang digunakan berupa logam atau non logam.



Gambar 5.8 Mekanisasi Reaksi Pembukaan Cincin Laktida dengan Katalis Logam (Albertsson dan Srivastava, 2008)

Katalis logam yang umum digunakan adalah timah. Mekanisme pembukaan cincin menggunakan katalis logam tertera pada Gambar 5.8. Pada mekanisme reaksi ROP, logam yang bermuatan positif akan menyerang atom oksigen dengan muatan negatif yang lebih tinggi. Logam timah

yang digunakan pada ROP akan terikat ke dalam produk sehingga apabila digunakan untuk aplikasi medis dan makanan harus dilakukan proses reduksi timah terlebih dahulu. Reduksi timah dari produk PLA sangat sulit dilakukan dan membutuhkan biaya yang besar serta timah tidak dapat terpisah secara sempurna.

Badan pengawasan makanan dan obat Amerika Serikat (US-FDA) telah menetapkan batas maksimum timah yang diperbolehkan berada dalam produk yang komersial dan untuk kebutuhan medis sebesar 20 ppm. Pada reaksi pembukaan cincin, pengurangan katalis timah tidak mungkin dilakukan karena fungsi timah sebagai inisiator reaksi. Cara untuk menghindari residu timah adalah dengan menggunakan inisiator yang mengandung atom selain timah, misalnya seng. Namun, penggunaan katalis seng dalam proses polimerisasi menghasilkan berat molekul polimer yang terlalu rendah untuk digunakan dalam aplikasi industri (Gao et al., 2011).

Kelemahan pada sintesis PLA menggunakan metode polimerisasi pembukaan cincin laktida adalah penggunaan katalis logam. Penggunaan katalis logam sangat berbahaya untuk kesehatan bila produk PLA digunakan untuk aplikasi medis dan makanan. Hal ini menyebabkan beberapa peneliti berusaha untuk mencari penyelesaian dengan mengembangkan katalis tak-beracun, kondisi polimerisasi atau jalur polimerisasi lainnya (Lassalle dan Ferreira, 2008). Untuk mengatasi masalah pencemaran yang disebabkan oleh katalis logam berat yang beracun, banyak katalis yang berasal dari magnesium, kalsium, seng, logam alkali, dan aluminium telah dikembangkan untuk ROP dari laktida. Chen et al. (2007) menguji serangkaian seng β-diketimate kompleks sebagai pemrakarsa untuk ROP dari laktida tetapi berat molekul rata-rata (Mw) yang dihasilkan tidak memuaskan.

Sintesis PLA dengan menggunakan katalis enzim dalam skala penelitian dan implementasi industri merupakan suatu usaha untuk mencari alternatif pengganti katalis logam. Katalis enzim merupakan katalis yang ramah lingkungan dan dapat digunakan dalam reaksi pembukaan cincin dari laktida dan siklik karbonat untuk menghasilkan poliester alifatik atau polikarbonat yang bebas logam dalam waktu yang relatif pendek dan kondisi ringan. Beberapa polimer disintesis menggunakan katalis lipase pada pembukaan cincin polimer yang menghasilkan berat molekul dan konversi monomer yang

tinggi (Albertsson dan Srivastava, 2008). Polimerisasi dengan menggunakan katalis enzim menghasilkan polimer yang ramah lingkungan dengan substrat awal yang berasal dari sumber daya yang terbarukan. Pada pembuatan polimer dengan polimerisasi pembukaan cincin (ROP), katalis enzim dijadikan sebagai alternatif pengganti katalis organo-logam seperti Zn, Al, Sn atau Ge yang bersifat beracun di alam (Albertsson dan Varma, 2003). Pemanfaatan katalis enzim pada produksi polimer untuk aplikasi biomedis, memberikan keuntungan dengan tidak dilakukannya pemurnian sisa katalis logam.

Keuntungan penggunaan katalis enzim dalam pembuatan polimer (Albertsson dan Srivastava, 2008; Varma et al., 2005; Gross et al., 2010):

1. Reaksi dengan katalis enzim berlangsung pada kondisi ringan meliputi suhu, tekanan dan pH serta memberikan selektivitas enantio dan region yang tinggi.
2. Enzim berasal dari sumber daya terbarukan. Enzim merupakan bahan yang ramah lingkungan yang dapat didaur ulang dan dapat dengan mudah dipisahkan dari polimer yang disintesis.
3. Enzim dapat digunakan dalam polimerisasi *bulk*, media organik dan pada berbagai *interface*.
4. Katalis enzim dapat menghasilkan polimer dengan struktur yang baik.
5. Pada proses pembuatan poliester yang dikatalisis lipase, tidak diperlukan penghilangan air dan udara. Hal ini merupakan perbedaan bila digunakan katalis organologam, dimana penghilangan air dan udara harus dilakukan dalam sistem.
6. Siklik lakton dengan strain cincin kecil mudah dipolimerisasi oleh katalis organologam, tetapi polimerisasi cincin lakton besar (makrolide) berlangsung lambat dan menghasilkan produk dengan berat molekul rendah. Enzim mampu mempolimerisasi macrolides dalam kondisi polimerisasi yang normal.

Sintesis PLA menggunakan katalis enzim dapat dilakukan secara *in vivo* dan *in vitro*. Katalis enzim secara *in vivo* mempunyai beberapa karakter spesifik dibandingkan dengan katalis enzim dalam *in vitro*. Secara alamiah, semua reaksi dalam proses *in vivo* berlangsung pada kondisi ringan yaitu dalam medium air pada pH netral, suhu rendah dan dengan konversi tertentu. Laju

peningkatan dengan adanya enzim tergantung pada energi yang dihasilkan substrat dan pusat aktif dari enzim (Varma et al., 2005). Taguchi et al., (2008), mensintesis poliester secara *in vivo* menggunakan *Escherichia coli* rekombinan dengan memperkenalkan gen penyandi sintesis poli hidroksi alkanat (PHA). Kopolimer yang terdiri dari 6% mol laktat dan 94% mol unit 3-HB dengan berat molekul  $1,9 \times 10^5$  dihasilkan melalui fermentasi satu tahap (Taguchi et al., 2008). Metode fermentasi satu tahap sangat sulit untuk menghasilkan PLA homopolimer. Produksi PLA kopolimer dengan sumber karbon berupa glukosa dan menggunakan rekombinasi *Escherichia coli* JLXF5 strain dalam kultur *fed batch* menghasilkan P(3HB-co-39,6% mol LA) dengan berat molekul 141.000 Da dengan kandungan polimer 43% dalam medium. Kultivasi dilakukan pada suhu 30°C dan pH 7 selama 72 jam (Jung dan Lee, 2011).

Pembuatan PLA secara *in vitro* saat ini masih dalam pengembangan. Matsumura et al., (1998), melaporkan polimerisasi siklik diester D,L-laktida dengan katalis lipase *Pseudomonas cepacia* (PC) pada suhu 80–130°C menghasilkan Poli asam laktat dengan massa molekul hingga 12.600 Da. Teknologi dengan media superkritis CO<sub>2</sub> dalam pembuatan poliester mulai dikembangkan. CO<sub>2</sub> superkritis merupakan media polimerisasi yang ramah lingkungan, senyawa kimia inert, murah, tidak beracun, dan tidak mudah terbakar serta dapat menggantikan pelarut organik (Nalawade et al., 2006). García-Arrazola et al., (2009) menyintesis PLA dengan katalis lipase *Candida antarctica*. Reaksi berlangsung pada tekanan 300±5 bar dan suhu 65±2°C. Yield polimer yang didapatkan sebesar 11,03% dengan berat molekul 12.000 g/mol (García-Arrazola et al., 2009). Guzmán-Lagunes et al. (2012) menintesis PLA menggunakan katalis lipase *Bulkholderia cepacia*. Reaksi berlangsung pada tekanan 50 bar dan suhu 105°C. Yield polimer yang didapatkan lebih besar dari 50%.

Reaksi yang dikatalisis enzimatik dalam *in vitro* umumnya dilakukan dalam *bulk* atau pelarut tanpa air. Enzim menunjukkan perbedaan sifat dalam pelarut organik. Selektivitas enzim dalam pelarut organik berbeda dengan di dalam air. *Enantioselectivity* tergantung pada metode persiapan enzim dan suhu reaksi dalam berbagai pelarut organik (Varma et al., 2005). Permasalahan dalam penggunaan pelarut organik adalah kemungkinan terjadinya deaktivasi enzim atau penurunan laju reaksi. Enzim kurang reaktif dalam pelarut organik dibandingkan dalam medium air, tetapi dalam pelarut organik enzim dapat

mengatalisis beberapa reaksi yang tidak mungkin terjadi pada kondisi dalam air. Air mampu membentuk ikatan hidrogen jamak dengan enzim sehingga dapat bertindak sebagai *platiciser*, dimana tidak terjadi dalam pelarut organik. Enzim dapat larut dalam air, membentuk larutan homogen, sebaliknya dalam pelarut organik akan terbentuk larutan/suspense heterogen karena ketidaklarutan enzim. Reaksi enzimatik secara *in vitro* membutuhkan waktu yang lama dan pada suhu yang tinggi untuk mendapatkan massa molekul polimer yang tinggi. Jenis pelarut organik, kandungan air dan kondisi operasi adalah kunci utama dari reaksi katalitik enzimatik dalam pelarut organik (Varma et al., 2005).

Tabel 5.8 Perbandingan Sintesis PLA

Metode Sintesis	Keuntungan	Kerugian
Polikondensasi larutan	Satu tahap, ekonomis dan lebih mudah mengontrol	Adanya impuritis, reaksi samping, polusi, berat molekul PLA rendah.
Melt polikondensasi		Suhu reaksi tinggi, Kondisi reaksi sangat sensitif, berat molekul PLA rendah
<i>Ring-opening Polymerization</i>	Berat molekul PLA tinggi	Membutuhkan kemurnian dari monomer laktida, Biaya tinggi
Solusi baru (Katalis dan kondisi polimerisasi baru, dll)	Efisien, tidak beracun, tidak ada polutan, berat molekul PLA tinggi, dll.	Dalam pengembangan
Biosintesis	Satu tahap, efisien, tidak ada polutan, biaya rendah, dll.	Masih dalam pengembangan

(Xiao et al. 2005)

## Lipase

Lipase merupakan enzim yang berada dimana-mana dan telah ditemukan di sebagian besar organisme dari mikroba, tanaman dan hewan (Schmid dan Verger, 1998). Lipase (E.C.3.1.1.3) merupakan esterase yang dapat menghidrolisis trigliserida (atau ester) pada interface air-minyak. Kemampuan hidrolisis enzim secara alamiah telah digunakan dalam penguraian makanan dan lemak. Lipase juga diaplikasi sebagai obat pada gangguan pencernaan dan

penyakit pankreas, sebagai deterjen aditif untuk menghilangkan noda lemak dan sebagai katalis untuk memproduksi bahan kimia khusus dan untuk sintesis bahan organik (Schmid dan Verger, 1998; Varma et al., 2005).

Lipase merupakan biokatalis yang serbaguna untuk sintesis senyawa organik. Hal ini terutama karena lipase dapat mengakomodasi berbagai macam sintesis substrat dan masih menunjukkan regio-selektivitas atau bentuk kiral. Katalis lipase dapat menghidrolisis dalam medium air dan tanpa air dalam sintesis ester atau transesterifikasi. Lipase memiliki kesamaan struktur dan fungsional yang luar biasa walaupun diisolasi dari organisme yang berbeda. Semua lipase memiliki „ $\alpha/\beta$ -lipatan hirolase“ dengan urutan pentapeptida yang sangat konservatif (Gly-X-Ser-X-Gly) yang meliputi residu serin aktif nukleofil. Situs aktif dari lipase terdiri dari tiga residu asam amino (Serin, histidin, aspartate atau glutamat) yang dikenal dengan „*triad catalytic*“ (Guncheva et al., 2014). Keistimewaan dari struktur unik lipase adalah sebuah tutup atau penutup yang terdiri dari urutan amphiphilic  $\alpha$ -helix peptida yang menghalangi masuknya substrat ke sisi katalitik. Setelah penutup dibuka, permukaan hidrofobik yang luas terbentuk untuk mengikat supersubstrat (tetesan minyak). Sisi aktif terdiri dari residu serin nukleofilik (Ser) yang diaktifkan oleh ikatan hidrogen dalam urutan histidin (His) dan aspartat (Asp) atau glutamat (Ser105 -His224 - Asp187). Lipase golongan dari „ $\alpha/\beta$ -lipatan hirolase“ dengan gugus bangun yang umum terdiri dari urutan spesifik  $\alpha$ -heliks dan  $\beta$ -strands. Inti terdiri dari  $\beta$ -strands paralel yang dikelilingi oleh  $\alpha$ -heliks. Residu serin nukleofilik aktif terletak di antara  $\beta$ -strand dan  $\alpha$ -helix (Albertsson dan Srivastava, 2008; Varma et al., 2005).



Gambar 5.9 Sisi Aktif Enzim Lipase (Pellis et al., 2016)

Lipase dapat dihasilkan dari berbagai mikroorganisme, mulai dari mesophilik hingga termophilik lipase. Lipase yang berasal dari mikroorganisme mesophilik aktif pada rentang pH luas tetapi tidak stabil pada suhu lebih tinggi (umumnya di atas 70°C). Suhu optimum untuk lipase dari bakteri antara 30-65°C. Sejumlah besar lipase termostabil telah diisolasi dari mikroorganisme termophilik yang berasal dari berbagai tempat (Akanbi et al., 2010). Termostabil lipase terutama dalam kondisi ketiadaan air yang cukup (Nawani et al., 1998). Lipase termostabil umumnya diisolasi dari genus *Bacillus thermoleovorans* (Sharma et al., 2002), *Bacillus thermoleovorans* ID-1 (Lee et al., 1999), *Bacillus sp. J33* (Nawani dan Kaur, 2000), *B. stearothersophilus* (Kim et al., 2000), *Lactobacillus* dan *Pseudomonas sp.* (Sharma et al., 2013).

Sifat termostabilitas protein dari mikroorganisme termophilik disebabkan oleh peningkatan jumlah interaksi molekular yang stabil termasuk diperpanjangnya jaringan ionik interaksi hidrofobik, ikatan hidrogen dan ikatan disulfida, serta loop permukaan pendek dan tertutup terminal-N dan C. Masalah utama yang terkait dengan biokatalis ini adalah ketidakstabilan yang terjadi dengan adanya kondisi buruk seperti adanya pelarut organik, pH ekstrem, suhu, tekanan dan kekuatan ionik yang membuat proses yang terlibat secara ekonomi tidak layak (Sharma et al., 2013).

Immobilisasi dapat digunakan pada kasus tertentu untuk meningkatkan stabilitas enzim. Penggunaan enzim immobilisasi dibandingkan enzim terlarut memberikan keuntungan tertentu dalam proses industri seperti mudahnya pemisahan produk dan biokatalis, pengurangan efek denaturasi, proses bisa dilakukan secara kontinu, penghambatan pembentukan agregat dalam media organik, dan modifikasi sifat fisik dan kimia. Immobilisasi enzim yang tidak sesuai menyebabkan penurunan kekakuan enzim dan penurunan stabilitas enzim, yang disebabkan oleh interaksi tak terduga dari *support* dengan enzim (Mateo et al., 2007).

Teknik immobilisasi lipase dan esterase bermacam-macam seperti adsorpsi oleh ikatan kovalen dan ionik serta oklusi dan adsorpsi fisik (Bolivar et al., 2009; Palomo et al., 2004; Wang dan Hsieh, 2008). Beberapa penelitian melaporkan immobilisasi lipase dari mikroorganisme thermophilic *Geobacillus thermoleovorans* pada support propylene dan menunjukkan peningkatan termostabil setelah immobilisasi (Sharma et al., 2013). Lipase

dari *Bacillus sp* yang menunjukkan aktivitas optimum pada pH 8,5 dan suhu 60°C (Nawani et al., 2006).

### Faktor yang Memengaruhi Termostabilitas Lipase

Faktor utama yang memengaruhi termostabilitas protein antara lain ion logam, dan asam amino.

#### Ion logam

$Ca^{2+}$  dan  $Zn^{2+}$  berhubungan erat dengan lipase.  $Ca^{2+}$  membatasi fleksibilitas konformasi heliks dan loop tertentu dan membawa stabilisasi His residu melalui ikatan hidrogen dan berperan penting untuk termostabil lipase (Chakravorty et al., 2011). Ion  $Ca^{2+}$  sebagai aktivator lipase dan memainkan peranan penting dalam stabilitas protein. Li et al., (2011) melaporkan bahwa peningkatan aktivitas lipase dari *S. mercerscens* ECU1010 menjadi dua kali lipat ketika ion kalsium ditambahkan dalam buffer. Ion  $Zn^{2+}$  dalam lipase hanya berperan dalam struktur untuk menghasilkan stabilisasi katalitik lipase dan tidak terlibat dalam katalisis. Ion  $Zn^{2+}$  hanya bertanggung jawab pada karakteristik penting dan tidak bertanggung jawab untuk termostabil lipase tetapi pada waktu yang sama jika ion  $Ca^{2+}$  dan  $Zn^{2+}$  ditemukan bersama dalam lipase, koordinasi kedua ion ini membantu stabilitas struktur lipase dan menyebabkan stabilitas lipase pada suhu tinggi (Chakravorty et al., 2011).

#### Peran Asam Amino

Variasi komposisi asam amino diketahui menjadi penyebab perbedaan termostabil dan mesostabil protein. Bakteri dan fungi lipase termostabil (TBFL) mempunyai persentase Cys (0,87%) lebih kecil daripada bakteri lipase mesostabil (MBL) sebesar 0,97%. Fungi lipase termostabil (TFL) mengandung lebih banyak Cys daripada bakteri lipase termostabil. TBL mempunyai jumlah residu asam amino seperti Glu, Arg dan His (3,94%) lebih banyak daripada MBL (3,23%). Perbedaan lain adalah komposisi residu Asp dan Lys adalah 4,85% dalam TBFL dan 5,33% dalam lipase mesostabil (ML), Asp dalam TFL sebesar 6,18% dimana lebih tinggi dari TBL (5,67%) dan ML (5,92%). Residu aromatik dan proline jumlahnya lebih tinggi dalam TBFL (3,26% dan 4,65%) daripada dalam ML (2,95% dan 4,24%). ML mempunyai



residu Gly 9,98% dan TBFL 9,91%. TBL mempunyai residu Gly 10,55% lebih tinggi dari TBFL. Lipase thermostabil mempunyai residu asam amino labil seperti Gln dan Met dalam jumlah lebih kecil (3,32%) daripada dalam ML (3,73%). Residu B-branched seperti Val, Leu, dan Ile lebih kecil dalam TBFL (6,63%) daripada dalam ML (7,37%) (Chakravorty, et al., 2011).

Kehadiran residu asam amino menyebabkan termostabilitas protein karena residu asam amino bertanggung jawab untuk interaksi elektrostatik yang berperan dalam menstabilkan struktur protein sekunder. Residu Cys rentan terhadap oksidasi pada suhu yang lebih tinggi dan kehadiran disulfida meningkatkan termostabilitas dan bila residu Cys berada dalam residu bebas, maka akan mengurangi termostabilitas tersebut (Chakravorty et al., 2011).

### Pelarut Organik

Air sangat penting untuk enzim karena sangat memengaruhi struktur enzim melalui ikatan non-kovalen. Terlalu rendah kandungan air akan mengurangi aktivitas enzim. Kandungan air tinggi dapat mengurangi kecepatan reaksi karena penggabungan partikel enzim dan menyebabkan keterbatasan difusi. Enzim mengalami deaktivasi pada suhu tinggi dalam media air karena tidak terlipatnya enzim dan air serta terjadinya perubahan pada struktur utama enzim. Enzim kering memerlukan sejumlah air yang cukup untuk tetap aktif, karena air memberikan lapisan hidrasi parsial di sekitar molekul enzim. Molekul air yang terikat memberikan fleksibilitas pada molekul enzim (Varma et al., 2005). Diester dan diol berhasil dikonversi menjadi poliester oleh lipase *Candida sp.* tanpa adanya pelarut organik. Poliester yang dihasilkan mempunyai berat molekul tinggi yaitu 62.100 Da pada suhu reaksi 70°C (Liu et al., 2012).

Lipase merupakan enzim yang paling disukai dari sudut pandang industri karena toleransinya dalam pelarut (Sharma et al., 2013). Pelarut organik polar tidak merusak daripada pelarut nonpolar karena mereka menempatkan enzim dalam konformasi kaku dengan melepaskan lapisan air yang penting di sekitar biomolekul. Dari sudut pandang industri, toleransi pelarut merupakan keuntungan tambahan untuk potensi biomolekul. Karena struktur yang kaku diakuisisi oleh enzim dalam media kering, resistensi enzim meningkat untuk getaran termal dan pada akhirnya meningkatkan nilai produk industri tersebut (Sharma et al., 2013).

### Sumber Lipase Termotabil

Lipase sangat banyak ditemukan pada bakteri, yeast, fungi dan umumnya ekstraselular. Lipase dari mikroba memiliki stabilitas yang lebih tinggi, biaya produksi yang rendah dan lebih mudah didapat daripada lipase dari tanaman dan hewan (Sharma et al., 2013). Sejumlah *Bacillus sp.* merupakan sumber lipase. Sebagian besar enzim umumnya stabil dan aktif pada suhu sekitar 60°C dan pH berkisar 7, tetapi lipase dari *Bacillus thermoleovorans* dan *Rhizopus oryzae thermophilic* bekerja dengan baik pada suhu dan nilai pH ekstrem (Sharma et al., 2013). *Lipase Bacillus licheniformis* sangat stabil pada suhu tinggi. Lipase dari *Bacillus sp. L2* merupakan lipase thermophilik yang diproduksi secara ekstraselular dan suhu untuk aktivitas maksimum berkisar 55-70°C, dengan aktivitas lipolitik lebih dari 70% dan aktivitas maksimum pada 70°C (Shariff et al., 2011). Aktivitas katalitik beberapa lipase termotabil dapat dilihat tabel berikut ini.

Tabel 5.9 PH dan Suhu Optimum untuk Aktivitas Berbagai Sumber Lipase

Mikroorganisme	pH optimum	Suhu optimum(°C)	References
<i>Bacillus sp. RSJ-1</i>	8,0-9,0	50	(Sharma et al., 2002)
<i>Bacillus strain J33</i>	8,0	60	(Nawani et al., 1998)
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	-	68	(Gupta et al., 1999)
<i>Geobacillus sp</i>	9,0	70	(Abdel-Fattah, 2002)
<i>Pseudomonas sp</i>	11,0	90	(Rathi et al., 2000)
<i>Pseudomona sp</i>	9,6	65	(Kulkarni dan Gadre, 1999)
<i>Pyrococcus furiosus</i>		100	(Ikeda dan Clark, 1998)
<i>Pyrococcus horikoshii</i>	7,0	95	(Bisht dan Amrita, 2011)
<i>Pyrococcus horikoshii</i>	5,6	97	(Ando et al., 2002)
<i>Staphylococcus aureus</i>	5,0-12,0	55	(Horchani et al., 2009)
<i>Rhizopus chinensis</i>	6,0-9,0	30-50	(Sun et al., 2009)
<i>Thermoanaerobacter Thermohydrosulfuricus</i>	8,0	75-90	(Royter et al., 2009)
<i>Staphylococcus xylosus</i>	4,0-11,0	60-70	(Khoramnia et al., 2010)
<i>Bacillus sp.</i>	6,0-10,0	55-80	(Shariff et al., 2011)
<i>Geobacillus sp. TF12</i>	8,0	55-60	(Ay et al., 2011)
<i>Thermomyces lanuginosus</i>	9,0		(Zheng et al., 2011)

### Lipase *Candida Rugosa*

*Candida* sp. merupakan fungi yang hampir tersebar di seluruh dunia. Biasanya hidup berkoloni pada kulit manusia, pada daun, bunga, air, tanah, dan membran mukosa. Genus *Candida* terdiri dari 154 spesies yang sudah diketahui. Sebagian besar dari mereka umumnya bersifat patogen dan dapat menginfeksi manusia. Beberapa yang paling berbahaya adalah *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida krusei*, dan *Candida lusitanae*. Infeksi yang disebabkan *Candida* adalah *Candidiasis*. Namun ada juga beberapa spesies yang tidak patogen. Salah satunya adalah *Candida rugosa*. *Candida rugosa* merupakan jamur *non-sporogenic* tidak sempurna, hemiascomycete, berfilamen seperti *Melanocarpus albomyces thermophilic* (Kontkanen et al., 2006). Telah dilaporkan oleh *Food Standards Australia New Zealand* (FSANZ) pada 5 Oktober 2005 bahwa *Candida rugosa* adalah organisme non-patogen. Lipase yang dihasilkan dari organisme ini merupakan lipase yang dapat menyerang ketiga gugus lemak pada rantai trigliserida.

Koloni *Candida* sp. berupa krim yang berwarna kekuningan, tumbuh dengan cepat dan matang dalam tiga hari. *Candida* sp. termasuk dalam golongan *yeast* atau ragi. Ragi merupakan kelompok fungi yang penting. Fungi, sama seperti bakteri, tersebar banyak di alam, meskipun mereka biasanya hidup di tanah dan pada daerah yang relatif lembap dibanding tempat hidup bakteri. Fungi tidak dapat mengambil energi dari sinar matahari. Walaupun kebanyakan fungi memiliki morfologi yang relatif kompleks, ragi dapat dibedakan karena merupakan mikroorganisme bersel satu, dan berukuran panjang dari 5 sampai 30  $\mu\text{m}$  dengan lebar 1 hingga 5  $\mu\text{m}$ .

Lipase *Candida rugosa* digunakan secara luas dalam reaksi hidrolisis, esterifikasi, transesterifikasi dan enantioselektif biotransformasi, karena harganya yang murah (Bezbradica et al., 2006). Lipase *Candida rugosa* tersedia secara komersial dan tidak membutuhkan kofaktor dalam aplikasinya (Herbst et al., 2014). *Candida rugosa* komersial mengandung proporsi yang berbeda yang diperoleh dari strain masing-masing industri sebagai hasil dari mutasi dan dapat menggunakan substrat yang berbeda sehingga dapat digunakan untuk aplikasi bioteknologi yang beragam (Ferrer et al., 2001). Contohnya, CRL1 adalah isoenzim utama dalam minyak mentah diperdagangkan oleh *Sigma* sebagai lipase, sedangkan CRL3 adalah isoenzim utama dalam minyak

mentah diperdagangkan oleh Roche sebagai esterase kolesterol. Dalam CRL, flap berisi satu  $\alpha$ -helix dengan 10 residu dan satu  $3_{10}$   $\alpha$ -helix dengan 3 residu (De Maria et al., 2006; Mancheno et al., 2003).

Pemurnian dan karakterisasi dari berbagai macam lipase yang berasal dari *yeast* (*Candida rugosa*, *Candida antarctica*) dapat menjadi lebih kompleks di dalam biologi molekuler. Lipase *Candida rugosa* dan *G. Candidum* telah dilakukan studi secara bersamaan sejak kedua jenis lipase tersebut menunjukkan persamaan-persamaan dalam berbagai aspek. Kedua lipase tersebut mempunyai perbedaan dalam *lipase encoding genes* (lipase keluarga *pseudogene*), yang mana dapat dihitung untuk membedakan rangkaian urutan asam amino dan kemungkinan untuk sifat-sifat enzimatik dan biokimia.

### Polimerisasi Pembukaan Cincin dengan Lipase

Dua pendekatan umum yang dapat digunakan untuk menyintesis poliester adalah polimerisasi pembukaan cincin lakton dan polikondensasi. Dalam polimerisasi enzim, beberapa lipase dari sumber berbeda telah digunakan untuk membentuk poliester contoh lipase dari *Candida antarctica*, *Candida rugosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas cepacia* dan *porcine pancreas* (Yang et al., 2011).

Lipase digunakan untuk mendapatkan poliester bebas logam dengan kemurnian yang tinggi untuk aplikasi medis. Bagaimanapun poliester yang dihasilkan dengan menggunakan katalis lipase mempunyai berat molekul yang lebih rendah dibandingkan dengan menggunakan katalis organologam. Novozym 435, immobilisasi lipase B dari *Candida antarctica*, mempunyai aktivitas katalis yang tinggi untuk ROP lakton dan siklik karbon. ROP dari 1,4-dioxan-2-one (PDO) dikatalis oleh Novozym 435 menghasilkan poli(1,4-dioxan-2-one)(PPDO) dengan nilai Mn maksimum 7770 g/mol dan konversi 79% setelah proses berlangsung 12 jam pada suhu 60°C dalam media bulk. Mn dan konversi keseimbangan monomer turun dengan meningkatnya suhu dari 60 ke 100°C. Ketika suhu dinaikkan menjadi 100°C, Mn turun menjadi 1240 g/mol dan konversi monomer 49%. Sintesis PPDO dengan berat molekul 3890 dan 2380 menggunakan *Candida rugosa* (CR) berlangsung pada suhu 100°C selama 48 jam. Novozym 435 sebagai immobilisasi CALB mempunyai stabilitas yang tinggi dibandingkan dengan lipase murni (Dong et al., 2013).

Sintesis poli asam laktat (PLA) pertama kali melalui ROP dari laktida menggunakan katalis lipase *Pseudomonas species (PS)*, *Porcine pancreatic* dan *Candida cylindracea*. Yield PLA yang dihasilkan antara 3–29% setelah berlangsung 7 hari (Matsumura et al., 1997; Matsumura et al., 1998). Matsumura et al., (1997) menggunakan lipase *PS* untuk polimerisasi L-D dan D,L laktida dalam rentang suhu 80°C sampai 130°C dan mendapatkan jumlah berat molekul di atas 270.000. Penambahan etilen glikol sebagai inisiator diketahui meningkatkan pembentukan poli (L-asam laktat) (Målberg et al., 2010b). Lipase *Candida antarctica (CALB)* dievaluasi sebagai katalis untuk polimerisasi laktida. Pada kondisi reaksi ringan (50–70°C), CALB aktif sebagai katalis untuk polimerisasi D-laktida dalam larutan toluen, tetapi bukan L-laktida (Hans et al., 2009). Polimerisasi pembukaan cincin L-laktida terjadi pada 100°C dalam bulk menggunakan immobilisasi lipase CA sebagai katalis enzim. Polimerisasi pembukaan cincin L-laktida selama 24 jam menggunakan immobilisasi lipase CA menghasilkan polimerisasi sekitar 30% (Fujioka et al., 2006). Kopolimer laktat berhasil disintesis melalui kopolimerisasi L-laktida (LLA) dengan diester dan diol menggunakan lipase *Candida antarctica (CALB)* sebagai katalis. Kopolimer yang dihasilkan mempunyai Mw di atas 38.000 Da dengan Mw/Mn antara 1,5 dan 2 dan kandungan unit L-laktida, unit C6-C12 diester dan unit C4-C6 alkanin dalam rantai polimer di atas 53 %mol (Jiang dan Zhang, 2013).

Polimerisasi L-laktida menggunakan lipase dari *Burkholderia cepacia* (lipase *PS*) menghasilkan jumlah berat molekul rata-rata (Mn) dan laju reaksi lebih tinggi daripada menggunakan *Pseudomonas fluorescens* (lipase AK) atau *Candida antarctica* (lipase CA). Tidak ada perbedaan yang signifikan antara laju reaksi dengan menggunakan lipase *PS* dan *B.cepacia* terimmobilisasi pada keramik (lipase *PS*-imob) tetapi pada penggunaan lipase *PS*-imob menghasilkan berat molekul yang lebih rendah. Mn sebesar 78.100 diperoleh dengan lipase *PS* pada 125°C. Lipase *Candida antarctica* memberikan konversi yang tinggi setelah 7 hari, tetapi berat molekul tidak meningkat. Dalam semua sistem, penambahan etilen glikol meningkatkan laju reaksi sebaliknya berat molekul menurun. Lipase *PS* memiliki efisiensi katalitik lebih baik daripada lipase AK dalam mini emulsi-polimerisasi. Lipase *PS* mudah beradaptasi dengan lingkungan dibandingkan enzim lainnya (Målberg et al., 2010b).

Konversi monomer asam laktat dan berat molekul Poli asam laktat lebih tinggi dihasilkan dengan menggunakan PPL dibandingkan dengan Lipozyme IM20. Berat molekul tertinggi didapat adalah 1.423 pada konversi monomer 80,2% (Kiran dan Divakar, 2003).

*Hyperbranched* poli-(L-asam laktat) (PLLA) dapat disintesis menggunakan katalis immobilisasi lipase *Candida antarctica (CALB)* dalam media 1-butyl-3-metil imidazolium hexa-fluorophosphat (C4MIM)(PF6). Aktivitas immobilisasi CALB dalam pelarut ramah lingkungan dengan tingkat kelarutan yang tinggi dari substrat dan produk merupakan faktor penting dalam keberhasilan sintesis (Mena et al., 2013).

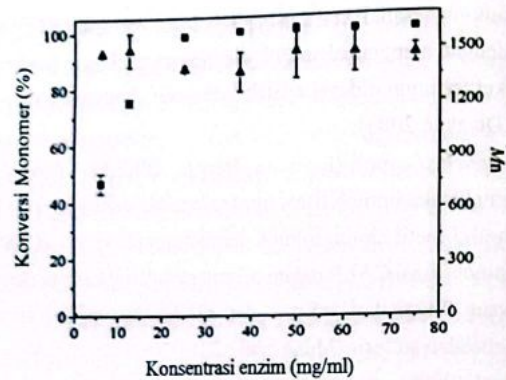
Ma et al.,(2009) melakukan reaksi pembukaan cincin  $\epsilon$ -caprolacton dengan menggunakan katalis thermophilic esterase dari *Archaeoglobus fulgidus* dalam pelarut organik. Monomer terkonversi hampir 100%, dengan jumlah berat molekul (Mn) rata-rata 1400 dalam toluen pada suhu 80°C selama 72 jam. Kinetika Michaelis-Menten menunjukkan bahwa afinitas enzim untuk  $\epsilon$ -caprolakton sangat tinggi dengan harga Km 0,093 mol/l (Ma et al., 2009b).

### Faktor yang Memengaruhi Polimerisasi Pembukaan Cincin dengan Katalis Lipase

Ada beberapa faktor yang memengaruhi polimerisasi pembukaan cincin dengan katalis lipase yaitu konsentrasi enzim, suhu, waktu reaksi, media reaksi dan kandungan air.

#### Konsentrasi Enzim

Dalam polimerisasi enzimatik pembukaan cincin  $\epsilon$ -caprolakton, konsentrasi enzim sangat memengaruhi tingkat konversi monomer dan berat molekul produk.  $\epsilon$ -caprolacton direaksikan pada suhu 80°C selama 72 jam. Konversi monomer dan Mn sebagai fungsi konsentrasi enzim ditunjukkan pada gambar di bawah ini. Peningkatan konversi monomer diamati dengan peningkatan konsentrasi enzim. Ketika konsentrasi enzim melebihi 25 mg/ml, konversi monomer lebih dari 99% tetapi nilai Mn tetap konstan sekitar 1400 dan tidak tergantung pada konsentrasi enzim (Ma et al., 2009b).



Gambar 5.10 Konversi  $\epsilon$ -caprolacton dan Mn Fungsi Konsentrasi Enzim pada 600 $\mu$ l Toluene (80°C; 72 jam) (Ma et al., 2009b)

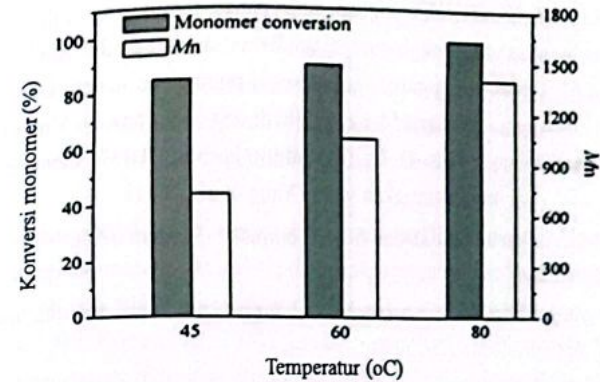
Deng et al., (1999) melaporkan untuk polimerisasi pembukaan cincin  $\epsilon$ -caprolacton dan trimetilen karbonat dengan katalis lipase Novozym 435. Polimerisasi  $\epsilon$ -caprolakton terjadi dalam bulk dan pada suhu 70°C, dan trimetilen karbonat terjadi pada suhu 55°C. Hasil yang didapatkan bahwa semakin tinggi konsentrasi lipase maka akan meningkatkan laju konsumsi (konversi) monomer tetapi akan menurunkan Mn (Deng dan Gross, 1999).

#### Pengaruh Temperatur

Pada reaksi pembukaan cincin  $\epsilon$ -caprolacton dalam media 600 $\mu$ l toluen, semakin tinggi suhu reaksi maka konversi monomer semakin tinggi. Konversi monomer pada suhu 80°C lebih tinggi dibandingkan dengan 45 dan 60°C. Setelah 72 jam konversi monomer meningkat dari 84% pada 45°C menjadi 100% pada 80°C, seperti terlihat pada Gambar di 5.11 (Ma et al., 2009b).

#### Waktu Reaksi

Selama polimerisasi, konversi monomer dan Mn meningkat dengan semakin lamanya waktu reaksi. Konversi  $\epsilon$ -caprolakton mencapai 95% dalam waktu 14 jam, dimana hampir semua monomer terlibat dalam proses inisiasi polimerisasi (Ma et al., 2009b).



Gambar 5.11 Pengaruh temperatur terhadap konversi monomer dan berat molekul (Mn) produk (Ma et al., 2009b)

#### Media Reaksi

Pada reaksi enzimatik dalam medium tanpa air, pelarut memainkan peranan penting dalam menentukan stabilitas enzim dan mengatur partisi dari substrat dan produk antara pelarut dan enzim. Konversi monomer relatif lebih rendah dalam pelarut hidrofilik seperti dioksan dan aseton (Ma et al., 2009b). Pada umumnya, polimerisasi pembukaan cincin menggunakan katalis lipase/esterase dilakukan dalam pelarut bulk atau organik, khususnya dalam pelarut hidrofobik, seperti toluen, heptan atau diisopropil eter. Penggunaan pelarut hidrofobik, menghasilkan konversi monomer dan nilai Mn yang tinggi, kemungkinan disebabkan oleh lapisan air pada permukaan molekul enzim dapat dijaga/dipertahankan dan struktur katalitik dari enzim tidak terganggu. Pelarut yang umumnya dianggap sebagai "green" seperti air, ionic liquid, superkritikal karbondioksida (scCO<sub>2</sub>) dan hidrofluorokarbon (HFCs), dapat juga digunakan sebagai medium reaksi (Yang et al., 2011).

Namekawa et al. (1998) pertama kali menemukan polimerisasi pembukaan cincin lakton dengan katalis lipase dalam air. Mereka menemukan bahwa macrolide (11-undekanolid, 12-dodekanolid dan  $\omega$ -pentadekanolid) dapat dipolimerisasi oleh katalis lipase dalam air menghasilkan yield diatas 89%, sedangkan  $\epsilon$ -caprolakton dan 8-oktanolid tidak terpolimerisasi (Yang et al., 2011).

Pelarut *ionic liquid* tidak menguap, tahan panas, cairan yang sangat polar dan secara luas telah digunakan sebagai media untuk sintesis dan modifikasi polimer. CALB dapat mengatalisis polimerisasi pembukaan cincin L-laktida dalam beberapa jenis *ionic liquid* dengan yield di atas 63% dan nilai Mn 55.000 g/mol. Pelarut lainnya yaitu HFCs (hidrofluorokarbon). HFCs mempunyai beberapa sifat yang menguntungkan yaitu (Yang et al., 2011):

- Potensi kadar racun rendah dan tidak menipiskan lapisan ozon;
- Tidak terbakar
- Sifat yang mirip dengan *supercritical liquid* dan tidak membutuhkan peralatan reaksi tekanan tinggi
- Kepolaran yang cukup
- Hidrofobik

Medium reaksi potensial lainnya untuk sintesis poliester dan dapat digunakan kembali adalah superkritikal karbondioksida ( $scCO_2$ ). Keunggulannya murah, inert, tidak beracun, dan mudah terbakar. Penggunaan  $scCO_2$  sebagai medium reaksi kebanyakan dilaporkan dalam pembuatan poli( $\epsilon$ -caprolakton) secara enzimatik dan kopolimernya. Hasilnya adalah polimer dengan nilai Mn sebesar 50.000 g/mol. Hampir sama dengan reaksi dalam pelarut organik, reaksi enzimatik transesterifikasi yang kuat (meliputi intramolekular dan intermolekular transesterifikasi) terjadi dalam  $scCO_2$ , dihasilkan campuran polimer siklik dan linear. Enzim dan  $scCO_2$  dapat digunakan kembali untuk polimerisasi selanjutnya. Seperti *ionic liquid*,  $scCO_2$  dapat juga digunakan sebagai medium reaksi untuk sintesis poli(L-laktida), yang sulit dilakukan secara enzimatik dalam pelarut organik (Yang et al., 2011).

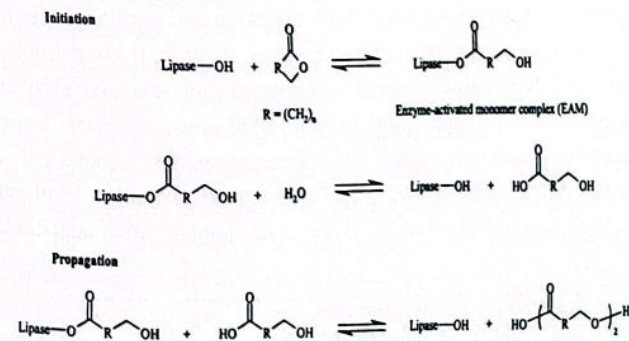
Arazola et al., (2009), melaporkan bahwa sintesis poli-L-asam laktat (PLLA) dengan katalis immobilisasi lipase B dari *Candida antarctica* dapat dilakukan menggunakan medium  $scCO_2$ . ROP dari L-laktida terjadi pada suhu 65°C tekanan 300 bar. PLLA yang terbentuk semi kristalin dengan berat molekul (Mw) 12.900 g/mol (García-Arazola et al., 2009). Santos et al., (2012b) melakukan sintesis poli( $\epsilon$ -caprolacton) dalam  $scCO_2$ . Berat molekul (Mn) yang terbaik dihasilkan sebesar 7419,6 g/mol dengan kondisi reaksi 145 bar, 65°C, kecepatan pengadukan 200 rpm dan konsentrasi enzim 10% berat, dengan kandungan air yang sangat kecil (Santos et al., 2012a).

### Kadar Air

Molekul air bertindak sebagai pereaksi nukleofilik, memainkan peran penting dalam reaksi inisiasi. Pembatasan kadar air dapat mengendalikan kinerja enzim dalam medium organik. Menentukan kadar air yang optimum dalam polimerisasi enzimatik merupakan hal yang penting (Ma et al., 2009b).

### Mekanisme Reaksi Polimerisasi Pembukaan Cincin dengan Lipase

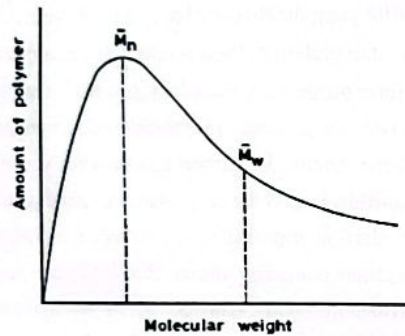
Konsumsi monomer pada reaksi pembukaan cincin dengan katalis organologam mengikuti laju reaksi orde satu dan tidak ada ikatan pada terminasi (Deng dan Gross, 1999; Dong et al., 2013). Lipase merupakan enzim golongan hidrolase dan mengatalisis hidrolisis ikatan ester dengan cara *triad catalytic*, terdiri dari residu serin nukleofilik yang diaktifkan oleh ikatan hidrogen dan diikuti dengan histidin dan aspartat atau glutamat. Pada polimerisasi pembukaan cincin lakton, residu serin menyerang nukleofilik pada lakton untuk membentuk enzim-aktif monomer (EAM) kompleks. Pada reaksi inisiasi, serangan nukleofilik air yang terkandung dalam enzim, ke karbon asil dari EAM untuk menghasilkan asam karboksilat  $\omega$ -hidroksi. Selama propagasi, serangan nukleofilik oleh kelompok hidroksil dari  $\omega$ -hidroksi asam karboksilat pada EAM mengarah pada pembentukan rantai panjang polimer oleh lebih dari satu monomer unit (Albertsson dan Srivastava, 2008). Langkah utama adalah reaksi lipase dengan lakton membentuk intermediet asil-enzim, yang selanjutnya bereaksi dengan air, alkohol atau hidroksil selama langkah inisiasi atau propagasi, seperti reaksi pada gambar di bawah ini (Jérôme dan Lecomte, 2008).



Gambar 5.12 Mekanisme Polimerisasi Pembukaan Cincin dengan Katalis Lipase (Albertsson dan Srivastava, 2008)

**Berat Molekul Polimer**

Berat molekul merupakan variabel yang sangat penting karena berhubungan langsung dengan sifat kimia polimer. Polimer dengan berat molekul tinggi biasanya mempunyai sifat yang lebih kuat. Sampel polimer terdiri dari sebaran ukuran molekul dan sebaran massa molekul. Oleh karena itu setiap penentuan massa molekul akan menghasilkan harga rata-rata. Hal yang membedakan polimer dengan berat molekul rendah adalah adanya distribusi panjang rantai, sehingga derajat polimerisasi dan berat molekul di semua polimer harus diketahui (kecuali beberapa makromolekul biologis). Distribusi ini dapat diilustrasikan dengan memplot berat polimer dengan berat molekul tertentu terhadap berat molekul, seperti pada gambar di bawah ini.



Gambar 5.13 Distribusi Berat Molekul dalam Polimer

Berat molekul rata-rata jumlah ( $M_n$ ), diperoleh dari perhitungan jumlah molekul dari setiap berat dalam sampel polimer. Berat total sampel polimer adalah jumlah berat dari setiap spesies molekul yang ada. Dalam pengukuran berat molekul rata-rata jumlah ( $M_n$ ) semua molekul yang terdispersi dianggap memiliki berat sama pada setiap rantai polimer, tetapi antara rantai polimer yang satu dengan rantai polimer yang lain memiliki jumlah molekul yang berbeda. Secara matematis berat molekul rata-rata jumlah ( $M_n$ ) dapat ditulis:

$$M_n = \frac{\sum_{i=1} M_i N_i}{\sum_{i=1} N_i} \dots\dots\dots(2.1)$$

Dimana:  $M_i$  = jumlah mol setiap spesies  $i$   
 $N_i$  = jumlah molekul setiap spesies  $i$

Berat molekul rata-rata berat ( $M_w$ ) dihitung berdasarkan pada massa dan polarisabilitas spesies polimer yang ada. Polimer dengan massa yang lebih besar maka kontribusinya ke pengukuran menjadi lebih besar. Metode ini menjumlahkan fraksi berat masing-masing spesies dikalikan jumlah molekulnya. Secara matematis berat molekul rata-rata berat ( $M_w$ ) dapat ditulis:

$$M_w = \frac{\sum_{i=1} N_i M_i^2}{\sum_{i=1} N_i M_i} \dots\dots\dots(2.2)$$

$M_w$  mempunyai nilai yang lebih tinggi dari  $M_n$ . Hal ini terjadi karena dalam pengukuran sifat koligatif, setiap molekul mempunyai kontribusi yang sama berapapun beratnya sedangkan dengan metode hamburan cahaya, molekul besar mempunyai kontribusi yang besar pula karena menghamburkan cahaya lebih efektif. Jika molekul-molekul polimer terdispersi dalam ruang luas, maka masing-masing molekul dalam satu rantai polimer memiliki bobot berbeda semakin banyak, namun jumlahnya sama maka  $M_w$  dalam sampel tersebut lebih besar dari  $M_n$ . Apabila  $M_w > M_n$  maka dapat dikatakan sampel tersebut polidispersi. Jika masing-masing berat molekul yang terdispersi dalam suatu sistem mempunyai nilai yang sama, maka  $M_w = M_n$ , sehingga disebut sebagai polimer monodispersi (Fred dan Billmeyer, 1984).

**Polikondensasi Asam Laktat tanpa Katalis dengan Variasi Suhu**

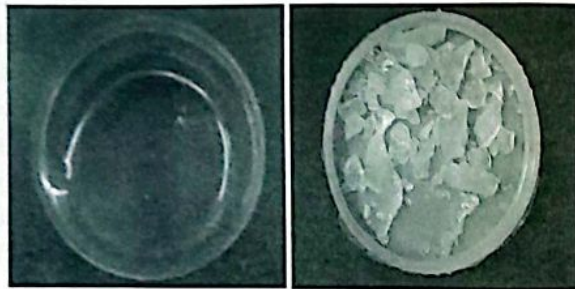
Polikondensasi asam laktat dilakukan dalam dua tahapan proses yaitu tahap penghilangan air (praperlakuan) dan tahap polikondensasi (oligomerisasi). Tahap praperlakuan berlangsung pada suhu 120°C selama 1 jam dengan mengalirkan gas nitrogen secara kontinu. Nitrogen berfungsi untuk mendorong air yang teruapkan menuju kondensor.

Tahap oligomerisasi asam laktat berlangsung dengan mudah pada suhu di atas 150°C (Yoo et al., 2006). Pada suhu di atas 150°C, oligomerisasi dapat terjadi tanpa adanya penambahan katalis dari luar (*self-oligomerized*) (Harshe et al., 2007). Pada penelitian Rahmayetty et al., (2017) tahap oligomerisasi dilakukan tanpa menggunakan katalis, pada tekanan 1 atm dengan 2 cara yaitu dengan pemanasan konstan dan pemanasan bertahap. Pemanasan konstan dilakukan dengan variasi suhu 150; 180 dan 200°C selama 4 jam. Pemanasan

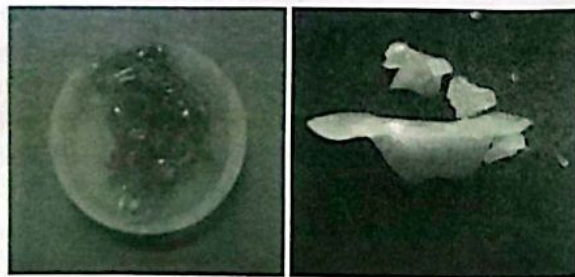
bertahap berlangsung pada suhu 150°C selama 2 jam dan 180°C selama 2 jam. Tujuan dari variasi suhu polikondensasi adalah untuk mendapatkan berat molekul oligomer yang berbeda-beda. Variasi suhu polikondensasi menghasilkan perbedaan volume kondensat dan karakteristik OLLA yang dihasilkan.

### Bentuk Visual Oligomer (OLLA)

Variasi suhu polikondensasi menyebabkan perbedaan bentuk visual dari OLLA yang dihasilkan. OLLA pada suhu polikondensasi 150; 180; 200°C dan secara bertahap (150–180°C) masing-masing mempunyai bentuk visual secara berurutan berupa cairan bening berwarna kuning yang sangat kental (Gambar a), padatan bening (Gambar b), padatan coklat (Gambar c) dan padatan putih (Gambar d).



(a) (b)



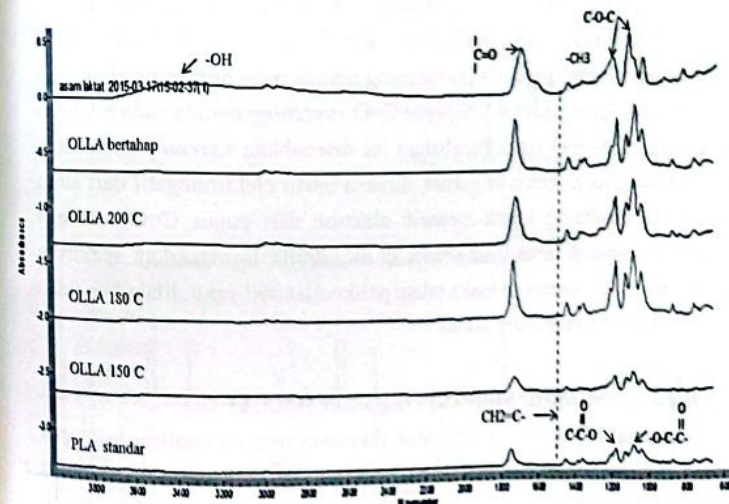
Gambar 5.14 Bentuk OLLA pada Variasi Tpolikondensasi (a) 150°C; (b) 180°C; (c) 200°C; (d) Bertahap 150–180°C

Perubahan warna pada oligomer dapat disebabkan oleh berbagai faktor, seperti suhu reaksi yang tinggi, waktu reaksi yang lama, katalis yang digunakan, pelarut dan produk samping (Maharana et al., 2009; Upare et al., 2012).

Pada penelitian Rahmayetty et al. (2017), perbedaan warna dari OLLA yang dihasilkan disebabkan oleh variasi suhu polikondensasi. Pemanasan pada tahap polikondensasi menyebabkan terpolimerisasinya ikatan karboksilat asam laktat. Suhu tinggi pada tahap polikondensasi menyebabkan degradasi termal asam laktat yang ditandai dengan warna OLLA yang gelap. Pada gambar di atas, OLLA hasil polikondensasi 200°C berwarna coklat tua berbeda dengan OLLA yang dihasilkan dengan kenaikan suhu secara bertahap dan pada suhu 180°C. Degradasi termal terjadi pada suhu di atas 200°C bila polimerisasi dilakukan tanpa katalis (Feerzet et al., 2009).

### Karakterisasi Gugus Fungsi Oligomer (OLLA)

Gugus fungsi dari OLLA yang dihasilkan dengan variasi suhu polikondensasi dianalisis menggunakan *fourier transform infrared* (FTIR). Spektrum infra merah dari OLLA yang terbentuk pada tahap polikondensasi, PLA standar dan L-asam laktat komersial yang digunakan sebagai bahan baku dapat dilihat pada grafik di bawah ini.



Gambar 5.15 Spektrum FTIR untuk PLA Standar, Asam Laktat dan OLLA Hasil Polikondensasi dengan Variasi Suhu

Pada grafik di atas terlihat bahwa bilangan gelombang pada spektrum FTIR OLLA mempunyai kemiripan dengan L-asam laktat dan PLA standar. Secara umum tidak terdapat perbedaan pada semua spektrum infra merah OLLA yang dihasilkan. Pada spektrum infra merah OLLA,  $\text{-C=O}$  *carbonyl stretching* terlihat pada bilangan gelombang (*wavenumber*)  $1735\text{--}1749\text{ cm}^{-1}$ . Gugus  $\text{CH}_3$  dan  $\text{C-O-C}$  vibrasi secara berurutan ditemukan pada bilangan gelombang  $1451\text{--}1454$  dan  $1181\text{--}1185\text{ cm}^{-1}$ . Ikatan  $\text{-C=O}$  terlihat pada  $1124\text{--}1127\text{ cm}^{-1}$  dan  $\text{-OH}$  *bending* pada  $1084\text{--}1086\text{ cm}^{-1}$ .

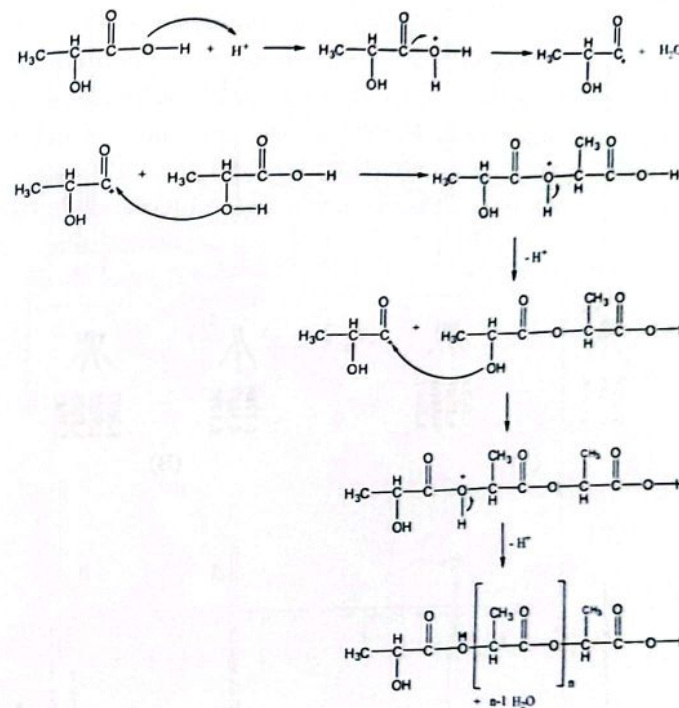
Pada spektrum infra merah L-asam laktat terdapat bilangan gelombang sebesar  $3403\text{ cm}^{-1}$  untuk gugus  $\text{-OH}$  *stretching*. Gugus  $\text{-OH}$  *stretching* menurun secara signifikan pada spektrum infra merah OLLA dan PLA. Penurunan spektrum gugus  $\text{-OH}$  terjadi karena pada polikondensasi asam laktat, gugus  $\text{-OH}$  akan bereaksi dengan gugus asam dalam pembentukan ikatan ester, seperti terlihat pada mekanisme reaksi polikondensasi (Gambar di bawah ini). Gugus asam ( $\text{H}^+$ ) merupakan hasil ionisasi asam laktat karena adanya panas. Pernyataan ini sesuai dengan yang dilaporkan oleh Choubisa et al., (2013); Nikolic et al., (2010); Jahno et al., (2006) dan Auras et al., (2004).

Berkurangnya gugus  $\text{-OH}$  pada reaksi polikondensasi diikuti dengan bergeser dan semakin tajamnya puncak absorbansi  $\text{C=O}$  *stretching*. Pada spektrum asam laktat, gugus  $\text{C=O}$  *stretching* berada pada bilangan gelombang  $1718\text{ cm}^{-1}$  sedangkan pada OLLA gugus  $\text{C=O}$  *stretching* berada pada bilangan gelombang  $1735\text{--}1749\text{ cm}^{-1}$ . Perubahan ini disebabkan karena adanya efek induksi pada struktur kimia oligomer, dimana unsur elektronegatif dari atom oksigen (O) cenderung untuk menarik elektron dari gugus  $\text{C=O}$  sehingga gugus  $\text{C=O}$  menjadi lebih kuat (Pavia et al., 2008). Berdasarkan spektrum infra merah yang didapatkan maka tahap polikondensasi yang dilakukan telah menghasilkan oligomer asam laktat.

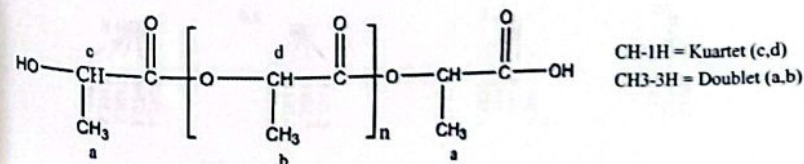
### Karakterisasi Struktur Molekul Oligomer (OLLA)

Struktur molekul OLLA yang terbentuk diketahui dengan analisis *hydrogen nuclear magnetic resonance* ( $^1\text{HNMR}$ ). Spektrum  $^1\text{HNMR}$  dari OLLA terdiri dari dua pola pemisahan yaitu doublet dan kuartet. Doublet adalah sebuah proton yang memiliki satu proton tetangga yang tak-ekivalen dengannya, sehingga akan memberikan suatu isyarat yang terbelah menjadi satu *peak* rangkap. Kuartet merupakan suatu proton yang mempunyai 3 proton tetangga.

Struktur dan pola pemisahan proton H dari asam laktat terlihat pada gambar di bawah ini.



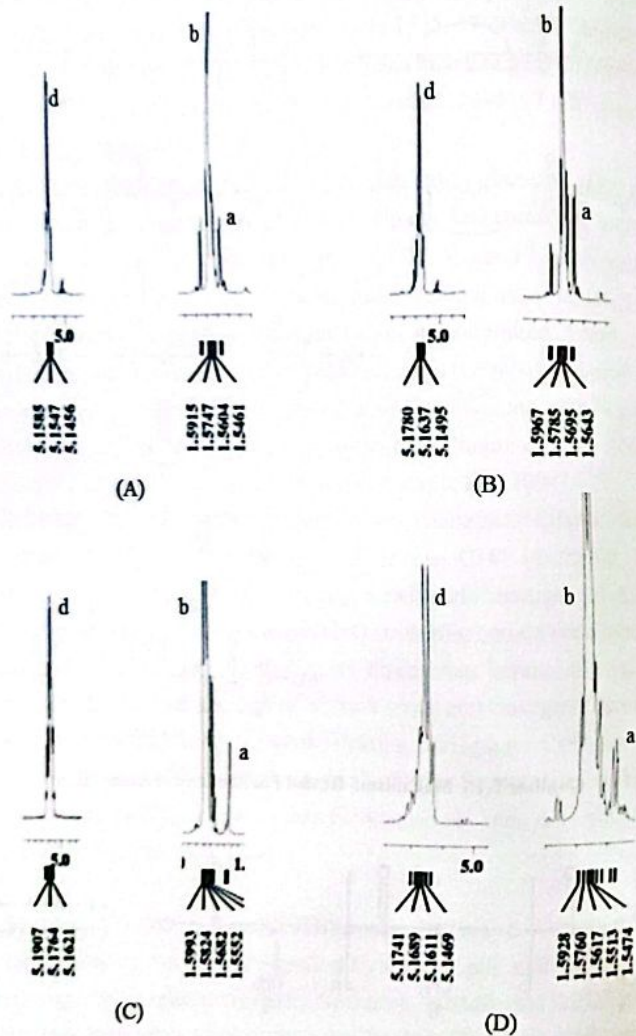
Gambar 5.16 Mekanisme Reaksi Polikondensasi Asam laktat



Gambar 5.17 Pola Pemisahan H-doublet dan H-kuartet OLLA

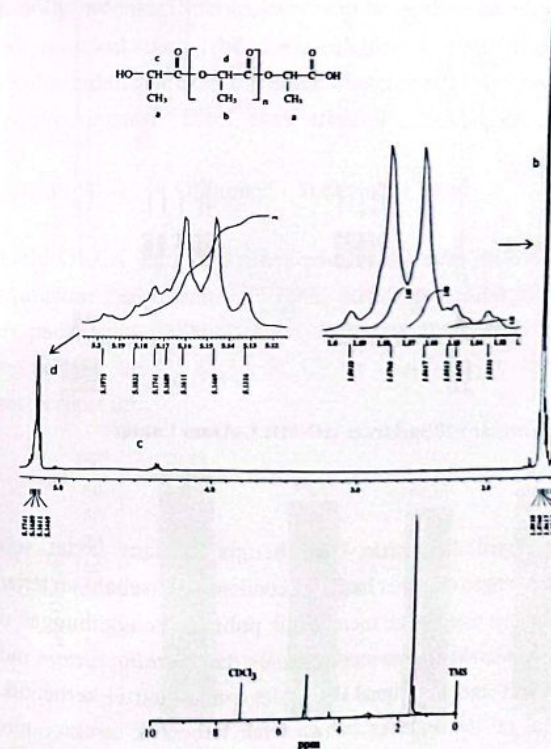


Pada penelitian Rahmayetty et al. (2018), spektrum <sup>1</sup>HNMR OLLA berdasarkan perbedaan suhu tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan, seperti terlihat pada gambar di bawah ini.



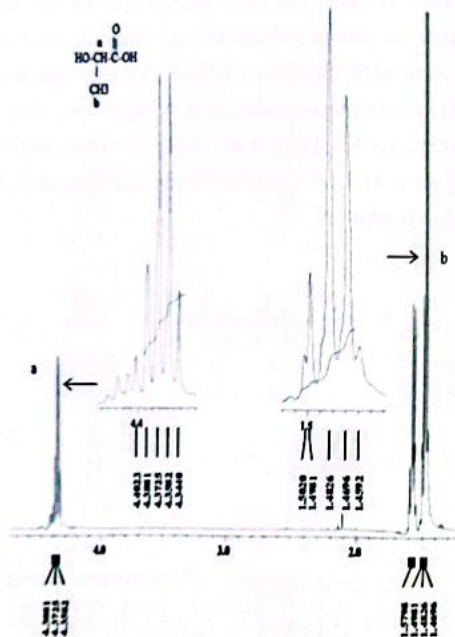
Gambar 5.18 Struktur H-doblet dan H-kuartet OLLA pada T polikondensasi Asam Laktat (A) 150°C; (B) 180°C; (C) 200°C; (D) Bertahap 150-180°C

H-doublet untuk *methyl group* (CH<sub>3</sub> proton) didapat pada signal 1,59-1,54 ppm dan H-kuartet untuk ikatan utama PLA (*methine proton*) pada signal 5,14-5,18 ppm. Signal yang sangat lemah pada *peak* 4,35 dan 1,48-1,47 ppm berupa *methine* proton dan *methyl* proton berikutnya pada kelompok hidroksil dan karboksil. Berdasarkan hasil analisis spektrum <sup>1</sup>HNMR produk OLLA, maka dipastikan proses polikondensasi yang dilakukan telah menghasilkan oligomer asam laktat. Spektrum <sup>1</sup>HNMR oligomer pada penelitian Rahmayetty et al. (2018) mempunyai nilai yang hampir sama dengan hasil penelitian Choubisa et al. (2013); Ding et al. (2011); Yoo dan Kim (2009); Tsukegi et al., (2007). Spektrum OLLA yang dilaporkan oleh Ding et al., (2011) dapat dilihat pada gambar berikut ini.



Gambar 5.19 Spektrum <sup>1</sup>HNMR OLLA Keseluruhan. Spektrum OLLA (Ding et al., 2011)

Perbedaan spektrum <sup>1</sup>HNMR oligomer (OLLA) dan bahan baku berupa L-asam laktat terletak pada H-doublet dan H-kuartet. H-doublet L-asam laktat berada pada signal 1,49-1,48 ppm dan H-kuartet pada 4,38-4,36 ppm, seperti terlihat pada gambar di bawah ini.



Gambar 5.20 Spektrum <sup>1</sup>HNMR L-Asam Laktat

Pergeseran signal dari bahan baku berupa L-asam laktat sebelum dipolikondensasi dengan oligomer hasil polikondensasi disebabkan terjadinya penggabungan ikatan asam laktat membentuk polimer. Penggabungan ikatan ini menyebabkan interaksi antara *methyl proton* dan *methine proton* menjadi lebih besar. Selain pergeseran signal H-doublet dan H-kuartet, terbentuk juga signal baru. Hal ini menandakan bahwa telah terbentuk struktur molekul oligomer setelah berlangsungnya proses polikondensasi. Perbedaan signal H-doublet dan H-kuartet tertera pada Tabel 5.10.

Tabel 5.10 Perbedaan Spektrum <sup>1</sup>HNMR Asam Laktat dan Oligomer (OLLA)

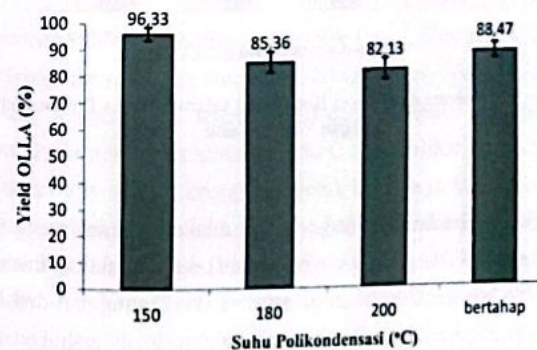
Senyawa	Struktur	H-doublet	H-kuartet
L-asam laktat	<chem>CC(O)C(=O)O</chem>	b = 1,49-1,48	a = 4,38-4,36
Oligomer (OLLA)	<chem>CC(O)C(=O)OCC(=O)C(C)OC(=O)C(C)OC(=O)C(C)O</chem>	b = 1,59-1,56 a = 1,48-1,47	d = 5,14-5,18 c = 4,35

**Yield Oligomer (OLLA)**

Tahap polikondensasi merupakan tahap penggabungan molekul asam laktat menjadi molekul yang lebih besar (oligomer) dengan adanya panas. Pada tahap polikondensasi akan terbentuk oligomer (OLLA), kondensat dan pada suhu polikondensasi >180°C akan terbentuk sedikit laktida.

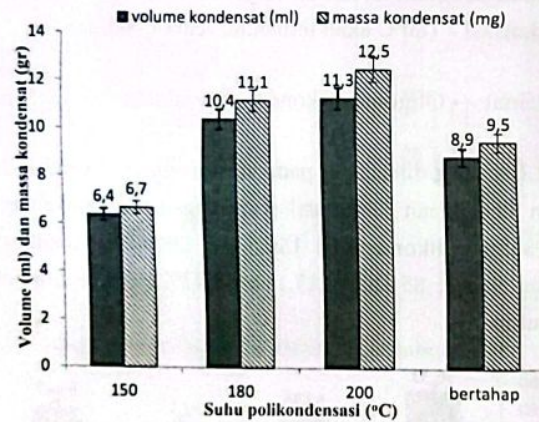


Yield OLLA yang dihasilkan pada variasi suhu polikondensasi dihitung menggunakan Persamaan 3.1. Hasil perhitungan menunjukkan bahwa yield OLLA pada suhu polikondensasi 150, 180, 200°C dan bertahap masing-masing sebesar 96,33; 85,36; 82,13 dan 88,47%, seperti ditunjukkan pada gambar berikut ini.



Gambar 5.21 Yield Oligomer pada Variasi Suhu Polikondensasi

Menurunnya yield OLLA seiring dengan meningkatnya suhu polikondensasi dikarenakan adanya asam laktat yang teruapkan bersama air dan komponen lainnya serta terjadinya interaksi intramolekuler selama proses kondensasi. Pada suhu tinggi asam laktat akan bereaksi dengan cepat untuk memperpanjang ikatan, tetapi suhu yang tinggi menyebabkan asam laktat yang tidak bereaksi menguap. Pada tekanan 1 atm titik didih asam laktat pada suhu 217°C (Upare et al., 2012). Pada penelitian Rahmayetty et al. (2018) polikondensasi berlangsung pada suhu 150; 180; 200°C dan 150–180°C dan tekanan 1 atm sehingga dimungkinkan adanya asam laktat yang ikut menguap bersama air menjadi kondensat. Perbedaan suhu polikondensasi menghasilkan volume kondensat yang berbeda-beda pula, seperti ditunjukkan pada Gambar 5–22. Semakin tinggi suhu polikondensasi, jumlah kondensat yang dihasilkan semakin banyak.

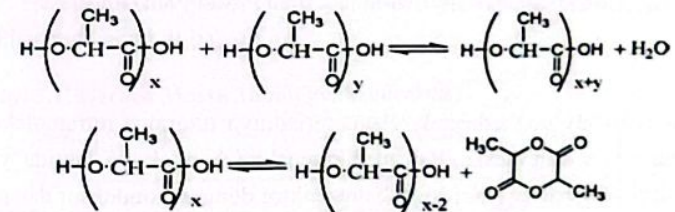


Gambar 5.22 Volume dan Massa Kondensat selama Proses Polikondensasi dengan Variasi Suhu

Pengukuran berat dari volume kondensat dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya asam laktat yang ikut teruapkan. Hasil pengukuran menunjukkan bahwa densitas kondensat melebihi densitas air dan kurang dari densitas asam laktat (1,224 gr/ml pada 20°C). Dari hasil pengukuran ini diketahui adanya asam laktat dalam jumlah kecil yang teruapkan selama tahap pembentukan oligomer.

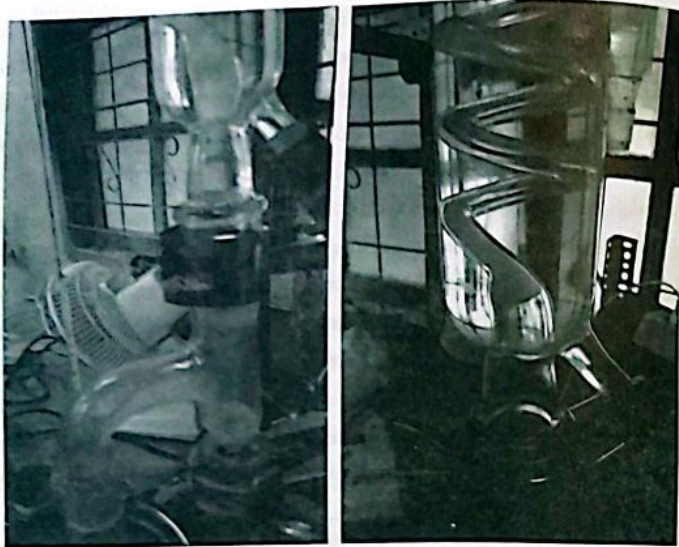
Pada penelitian Rahmayetty et al., (2018), kondensat yang merupakan campuran air dan asam laktat, tidak dilakukan proses pemisahan dan pengolahan, namun langsung dibuang ke lingkungan. Asam laktat merupakan senyawa yang mudah terurai dan tidak beracun serta jumlahnya sangat kecil dalam cairan kondensat, sehingga tidak membahayakan lingkungan.

Interaksi intramolekuler terjadi selama polikondensasi suhu tinggi. Molekul asam laktat yang memiliki gugus fungsi hidroksil (-OH) dan asam karboksilat (-COOH), mengalami reaksi esterifikasi akibat interaksi inter- dan intramolekuler. Interaksi intermolekuler molekul asam laktat pada tahap polikondensasi menyebabkan terbentuknya dimer, trimer dan oligomer serta menghasilkan molekul air (H<sub>2</sub>O). Pada interaksi intramolekuler akan terjadi perubahan bentuk dimer asam laktat menjadi laktida. Interaksi intramolekul disebabkan oleh degradasi termal dari oligomer asam laktat menjadi molekul rantai pendek atau laktida (Feerzet et al., 2009).



Gambar 5.23 Dua Reaksi yang Terlibat dalam Polikondensasi (Maharana et al., 2009)

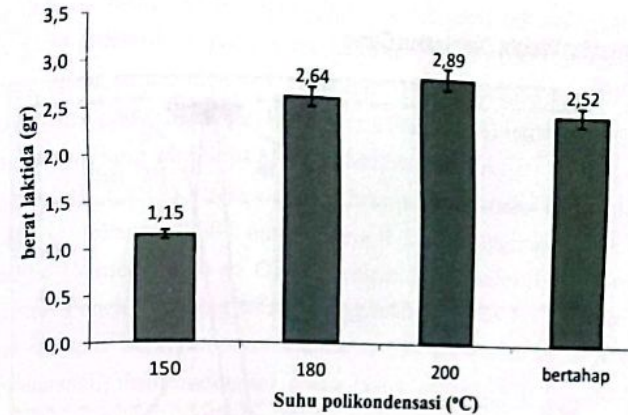
Interaksi intramolekuler pada penelitian Rahmayetty et al. (2018) terlihat dengan terbentuknya serbuk putih (laktida) yang menempel pada dinding pipa penghubung reaktor (labu leher empat) dan kondensator serta pada dinding kondensator. Pada suhu polikondensasi 150°C tidak terlihat adanya serbuk putih laktida, tetapi ada sedikit kristal berbentuk kaca yang menempel pada pipa penghubung antara labu leher empat dengan kondensator. Pada suhu bertahap, 180°C dan 200°C terbentuk laktida dalam jumlah sedikit yang menempel pada kondensator selama berlangsungnya proses polikondensasi. Terbentuknya laktida sebagai produk samping polikondensasi ini menyebabkan berkurangnya yield OLLA.



Gambar 5.24 Laktida yang Terbentuk selama Proses Polikondensasi

Berat laktida yang terbentuk selama terjadinya interaksi intramolekular molekul sangat sulit diukur. Hal ini dikarenakan banyaknya laktida yang menempel pada dinding pipa penghubung reaktor dengan kondensator dan pada ulir kondensator. Berat laktida diperkirakan dengan menghitung selisih antara berat reaktan awal dengan OLLA dan kondensat yang terbentuk.

Berdasarkan hasil perhitungan didapatkan bahwa semakin tinggi suhu polikondensasi, interaksi intramolekular molekul sebagai reaksi samping semakin meningkat. Interaksi intramolekular molekul atau reaksi *back biting* biasanya terjadi pada suhu di atas 180°C (Yang dan Liu, 2008). Hasil yang serupa juga dilaporkan oleh Feerzet et al. (2009) bahwa semakin tinggi suhu polikondensasi maka yield produk polimer semakin kecil, kondensat dan yield laktida yang dihasilkan semakin banyak.



Gambar 5.25 Laktida yang Dihasilkan selama Tahap Polikondensasi dengan Variasi Temperatur

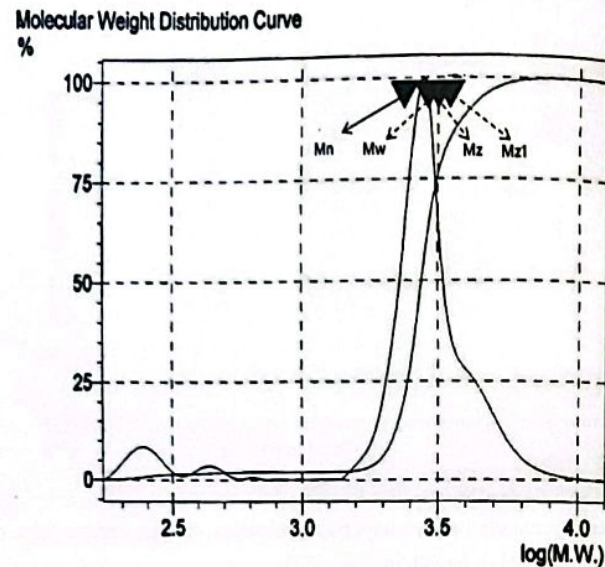
Neraca massa pada tahap polikondensasi dengan variasi suhu dapat dilihat pada tabel di bawah ini.

Tabel 5.11 Neraca Massa Tahap Polikondensasi

Komponen	Input		Output (150°C)		Output (180°C)		Output (200°C)		Output (bertahap)	
	gr	mol	gr	mol	gr	mol	gr	mol	gr	mol
Asam laktat	53,10	0,59	0,80	0,01	5,20	0,06	6,60	0,07	3,60	0,04
H <sub>2</sub> O	5,90	0,33	5,90	0,33	5,90	0,33	5,90	0,33	5,90	0,33
OLLA	-	-	51,15	0,14	45,33	0,05	43,62	0,03	46,98	0,02
laktida	-	-	1,15	0,01	2,64	0,02	2,88	0,02	2,52	0,02
Total	59,00	0,92	59,00	0,49	59,07	0,46	59,00	0,45	59,00	0,41

### Analisis Berat Molekul Oligomer

Berat molekul OLLA yang dihasilkan pada variasi suhu polikondensasi dianalisis menggunakan *gel permeation chromatography* (GPC). Distribusi berat molekul oligomer (OLLA) dari analisis GPC ditunjukkan pada Gambar 5.26. Dari analisis berat molekul menggunakan GPC, didapatkan berat molekul rata-rata berat ( $M_w$ ) dan berat molekul rata-rata jumlah ( $M_n$ ) dari oligomer, seperti terlihat pada Tabel 5.12.



Gambar 5.26 Distribusi Berat Molekul OLLA Produk Polikondensasi Bertahap  
(Sumber: Rahmayetty et al., 2017)

Tabel 5.12 Berat Molekul OLLA dengan Variasi Suhu Polikondensasi

T polikondensasi	Mw	Mn	PDI
150	1080	380	2,84
180	1736	893	1,94
200	2487	1375	1,80
bertahap	2820	2389	1,18

Dari tabel diatas terlihat bahwa berat molekul OLLA sangat dipengaruhi oleh suhu polikondensasi. Semakin tinggi suhu polikondensasi, berat molekul rata-rata (Mw dan Mn) OLLA yang dihasilkan semakin meningkat. Hal ini menandakan bahwa peningkatan suhu akan mempercepat laju reaksi perpanjangan ikatan rantai polimer. Polikondensasi bertahap menghasilkan berat molekul OLLA yang lebih tinggi dibandingkan dengan polikondensasi 150, 180 dan 200°C. Distribusi berat molekul OLLA yang dihasilkan pada

polikondensasi bertahap bersifat lebih monodispersi dibandingkan dengan OLLA yang dihasilkan pada suhu lainnya. Hal ini ditandai dengan nilai PDI yang semakin mendekati 1 yaitu 1,18. Tingkat polidispersi OLLA hasil polikondensasi pada penelitian Rahmayetty et al. (2018) semakin turun dengan meningkatnya berat molekul (Mw dan Mn) dari OLLA.

Ren et al., (2013), melaporkan bahwa polikondensasi asam laktat pada suhu 105°C, tekanan 0,003 atm, selama 4 jam menggunakan katalis resin Amberlyst-15 menghasilkan OLLA dengan berat molekul (Mw) mencapai 800 g/mol. Penelitian yang sama menggunakan katalis SnCl<sub>2</sub> menghasilkan polimer dengan berat molekul mencapai 650 g/mol setelah 6 jam proses polikondensasi. Polikondensasi asam laktat selama 7 jam menggunakan katalis asam p-toluen sulfonik (TSA) dan tanpa katalis menghasilkan berat molekul (Mw) OLLA berturut-turut 500 g/mol dan 230 g/mol. Upare et al., (2012) melaporkan bahwa polikondensasi asam laktat tanpa katalis pada suhu 180°C tekanan 1 atm selama 6 jam dan dilanjutkan dengan tekanan 0,013 atm selama 5 jam menghasilkan OLLA dengan berat molekul (Mw) 1394 (Upare et al., 2012). Polikondensasi asam laktat tanpa katalis pada temperatur 155°C tekanan 0,04 atm selama 5 jam menghasilkan OLLA dengan berat molekul (Mw) 880 dan Mn 629 (Huang et al., 2014).

Perbandingan berat molekul oligomer yang diperoleh dari penelitian Rahmayetty et al., (2018) dengan penelitian yang dilakukan oleh peneliti lainnya terlihat pada Tabel 5.13. Berdasarkan hasil penelitian tersebut maupun yang penulis lakukan, suhu sangat memengaruhi berat molekul OLLA yang terbentuk. Penelitian Rahmayetty et al., (2018) menghasilkan berat molekul OLLA yang jauh lebih tinggi dibandingkan dengan hasil yang dilaporkan oleh peneliti lainnya.

Tabel 5.13 Berat Molekul dan Index Polidispersi (PDI) OLLA dari Beberapa Peneliti

T (°C)	P (atm)	T (jam)	katalis	Mw	Mn	PDI	Yield (%)	Referensi
150	1	4	t.k	1080	380	2,84	96	Rahmayetty et al., 2018
180	1	4	t.k	1736	893	1,94	85	Rahmayetty et al., 2018
200	1	4	t.k	2487	1375	1,80	81	Rahmayetty et al., 2018
150-180	1	4	t.k	2820	2389	1,18	88	Rahmayetty et al., 2018
155	0,040	5	t.k	880	629	1,4	-	Huang et al., 2014)
105	0,003	4	Amberlyst-15	800	-	-	-	Ren et al., 2013
		4	SnCl <sub>2</sub>	650	-	-	-	
		7	TSA	500	-	-	-	
		7	t.k	230	-	-	-	
180	1	6	t.k	1394				Upare et al., 2012
	0,013	5						
120	0,0013	20	Maghnite-H*	3300	1890	1,7	94	Harrane et al., 2012
170	1	3 jam	Zinc powder	-	1480	-	98	Yang dan Liu, 2008
80 W	1	3 jam	SnCl <sub>2</sub>	2436	1160	2,1	96,5	Yang dan Liu, 2008
180	1	24	t.k	2350	-	-	-	Harshe et al., 2007

t.k = tanpa katalis

### Analisis Suhu Leleh (T<sub>m</sub>) Oligomer (OLLA)

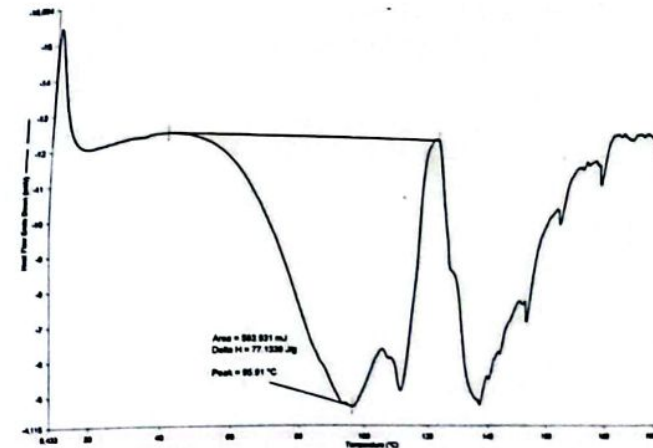
Oligomer (OLLA) yang dihasilkan pada suhu bertahap dilakukan uji titik leleh menggunakan *diferensial scanning calorimetry* (DSC). Analisis termal diferensial adalah teknik dimana suhu dari sampel dibandingkan dengan material referen *inert* selama perubahan suhu terprogram. Suhu sampel dan referen akan sama apabila tidak terjadi perubahan wujud, namun pada saat terjadinya beberapa peristiwa termal, seperti pelelehan, dekomposisi atau perubahan struktur kristal pada sampel, suhu dari sampel dapat berada di bawah suhu referen (apabila perubahannya bersifat endotermik) ataupun di atas suhu referen (apabila perubahan bersifat eksotermik). Suhu leleh OLLA ditunjukkan pada Gambar 5.27.

Berdasarkan hasil analisis DSC didapatkan titik leleh OLLA pada 96°C. Hasil yang hampir sama dilaporkan oleh Du et al.(2008) yaitu sebesar 97,8°C.

### Depolimerisasi Oligomer Asam Laktat (OLLA)

Depolimerisasi merupakan reaksi intramolekular transesterifikasi dari OLLA menjadi laktida yang disebut dengan reaksi *back biting*. Pada tahap depolimerisasi akan dihasilkan laktida sebagai produk utama dan sisa OLLA yang tidak bereaksi (residu). Residu mengandung logam yang digunakan

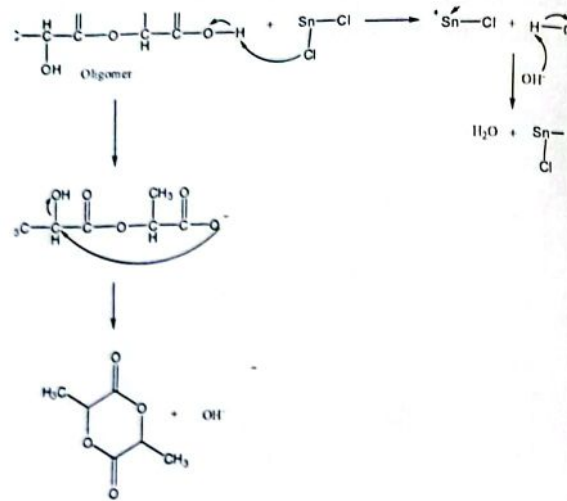
sebagai katalis. Reaksi *back biting* biasanya terjadi pada suhu di atas 180°C (Wang dan Zhao, 1996; Yang dan Liu, 2008).



Gambar 5.27 Titik leleh (T<sub>m</sub>) OLLA Hasil Polikondensasi Bertahap (Sumber: Rahmayetty et al., 2018)

Langkah pertama dari reaksi ini adalah kompleksasi oksigen karbonil dari OLLA dengan katalis logam dan dilanjutkan dengan siklisasi cincin diikuti dengan pemecahan ikatan asil-oksigen dari OLLA. Laktida merupakan produk destilat yang mengkristal karena adanya tekanan vakum. Yield dan optikal kimia dari laktida tergantung pada aktivitas koordinat dari katalis (Masaki dan Okuyama, 1999). Mekanisme reaksi depolimerisasi dengan menggunakan katalis SnCl<sub>2</sub> terlihat pada Gambar 5.28.

Kualitas dan kuantitas laktida sangat dipengaruhi oleh jenis dan konsentrasi katalis, suhu, dan tekanan. Pada penelitian Rahmayetty et al., (2018) tahap depolimerisasi laktida dilakukan menggunakan bahan baku berupa oligomer (OLLA) hasil polikondensasi bertahap (150°C selama 2 jam dan 180°C selama 2 jam). Jenis katalis yang digunakan pada tahap depolimerisasi adalah ZnCl<sub>2</sub>, Zn-asetat dan SnCl<sub>2</sub> dengan variasi konsentrasi katalis 0,05; 0,1; 0,2 % (b/b). Variasi suhu depolimerisasi adalah 190, 200, 210 dan 220°C dengan tekanan tetap 0,1 atm.



Gambar 5.28 Mekanisme Reaksi Depolimerisasi Menggunakan Katalis  $\text{SnCl}_2$

### Bentuk Visual Laktida

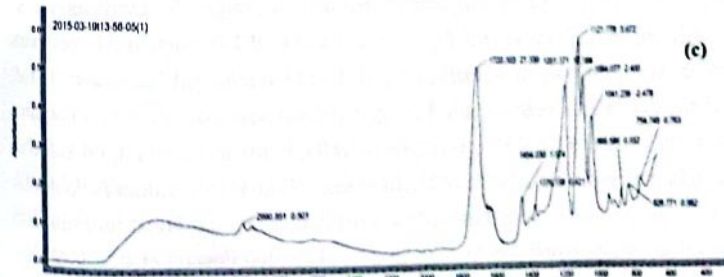
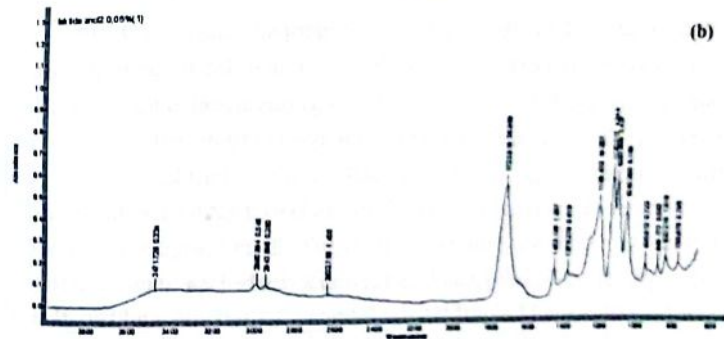
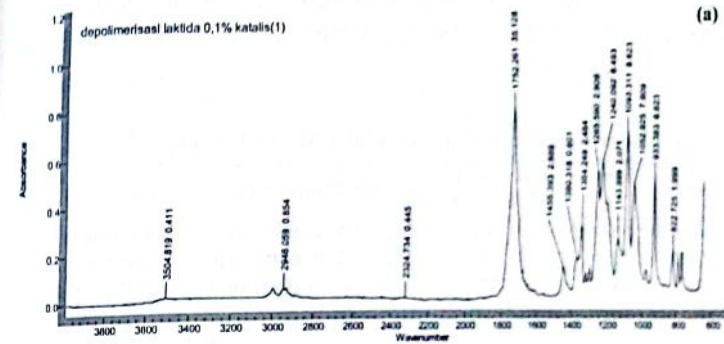
Laktida yang dihasilkan menggunakan katalis Zn-asetat,  $\text{ZnCl}_2$  dan  $\text{SnCl}_2$  memiliki warna dan bentuk yang sama yaitu berwarna putih sedikit kekuningan, berbentuk serbuk, lembab, higroskopis, dan mempunyai rentang pH 6-7. Laktida yang dihasilkan mempunyai bentuk visual seperti ditunjukkan gambar dibawah ini.



Gambar 5.29 Penampakan Padatan Laktida  
(Sumber: Rahmayetty et al., 2018)

### Pengaruh Katalis Zn-asetat, $\text{ZnCl}_2$ dan $\text{SnCl}_2$ terhadap Hasil Karakterisasi Gugus Fungsi dan Yield Crude Laktida

Pengaruh katalis  $\text{ZnCl}_2$ , Zn-asetat dan  $\text{SnCl}_2$  terhadap karakterisasi gugus fungsi laktida dijelaskan dalam subbab di bawah ini.



Gambar 5.30 Gugus Fungsi Laktida yang Dihasilkan oleh Variasi Katalis (a) Zn-Asetat; (b)  $\text{ZnCl}_2$  dan (c)  $\text{SnCl}_2$ .

### Karakterisasi Gugus Fungsi Laktida

Gugus fungsi laktida yang dihasilkan dianalisis menggunakan *fourier transformation infrared* (FTIR). Hasil karakterisasi gugus fungsi dari laktida yang dihasilkan menggunakan katalis Zn-asetat,  $ZnCl_2$  dan  $SnCl_2$  dapat dilihat pada Gambar 5.30.

Bilangan gelombang yang menyatakan gugus fungsi pada spektrum infra merah dari laktida yang dihasilkan oleh katalis Zn-asetat,  $ZnCl_2$  dan  $SnCl_2$  terlihat pada Tabel 5.14.

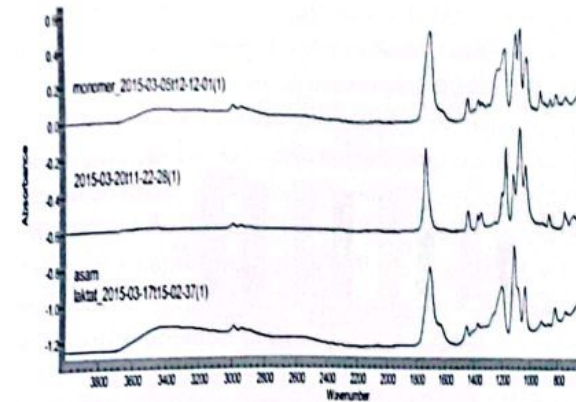
Tabel 5.14 Gugus Fungsi dalam Spektrum Infra Merah Laktida

Katalis	Ikatan -OH	Struktur ester siklik -C=O	substituen -C-O	substituen -C-H
Zn-asetat	3504	1752	1265; 1240; 1093; 1052	1455; 1380; 1354
$ZnCl_2$	3439	1723	1198; 1120; 1093; 1040	1452; 1376
$SnCl_2$	3439	1720	1201; 1121; 1094; 1041	1454; 1376

(Sumber: Rahmayetty et al., 2018)

Berdasarkan ikatan laktida yang dihasilkan pada spektrum FTIR, maka dapat dibuktikan bahwa katalis Zn-asetat,  $ZnCl_2$  dan  $SnCl_2$  dapat digunakan pada reaksi intramolekular transesterifikasi oligomer membentuk laktida. Hal senada juga dilaporkan oleh Masaki dan Okuyama (1999) bahwa Logam Zn dan Sn diketahui sebagai katalis intramolekular transesterifikasi.

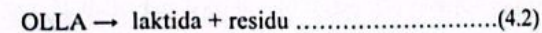
Perbandingan spektrum FTIR untuk asam laktat OLLA hasil polikondensasi bertahap dan laktida yang dihasilkan pada suhu 210°C dengan katalis  $SnCl_2$  0,1% (b/b) dapat dilihat pada Gambar 5.33. Perbedaan puncak bilangan gelombang dari asam laktat, OLLA dan laktida tidak terlalu signifikan. Hal ini menandakan bahwa ketiga senyawa ini mempunyai gugus fungsi yang sama. Perbedaan hanya pada gugus -OH, dimana pada OLLA gugus-OH menurun secara signifikan. Dari hasil analisis FTIR, C=O *stretching* dalam asam laktat, OLLA dan laktida terlihat pada bilangan gelombang (*wave number*) secara berurutan adalah 1718, 1747 dan 1720  $cm^{-1}$ .  $CH_3$  untuk asam laktat, OLLA dan laktida ditemukan pada 1456, 1452, 1454  $cm^{-1}$ . C-O-C ditemukan pada 1207, 1180 dan 1201  $cm^{-1}$  untuk asam laktat, OLLA dan laktida. Hasil ini memiliki kesamaan dengan hasil penelitian yang dilaporkan oleh Feerzet et al. (2009).



Gambar 5.31 Spektrum FTIR asam laktat, OLLA dan laktida (Sumber: Rahmayetty et al., 2018)

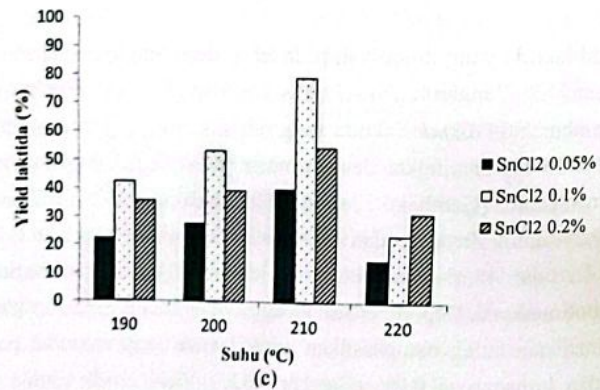
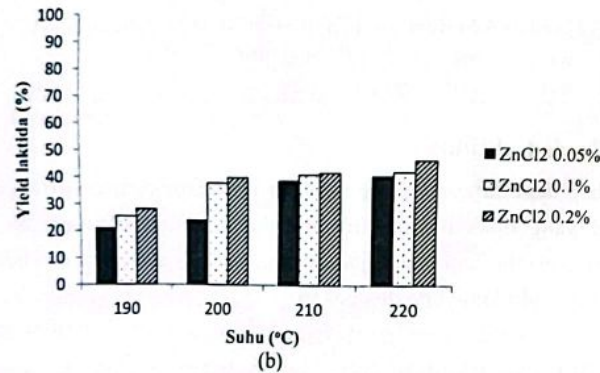
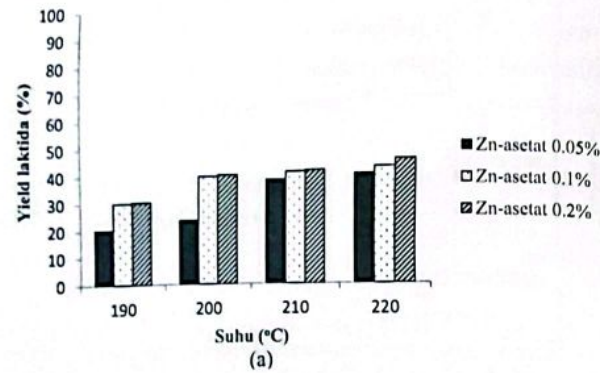
### Yield Crude Laktida

Pada tahap depolimerisasi, oligomer akan berubah menjadi laktida dan sisa oligomer yang tidak bereaksi (residu). Laktida merupakan produk destilat sedangkan residu akan tetap didalam reaktor polikondensasi dan bercampur dengan katalis logam yang digunakan.



Yield laktida yang dihasilkan pada tahap depolimerisasi dihitung dengan Persamaan 4.2. Pengaruh jenis katalis terhadap yield *crude* laktida tertera pada Gambar 5.34 *Crude* laktida yang dihasilkan menggunakan katalis Zn-asetat dan  $ZnCl_2$  meningkat dengan meningkatnya suhu depolimerisasi dan konsentrasi katalis (Gambar 5.32a dan 5.32b). Pada suhu 220°C dan konsentrasi katalis 0,2% untuk Zn-asetat dan  $ZnCl_2$  didapatkan yield *crude* laktida tertinggi sebesar 46,8 dan 45,3%. Yield *crude* laktida meningkat dengan meningkatnya suhu depolimerisasi. Depolimerisasi menggunakan katalis  $SnCl_2$  dengan variasi konsentrasi dan suhu, menghasilkan *crude* laktida yang menurun pada suhu 220°C dan konsentrasi 0,2% (Gambar 5.32c). Yield *crude* laktida tertinggi dengan menggunakan katalis  $SnCl_2$  adalah pada suhu 210°C sebesar 78,8%.





Gambar 5.32 Yield *crude* Laktida dengan Katalis (a) Zn-asetat;(b) ZnCl<sub>2</sub>;(c) SnCl<sub>2</sub> (Sumber: Rahmayetty et al., 2018)

Dari Gambar 5.34 diketahui bahwa SnCl<sub>2</sub> pada konsentrasi 0,1%(b/b) lebih reaktif pada reaksi intramolekular transesterifikasi dibandingkan dengan ZnCl<sub>2</sub> dan Zn-asetat. Hal ini senada dengan yang dilaporkan oleh Masaki dan Okuyama (1999), bahwa aktivitas dan kereaktifan timah (Sn) pada reaksi intramolekular transesterifikasi lebih tinggi dibanding zink (Zn).

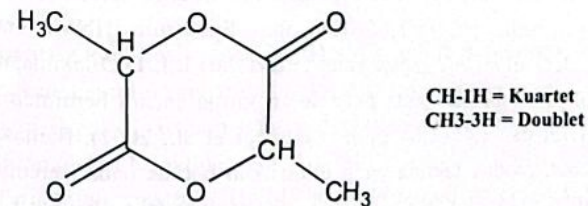
Berdasarkan yield *crude* laktida tertinggi yang didapatkan pada variasi jenis katalis maka katalis yang terbaik dalam tahap depolimerisasi adalah SnCl<sub>2</sub>. Tahapan penelitian selanjutnya dilakukan karakterisasi laktida yang dihasilkan menggunakan katalis SnCl<sub>2</sub> dengan variasi berat molekul OLLA, variasi suhu, dan konsentrasi SnCl<sub>2</sub>.

### Depolimerisasi Oligomer (OLLA) dengan Katalis SnCl<sub>2</sub>

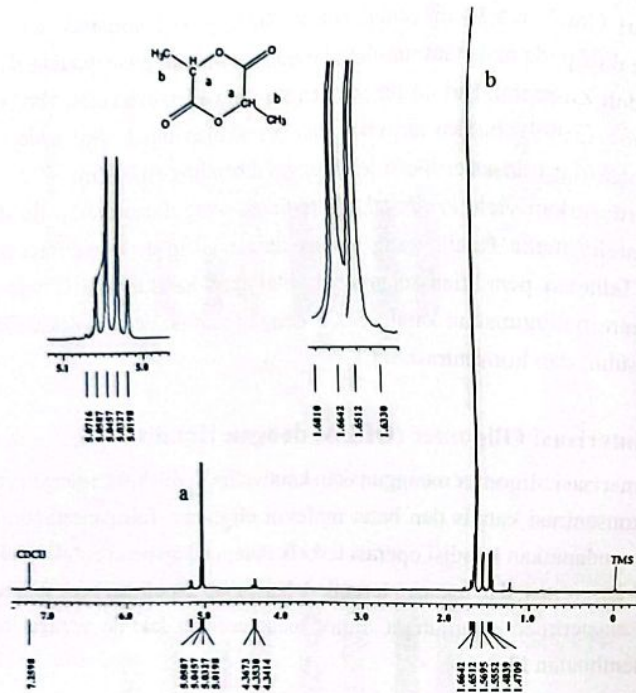
Depolimerisasi oligomer menggunakan katalis SnCl<sub>2</sub> dilakukan dengan variasi suhu, konsentrasi katalis dan berat molekul oligomer. Tahapan ini bertujuan untuk mendapatkan kondisi operasi terbaik dalam tahap pembentukan laktida. Suhu, konsentrasi, dan tekanan terbaik dalam tahap depolimerisasi, digunakan dalam eksperimen selanjutnya untuk menghasilkan laktida sebagai bahan baku pembuatan PLA.

### Pengaruh Suhu pada Struktur Molekul Laktida

Spektrum <sup>1</sup>HNMR dari laktida terdiri dari dua pola pemisahan yaitu doublet dan kuartet. Struktur dan pola pemisahan proton H dari laktida terlihat pada Gambar 5.35.



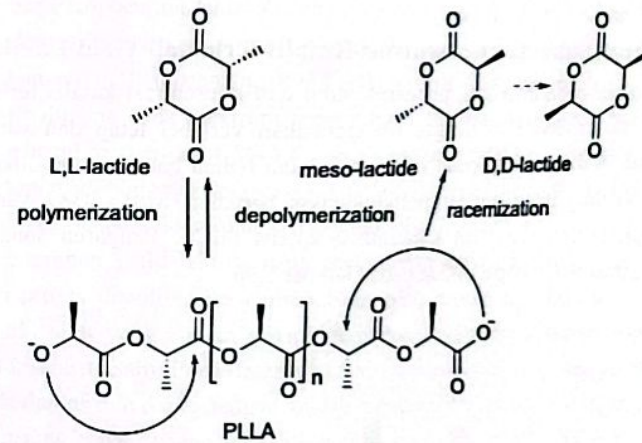
Gambar 5.33. Struktur Molekul Laktida



Gambar 5.34 Spektrum <sup>1</sup>HNMR Laktida Keseluruhan  
(Sumber: Rahmayetty et al., 2018)

Pada Gambar 5.34 terlihat bahwa spektrum laktida terdiri dari 2 *peak* dimana *peak* tertinggi merupakan H-doublet dan *peak* yang bergeser ke kiri merupakan H-kuartet. Spektrum kuartet terdiri dari 4 *peak* yang berada pada pergeseran proton 5,07–5,02 ppm dan spektrum H-doublet terdiri dari 2 *peak* berada pada pergeseran proton 1,65–1,68 ppm. Spektrum <sup>1</sup>HNMR untuk 3 spektrum doublet dari *methyl group* yang terdiri dari L,L/D,D-laktida, meso-laktida dan oligomer berada pada pergeseran kimia secara berurutan 1,65–1,68 ; 1,70–1,75; dan 1,45–1,64 ppm (Tsukegi et al., 2007). Berdasarkan literatur tersebut, produk laktida yang dihasilkan berada pada stereoisomer L,L/D,D-laktida. Spektrum <sup>1</sup>HNMR tidak bisa membedakan bentuk L- atau D-laktida karena kedua jenis isomer ini mempunyai spektrum yang sama. Suhu tidak berpengaruh pada struktur laktida yang dihasilkan. Struktur laktida yang dihasilkan untuk setiap suhu berkisar antara 1,67–1,65 ppm dan

impuritis antara 1,56–1,43 ppm berupa oligomer. Spektrum <sup>1</sup>HNMR laktida yang dihasilkan penelitian Rahmayetty et al., (2018) mempunyai kesamaan spektrum L-laktida yang dilaporkan oleh Silvino et al., (2013). Berdasarkan referensi tersebut dan bahan baku yang digunakan berupa L-asam laktat maka peneliti menyimpulkan bahwa laktida yang terbentuk mempunyai stereoisomer L-laktida. Hal ini diperkuat dengan pernyataan Motoyama et al., (2007) bahwa pembentukan L-laktida dan meso-laktida dapat terjadi secara langsung melalui degradasi termal PLA atau oligomer, tetapi pembentuk D-laktida akan melalui tahapan pembentukan meso-laktida terlebih dahulu seperti ditunjukkan Gambar 7.37.

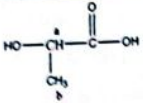
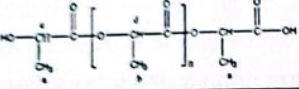
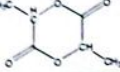


Gambar 5.35 Depolimerisasi PLA  
(Motoyama et al., 2007)

Berdasarkan hasil analisis <sup>1</sup>HNMR untuk setiap variasi suhu tidak ditemukan spektrum yang menunjukkan adanya struktur molekul meso-laktida, sehingga dapat dipastikan bahwa degradasi termal oligomer menghasilkan struktur molekul L-laktida.

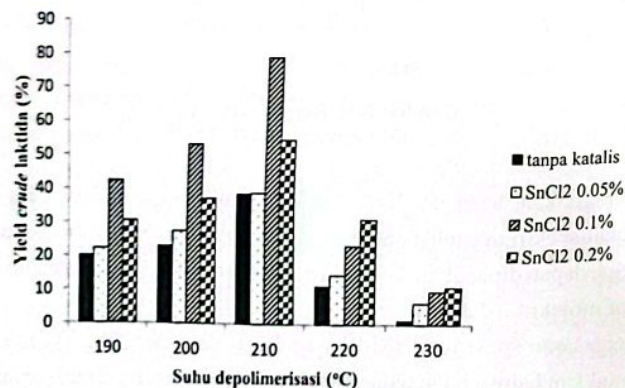
Pergeseran spektrum <sup>1</sup>HNMR asam laktat, oligomer (OLLA) dan laktida menunjukkan bahwa telah terjadi perubahan struktur molekul dari bahan baku melalui tahap polikondensasi dan depolimerisasi, seperti yang ditunjukkan pada Tabel 5.15.

Tabel 5.15 Perbedaan Spektrum <sup>1</sup>HNMR Asam Laktat, Oligomer (OLLA) dan Laktida

Senyawa	Struktur	H-doublet	H-kuartet
L-asam laktat		b = 1,49-1,48	a = 4,38-4,36
Oligomer (OLLA)		b = 1,59-1,56 a = 1,48-1,47	d = 5,14-5,18 c = 4,35
Laktida		b = 1,65-1,68	a = 5,07-5,02

### Pengaruh Suhu dan Konsentrasi Katalis terhadap Yield Laktida

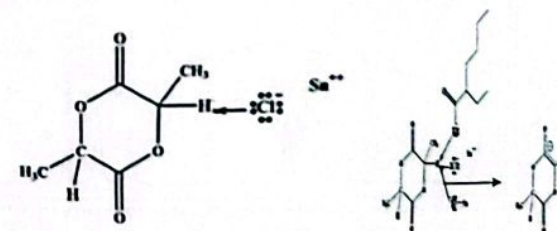
Pada tahap depolimerisasi, pengaruh suhu dan konsentrasi katalis terhadap yield laktida diketahui dengan menggunakan variabel tetap dan variabel berubah. Variabel tetap pada tahap ini adalah bahan baku berupa oligomer (OLLA) yang dihasilkan dari polikondensasi bertahap ( $M_n$ )  $\pm$  2389. Variabel berubah adalah suhu dan konsentrasi katalis SnCl<sub>2</sub>. Pengaruh suhu dan konsentrasi SnCl<sub>2</sub> dapat dilihat pada Gambar 5.36.



Gambar 5.36 Yield Laktida pada Variasi Suhu dan Konsentrasi Katalis (Sumber: Rahmayetty et al., 2018)

Dari Gambar 5.36 terlihat bahwa pada suhu depolimerisasi 190°C–210°C, semakin tinggi suhu reaksi maka yield laktida yang dihasilkan semakin meningkat. Pada suhu 220°C, yield laktida menurun secara signifikan. Penurunan yield laktida pada suhu 220 dan 230°C disebabkan karena laju esterifikasi untuk pembentukan *heavy residue* lebih cepat dibandingkan dengan laju depolimerisasi. Hal ini ditunjukkan juga oleh berat residu sisa reaksi yang lebih banyak. Peningkatan suhu menyebabkan oligomer berubah warna dari kuning ke coklat kemudian menjadi hitam. Perubahan warna pada oligomer disebabkan adanya reaksi samping berupa penguraian L-laktida dan reaksi L-laktida dengan katalis (Maharana et al., 2009). Fenomena yang sama juga dilaporkan oleh Ren et al., (2013). Proton dalam kelompok CH dari rantai utama oligomer PLA bersifat labil. Kedekatan proton labil ini pada kelompok ester memengaruhi sensitivitas termal polimer, sehingga ikatan molekul dapat pecah (Ramkumar dan Bhattacharya, 1998). Hal ini dapat dibuktikan dari hasil analisis <sup>1</sup>HNMR dimana pada spektrum yang dihasilkan didapatkan signal tambahan yang muncul pada signal 1,56–1,43 ppm yang menandakan adanya perubahan OLLA menjadi oligomer dengan berat molekul yang lebih rendah. Yield laktida tertinggi didapatkan pada suhu 210°C yaitu sebesar 78,8%.

Penurunan yield laktida pada penggunaan katalis berbasis timah (Sn) dalam proses depolimerisasi disebabkan oleh deprotonasi laktida. Laktida memiliki sifat yang sangat sensitif terhadap basa lemah, karena  $\alpha$ -proton bersifat sangat asam. Pada dasarnya katalis dengan *end group* seperti oktoat, klorida dan oksida dapat dengan mudah mendeponasi laktida. Deprotonasi berlangsung cepat dengan adanya kenaikan suhu (Yoo et al., 2006).

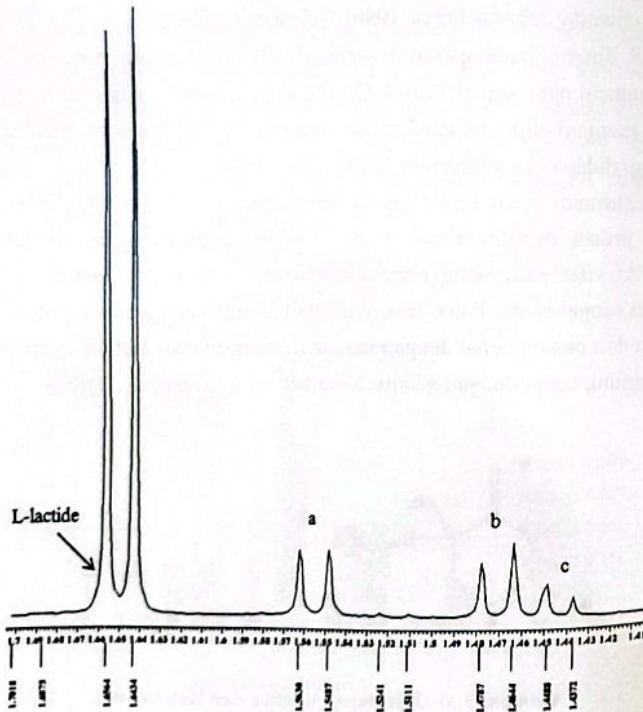


Gambar 5.37 Deprotonasi Laktida oleh Katalis SnCl<sub>2</sub>

Yield laktida tertinggi didapatkan dengan menambahkan katalis SnCl<sub>2</sub> 0,1% untuk setiap variasi suhu depolimerisasi. Katalis SnCl<sub>2</sub> menyebabkan percepatan depolimerisasi dari oligomer L-PLA pada konsentrasi ≤ 0,1% (w/w). Pada konsentrasi > 0,1 %, SnCl<sub>2</sub> merupakan katalis yang baik untuk reaksi esterifikasi tetapi bukan untuk intramolekular trans-esterifikasi sehingga laju polimerisasi lebih cepat dibandingkan dengan laju depolimerisasi yang mengakibatkan yield laktida menurun (Masaki dan Okuyama, 1999).

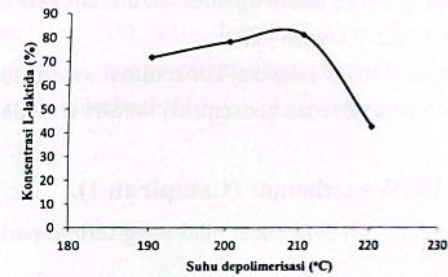
Suhu dan konsentrasi katalis juga memengaruhi kemurnian L- laktida yang dihasilkan. Kemurnian L-laktida dapat ditentukan menggunakan spektrum doublet <sup>1</sup>HNMR crude laktida (Yoo et al., 2005) seperti terlihat pada Gambar 5.40 dan dengan Persamaan 4.3.

$$\text{Konsentrasi L - Lactide (\%)} = \frac{\text{L-Laktida}}{\text{L-Laktida} + a + b + c} \times 100\% \dots\dots\dots(4.3)$$



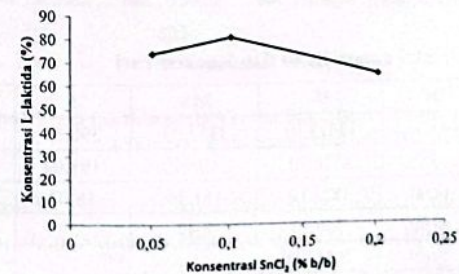
Gambar 5.38 Spektrum Doublet <sup>1</sup>HNMR laktida (Sumber: Rahmayetty et al., 2018)

Berdasarkan perhitungan menggunakan Persamaan 4.3 dapat diketahui pengaruh suhu dan konsentrasi katalis terhadap konsentrasi L-laktida. Pada suhu depolimerisasi 190, 200, 210 dan 220°C dengan menggunakan katalis SnCl<sub>2</sub> 0,1% didapatkan konsentrasi L-laktida dalam crude laktida secara berurutan 71,4; 78; 81,03 dan 41,7% seperti ditunjukkan pada Gambar 5.39 Konsentrasi L-laktida akan meningkat dengan meningkatnya suhu depolimerisasi. Penurunan konsentrasi L-laktida disebabkan karena adanya oligomer dan asam laktat yang tidak bereaksi yang teruapkan selama proses depolimerisasi. Ini ditandai dengan terlihatnya signal pada 1,46–1,6 ppm pada spektrum <sup>1</sup>HNMR.



Gambar 5.39 Konsentrasi L-laktida dalam Crude Laktida pada Variasi Suhu Depolimerisasi (Sumber: Rahmayetty et al., 2017)

Pada suhu depolimerisasi 210°C penggunaan katalis dengan konsentrasi berbeda-beda akan memengaruhi konsentrasi L-laktida dari crude laktida yang dihasilkan, seperti terlihat pada Gambar 5.40.



Gambar 5.40 Konsentrasi L-Laktida dalam Crude Laktida pada Variasi Konsentrasi SnCl<sub>2</sub> (Sumber: Rahmayetty et al., 2017)

Gambar 5.42 menunjukkan bahwa konsentrasi L-laktida yang didapatkan pada tahap depolimerisasi menggunakan konsentrasi SnCl<sub>2</sub> sebesar 0,5; 0,1 dan 0,2% masing-masing sebesar 64,2; 73,68 dan 81,03%. Konsentrasi L-laktida tertinggi dihasilkan dengan penggunaan katalis SnCl<sub>2</sub> 0,1%. Penambahan katalis akan mengurangi konsentrasi L-laktida karena adanya oligomer dan asam laktat yang tidak bereaksi yang ikut menguap sebagai impurities yang tercampur di dalam crude laktida.

Berdasarkan data-data yang telah dikumpulkan dari hasil penelitian, maka dilakukan uji statistik untuk mengetahui seberapa signifikannya interaksi/pengaruh suhu dan konsentrasi katalis terhadap pembentukan yield laktida. Metode yang digunakan dalam uji statistik adalah two-way ANOVA. Pengujian dilakukan dengan 2 asumsi yaitu:

- tidak ada interaksi antara suhu dan konsentrasi katalis terhadap yield
- ada interaksi antara suhu dan konsentrasi katalis terhadap yield.

**Perhitungan Uji ANOVA terlampir (Lampiran I).**

Berdasarkan hasil perhitungan didapatkan nilai yang tertera pada kedua tabel berikut ini.

**Tabel 5.16 Tidak Ada Interaksi antara Suhu dan Konsentrasi**

Source	DF	SS	MS	F	P
Temperatur	4,00	13428,10	3357,03	80,89	0,00
Konsentrasi	3,00	4826,70	1608,90	38,77	0,00
Error	52,00	2158,00	41,50		
Total	59,00	20412,80			

S = 6,44 R-sq = 89,43% R-Sq(adj) = 88,01%

**Tabel 5.17 Ada Interaksi antara Suhu dan Konsentrasi**

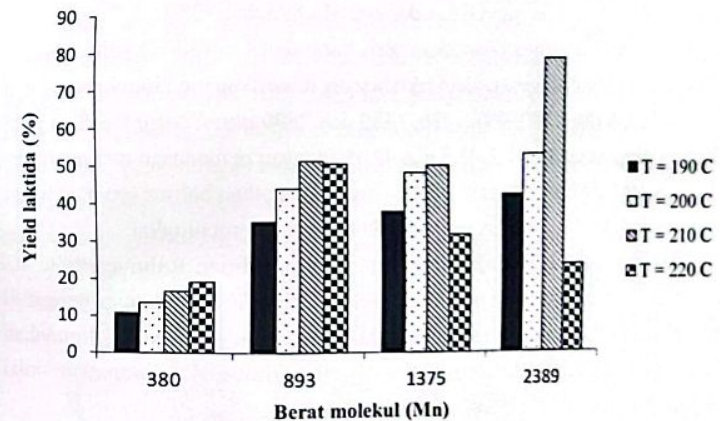
Source	DF	SS	MS	F	P
Temperatur	4,00	13428,10	3357,03	398,62	0,00
Konsentrasi	3,00	4826,70	1608,90	191,04	0,00
Interaksi	12,00	1821,10	151,76	18,02	0,00
Error	40,00	336,90	8,42		
Total	59,00	20412,80			

S = 2,90 R-Sq = 98,35% R-Sq(adj) = 97,57%.

Dari uji ANOVA menggunakan 2 pendekatan tadi diketahui bahwa suhu dan konsentrasi katalis berpengaruh signifikan terhadap pembentukan yield laktida yang ditandai dengan nilai p sebesar 0,00 dan interaksi antara kedua variabel ini sangat signifikan yang ditandai dengan nilai p pada interaksi sebesar 0,00.

**Pengaruh Berat Molekul Oligomer terhadap Yield Laktida**

Pada penelitian Rahmayetty et al. (2018) untuk mengetahui pengaruh berat molekul terhadap yield laktida digunakan katalis SnCl<sub>2</sub> dengan konsentrasi tetap yaitu 0,1%(b/b). Oligomer (OLLA) yang digunakan pada tahap ini mempunyai berat molekul (Mn) 380, 893, 1375 dan 2389 dan variasi suhu depolimerisasi 190; 200; 210; 220°C. Yield laktida yang didapatkan pada tahap depolimerisasi menggunakan variasi berat molekul (Mn) oligomer dan suhu terlihat pada Gambar 5.41.



**Gambar 5.41 Yield laktida pada Variasi Mn OLLA dan Suhu Depolimerisasi (Sumber: Rahmayetty et al., 2017)**

Pada Gambar 5.41 terlihat bahwa berat molekul (Mn) OLLA sangat memengaruhi yield laktida. Semakin tinggi berat molekul (Mn) OLLA, secara rata-rata yield laktida yang dihasilkan semakin tinggi. Yield laktida tertinggi dihasilkan dengan menggunakan oligomer (OLLA) dengan berat molekul (Mn)

2389 dan suhu 210°C. Katalis  $\text{SnCl}_2$  yang digunakan pada tahap depolimerisasi akan berinteraksi dengan atom oksigen dalam gugus karbonil dari struktur OLLA. Pasangan elektron pada atom karbon akan bergeser ke arah atom oksigen, sehingga gugus karbonil menjadi bermuatan positif. Gugus karbonil yang bermuatan positif mudah diserang oleh grup -OH dari OLLA. Jika berat molekul OLLA menurun, interaksi antara  $\text{SnCl}_2$  dengan atom oksigen karbonil terhalang karena atom Sn dikelilingi oleh grup -OH (Yoo et al., 2006), sehingga semakin rendah berat molekul OLLA maka yield laktida yang dihasilkan semakin menurun. Pada penelitian Rahmayetty et al., (2018) pernyataan di atas tidak berlaku untuk OLLA dengan Mn 1375. Hal ini disebabkan karena OLLA yang dihasilkan dengan metode polikondensasi pada suhu 200°C telah mengalami degradasi termal. Degradasi termal OLLA menyebabkan kerusakan pada ikatan polimer yang ditandai dengan warna OLLA yang kehitaman yang dihasilkan pada tahap polikondensasi 200°C. Ketika depolimerisasi berlangsung pada suhu 200°C warna OLLA semakin pekat dan laktida yang dihasilkan lebih rendah dibandingkan dengan OLLA dengan Mn 893 dan 2389.

Hasil yang sama juga dilaporkan oleh Yang dan Liu (2008) yaitu semakin tinggi berat molekul oligomer, yield laktida yang dihasilkan juga meningkat. Berat molekul OLLA (Mn) 790, 960, 1280, 1430 dan 2800 g/mol menghasilkan yield laktida berturut-turut 41, 41,2, 41,8 dan 42,3% dengan pemanasan menggunakan *microwave* 140–380 W. Yoo et al., (2006) juga melaporkan bahwa semakin tinggi berat molekul, konversi OLLA menjadi laktida semakin meningkat.

Data-data yang telah didapatkan dari hasil penelitian Rahmayetty et al., (2018) diuji secara statistik untuk mengetahui signifikan tidaknya pengaruh berat molekul dan suhu terhadap yield laktida. Uji statistik yang digunakan adalah *two-way* ANOVA. Berdasarkan hasil perhitungan didapatkan nilai yang tertera pada Tabel 5.18 dan 5.19.

Tabel 5.18 Tidak Ada Interaksi antara Suhu dan Konsentrasi

Source	DF	SS	MS	F	P
Temperatur	3,00	2618,50	872,82	9,37	0,00
BM	3,00	8678,70	1892,89	31,05	0,00
Error	41,00	3819,50	93,16		
Total	47,00	15116,70			

S = 9,65 R-sq = 74,73% R-Sq(adj) = 71,04%

Tabel 5.19 Ada Interaksi antara Suhu dan Konsentrasi

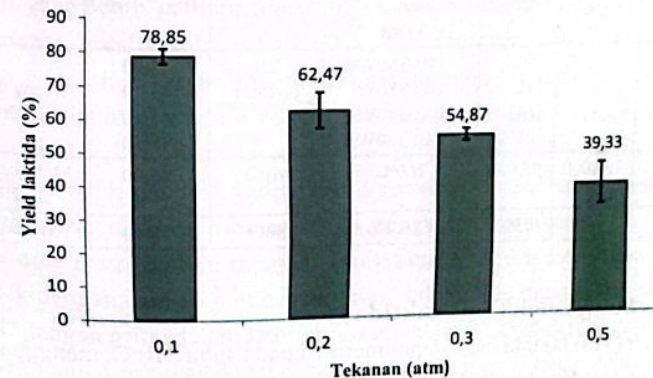
Source	DF	SS	MS	F	P
Temperatur	4,00	13428,10	3357,03	398,62	0,00
Konsentrasi	3,00	4826,70	1608,90	191,04	0,00
Interaksi	12,00	1821,10	151,76	18,02	0,00
Error	40,00	336,90	8,42		
Total	59,00	20412,80			

S = 2,90 R-Sq = 98,35% R-Sq(adj) = 97,57%.

Dari uji ANOVA menggunakan 2 pendekatan tersebut diketahui bahwa suhu dan berat molekul berpengaruh signifikan terhadap pembentukan yield laktida. Hal ini ditandai dengan nilai p sebesar 0,00. Interaksi antara kedua variabel ini sangat signifikan yang ditandai dengan nilai p pada interaksi sebesar 0,00.

#### Pengaruh Tekanan terhadap Yield laktida

Pada tahap depolimerisasi, pengaruh tekanan terhadap yield laktida diketahui dengan menggunakan variabel tetap dan variabel berubah. Variabel tetap pada tahap ini adalah bahan baku oligomer yang dihasilkan dari polikondensasi bertahap dengan berat molekul oligomer (Mn)  $\pm 2389$ , suhu depolimerisasi 210°C dan konsentrasi katalis  $\text{SnCl}_2$  0,1%(b/b). Variabel berubah adalah tekanan operasi 0,1; 0,2; 0,3; 0,5 atm. Pengaruh tekanan terhadap yield laktida dapat dilihat pada Gambar 5.42.



Gambar 5.42 Yield Laktida pada Variasi Tekanan (Sumber: Rahmayetty et al., 2017)

Dari Gambar 5.42 terlihat bahwa tekanan merupakan variabel yang memengaruhi perolehan yield laktida pada tahap depolimerisasi. Pada penelitian Rahmayetty et al. (2018) didapatkan yield laktida yang semakin menurun dengan meningkatnya tekanan. Proses depolimerisasi dapat terjadi dengan cepat pada tekanan vakum. Tekanan vakum akan mengubah fase gas laktida menjadi fase kristalin atau padat. Tekanan terbaik pada penelitian Rahmayetty et al. (2018) adalah pada tekanan 0,1 atm dengan yield laktida sebesar 78,85%. Perbandingan hasil penelitian Rahmayetty et al., (2018) dengan peneliti lainnya ditampilkan pada Tabel 5.20.

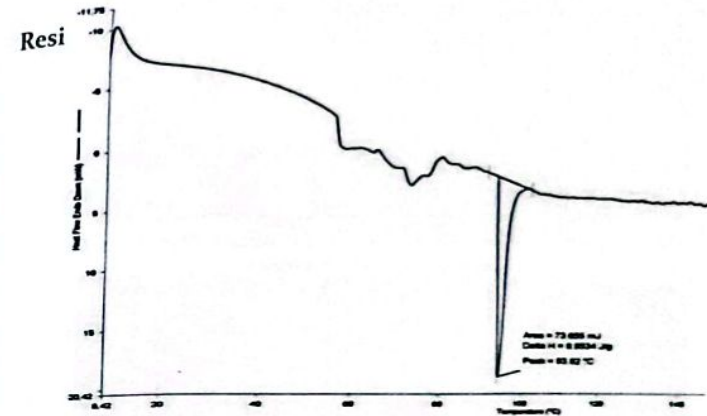
Tabel 5.20 Perbandingan Mw, Mn, kondisi operasi dan Yield beberapa Penelitian

Bahan Baku	Mw	Mn	T, P, t depolimerisasi	Katalis	Yield laktida (%)	Ref
OLLA	1080	380	210°C; 0,1 atm; 3-4 jam	SnCl <sub>2</sub>	16,74	Rahmayetty et al., 2018
OLLA	1736	893	210°C; 0,1 atm; 3-4 jam	SnCl <sub>2</sub>	61,36	
OLLA	2487	1375	210°C; 0,1 atm; 3-4 jam	SnCl <sub>2</sub>	50,28	
OLLA	2820	2389	210°C; 0,1 atm; 3-4 jam	SnCl <sub>2</sub>	78,86	
OLLA	1374		180°C; 0,013 atm; 5 jam	Sn(Oct) <sub>2</sub>	81,00	Upare et al., 2012
OLLA	1374		210°C; 0,013 atm; 5 jam	Sn(Oct) <sub>2</sub>	53,00	
OLLA	-	960	140-380W	Zn powder	41,00	Yang dan Liu, 2008
	-	1280	140-380W		41,20	
	-	1430	140-380W		41,80	
	-	2800	140-380W		42,30	
PLLA	170.000	98.000	260°C	MgO	75,00	Motoyama et al., 2007
OLLA	-	1380	220°C; 0,026 atm	SnO	77,00	Yoo et al., 2006

**Analisis Suhu Leleh (Tm) Laktida**

Suhu leleh (Tm) laktida hasil depolimerisasi pada suhu 210°C, menggunakan katalis SnCl<sub>2</sub> 0,1% dan OLLA hasil dari polikondensasi bertahap, dianalisis menggunakan DSC. Dari analisis didapatkan suhu leleh (Tm) laktida pada

93,82°C, seperti yang ditunjukkan Gambar 131. Suhu leleh untuk D/L- dan meso-laktida masing-masing adalah 90-95°C dan 50-54°C (Yoo dan Kim, 2009). Berdasarkan hasil spektrum <sup>1</sup>HNMR dan Tm laktida maka dipastikan stereoisomer yang terbentuk adalah L-laktida.

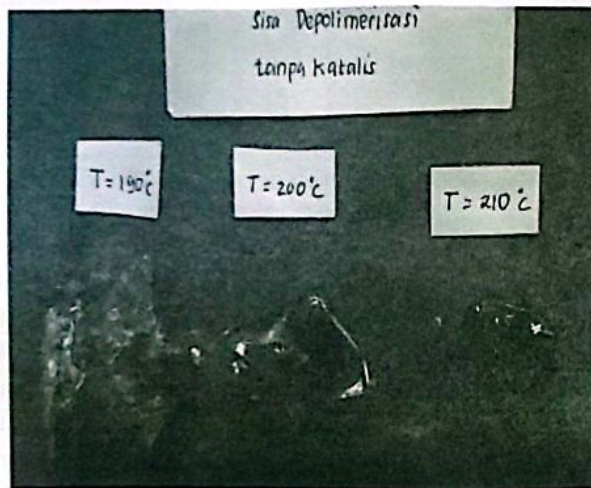


Gambar 7.43 Suhu Leleh Laktida menggunakan DSC (Sumber: Rahmayetty et al., 2018)

Residu merupakan sisa OLLA yang tidak bereaksi menjadi laktida dan merupakan produk samping dari reaksi depolimerisasi. Residu mempunyai rantai yang lebih panjang dari OLLA tetapi mengandung katalis logam. Pemisahan katalis sulit sekali dilakukan dan membutuhkan biaya yang besar. Pemisahan katalis logam dari residu menggunakan kloroform tidak berhasil dilakukan karena residu dan katalis tercampur secara homogen dalam larutan kloroform tersebut. Residu yang mengandung logam dapat menjadi produk samping yang dapat digunakan sebagai bahan plastik untuk keperluan selain dari biomedis dan pengemasan makanan. Residu juga dapat diuraikan kembali menjadi asam laktat 95,2% b dan oligomer rantai pendek dengan cara menambahkan asam laktat, lalu dipanaskan pada suhu 110°C dengan pengadukan kontinu. Asam laktat 95,2%b dan oligomer rantai pendek yang dihasilkan dapat digunakan kembali pada tahap depolimerisasi (Huang et al. 2014).

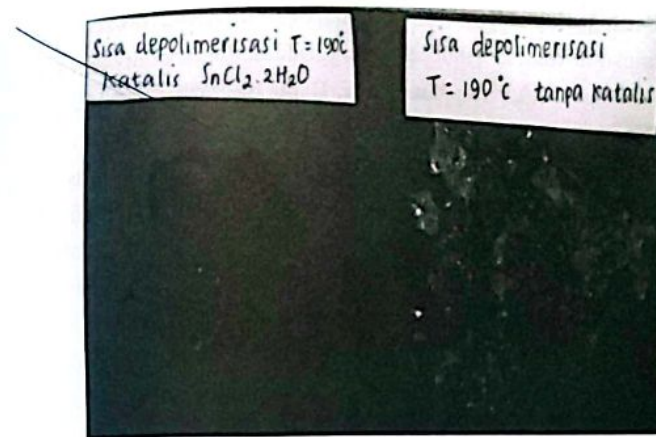
### Bentuk Visual Residu

Residu pada suhu kamar berbentuk padatan coklat atau hitam dan berupa cairan yang sangat kental pada suhu diatas 150°C. Warna dari residu sangat dipengaruhi oleh suhu dan penambahan katalis pada proses depolimerisasi. Semakin tinggi suhu dan jumlah katalis pada tahap depolimerisasi maka warna residu sisa proses semakin gelap mendekati warna hitam, seperti terlihat pada Gambar 5.44 dan Gambar 5.45. Hal ini disebabkan oleh jumlah gugus hidroksil dan karboksil menurun dengan meningkatnya berat molekul residu yang cukup tinggi, sehingga sisi pusat koordinasi katalis dengan kekosongan ligan menyebabkan reaksi samping. Reaksi samping berupa penguraian L-laktida dan reaksi L-laktida dengan katalis menyebabkan perubahan warna dan rasemisasi PLLA (residu) (Maharana et al., 2009).



Gambar 5.44 Perubahan Warna Residu Oligomer pada Variasi Suhu Depolimerisasi

Gambar 5.44 dan Gambar 5.45 menunjukkan bahwa suhu dan katalis sangat memengaruhi produk laktida. Pada awal proses depolimerisasi, OLLA berwarna bening, setelah dipanaskan pada suhu tertentu dengan tekanan vakum, OLLA berubah warna menjadi coklat dan akhirnya hitam.

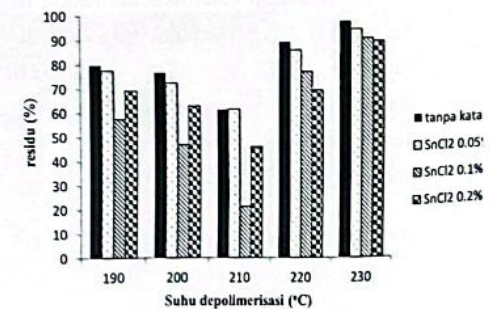


Gambar 5.45 Perubahan Warna Residu karena Penambahan Katalis (Sumber: Rahmayetty et al., 2017)

### Persen Residu

Persen residu yang dihasilkan berbeda-beda untuk variasi suhu dan konsentrasi katalis, seperti terlihat pada Gambar 5.46. Persen residu menurun dengan penambahan katalis dan peningkatan temperatur. Persen residu terkecil didapatkan untuk penambahan katalis SnCl<sub>2</sub> 0,1% dan suhu depolimerisasi 210°C. Banyaknya residu sisa proses depolimerisasi sangat tergantung dari jumlah laktida yang dihasilkan. Semakin banyak laktida yang dihasilkan maka residu OLLA semakin kecil. Hasil yang sama juga dilaporkan Upare et al. (2012) bahwa laju reaksi oligomerisasi meningkat lebih cepat dibandingkan dengan

laju reaksi depolimerisasi ketika suhu optimum depolimerisasi terlampaui. Hal ini ditandai dengan meningkatnya jumlah *heavy residue* pada proses depolimerisasi oligomer.

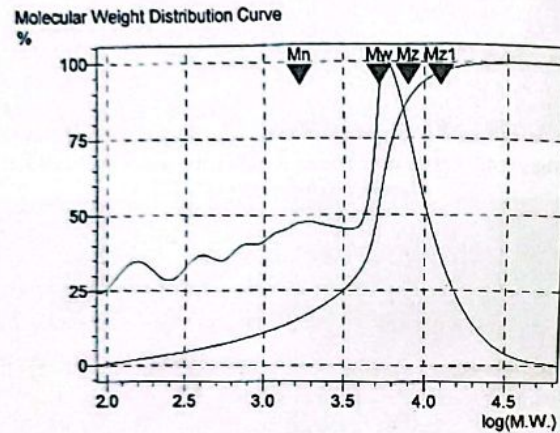


Gambar 5.46 Persen Residu dari OLLA yang dihasilkan pada Polikondensasi Bertahap (Sumber: Rahmayetty et al., 2018)



### Analisis Berat Molekul Residu

Residu mempunyai berat molekul lebih tinggi dibandingkan dengan OLLA yang digunakan pada tahap depolimerisasi. Berat molekul residu dianalisis menggunakan *gel permeation chromatography* (GPC). Sampel residu berupa sisa proses depolimerisasi pada suhu 210°C menggunakan katalis  $\text{SnCl}_2$  0,1%(b/b) dan bahan baku oligomer (OLLA) dengan berat molekul ( $M_w$ )  $\pm 2820$ , ( $M_n$ )  $\pm 2389$ . Hasil analisis GPC dapat dilihat pada Gambar 5.47.



Gambar 5.47 Distribusi Berat Molekul dari Residu  
(Sumber: Rahmayetty et al., 2018)

Perbandingan berat molekul residu dan OLLA awal tertera pada Tabel 5.21. Pada tahap depolimerisasi terjadi kenaikan berat molekul residu dibandingkan OLLA. Hal ini disebabkan oleh katalis yang tidak hanya mengatalisis pembentukan siklik ester (laktida) tetapi juga mengatalisis terjadi reaksi polimerisasi pada suhu yang diberikan. Reaksi polimerisasi menghambat terbentuknya laktida.

Tabel 5.21 Perbandingan Berat Molekul OLLA Awal dan Residu

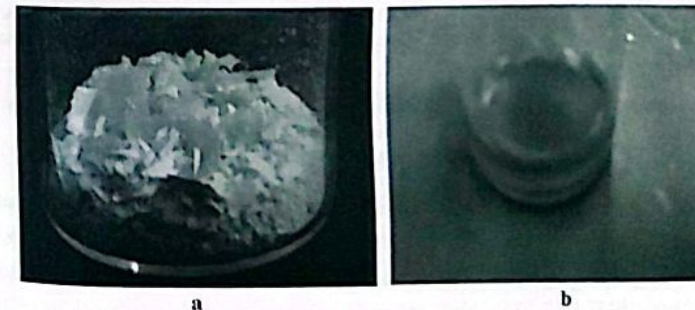
Senyawa	$M_w$	$M_n$	PDI
OLLA awal	2820	2389	1,18
Residu	5275	1681	3,14

### Polimerisasi Laktida dengan Lipase *C. rugosa* (CRL)

Laktida yang digunakan sebagai bahan baku polimerisasi dihasilkan dari tahap depolimerisasi menggunakan kondisi optimum. Kondisi optimum depolimerisasi adalah menggunakan oligomer (OLLA) yang dihasilkan pada polikondensasi bertahap (150°C selama 2 jam dan 180°C selama 2 jam) dengan berat molekul ( $M_n$ )  $\pm 2389$ , suhu depolimerisasi 210°C dan menggunakan katalis  $\text{SnCl}_2$  0,1% (b/b). Polimerisasi laktida dilakukan dengan variasi suhu dan konsentrasi lipase. Polimerisasi laktida berlangsung pada suhu mesophilik dan termophilik. Suhu mesophilik merupakan suhu aktivitas mikroorganisme pada range 20–55°C sedangkan suhu termophilik merupakan suhu aktivitas mikroorganisme di atas 55°C. Polimerisasi pada suhu mesophilik dilakukan pada suhu 35, 45 dan 55°C sedangkan termophilik pada suhu 70, 90, 110 dan 130°C.

### Polimerisasi Laktida pada Suhu Mesophilik

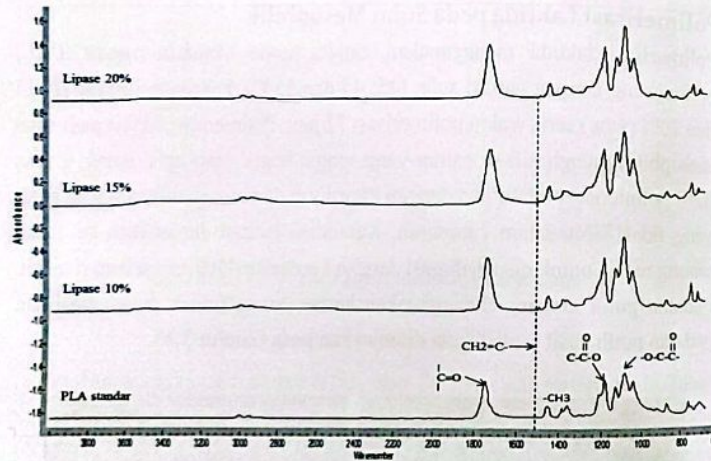
Polimerisasi laktida menggunakan katalis lipase *Candida rugosa* (CRL) berlangsung dengan variasi suhu (35, 45 dan 55°C), konsentrasi lipase 10, 15 dan 20% (w/w) serta waktu polimerisasi 72 jam. Polimerisasi laktida pada suhu mesophilik menghasilkan cairan yang sangat kental pada suhu ruang. Cairan hasil polimerisasi dilarutkan dengan kloroform dan menghasilkan serbuk putih yang tidak larut dalam campuran. Kemudian larutan dimasukkan ke dalam tabung reaksi untuk disentrifugasi dengan kecepatan 4500 rpm selama 5 menit. Padatan putih disaring menggunakan kertas saring. Cairan polimerisasi dan padatan putih hasil sentrifugasi ditunjukkan pada Gambar 5.48.



Gambar 5.48 (a) Cairan Hasil Polimerisasi; (b) Padatan putih setelah sentrifugasi (Sumber: Rahmayetty et al., 2018)

Cairan hasil penyaringan dipresipitasi menggunakan metanol. Target/ sasaran penelitian Rahmayetty et al. (2018) adalah terbentuknya serbuk putih setelah cairan hasil polimerisasi yang telah dilarutkan dalam kloroform dimasukkan tetes demi tetes ke dalam metanol berlebih. Polimerisasi dengan suhu mesophilik 35, 45 dan 55°C tidak dihasilkan serbuk putih pada saat dipresipitasi dalam metanol tetapi berat molekul cairan hasil polimerisasi mengalami peningkatan.

Gugus fungsi dari cairan hasil polimerisasi dianalisis menggunakan FTIR. Cairan polimerisasi yang dianalisis gugus fungsinya adalah cairan yang telah diendapkan dengan metanol dan dilakukan penghilangan metanol dan kloroform dengan cara pemanasan. Gugus fungsi dari cairan hasil polimerisasi terlihat pada Gambar 5.49.

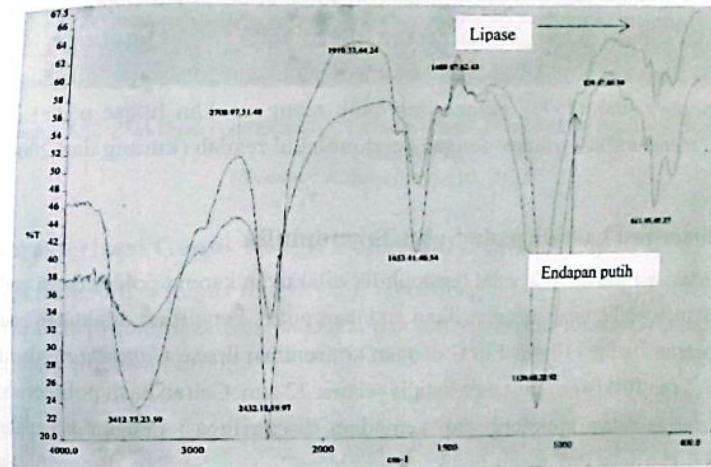


Gambar 5.49 Gugus Fungsi FTIR dari Cairan Hasil Polimerisasi dengan Variasi Konsentrasi Lipase  
(Sumber: Rahmayetty et al., 2018)

Pada Gambar 5.49 terlihat adanya bilangan gelombang sangat lemah pada 3504  $\text{cm}^{-1}$  yang menandakan gugus -OH *stretching*. Peak sangat kuat pada 1740–1744  $\text{cm}^{-1}$  menandakan keberadaan gugus -C=O *stretching*. Bilangan gelombang 1451 dan 1363  $\text{cm}^{-1}$  secara berurutan menandakan gugus -CH<sub>3</sub> simetrik dan -CH<sub>3</sub> asimetrik. Bilangan gelombang pada 1182-1264, 1041-

1084 dan 733-866  $\text{cm}^{-1}$  berturut-turut menandakan vibrasi -C-O-C asimetrik, -C-O-C- simetrik dan -CO. Hasil spektrum infra merah pada penelitian Rahmayetty et al. (2018) mempunyai kemiripan dengan gugus PLA hasil penelitian yang dilakukan Ding et al., (2011) dan Lasprilla et al., (2012). Berdasarkan hasil analisis FTIR diketahui bahwa lipase tidak mengubah gugus kimia dari cairan hasil polimerisasi dan dalam cairan yang dianalisis juga tidak tampak adanya gugus fungsi dari lipase.

Padatan putih yang telah dipisahkan melalui proses sentrifugasi dan filtrasi dilakukan analisis gugus fungsi. Perbandingan gugus fungsi padatan putih dan lipase *Candida rugosa* yang digunakan sebagai katalis pada tahap polimerisasi terlihat pada Gambar 5.52.



Gambar 5.50 Spektrum FTIR Padatan Putih Hasil Sentrifugasi dan Lipase *Candida rugosa*  
(Sumber: Rahmayetty et al., 2018)

Hasil analisis spektrum infra merah padatan putih yang didapatkan mempunyai bilangan bilangan gelombang yang hampir sama dengan lipase *Candida rugosa*. Berdasarkan Gambar 5.52 diketahui bahwa padatan yang terpisah setelah disentrifugasi adalah lipase *Candida rugosa* yang digunakan sebagai katalis polimerisasi. Lipase yang digunakan pada suhu 35, 45 dan 55°C tidak mengalami perubahan bentuk dan warna.

Berat molekul cairan hasil polimerisasi sebagian dianalisis menggunakan *liquid chromatography mass spectrometer* (LCMS). Berat molekul PLA yang didapatkan dari hasil polimerisasi pada suhu 45°C dengan variasi katalis 10%, 15% dan 20% terlihat pada Tabel 5.22.

Tabel 5.22 Berat Molekul Cairan Polimer

Konsentrasi katalis	m/z
10%	1476
15%	1482
20%	1492

Dari hasil analisis LCMS yang tertera pada Tabel 5.22 terlihat bahwa pada suhu polimerisasi 45°C, konsentrasi lipase tidak memengaruhi berat molekul cairan polimer yang dihasilkan. Berat molekul (m/z) cairan polimer maksimum sebesar 1470–1492. Hal ini senada dengan yang dilaporkan Namekawa et al. (1999), polimerisasi bulk menggunakan lipase pada suhu 60°C menghasilkan polimer dengan berat molekul rendah (kurang dari 2000).

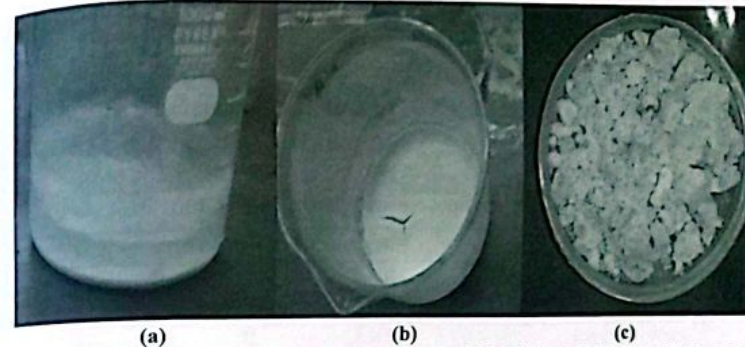
### Polimerisasi Laktida pada Suhu Termophilik

Polimerisasi laktida pada suhu termophilik dilakukan karena polimerisasi pada suhu mesophilik tidak menghasilkan endapan putih. Penelitian dilakukan pada temperatur 70, 90, 110 dan 130°C dengan konsentrasi lipase *Candida rugosa* 1; 2; 3; 5 dan 10% (w/w) dan tanpa katalis selama 72 jam. Cairan hasil polimerisasi dilarutkan dalam kloroform dan kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 4500 rpm selama 5 menit untuk memisahkan lipase. Setelah disentrifugasi, lipase berubah menjadi padatan kecoklatan dan mengendap pada dasar tabung. Padatan (lipase) dipisahkan menggunakan kertas saring. Lipase *Candida rugosa* sebelum dan setelah digunakan terlihat pada Gambar 5.51.



Gambar 5.51 (a) Lipase Sebelum Digunakan; (b) Lipase Setelah Digunakan  
(Sumber: Rahmayetty et al., 2018)

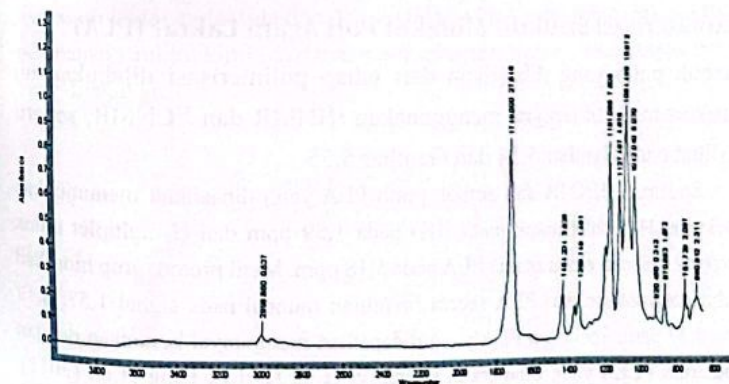
Larutan yang telah terpisah dari lipase, diendapkan menggunakan metanol berlebih (kloroform : metanol = 1:10). Larutan diteteskan sedikit demi sedikit dalam metanol dan akan terbentuk endapan putih seperti ditunjukkan pada Gambar 5.52 Endapan putih hasil dari presipitasi dipisahkan dari metanol dan kemudian dikeringkan pada suhu 45°C selama 6 jam.



Gambar 5.52 PLA Hasil Polimerisasi (a) Larutan Setelah Presipitasi; (b) Padatan Terbentuk; (c) Setelah Kering  
(Sumber: Rahmayetty et al., 2018)

### Karakterisasi Gugus Fungsi Poli Asam Laktat (PLA)

PLA mempunyai gugus fungsi yang sama dengan oligomer (OLLA). Gugus fungsi PLA yang dihasilkan pada tahap polimerisasi pembukaan cincin laktida terlihat pada Gambar 5.53.



Gambar 5.53 Spektrum FTIR PLA pada suhu 90°C, CRL 2%  
(Sumber: Rahmayetty et al., 2018)

Pada Gambar 5.55 terlihat adanya spektrum infra merah yang sangat penting yang menandakan gugus PLA. Spektrum tersebut adalah gugus  $-C=O$  *carbonyl stretch* pada  $1749\text{ cm}^{-1}$  dan  $-C=O$  *carbonyl bending* pada  $1181\text{ cm}^{-1}$ . Pada spektrum juga terlihat ada 2 ikatan  $-C-H$  *stretching* yaitu  $2996\text{ cm}^{-1}$  (asimetrik),  $2940\text{ cm}^{-1}$  (simetrik). Ikatan  $-OH$  *stretching* terlihat pada bilangan gelombang  $3550\text{ cm}^{-1}$  yang merupakan karakteristik dari asam karboksilat. Gugus  $-OH$  *stretching* dari asam karboksilat yang lebih rendah daripada alkohol ( $3300\text{ cm}^{-1}$ ) merupakan ikatan hidrogen yang sangat kuat dalam asam karboksilat. Gugus  $-C=O$  dan  $-OH$  berturut-turut ditemukan pada  $1220\text{ cm}^{-1}$  dan  $1064\text{ cm}^{-1}$ . Bilangan gelombang spektroskopi infra merah untuk ikatan dan gugus fungsi PLA tertera pada Tabel 5.23.

Tabel 5.23 Bilangan Gelombang Spektroskopi Infra Merah dari PLA

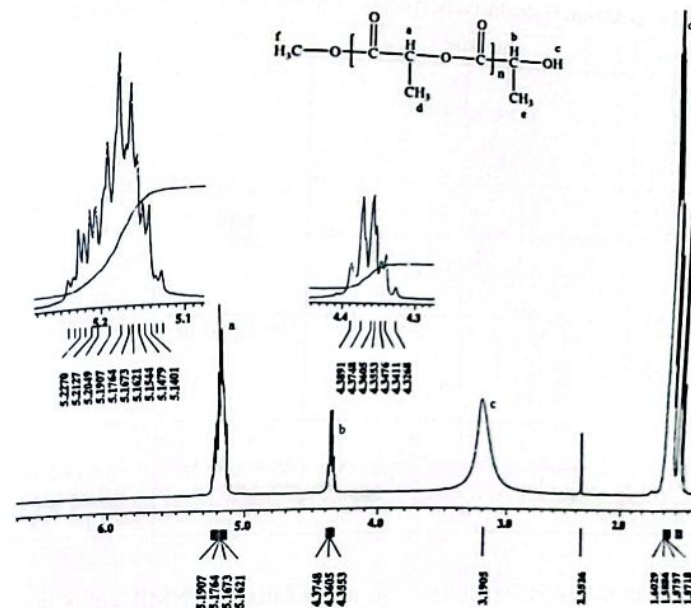
Gugus fungsi	Bilangan Gelombang ( $\text{cm}^{-1}$ )
$-OH$ <i>stretch (free)</i>	3100
$-CH$ <i>stretch</i>	2997 (asimetrik), 2946 (simetrik), 2877
$-C=O$ <i>carbonyl stretch</i>	1748
$-CH_3$ <i>bend</i>	1456
$-CH$ <i>simetrik dan asimetrik</i>	1382, 1365
$-C=O$ <i>bend</i>	1225
$-C-O$ <i>stretch</i>	1194, 1130, 1093
$-OH$ <i>bend</i>	1047
$-CH_3$ <i>rocking modes</i>	956, 921
$-C-C$ <i>stretch</i>	926, 868

(Auras et al., 2004)

### Karakterisasi Struktur Molekul Poli Asam Laktat (PLA)

Serbuk putih yang dihasilkan dari tahap polimerisasi dilakukan uji struktur molekul dengan menggunakan  $^1\text{H}$ NMR dan  $^{13}\text{C}$ NMR, seperti terlihat pada Gambar 5.54 dan Gambar 5.55

Spektrum  $^1\text{H}$ NMR dari serbuk putih PLA yang dihasilkan menunjukkan spektrum H-doublet untuk *metil* ( $^4\text{H}$ ) pada 1,59 ppm dan H-multiplet untuk *methine* ( $^6\text{H}$ ) dari rantai utama PLA pada 5,18 ppm. Metil proton, grup hidroksil akhir dan *methine* dari PLA secara berurutan muncul pada signal 1,57; 3,19 dan 4,37 ppm. Spektrum PLA yang didapatkan mempunyai kesamaan dengan spektrum PLLA yang dilaporkan Choubisa et al. (2013); Ding et al. (2011), Umare et al., (2007) dan Kadota et al. (2010).



Gambar 5.54 Spektrum HNMR dari PLA menggunakan CRL 1% (Sumber: Rahmayetty et al., 2018).

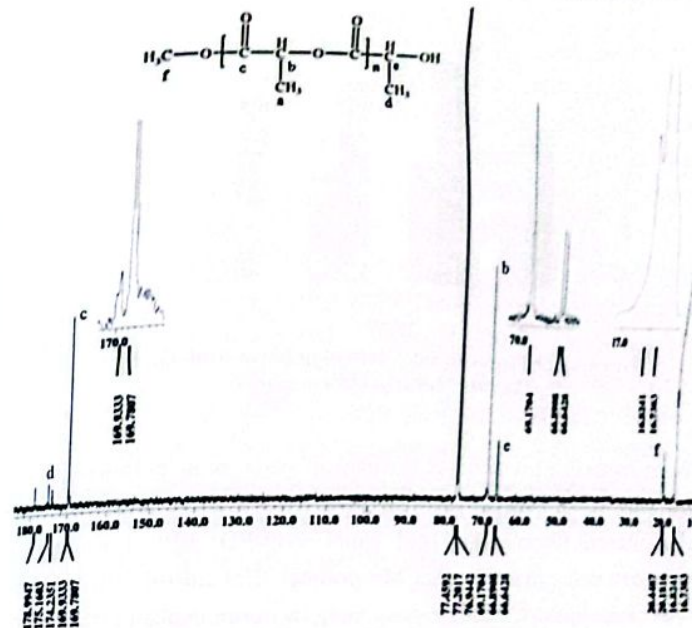
Perbedaan spektrum H-doublet, H-kuartet untuk asam laktat, OLLA, L-laktida dan PLA tertera pada Tabel 5.24 Terlihat adanya pergeseran spektrum dari asam laktat ke laktida dan dari laktida ke PLA yang menandakan adanya perubahan struktur kimia dari masing-masing senyawa melalui tahapan proses yang dilakukan.

Tabel 5.24 Spektrum H-doublet dan H-kuartet Asam Laktat, L-laktida dan PLA

Senyawa	Struktur	H-doublet	H-kuartet
L-asam laktat		b = 1,49-1,48	a = 4,38-4,36
Oligomer (OLLA)		b = 1,59-1,56 a = 1,48-1,47	d = 5,14-5,18 c = 4,35
Laktida		b = 1,65-1,68	a = 5,07-5,02
PLA		d,e,f = 1,57-1,59	a = 5,17-5,19 b = 4,37-4,36 c = 3,19

Selain analisis <sup>1</sup>H NMR dilakukan juga analisis <sup>13</sup>C NMR untuk produk PLA, seperti ditunjukkan pada Gambar 5.55. Pada spektrum <sup>13</sup>C NMR dari PLA terlihat *peak* pada signal 16,73; 69,17; 169,78 ppm yang menandakan secara berurutan struktur molekul dari metil karbon, metan karbon dan ester karbon. Spektrum <sup>13</sup>C NMR PLA dari penelitian Rahmayetty et al. (2018) hampir sama dengan spektrum PLLA yang dilaporkan oleh Ding et al. (2011) dan Chen et al. (2006). Ding et al. (2011) menggunakan Ni(II) dan kompleks Ni(II)-Ln(III) sebagai katalis polimerisasi pembukaan cincin L-laktida dan Chen et al., (2006) yang menyintesis PLLA dengan proses polikondensasi langsung menggunakan katalis titanium (IV) butoksida (TNBT).

Penempatan struktur <sup>1</sup>H dan <sup>13</sup>C NMR dari PLA hasil penelitian Rahmayetty et al. (2018) mempunyai kemiripan dengan PLA yang dilaporkan oleh Sobczak dan Kolodziejcki (2009). Spektrum tercatat dalam kloroform pada suhu kamar yang terangkum dalam Gambar 5.25.



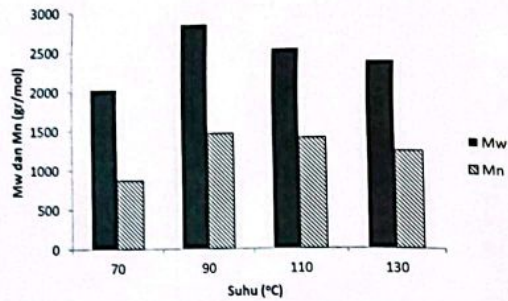
Gambar 5.55 Spektrum CNMR PLA menggunakan CRL 1% (Sumber: Rahmayetty et al., 2018).

Tabel 5.25 Pergeseran Spektrum dan Penempatan Struktur PLA dari <sup>1</sup>H dan <sup>13</sup>C NMR

Pergeseran Kimia (ppm)		Penempatan struktur
Rahmayetty et al., 2018	Sobczak dan Kolodziejcki (2009)	
5,17-5,19	5,17	(1H, q, -CH(CH <sub>3</sub> ))
4,36-4,37	4,36	(1H, q, -CH(CH <sub>3</sub> )OH, end grup)
1,57-1,59	1,58	(3H, d, -CH <sub>3</sub> )
3,19		(H, OH pada hidroksil)
169,8-169,9	169,80	(-C(O)O-)
69,17	69,2	(-CH(CH <sub>3</sub> )-)
16,82	16,8	(-CH <sub>3</sub> )

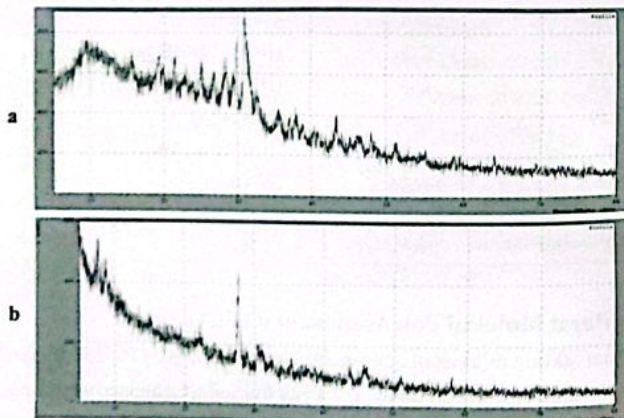
### Analisis Berat Molekul Poli Asam Laktat (PLA)

Polimerisasi laktida dilakukan dengan variasi suhu 70, 90, 110, 130°C dengan konsentrasi katalis *Candida rugosa* 1%. Pengaruh suhu terhadap berat molekul PLA ditunjukkan pada Gambar 5.56



Gambar 5.58 Pengaruh Suhu Terhadap Berat Molekul PLA (Sumber: Rahmayetty et al., 2018)

Berat molekul PLA tertinggi didapatkan pada suhu polimerisasi 90°C dengan nilai berat molekul rata-rata berat (Mw) 2833 g/mol dan berat molekul rata-rata jumlah (Mn) 1451 g/mol serta PDI 1,95. Kenaikan suhu menyebabkan penurunan Mw dan Mn polimer. Hal ini disebabkan karena aktivitas enzim lipase *Candida rugosa* yang menurun dengan meningkatnya suhu polimerisasi. Lipase setelah digunakan pada suhu polimerisasi di atas 90°C berubah warna menjadi hitam. Suhu yang tinggi menyebabkan denaturasi protein dalam enzim. Pernyataan ini dibuktikan dengan perubahan spektrum difraktogram dari lipase *Candida rugosa* sebelum dan setelah digunakan, seperti ditunjukkan pada Gambar 5.57.

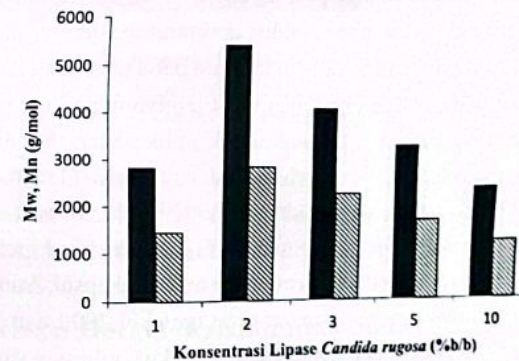


Gambar 5.57 Spektrum Difraktogram Lipase *Candida Rugosa* (a) Sebelum; Setelah Polimerisasi T=110°C (Sumber: Rahmayetty et al., 2018)

Gambar 5.59 (a) dan (b) menunjukkan adanya pergeseran daerah kristalinitas dan amorf dari lipase *Candida rugosa* setelah proses polimerisasi pada suhu 110°C. Lipase sebelum digunakan mempunyai daerah kristalisasi yang lebih tinggi dibandingkan setelah digunakan. Adanya pergeseran spektrum difraktogram ini membuktikan lipase mengalami perubahan struktur yang terjadi akibat terdenaturasi setelah proses polimerisasi.

Pengaruh konsentrasi lipase *Candida rugosa* pada tahap polimerisasi, diketahui dengan melakukan polimerisasi pada suhu 90°C tanpa menggunakan katalis dan menggunakan katalis lipase 1%, 2%, 3%, 5% dan 10%. Pada polimerisasi laktida tanpa katalis, tidak dihasilkan polimer sama sekali. Cairan reaktan tanpa katalis tidak mengalami perubahan kekentalan dan tidak mengeras pada suhu kamar. Hal ini membuktikan bahwa polimerisasi laktida pada suhu 90°C hanya dapat dilakukan dengan menggunakan katalis.

Pengaruh konsentrasi katalis lipase *Candida rugosa* pada proses polimerisasi ditunjukkan pada Gambar 5.58.



Gambar 5.58 Berat Molekul PLA dengan Variasi Konsentrasi Lipase (Sumber: Rahmayetty et al., 2018)

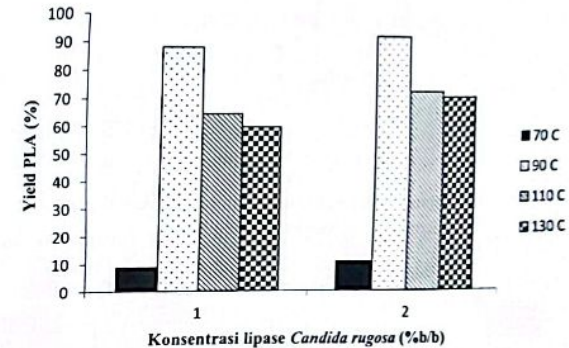
Lipase *Candida rugosa* merupakan enzim yang bisa mengatalisis reaksi hidrolisis, esterifikasi dan transesterifikasi. Fungsi katalisator sangat ditentukan oleh substrat dan kondisi proses. Lipase *Candida rugosa* merupakan katalis yang dapat digunakan untuk reaksi pembukaan cincin laktida menghasilkan PLA. Pada Gambar 65.58 terlihat bahwa konsentrasi lipase *Candida rugosa* 2% menghasilkan berat molekul berat (Mw) dan berat molekul jumlah (Mn)

masing-masing sebesar 5428 g/mol dan 2854 g/mol serta PDI 1,9. Pada konsentrasi lipase > 2 % (b/b) terjadi penurunan berat molekul. Hal ini senada dengan yang dilaporkan Deng dan Gross (1999) dan He et al., (2008). Deng dan Gross (1999) menyatakan bahwa dengan penambahan katalis terjadi penurunan Mn. Hal ini disebabkan ketika molekul air yang tersedia untuk inisiasi benar-benar dikonsumsi, jumlah total ikatan polimer per mmol monomer (Np) tidak berubah secara substansial dengan peningkatan konversi monomer. Konsumsi monomer setelah periode ini terutama disebabkan oleh peristiwa propagasi rantai. Hal ini menunjukkan bahwa tingkat inisiasi rantai (K) relatif lambat dibandingkan dengan tingkat propagasi rantai (Ki). He et al., (2008) menyatakan bahwa penambahan konsentrasi lipase *porcine pancreas* dari 0,1 ke 0,5% (b/b) menyebabkan penurunan Mn poli(5-allyloxy-1,3-dioxan-2-one) dari 48.700 ke 14.300 gr/mol.

Berdasarkan hasil penelitian di atas maka kondisi optimum reaksi polimerisasi pembukaan cincin laktida dengan katalis lipase *Candida rugosa* adalah pada suhu 90°C dan konsentrasi katalis 2%. Berat molekul (Mw dan Mn) tertinggi yang didapatkan pada kondisi optimum masing-masing sebesar 5428 g/mol dan 2854 g/mol. PLA yang dihasilkan pada penelitian Rahmayetty et al., (2018) cocok digunakan untuk membuat lembaran polimer pengontrol pelepasan obat (*drug delivery*). Dimana untuk aplikasi tersebut dibutuhkan polimer yang terbiodegradasi, tidak berbahaya dan titik leleh (Tm) rendah serta berat molekul (Mn) yang cocok adalah 2000–3000 (Choubisa et al., 2013). Wichert dan Rohdewald (1993) menggunakan PLA dengan berat molekul 2000 gr/mol sebagai bahan polimer dalam pembuatan mikroenkapsul. Andreopoulos et al. (2000), menggunakan PLA dengan berat molekul 2000 dan 20.000 gr/mol sebagai sistem pelepas antibiotik. Berat molekul poliester yang hampir sama juga dihasilkan pada penggunaan lipase *Pseudomonas cepacia* (PC) 50 mg sebagai katalis pada polimerisasi pembukaan cincin 16-hexadecanolide. Reaksi berlangsung pada suhu 75°C selama 5 hari menghasilkan poliester dengan Mw sebesar 5800 dan PDI sebesar 2,0 (Namekawa et al., 1998). Berat molekul merupakan faktor yang sangat mempengaruhi sifat polimer berupa penguraian, kekuatan mekanis, dan daya larut.

### Yield Poli Asam Laktat (PLA)

PLA yang dihasilkan dalam proses polimerisasi diketahui beratnya setelah dilakukan proses pelarutan dalam kloroform dan pemisahan lipase *Candida rugosa* serta proses pengendapan dengan metanol. Yield PLA dihitung dengan menggunakan Persamaan (3.3). Hasil perhitungan yield PLA ditunjukkan pada Gambar 5.59.

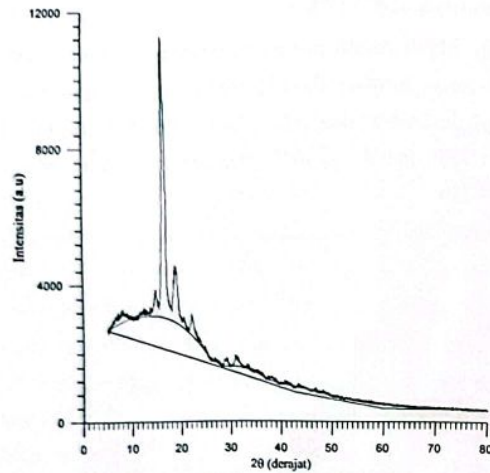


Gambar 5.59 Yield PLA pada Variasi Konsentrasi Lipase dan Suhu Polimerisasi (Sumber: Rahmayetty et al., 2018)

Yield PLA tertinggi untuk konsentrasi lipase *Candida rugosa* 1% dan 2% didapatkan pada suhu 90°C. Yield PLA tertinggi dihasilkan dengan menggunakan lipase *Candida rugosa* 2% yaitu 92,58%.

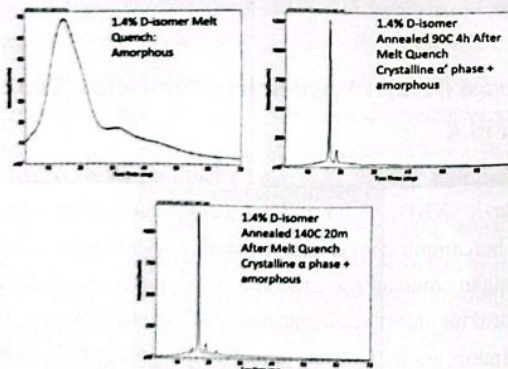
### Karakterisasi Derajat Kristalinitas, Suhu leleh (Tm) dan Morfologi PLA

Derajat kristalinitas produk PLA yang dihasilkan dianalisis menggunakan difraksi sinar-X (XRD). Polimer dapat mengandung daerah kristalin yang secara acak bercampur dengan daerah amorf. Struktur kristalin dari polimer ditandai dengan munculnya intensitas yang tinggi pada difraktogram, sedangkan struktur amorf cenderung menghasilkan intensitas yang landai dan melebar. Difraktogram PLA yang dihasilkan ditunjukkan pada Gambar 5.61.



Gambar 5.60 Spektrum Sinar-X PLA  
(Sumber: Rahmayetty et al., 2018)

Pada Gambar 5.60 terlihat bahwa difraksi sinar-X (XRD) produk PLA yang dihasilkan penelitian Rahmayetty et al., (2018) mempunyai 2 puncak difraksi  $2\theta$  yaitu  $16,84^\circ$  dan  $19,10^\circ$ . Hasil ini mempunyai kemiripan dengan yang dilaporkan Tabi et al., (2010); Carrasco et al., (2010); Guo (2012); dan Gates et al., (2014). Evaluasi editorial ICDD dari data difraksi untuk amorf dan kristal PLA yang dilaporkan Gates et al., (2014) ditunjukkan pada Gambar 5.61.



Gambar 5.61 Difraksi Sinar-X amorf dan Kristalin PLA  
(Sumber: Gates et al., 2014)

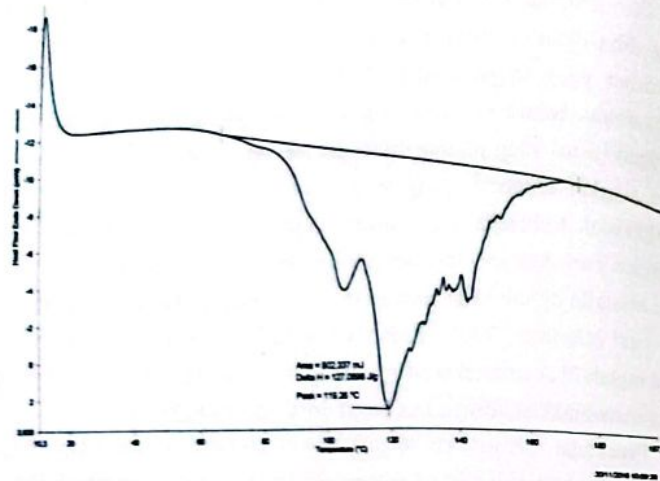
Dari perbandingan Gambar 5.61 dan Gambar 5.62 diketahui bahwa PLA yang dihasilkan mempunyai struktur kristalin dan amorf dengan kandungan D-isomer yang sangat kecil ( $\leq 1,4\%$  D-isomer). Blaton dan Gates (2014) menyatakan bahwa pemantauan jumlah D-isomer dalam produk akhir PLA merupakan hal yang penting dalam pengendalian kristalinitas PLA. Biasanya pada tingkat D-isomer yang lebih besar dari 10 persen, PLA tidak bisa mengkristal. Keberadaan fase amorf dan kristalin PLA secara kualitatif dapat dideteksi dari data spektroskopi infra merah dari PLA (Carrasco et al., 2010). Fase kristalin ditunjukkan pada spektrum infra merah  $755\text{ cm}^{-1}$  dan amorf pada  $869\text{ cm}^{-1}$  (Garlotta, 2001). Pada Gambar 5.62 terlihat bahwa pada spektrum infra merah PLA terdeteksi adanya bilangan gelombang  $754\text{ cm}^{-1}$  dan  $870\text{ cm}^{-1}$ , yang menunjukkan adanya fase amorf dan kristalin dari PLA.

Penentuan secara kuantitatif derajat kristalinitas dilakukan dengan menggunakan analisis XRD. Lebar puncak difraksi dapat memberikan informasi tentang berapa ukuran kristalinitas PLA yang dihasilkan. Semakin tajam puncak difraksi, maka PLA yang terbentuk semakin kristal. Kristal yang berukuran besar dengan satu orientasi menghasilkan difraksi yang mendekati sebuah garis vertikal. Penentuan derajat kristalinitas dengan difraksi sinar-X dapat dilakukan atas dasar asumsi bahwa daerah kristalin dan amorf terdapat dalam substansi yang sama dan memberikan kekuatan hamburan yang ekuivalen. Derajat kristalinitas ditentukan menggunakan metode internal yaitu membandingkan luas puncak daerah kristalin dan luas daerah di bawah puncak (daerah amorf). Derajat kristalinitas ditentukan menggunakan Persamaan 4.4 (Dunitz, 1995).

$$\% \text{ Kristalinitas} = \frac{\text{Luas area kristalin}}{\text{Luas area total (amorf+kristalin)}} \dots\dots\dots(4.4)$$

Dari Gambar 5.63 didapatkan luas daerah kristalin  $4,4\text{ cm}^2$  dan luas daerah total  $14,4\text{ cm}^2$ . Dari persamaan (4.4) didapatkan derajat kristalinitas PLA  $30,56\%$ . PLA dengan derajat kristalinitas  $30\text{--}40\%$  bersifat semikristalin (Maharana et al., 2009; Coulembier et al., 2006). Dari nilai kristalinitas diketahui bahwa PLA hasil polimerisasi dengan katalis lipase *Candida rugosa* adalah polimer semikristalin. Bentuk stereoisomer PLA berupa PLLA. Hal ini dibuktikan juga dengan suhu leleh ( $T_m$ ) PLA yang dihasilkan. Derajat kristalinitas PLA yang hampir sama juga dilaporkan oleh Auras et al., (2005) yaitu  $29 \pm 0,5\%$ . Gupta et al. (2007) melaporkan bahwa PLLA mempunyai derajat kristalinitas sebesar  $0\text{--}37\%$ .



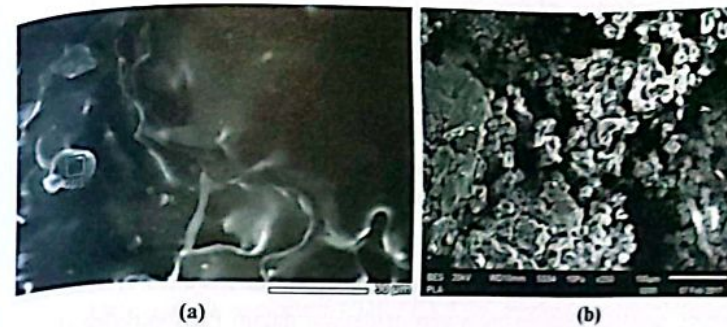


Gambar 5.62 *Differential Scanning Calorimetry* (DSC) PLA Hasil Polimerisasi pada  $T=90^{\circ}\text{C}$  dan lipase 2%  
(Sumber: Rahmayetty et al., 2018)

Grafik *differential scanning calorimetry* (DSC) yang terdiri dari suhu gelas ( $T_g$ ), suhu kristalin ( $T_c$ ) dan suhu leleh ( $T_m$ ) dari produk terlihat pada Gambar 5.62.

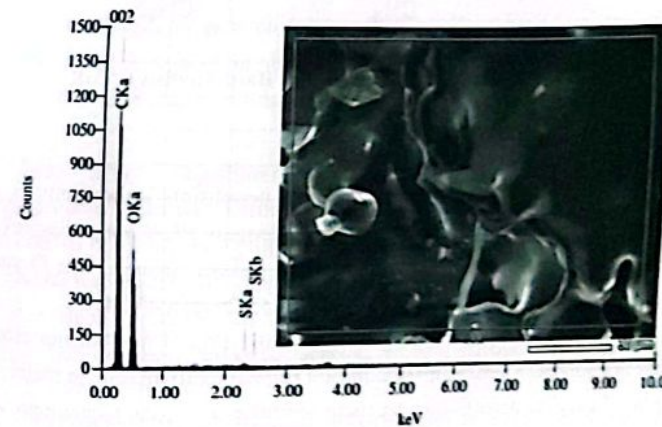
Berdasarkan analisis DSC diketahui bahwa PLA yang dihasilkan mempunyai  $T_g$   $65^{\circ}\text{C}$ ,  $T_c$   $103^{\circ}\text{C}$  dan  $T_m$   $119^{\circ}\text{C}$ . Guo (2012) melaporkan bahwa PLA yang dihasilkan mempunyai nilai  $T_g$   $60^{\circ}\text{C}$ ,  $T_c$   $110^{\circ}\text{C}$  dan  $T_m$   $165^{\circ}\text{C}$ , sedangkan Auras et al., (2005) melaporkan bahwa PLA yang dihasilkan mempunyai nilai  $T_g$   $62^{\circ}\text{C}$  dan  $T_m$   $150\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ . Berat molekul PLA sangat menentukan titik leleh ( $T_m$ ) dan suhu gelas ( $T_g$ ).  $T_m$  dan  $T_g$  meningkat dengan meningkatnya berat molekul. Nilai  $T_g$  sangat ditentukan oleh derajat kristalinitas (Gupta et al., 2007; Saaidlou et al., 2012).

Karakterisasi *scanning electron microscope* (SEM) bertujuan untuk melihat morfologi dari PLA. Gambar SEM PLA dengan perbesaran  $30\ \mu\text{m}$  dan  $250\ \mu\text{m}$  dapat dilihat pada Gambar 5.63.



Gambar 5.63 *Electron Micrograph* dari PLA dengan Perbesaran (a)  $30\ \mu\text{m}$ ; (b)  $100\ \mu\text{m}$   
(Sumber: Rahmayetty et al., 2018).

Pada Gambar 5.63 (a) dan (b) terlihat morfologi PLA mempunyai pori yang halus dan bentuk pori yang seragam pada setiap daerah. Lebih lanjut dilakukan analisis kandungan unsur dalam PLA menggunakan EDAX seperti terlihat pada Gambar 5.64.



Gambar 5.64 Hasil pengukuran EDAX untuk PLA  
(Sumber: Rahmayetty et al., 2018)

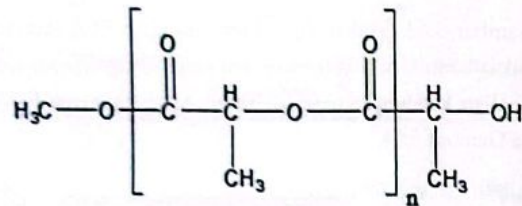
Energi sinar-X yang terdeteksi oleh detektor EDAX menunjukkan bahwa PLA mengandung unsur C dan O dengan persen massa unsur yang terkandung pada PLA tercantum pada Tabel 5.26.

Tabel 5.26 Komposisi Unsur PLA

Unsur	% Massa	% atom
C	52,15	59,26
O	47,64	40,65

(Sumber: Rahmayetty et al., 2018)

Unsur C merupakan unsur dominan penyusun PLA, diikuti dengan O. Unsur H pada struktur molekul PLA tidak terdeteksi karena unsur H terkandung sangat kecil. Kandungan unsur yang terdeteksi dalam PLA ekuivalen dengan struktur molekul PLA yang didapat dari analisis struktur  $^{13}\text{C}$ NMR, seperti terlihat pada Gambar 5.65.



Gambar 5.65 Struktur Molekul PLA dari Hasil Analisis CNMR

Persen massa PLA yang dihasilkan pada penelitian Rahmayetty et al. (2018) mempunyai nilai yang hampir sama dengan PLA yang dilaporkan oleh Park dan Xanthos (2009), dimana persentase unsur C dan O yang terkandung dalam PLA masing-masing sebesar 55,29 dan 43,74%.

Sintesis poli asam laktat (PLA) melalui polimerisasi pembukaan cincin laktida menggunakan katalis lipase *Candida rugosa* telah dilakukan melalui 3 tahapan. Kami telah berhasil mendapatkan produk pada setiap tahapan proses. Pada tahap polikondensasi didapatkan produk oligomer asam laktat (OLLA) dengan yield dan berat molekul yang berbeda-beda. Pada tahap depolimerisasi didapatkan laktida dengan yield dan kemurnian yang tinggi. Tahapan terakhir berupa tahap polimerisasi laktida menggunakan katalis lipase *Candida rugosa* telah berhasil menyintesis poli asam laktat (PLA) bebas logam.

Polikondensasi dengan variasi suhu menghasilkan oligomer dengan bentuk visual, berat molekul dan yield OLLA yang berbeda-beda. Karakterisasi dan yield oligomer yang dihasilkan sebagai berikut:

- a. Karakterisasi OLLA yang dihasilkan pada tahap polikondensasi adalah
  - Bentuk visual OLLA pada suhu polikondensasi 150; 180; 200 °C dan bertahap (150 dan 180 °C) secara berurutan adalah cairan bening berwarna kuning yang sangat kental, padatan bening, padatan coklat dan padatan putih.
  - Dari analisis spektrum FTIR OLLA, didapatkan penurunan secara signifikan untuk gugus -OH *stretching* dan pergeseran gugus C=O ke arah kiri dibandingkan dengan spektrum asam laktat.
  - Terjadi pergeseran spektrum H-doublet dan H-kuartet pada spektrum  $^1\text{H}$ NMR OLLA dibandingkan dengan spektrum asam laktat.
  - Pada suhu polikondensasi 150; 180; 200 °C dan bertahap (150 dan 180 °C) menghasilkan berat molekul OLLA ( $M_w/M_n$ ) yang berbeda-beda yaitu 1080/380; 1736/893; 2487/1375; 2820/2389.
  - Karakteristik suhu leleh ( $T_m$ ) OLLA dengan berat molekul ( $M_w/M_n = 2820/2389$ ) adalah sebesar 96 °C.
- b. Yield OLLA pada suhu polikondensasi 150; 180; 200 °C dan bertahap (150 dan 180 °C) secara berurutan sebesar 96,33; 85,36; 82,13 dan 88,37%.

Pada tahap depolimerisasi didapatkan kondisi optimum yang menghasilkan yield dan kemurnian L-laktida tertinggi. Karakterisasi laktida dan kondisi optimum yang dihasilkan sebagai berikut:

- a. Karakterisasi laktida yang dihasilkan pada tahap depolimerisasi adalah
  - Bentuk visual laktida yang dihasilkan adalah berwarna putih kekuningan, berbentuk serbuk, lembap, higroskopis dan mempunyai rentang pH 6-7.
  - Dari hasil analisis spektrum FTIR, gugus C=O *stretching* laktida terlihat pada bilangan gelombang (*wave number*) 1720  $\text{cm}^{-1}$ . Gugus -CH<sub>3</sub> ditemukan pada 1454  $\text{cm}^{-1}$  dan gugus C-O-C ditemukan pada 1201  $\text{cm}^{-1}$ .
  - Spektrum  $^1\text{H}$ NMR laktida pada H-doublet dan H-kuartet menunjukkan bahwa stereoisomer laktida yang terbentuk adalah L-laktida.
  - Karakteristik suhu leleh ( $T_m$ ) L-laktida menggunakan DSC adalah 93,82 °C.

- b. Kondisi optimum pembentukan L-laktida adalah pada suhu  $210^{\circ}\text{C}$ , tekanan  $0,1 \text{ atm}$ , katalis  $\text{SnCl}_2$   $0,1\%(\text{b/b})$  dan berat molekul OLLA (Mw/Mn) sebesar  $2820/2389$ . Yield dan kemurnian L-laktida tertinggi didapatkan masing-masing sebesar  $78,8\%$  dan  $81,03\%$ .

Polimerisasi L-laktida pada suhu termophilik menggunakan katalis lipase *Candida rugosa* telah berhasil mensintesis poli asam laktat (PLA). Kondisi operasi optimum dan karakterisasi PLA yang dihasilkan sebagai berikut :

- a. Aktivitas terbaik lipase *Candida rugosa* pada suhu  $90^{\circ}\text{C}$  dan konsentrasi  $2\% (\text{b/b})$  dengan yield PLA yang dihasilkan sebesar  $92,58\%$ .
- b. Penambahan lipase *Candida rugosa* diatas  $2\%(\text{b/b})$  menyebabkan penurunan berat molekul PLA.
- c. Karakterisasi PLA yang dihasilkan pada suhu polimerisasi  $90^{\circ}\text{C}$ , konsentrasi lipase *Candida rugosa*  $2\%$  adalah
- Dari analisis spektrum FTIR PLA didapatkan gugus penting yang menandakan PLA yaitu gugus  $\text{-C=O carbonyl stretch}$  pada  $1749 \text{ cm}^{-1}$  dan  $\text{-C=O carbonyl bending}$  pada  $1181 \text{ cm}^{-1}$ .
  - Berat molekul (Mw dan Mn) PLA didapatkan sebesar  $5428$  dan  $2854 \text{ g/mol}$ . Berdasarkan berat molekulnya, PLA yang dihasilkan pada penelitian Rahmayetty et al., (2018) cocok digunakan untuk membuat lembaran polimer pengontrol pelepasan obat (*drug delivery*).
  - Kristalinitas PLA dari analisis difraksi sinar-X didapatkan sebesar  $30,56\%$ . Suhu leleh ( $T_m$ ) PLA dari analisis DSC sebesar  $119,26^{\circ}\text{C}$ .
  - Persen massa unsur yang terkandung dalam PLA dari analisis SEM EDAX adalah Karbon (C) sebesar  $52,15\%$  dan Oksigen (O) sebesar  $47,64\%$ .
- d. Mekanisme reaksi polimerisasi pembukaan cincin laktida menggunakan katalis lipase *Candida rugosa* hanya dapat dibuktikan dengan hasil karakterisasi produk PLA yang dihasilkan. Pembuktian untuk setiap tahapan mekanisme reaksi harus dilakukan uji lanjut melalui analisis produk intermediate.



## BAB 6 Enzim Selulase

Said Zul Amraini, Siswa Setyahadi, Andre Fahriz Perdana  
Harahap dan Misri

### Pendahuluan

Enzim adalah biomolekul berupa protein yang berfungsi sebagai katalis (senyawa yang mempercepat proses reaksi tanpa habis bereaksi) dalam suatu reaksi kimia organik. Enzim merupakan protein yang berfungsi sebagai biokatalis dalam suatu reaksi kimia maupun biologis. Substrat adalah molekul-molekul awal yang akan dipercepat perubahannya oleh katalis menjadi molekul lain yang disebut produk. Jenis produk yang akan dihasilkan bergantung pada suatu kondisi/zat, yang disebut promoter. Semua proses biologis sel memerlukan enzim agar dapat berlangsung dengan cukup cepat dalam suatu arah lintasan metabolisme yang ditentukan oleh hormon sebagai promoter.

Kerja enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor, terutama adalah substrat, suhu, keasaman, kofaktor, dan inhibitor. Tiap enzim memerlukan suhu dan pH (tingkat keasaman) optimum yang berbeda-beda karena enzim adalah protein, yang dapat mengalami perubahan bentuk jika suhu dan keasaman berubah. Di luar batasan suhu atau pH yang sesuai, enzim tidak dapat bekerja secara optimal karena strukturnya akan mengalami kerusakan. Hal ini akan menyebabkan enzim kehilangan fungsinya sama sekali. Kerja enzim juga dipengaruhi oleh molekul lain. Inhibitor adalah molekul yang menurunkan aktivitas enzim, sedangkan aktivator adalah yang meningkatkan aktivitas enzim.