



Pengaruh Temperatur dan Tekanan dalam Proses Evaporasi Asam 6-Aminopenisilinat

Lienda Aliwarga^{1*)}, Widhi Setyo Kusumo¹⁾, dan Agung Pramono¹⁾

¹⁾ Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, Institut Teknologi Bandung
Jl. Ganesha No.10, Bandung 40132, Telp 022-2500989

^{*)} Penulis korespondensi : lienda@che.itb.ac.id

Abstract

Influence of Temperature and Pressure on The Evaporation of 6-Aminopenicillinic Acid

6-aminopenicillinic acid (6-APA) is the raw materials for producing semi-synthetic penicillin. In commercial scale, penicillin G is converted into 6-APA enzymatically by penicillin acylase. Due to the nature of equilibrium reaction, the products are in mixture solution of penicillin G, 6-APA, and phenil acetic acid (PAA). In order to purify the targeted 6-APA, steps of evaporation, crystallisation, and drying are thereby compulsory. In this research, the optimum operation conditions for model solution evaporation were observed. Operation variables, like temperature was varied in the range between 30-65°C at -100mmHg, and pressure was also set between -300 and -50mmHg at constant temperature of 50°C. The results showed that temperature is a dominant factor determining the yield of 6-APA, compared to vacuum pressure from -300 mmHg to -50 mmHg that provided similar yield value. This fact was supported by interpretation of the crystal's purity for the pressure variation that overall was more than 90% (suggested the homogeneity and higher 6-APA content); hence, operation in each pressure for that range is feasible. To conclude, at 50°C and evaporation pressure of -100mmHg, the highest 6-APA yield and total yield of 97.46% and 91.76%, respectively, were attained.

Keywords: 6-APA; concentration; crystallisation; PAA; penicillin G; pressure; temperature

Abstrak

Asam 6-aminopenisilinat (6-APA) merupakan bahan dasar dalam pembuatan penisilin semi-sintetis. Dalam skala komersial, 6-APA dapat diproduksi dengan cara enzimatik dengan mengkonversi penisilin G menjadi 6-APA dengan penisilin asilase. Karena konversi ini merupakan reaksi kesetimbangan, maka produk yang didapat adalah campuran penisilin G, 6-APA, dan asam fenil asetat (PAA). Untuk memperoleh 6-APA yang murni dilakukan proses pemurnian berupa evaporasi, kristalisasi, dan pengeringan. Dalam penelitian ini, dilakukan pengamatan terhadap evaporasi larutan model untuk mendapat kondisi operasi yang terbaik ditinjau dari segi perolehan 6-APA. Pengaruh variabel operasi, yaitu temperatur dan tekanan evaporasi diamati terhadap persen perolehan, dengan variabel temperatur dioperasikan pada rentang 30-65°C pada tekanan -100mmHg dan tekanan pada -300mmHg hingga -50mmHg pada temperatur 50°C. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa pada tahap evaporasi, pengaruh temperatur lebih dominan terhadap perolehan 6-APA, sedangkan tekanan pada rentang vakum -300 hingga -50 mmHg perolehan yang diperoleh seragam. Kenyataan tersebut didukung pula dengan interpretasi kemurnian kristal pada variasi tekanan yang seluruhnya di atas 90% (menunjukkan bahwa komposisi kristal bersifat seragam dan kadar 6-APA nya tinggi). Dengan demikian, maka pengoperasian pada seluruh rentang tekanan vakum tersebut adalah memungkinkan. Kondisi evaporasi yang terbaik adalah pada temperatur 50°C dan tekanan -100mmHg, dengan perolehan 6-APA sebesar 97,46% dan perolehan total 91,76%.

Kata kunci: 6-APA; kristalisasi; PAA; pemekatan; penisilin G; tekanan; temperatur

PENDAHULUAN.

Penggunaan penisilin semi-sintetis sebagai produk turunan penisilin alami saat ini semakin meluas karena sifat mikroorganisme patogen yang mulai resisten terhadap penisilin alami. Keunggulan dari penisilin semi-sintetis adalah sifatnya yang tahan terhadap beta laktamase, berspektrum luas, dan stabil dalam suasana asam. Secara komersial, penisilin semi-sintetis dihasilkan dari asam 6-aminopenisilinat (6-APA) melalui reaksi kesetimbangan enzimatis dengan penisilin asilase yang hasil reaksinya merupakan campuran dari komponen 6-APA, penisilin G, dan asam fenil asetat (PAA) (Bruggink dkk., 1998; Singh dan Goyal, 2014). Selanjutnya, 6-APA yang diperoleh akan melalui beberapa tahapan, yaitu (1) filtrasi untuk memisahkan miselia dari penisilin, (2) ekstraksi, dan (3) *carbon treatment* untuk memisahkan kontaminan, pemekatan. Dari tahapan tersebut, proses pemurnian (purifikasi) yang terdiri atas: (1) evaporasi, (2) kristalisasi, dan (3) pengeringan dilakukan untuk memperoleh kristal akhir dengan tingkat kemurnian sebesar 90% (Brown dan Peterson, 1950; Harvey dkk., 2018; US3900488A, 1972).

Hingga saat ini, proses pemisahan 6-APA telah sangat berkembang. Berbagai metode, di antaranya telah diteliti untuk tujuan efisiensi proses, seperti elektrodialisis pada arus konstan (Chen dkk., 1995), karbon aktif (Dutta dkk., 1997), ekstraksi reaktif untuk pemisahan menggunakan *liquid membrane* (Ghosh dkk., 1996), enzymatic hollow fiber (Wenten dan Widiasta, 2002), oksidasi superkritik (Yabalak dkk., 2016), integrasi mikrofluidisasi reaktor-separator dua fasa, dan integrasi ekstraksi tiga fasa dengan *solvent sublation* (Shen dkk., 2006). Kesemua proses tersebut seluruhnya tetap memerlukan tahapan kunci evaporasi, kristalisasi, dan pengeringan. Secara spesifik, proses evaporasi dapat ditujukan untuk tiga hal, yaitu memperoleh larutan dengan konsentrasi yang lebih tinggi, zat yang lebih murni, atau bahan dalam fase uap untuk diproses (Brown dan Peterson, 1950; McCabe dkk., 1985). Terkait dengan evaporasi 6-APA, proses ditujukan untuk memperoleh larutan yang lebih tinggi konsentrasinya (untuk dikristalkan) melalui penguapan pelarut. Temperatur dan tekanan dari larutan 6-APA/penisilin G/ PAA merupakan hal yang penting untuk diperhatikan karena pemanasan yang terlalu berlebih dari larutan 6-APA dapat menyebabkan terdegradasinya aktifitas senyawa tersebut. Di sisi lain, peningkatan temperatur akan memberikan penguapan yang lebih cepat oleh karena meningkatnya laju penguapan pelarut (Brown dan Peterson, 1950; Cao dkk., 2001). Serupa dengan pengaruh temperatur, tekanan yang lebih rendah akan meningkatkan temperatur didih sehingga pemekatan berjalan lebih cepat. Dikarenakan hal-hal

tersebut, maka pada umumnya evaporasi larutan 6-APA akan diselenggarakan pada kondisi vakum. Sampai saat ini, seberapa jauh pengaruh dari tekanan dan temperatur terhadap proses evaporasi 6-APA belum pernah dipublikasikan secara mendetail untuk keperluan penelitian umum sehingga perlu dicari kondisi dan metode evaporasi yang tepat.

METODE PENELITIAN

Material

Penisilin G (kemurnian 96,0% dalam bentuk garam natrium), asam 6-aminopenisilinat (6-APA) dengan kemurnian 96%, dan asam fenil asetat (PAA) dengan kemurnian 96% yang digunakan dalam studi ini diperoleh dari Sigma Chemical & Co. Air terdistilasi digunakan secara menyeluruh untuk eksperimen ini.

Variasi

Variasi percobaan evaporasi dilakukan dengan kondisi: (1) tekanan -100mmHg dan rentang temperatur 30-65°C dan (2) temperatur 50°C dengan rentang tekanan -300mmHg hingga -50mmHg. Evaporasi dilakukan dengan menggunakan control rotary evaporator IKA RV 3V, sedangkan pengeringan kristal dilakukan pada desikator vakum Duran berdiameter 60 cm selama 36 jam.

Preparasi Larutan Model

Sebanyak 312,5 mg 6-APA, 17,4 mg penisilin G, dan 17,4 mg PAA dilarutkan ke dalam 25 mL larutan dapar fosfat pH 7,5 sehingga diperoleh jumlah mol masing-masing senyawa 1,447 mmol, 0,047 mmol, dan 0,128 mmol. Kemudian, pH larutan diatur tetap pada pH 7,5 dengan penambahan 2,5N NaOH. Sebagian kecil (sekitar 1mL) sampel larutan model diambil untuk analisis HPLC.

Prosedur Evaporasi, Kristalisasi, dan Pengeringan

Evaporasi vakum dilakukan pada temperatur yang diinginkan dengan volume kerja sebanyak 25 mL larutan model pada labu 100 mL. Evaporasi vakum dimulai pada saat pompa vakum dijalankan dengan tekanan yang ditentukan. Pemanasan ini dilakukan hingga larutan akhir setengah dari volume mula-mula. Pada tahap ini, waktu evaporasi dicatat dan 10 mL larutan akhir diambil untuk kristalisasi sedangkan sisanya digunakan untuk analisis HPLC. Prosedur kristalisasi ini sesuai dengan paten (US3900488A, 1972).

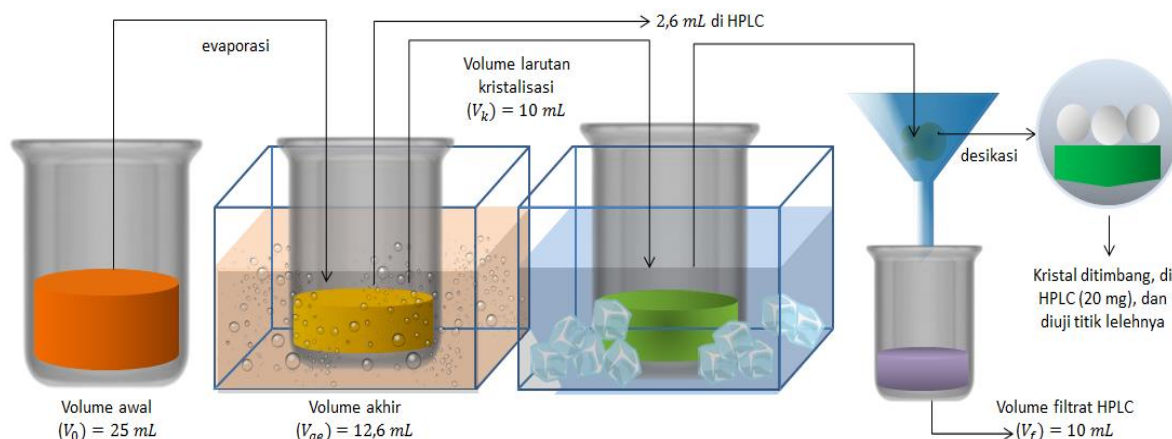
Untuk kristalisasi, sebanyak 10 mL larutan akhir evaporasi didinginkan pada suhu 5°C disertai penambahan asam 5N HCl hingga pH 4,3. Filtrat yang terbentuk dianalisis menggunakan HPLC, dan kristal 6-APA dicuci menggunakan air dingin dan aseton secara berturut-turut, masing-masing sebanyak 10 mL. Kristal dikeringkan pada desikator dan massanya ditimbang. Selanjutnya, sejumlah

massa kristal yang diketahui dilarutkan dalam larutan penyangga fosfat pH 7,0 untuk analisis HPLC. Detail keseluruhan prosedur evaporasi dan kristalisasi ditunjukkan dalam Gambar 1.

Analisis Konsentrasi Penisilin G, 6-APA, dan PAA menggunakan HPLC

Alat HPLC yang digunakan adalah Biotronik tipe BT8300 dengan mode *reversed phase*. Kolom HPLC adalah bondapak C-18 dengan panjang 300 mm. Pengoperasian dilakukan pada temperatur ruang dan tekanan 87 kg/cm². Sampel yang

dianalisis dengan HPLC meliputi larutan model sebelum dan sesudah evaporasi. Sebelum 10 µL sampel disuntikan ke HPLC, sampel perlu diencerkan dengan penyangga fosfat ber-pH 7,0. Larutan model untuk evaporasi diencerkan 40-60 kali, sedangkan larutan setelahnya diencerkan 10-30 kali agar didapatkan puncak kromatogram yang baik. Panjang gelombang yang digunakan pada HPLC adalah 220 nm (dengan detektor UV). Fase gerak adalah metanol berpenyangga fosfat 0,02 N pada pH 7,0. Perbandingan metanol dengan penyangga adalah 75:25 sedemikian rupa sehingga



Gambar 1. Skema pengambilan sampel dalam penisilin G masih terdeteksi dengan baik dan derajat pemisahan puncak 6-APA dengan PAA cukup besar. Laju alir fase gerak adalah konstan sebesar 1 mL/menit. Untuk waktu retensi hasil pengamatan disajikan dalam tabel berikut:

Tabel 1. Waktu retensi tiga komponen utama yang dipisahkan

Senyawa	Waktu retensi (menit)
6-APA	0,105
PAA	0,110
Penisilin G	0,049

Analisis Titik Leleh Kristal

Titik leleh kristal murni untuk komponen 6-APA, penisilin G, dan PAA diukur dan dibandingkan dengan kristal setelah tahap kristalisasi. Analisis titik leleh diperoleh dari sejumlah bahan yang dimasukkan ke dalam pipa kapiler pada *melting block* yang dilengkapi termometer. Nyala api diatur hingga perubahan skala termometer tidak terlalu cepat. Pengamatan temperatur dilakukan pada saat kristal pertama kali melebur hingga seluruhnya mencair.

Penentuan Konsentrasi Bahan

Konsentrasi akhir evaporasi (C_{ae}) dihitung berdasarkan:

percobaan (tampilan peralatan disederhanakan)

$$C_{ae} = \frac{\text{area akhir evaporasi HPLC}}{\text{area awal evaporasi HPLC}} \times C_0 \quad (1)$$

Dengan C_0 adalah konsentrasi awal diketahui

Penentuan Persen Perolehan

Persen perolehan dapat diketahui melalui persamaan:

$$Y = \frac{\text{massa akhir evaporasi}}{\text{massa awal evaporasi}} \times 100\% \quad (2)$$

Dengan:

Y adalah persen perolehan

Massa akhir evaporasi =

$$C_{ae} \times \text{volume akhir evaporasi } (V_{ae}) \quad (3)$$

Massa awal evaporasi =

$$C_0 \times \text{volume awal evaporasi } (V_0) \quad (4)$$

Perhitungan Massa Kristal 6-APA

Terdapat beberapa definisi perhitungan massa kristal 6-APA, di antaranya:

1. Massa kristal total hasil penimbangan setelah kristalisasi (M_t) yang dihitung melalui:

$$M_t = M_{t0} \times \frac{V_{ae}}{V_k} \quad (5)$$

Dengan:

V_{ae} adalah volume akhir evaporasi

V_k adalah volume larutan yang dikristalisasi (10mL)

M_{t0} adalah massa kristal dari 10 mL larutan hasil evaporasi yang dikristalisasi

2. Massa kristal akhir evaporasi dari data HPLC (M_{ae}) yang dihitung melalui:

$$M_{ae} = C_{ae} \times V_{ae} \quad (6)$$

3. Massa kristal dari kristal yang diuji kemurniannya (M_{uk})

$$M_{uk} = \frac{M_t}{\text{massa kristal yang di HPLC}} \times M_{kh} \quad (7)$$

Dengan:

Massa kristal berdasarkan HPLC

$$(M_{kh}) = \frac{\text{area kristal di HPLC}}{\text{area akhir evaporasi}} \times C_{ae} \times V_k \quad (8)$$

Massa kristal yang di HPLC = 20 mg

4. Massa kristal dari filtrat (M_f) dapat diketahui dengan persamaan:

$$M_f = M_{f0} \times \frac{V_{ae}}{V_k} \quad (9)$$

Dengan:

$$M_{f0} = \frac{\text{area filtrat}}{\text{area akhir evaporasi}} \times C_{ae} \times V_f \quad (10)$$

V_f adalah volume filtrat yang dianalisa (10 mL)

5. Massa kristal dengan dasar neraca massa (M_{nm}) dapat diketahui berdasarkan:

$$M_{nm} = M_{ae} - M_f \quad (11)$$

Penentuan Perolehan Massa terhadap Neraca Massa

Perolehan massa terhadap neraca massa (M_{nm}) diperlukan untuk data massa kristal dari filtrat (M_f), massa kristal total hasil penimbangan setelah kristalisasi (M_t), dan massa kristal dari kristal yang diuji kemurniannya (M_{uk}).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Temperatur dan Tekanan pada Tahap Evaporasi

Pengaruh temperatur pada percobaan ini pertama-tama dikaji berdasarkan perolehan total keseluruhan bahan (6-APA, penisilin G, dan PAA) yang ditunjukkan pada Gambar 2a. Dalam percobaan, kandungan PAA tidak diuji dikarenakan jumlahnya yang sedikit dalam larutan sehingga tidak terdeteksi oleh HPLC. Berdasarkan grafik tersebut, tampak bahwa pola perolehan total menyerupai perolehan senyawa 6-APA karena komponen ini menyusun 90%-berat larutan campuran. Pada temperatur operasi yang rendah (30-35°C), waktu evaporasi yang dibutuhkan lebih lama (140-132 menit) sehingga menyebabkan 6-APA menjadi rusak dan proses tidak efisien. Kerusakan yang terjadi pada komponen 6-APA pada pengondisian ini dapat dibuktikan dengan perolehannya yang rendah (sekitar 55,10% pada 30°C dan 73,58% pada 35°C). Di sisi lain, kenaikan temperatur mempercepat waktu evaporasi karena energi kinetik yang dapat diserap molekul air lebih banyak. Hal ini tentu dapat mencegah degradasi 6-APA dikarenakan waktu evaporasi yang lebih cepat. Meskipun demikian, penggunaan temperatur yang terlalu tinggi (60-65°C) akan tetap menyebabkan sebagian 6-APA terdegradasi walaupun waktu operasinya lebih cepat (46-40 menit), ditunjukkan dengan perolehan 6-APA yang hanya mencapai 62,62% pada 60°C dan 49,23% pada 65°C.

Oleh karena itu, variasi temperatur operasi diturunkan secara perlahan-lahan hingga pada rentang 40-55°C, didapatkan waktu waktu evaporasi yang memadai (rata-rata 65 menit) dan perolehan 6-APA berada di atas 87,5%. Perolehan 6-APA maksimum adalah pada 50°C, dengan nilai 97,46%. Serupa dengan 6-APA, penisilin G merupakan senyawa yang mudah terdegradasi pada temperatur tinggi. Oleh karena itu, rentang temperatur optimum yang memberikan perolehan penisilin G yang tinggi dengan cepat adalah 40-50°C. Perolehan maksimum penisilin G (sekitar 95%) terjadi pada temperatur operasi yang lebih rendah dari 6-APA, yaitu pada 40°C.

Pada percobaan untuk mengetahui pengaruh tekanan, rentang operasi dilakukan -50mmHg hingga -300mmHg yang ditunjukkan pada Gambar 2b. Dari kecenderungan yang teramati, diperoleh bahwa seluruh variasi memberikan perolehan 6-APA dan perolehan total di atas 90%. Perolehan yang cenderung seragam tersebut dikarenakan pada temperatur yang konstan, dan tekanan vakum, waktu evaporasi yang diperlukan relatif sama (sekitar 60 menit) dan 6-APA yang terdegradasi sedikit. Hal ini sesuai dan terkait dengan korelasi antara titik didih pada tekanan vakum yang perubahannya kecil jika dibandingkan pada kondisi tekanan atmosferik. Sebagai contoh, pada tekanan -50 mmHg atau 710 mmHg absolut, titik didih air murni adalah 98,3°C dan pada -300 mmHg (360 mmHg absolut) adalah 80,4°C ("Engineering Toolbox: Water - Boiling

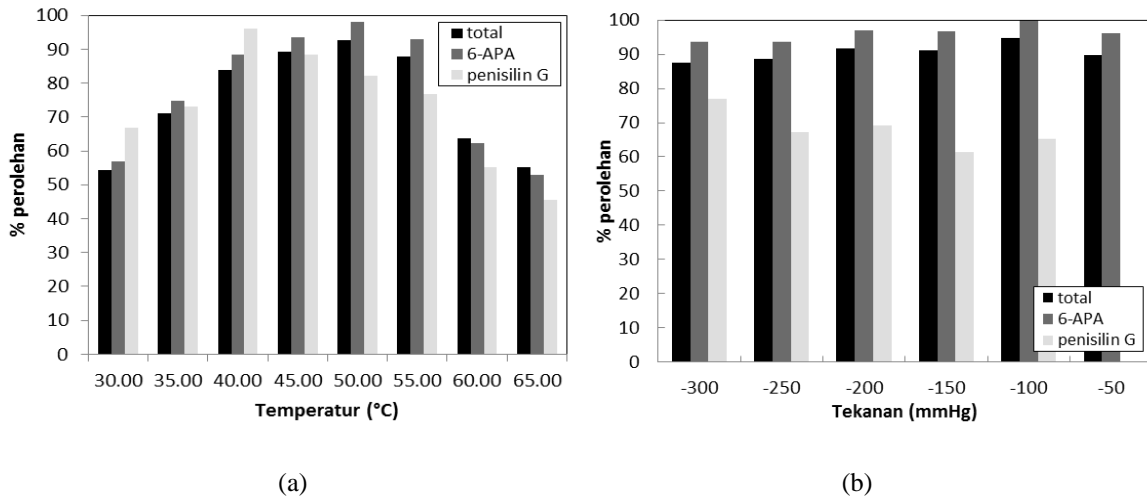
Points at Vacuum Pressure,” 2010). Pada tekanan -100mmHg, diperoleh 6-APA maksimum, yaitu sebesar 97,46%. Pola yang cenderung berbeda nampak pada perolehan penisilin G yang menurun dengan peningkatan tekanan evaporasi, meskipun dalam rentang yang sempit, yaitu sekitar 59,25-81,09%. Hal ini dimungkinkan karena semakin rendah tekanan vakum absolut, maka tekanan parsial di fasa gas akan semakin kecil dan evaporasi lebih mudah dilakukan pada waktu yang sama (Kazemi dkk., 2017). Selain itu, kadar penisilin G yang lebih sedikit dibandingkan 6-APA menyebabkan perubahannya menjadi lebih sensitif.

Kristalisasi Larutan 6-APA/Penisilin G/ 6-APA

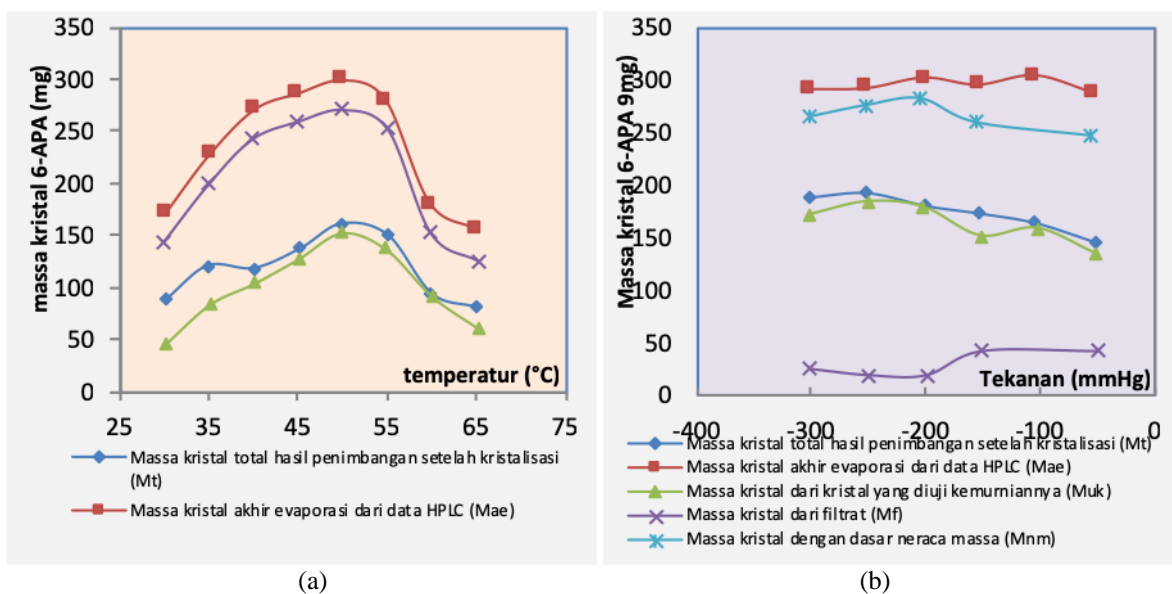
Dalam proses kristalisasi 6-APA, adanya gugus amina dan karboksilat pada molekul 6-APA menyebabkan munculnya sifat amfoter seperti

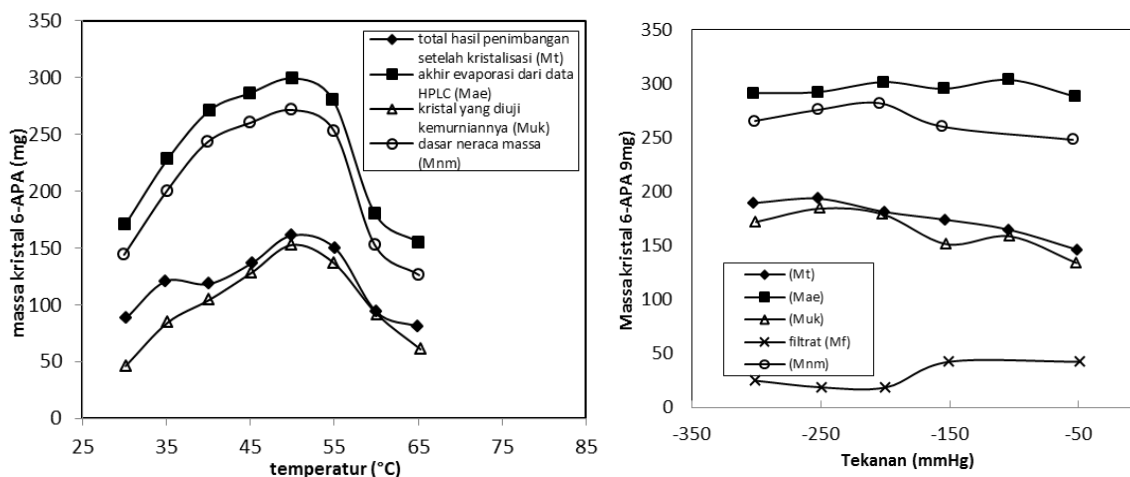
halnya asam amino dan protein. Dengan memperhatikan kesamaan sifat antara 6-APA dan protein, serta terbatasnya data mengenai proses kristalisasi 6-APA, maka karakteristik proses kristalisasi asam amino atau protein diambil sebagai pendekatan. Pada proses kristalisasi, larutan harus berada pada kondisi lewat jenuh, yang dapat dilakukan misalnya dengan menaikkan atau menurunkan temperatur, penambahan garam, penambahan pelarut organik, pengaturan pH, dan/atau kombinasi prosedur-prosedur tersebut (Greenberg, 1951).

Kelarutan 6-APA minimum adalah pada titik isoelektriknya, yaitu pada pI 4.3. Maka dari itu, dengan menurunkan pH hingga 4.3 seperti pada prosedur dalam percobaan ini, akan diperoleh senyawa 6-APA yang berada pada keadaan netral



Gambar 2. Pengaruh (a) temperatur evaporasi dan (b) tekanan operasi terhadap perolehan 6-APA, penisilin G, dan total





Gambar 3. Massa kristal 6-APA untuk (a) pengaruh temperatur dan (b) pengaruh tekanan

Tabel 2. Data kemurnian dan titik leleh pada percobaan variasi temperatur

Temperatur (°C)	Uji kristal (%)	Titik leleh (°C)	Tekanan (mmHg)	Uji kristal (%)	Titik leleh (°C)
30	51,00	206	-50	91,19	205
35	69,18	207	-100	95,22	205-206
40	87,40	206	-150	85,17	206
45	92,03	206-207	-200	98,28	205
50	95,22	205-206	-250	95,35	205-206
55	92,58	204	-300	91,23	205-206
60	96,66	206	-	-	-
65	74,45	206	-	-	-

Temperatur (°C)	Uji kristal (%)	Titik leleh (°C)
30	51,00	206
35	69,18	207
40	87,40	206
45	92,03	206-207
50	95,22	205-206
55	92,58	204
60	96,66	206
65	74,45	206

Tabel 3. Data kemurnian dan titik leleh pada percobaan variasi tekanan

Tekanan (mmHg)	Uji kristal (%)	Titik leleh (°C)
-50	91,19	205
-100	95,22	205-206
-150	85,17	206
-200	98,28	205
-250	95,35	205-206
-300	91,23	205-206

dan jenuh sehingga memungkinkan proses kristalisasi memberikan perolehan 6-APA dengan jumlah yang lebih banyak (Ferreira dkk., 2006; Tewari dan Goldberg, 1988). Hal ini berarti pula bahwa gaya tolak menolak antar molekul 6-APA lebih lemah dibandingkan pada saat molekul

bermuatan (apabila pH dinaikkan dengan penambahan basa atau diturunkan dengan penambahan asam).

Berdasarkan data massa kristal 6-APA yang ditunjukkan pada Gambar 3a dan 3b terdapat dua informasi penting yang dapat diambil. Pertama-

tama, dilihat dari pengaruh temperatur, pola massa kristal yang diperoleh sama dengan persen perolehan yang dijabarkan pada Gambar 2a, dengan massa kristal maksimum pada temperatur 40°C. Pengaruh tekanan pun tidak memberikan perubahan yang berarti bagi massa kristal karena perbedaan perolehan 6-APA dari variasi ini kecil (lihat Gambar 2b). Kedua, meskipun kristalisasi dilakukan pada kondisi yang sama, perolehan kristal terhadap massa kristal dari perhitungan neraca massa memberikan harga yang berbeda. Hal tersebut disebabkan oleh banyaknya kristal yang hilang pada tahap percobaan, seperti pada pengaturan pH menjadi 4,3 (kristal menempel pada elektroda) dan penyaringan. Massa kristal yang hilang dalam hal ini diartikan sebagai massa kristal dari perhitungan neraca massa (M_{nm}) dikurangi dengan massa kristal hasil penimbangan (M_t).

Lebih lanjut, kristal yang diperoleh diuji kemurniannya. Data uji kemurnian kristal diperoleh berdasarkan nisbah perolehan 6-APA (dihitung berdasarkan konsentrasi 6-APA dari data uji kristal dengan menggunakan HPLC) terhadap konsentrasi 6-APA dari penimbangan untuk uji kristal. Pengaruh temperatur dan tekanan terhadap kemurnian dan titik leleh secara berturut-turut disajikan pada Tabel 2 dan 3. Secara umum, titik leleh kristal senyawa organik memiliki daerah titik leleh yang tajam. Hal tersebut berarti bahwa selisih antara temperatur saat padatan mulai meleleh hingga fasenya menjadi cair seluruhnya tidak lebih dari 0,5°C. Keberadaan pengotor akan menyebabkan daerah titik leleh melebar dan titik lelehnya lebih rendah dibandingkan kristal murni. Berdasarkan hal ini, maka peningkatan nilai titik leleh (berkisar antara 204-207°C dari kristal murni 6-APA yang rentangnya 204-205°C) menunjukkan bahwa kristal yang diperoleh tidak murni. Pada satu sisi, variasi tekanan seluruhnya memberikan kemurnian kristal yang tinggi (di atas 90%). Hal tersebut disebabkan oleh komposisi akhir evaporasi 6-APA : penisilin G yang seluruhnya tinggi (sekitar 25:1) dan seragam, sedangkan pada variasi temperatur beberapa hanya memiliki perbandingan 19:1 (di bawah 40°C dan di atas 60°C). Kondisi ini menunjukkan bahwa (1) perubahan tekanan selama pada rentang vakum sangat minim dampaknya terhadap kerusakan senyawa 6-APA sebagai target pemurnian dan (2) pemilihan temperatur pada kondisi vakum perlu dilakukan secara baik dan hati-hati, karena hanya rentang tertentu yang dapat memberikan kemurnian di atas 90%. Misalnya, dalam percobaan ini, hanya tercapai untuk rentang 40-60°C.

KESIMPULAN

Berdasarkan uraian yang telah disebutkan, disimpulkan bahwa pengaruh temperatur lebih dominan dalam menentukan perolehan 6-APA pada proses evaporasi, sedangkan tekanan pada rentang

vakum -300 hingga -50 mmHg memberikan perolehan yang seragam. Data tersebut didukung pula dengan interpretasi kemurnian kristal pada variasi tekanan yang seluruhnya di atas 90% (menunjukkan bahwa komposisi kristal bersifat seragam dan kadar 6-APA nya tinggi). Dengan demikian, maka pengoperasian pada seluruh rentang tekanan vakum tersebut adalah memungkinkan. Kondisi evaporasi yang terbaik adalah pada temperatur 50°C dan tekanan -100mmHg, dengan perolehan 6-APA sebesar 97,46% dan perolehan total 91,76%.

DAFTAR PUSTAKA

- Brown, W. E., dan Peterson, W. H. (1950). Factors Affecting Production of Penicillin in Semi-Pilot Plant Equipment. *Industrial & Engineering Chemistry*, 42(9), 1769–1774. <https://doi.org/10.1021/ie50489a025>
- Bruggink, A., Roos, E. C., dan de Vroom, E. (1998). Penicillin Acylase in the Industrial Production of β -Lactam Antibiotics. *Organic Process Research & Development*, 2(2), 128–133. <https://doi.org/10.1021/op9700643>
- Cao, X. J., Wu, X. Y., dan Wu, T. (2001). Concentration of 6-aminopenicillanic acid from penicillin bioconversion solution and its mother liquor by nanofiltration membrane. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 6(3), 200–204.
- Chen, D.-H., Wang, S.-S., dan Huang, T.-C. (1995). Separation of phenylacetic acid, 6-aminopenicillanic acid and penicillin G with electrodialysis under constant current. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 64(3), 284–292. <https://doi.org/10.1002/jctb.280640311>
- Dutta, M., Baruah, R., dan Dutta, N. N. (1997). Adsorption of 6-aminopenicillanic acid on activated carbon. *Separation and Purification Technology*, 12(2), 99–108. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1383-5866\(97\)00033-6](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1383-5866(97)00033-6)
- Engineering Toolbox: Water - Boiling Points at Vacuum Pressure. (2010). Retrieved December 2, 2019, from https://www.engineeringtoolbox.com/water-evacuation-pressure-temperature-d_1686.html
- Ferreira, J. S., Straathof, A. J. J., Li, X., Ottens, M., Franco, T. T., dan van der Wielen, L. A. M. (2006). Solution Crystallization Kinetics of 6-Aminopenicillanic Acid. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 45(20), 6740–6744. <https://doi.org/10.1021/ie0601652>
- Ghosh, A., Bora, M. M., dan Dutta, N. N. (1996). *Development in Liquid Membrane Separation of Beta-lactam Antibiotics. Bioseparation* (Vol. 6).

- Greenberg, D. M. (1951). *Amino acids and proteins. Theory-methods-application*. Springfield, Illinois, U.S.A. : Charles C. Thomas.
- Harvey, W., Blanch, S. D., Daniel, I., dan C., W. (2018). Book Review: Comprehensive Biotechnology. The Principles, Applications and Regulations of Biotechnology in Industry, Agriculture and Medicine. Editor-in-chief: M. Moo-Young. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 26(6), 588. <https://doi.org/10.1002/anie.198705881>
- Huper, F. (1972). US3900488A. Germany. Retrieved from <https://patents.google.com/patent/US3900488>
- Kazemi, M. A., Nobes, D. S., dan Elliott, J. A. W. (2017). Experimental and Numerical Study of the Evaporation of Water at Low Pressures. *Langmuir*, 33(18), 4578–4591. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.7b00616>
- McCabe, W. L., Smith, J. C., dan Harriot, N. P. (1985). *Unit Operation of Chemical Engineering* (4th ed.). McGraw-Hill.
- Shen, S., Chang, Z., Sun, X., dan Liu, H. (2006). *Process integration for production of 6-aminopenicillanic acid from penicillin G fermentation broth*. *Process Biochemistry* (Vol. 41). <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.10.007>
- Singh, V., dan Goyal, S. G. (2014). Penicillin G Acylase, a biocatalyst and its potential application. *International Journal of Scientific & Engineering Research*, 5(5), 153–158.
- Tewari, Y. B., dan Goldberg, R. N. (1988). Thermodynamics of the conversion of penicillin G to phenylacetic acid and 6-aminopenicillanic acid. *Biophysical Chemistry*, 29(3), 245–252. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0301-4622\(88\)85045-2](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0301-4622(88)85045-2)
- Wegman, M. A., Janssen, M. H. A., van Rantwijk, F., dan Sheldon, R. A. (2001). Towards Biocatalytic Synthesis of β -Lactam Antibiotics. *Advanced Synthesis & Catalysis*, 343(6- 7), 559–576. [https://doi.org/10.1002/1615-4169\(200108\)343:6/7<559::AID-ADSC559>3.0.CO;2-Z](https://doi.org/10.1002/1615-4169(200108)343:6/7<559::AID-ADSC559>3.0.CO;2-Z)
- Wenten, I. G., dan Widiasa, I. N. (2002). Enzymatic hollow fiber membrane bioreactor for penicillin hydrolysis. *Desalination*, 149(1), 279–285. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0011-9164\(02\)00789-0](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0011-9164(02)00789-0)
- Yabalak, E., Gizir, A., dan Ali Döndaş, H. (2016). *Subcritical water oxidation of 6-aminopenicillanic acid and cloxacillin using H2O2, K2S2O8, and O2*. *JOURNAL OF ENVIRONMENTAL SCIENCE AND HEALTH, PART A* (Vol. 0). <https://doi.org/10.1080/10934529.2016.1246935>