

Studi Potensi Isolat Kapang Wonorejo Surabaya dalam Mendegradasi Polimer Bioplastik *Poly Hydroxy Butyrate* (PHB)

Talitha Rahma Nathania, dan Nengah Dwianita Kuswytasari
Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS)
Jl. Arief Rahman Hakim, Surabaya 60111 Indonesia
e-mail: kuswytasari@bio.its.ac.id

Abstrak—PHB merupakan salah satu polimer sintesis berbahan dasar dari sumber daya terbarukan yang oleh aktivitas mikroorganisme akan disintesis menjadi bioplastik. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi isolat kapang tanah Wonorejo Surabaya dalam mendegradasi polimer bioplastik, khususnya golongan *Poly Hydroxy Butyrate* (PHB). Parameter yang digunakan untuk pengamatan adalah skinning rasio zona bening. Dari 21 isolat yang diujikan, terdapat 5 isolat yang mampu menghasilkan zona bening. Terbentuknya zona bening mengindikasikan adanya penguraian polimer PHB dan kopolimernya. *Gliomastix* sp.2 menunjukkan rasio zona bening tertinggi yaitu 0,98 cm, diikuti nilai terbesar hingga terkecil selanjutnya adalah *Chaetomium* sp. (0,97 cm), *Fusarium* sp. (0,94 cm), *Mortierella* sp. (0,89 cm) dan *Paecilomyces* sp.4 (0,86 cm). Pertumbuhan diameter koloni kapang lebih besar daripada diameter zona bening sehingga hasil rasio zona bening menunjukkan nilai < 1 cm.

Kata Kunci— degradasi, isolat kapang, *Poly Hydroxy Butyrate*, zona bening.

I. PENDAHULUAN

Selama kurun waktu 3-dekade terakhir, penggunaan plastik semakin meningkat dalam kemasan makanan, transportasi, konstruksi, kedokteran dan industri [1]. Sebuah informasi menunjukkan bahwa konsumsi plastik (dunia) sebanyak 5 juta ton per tahun pada dekade 50-an dan sekarang penggunaan plastik tersebut mencapai 100 juta ton per tahun [2]. Meningkatnya jumlah permintaan plastik disebabkan karena plastik memiliki banyak kelebihan dibandingkan bahan lainnya. Bahan baku plastik umumnya lebih ringan, bersifat isolator, tahan lama, dan proses pembuatannya lebih murah. Namun dibalik semua kelebihannya, bahan plastik memiliki masalah setelah barang tersebut tidak digunakan lagi. Barang berbahan plastik tidak dapat membusuk, tidak dapat menyerap air, maupun tidak berkarat, dan pada akhirnya tidak dapat diuraikan atau didegradasi dalam tanah sehingga menimbulkan masalah bagi lingkungan [3].

Penelitian untuk mendapatkan plastik alternatif dilakukan oleh para peneliti, sampai akhirnya ditemukan produk plastik yang dihasilkan dari aktivitas mikroorganisme yang disebut bioplastik. Plastik ini adalah jenis plastik yang dalam pemakaiannya mempunyai sifat dan fungsi yang sama dengan plastik konvensional, namun setelah selesai dipakai dan

dibuang ke lingkungan, akan terurai oleh aktivitas mikroba menjadi air dan karbondioksida [4]. Salah satu jenis plastik terdegradasi yang saat ini dikembangkan adalah *Poly Hydroxy Alkanooat* (PHA). Produk golongan PHA yang sangat populer adalah *Poly Hydroxy Butyrate* (PHB). PHB ini merupakan produk plastik terdegradasi yang dihasilkan oleh mikroorganisme secara *in vivo* (dalam sel).

Adanya keunggulan dari plastik terdegradasi ini jika dibandingkan dengan plastik konvensional, mendorong para peneliti untuk mengembangkan dan memproduksi PHB secara komersial sehingga banyak sekali produk plastik yang diklaim sebagai plastik terdegradasi [5]. Bioplastik yang dapat terdegradasi dalam waktu 1-2 tahun, dapat mengalami perlambatan degradasi apabila terdapat perbedaan jenis mikroorganisme, metode produksi, media, cara purifikasi dan campuran zat lain. Adanya perbedaan tersebut menyebabkan perbedaan sifat biodegradabilitasnya [6].

Menurut definisi, biodegradasi polimer adalah polimer yang didegradasi menjadi karbondioksida, air dan biomassa sebagai akibat tindakan dari organisme hidup seperti fungi yang mengkonsumsi materi tersebut [7]. Monomer dari bioplastik PHB terikat oleh ikatan ester sehingga enzim yang mampu untuk memecah ikatan ester tersebut adalah PHB depolimerase dan lipase. Biodegradasi polimer dianggap sebagai salah satu solusi untuk pengelolaan sampah plastik saat ini [8].

Kapang merupakan salah satu dekomposer utama di ekosistem alami dan mampu membentuk koloni di berbagai kondisi lingkungan. Di alam, kapang merupakan agen-agen kausatif utama dalam proses pembusukan kayu, kapas, kertas dan lain-lain [9]. Kapang berhasil digunakan untuk degradasi plastik dan xenobiotik lainnya [10]. Menurut [11], bioplastik dapat didegradasi oleh berbagai jenis kapang seperti Deuteromycetes yakni dari genus *Penicillium* dan *Aspergillus*.

Indonesia memiliki iklim tropik dan lembab yang merupakan lingkungan ideal untuk pertumbuhan kapang [12], salah satunya adalah kawasan Wonorejo di pantai timur Surabaya. Dalam penelitian [13] telah berhasil diisolasi dan dipurifikasi 37 isolat kapang tanah dari Wonorejo Surabaya. Isolat tersebut berasal dari genus *Penicillium*, *Aspergillus*, *Paecilomyces*, *Fusarium*, *Verticillium*, *Trichoderma*, *Scopulariopsis*, *Curvularia*, *Stachybotrys*, *Gliocladium*, *Gliomastix*, *Acremonium*, *Chaetomium*, *Mortierella*, *Absidia*,

Exophiala, dan Cephalophora. Dari 37 isolat tersebut telah dilakukan uji kemampuan spesies dalam menghasilkan lipase. Isolat yang mampu menghasilkan enzim lipase adalah *Aspergillus niger*, *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus flavus*, *Mortierella* sp., *Penicillium* sp.1, *Penicillium* sp.2, *Penicillium* sp.3, *Penicillium* sp.4, *Paecilomyces* sp.1, *Paecilomyces* sp.3, *Paecilomyces* sp.4, *Stachybotrys* sp.1, *Stachybotrys* sp.2, *Fusarium* sp., *Gliomastix* sp.2, *Chaetomium* sp., *Acremonium* sp., *Trichoderma* sp.1, *Trichoderma* sp.2, *Mycelia sterilia* (LM 1040), dan *Mycelia sterilia* (LM 1041). Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan untuk mengetahui potensi isolat kapang tanah tersebut dalam mendegradasi polimer bioplastik.

II. METODE PENELITIAN

A. Tahap Persiapan

Isolat kapang yang digunakan dalam penelitian ini merupakan koleksi Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Jurusan Biologi FMIPA ITS yang diisolasi dari Wonorejo Pantai Timur Surabaya. Isolat-isolat tersebut disubkultur ke dalam medium PDA dan diinkubasi selama 7 hari pada suhu kamar.

A.1 Pembuatan Medium PDA

PDA ditimbang sebanyak 4 gr yang kemudian dilarutkan dalam 100 ml aquades dan dipanaskan hingga larut dan bening di dalam erlenmeyer. Kemudian larutan dimasukkan ke dalam tabung reaksi dengan volume masing-masing 5 ml. Medium disterilisasi dengan autoclave pada suhu 121⁰ C, tekanan 1,5 atm selama 15 menit. Lalu tabung dikeluarkan dan diposisikan miring sebelum agar memadat.

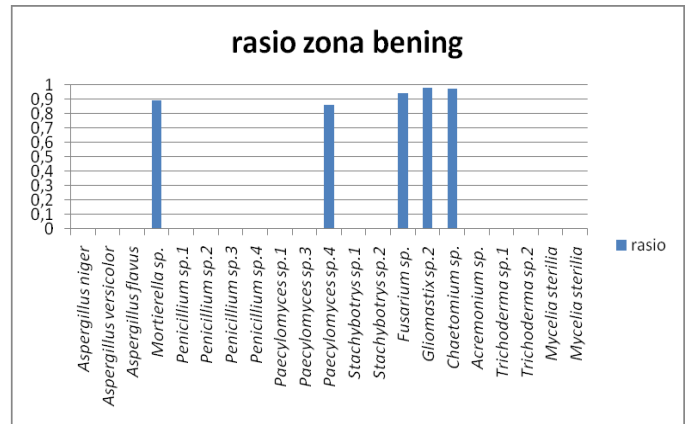
B. Pembuatan Medium Agar Beremulsi Plastik

Pembuatan media agar-agar beremulsikan plastik mengikuti prosedur [6]. Sebanyak satu gram polimer bioplastik PHB dimasukkan ke dalam satu liter medium dasar yang terdiri atas 100 mg ekstrak khamir, 1 g (NH₄)₂SO₄, 200 mg MgSO₄.7H₂O, 0,5 mg Na₂MoO₄.2H₂O, 100 mg NaCl, 20 mg CaCl₂.2H₂O, 10 mg FeSO₄.7H₂O, 0,5 mg MnSO₄, 1,6 g K₂HPO₄, 200 mg KH₂PO₄, 0,05 ml surfaktan Tween 80. Agar-agar sebanyak 20 g ditambahkan ke dalam media teremulsi, media disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121⁰C dan tekanan 1,5 atm, kemudian dituangkan ke dalam cawan Petri.

C. Pertumbuhan Isolat pada Medium Beremulsi Plastik

Isolat kapang yang sudah murni, masing-masing kemudian ditumbuhkan pada medium padat beremulsi plastik pada cawan Petri. Kemudian diinkubasi pada suhu 30⁰ C selama 35 hari. Isolat yang membentuk rasio zona bening kemudian diseleksi lebih lanjut. Rasio zona bening dihitung dengan persamaan :

$$\text{Rasio zona bening} = \frac{\text{diameter zona bening}}{\text{diameter koloni kapang}}$$



Gambar 1. Grafik rasio zona bening pada 21 isolat kapang Wonorejo Surabaya pada medium beremulsi bioplastik PHB.

D. Rancangan Penelitian

Uji skrining biodegradasi polimer dianalisa dengan menggunakan metode deskriptif dengan dua kali pengulangan.

III. HASIL DAN DISKUSI

Kemampuan isolat kapang dalam mendegradasi polimer bioplastik PHB dapat dilakukan dengan menghitung rasio zona bening. Metode zona bening adalah metode yang mudah dan efektif untuk mengetahui penguraian polimer plastik [14]. Zona bening yang terbentuk di sekitar koloni kapang menunjukkan bahwa kapang tersebut mampu mengeluarkan enzim yang dapat melarutkan emulsi plastik, dengan penguraian polimer PHB atau kopolimernya. Menurut [15], zona bening terjadi karena adanya pemotongan rantai polimer yang tak larut oleh enzim depolimerase di sekitar koloni menjadi molekul yang larut dalam air.

Pada saat pengamatan, terlihat bahwa medium padat beremulsi plastik cenderung berwarna putih bening dengan butiran-butiran kecil PHB yang tersebar merata. Sehingga zona bening diindikasikan dengan hilangnya butiran-butiran PHB di sekitar diameter koloni kapang. Untuk mengetahui pertumbuhan kapang dilakukan pengamatan setiap dua hari sekali, dan pada hari keenam pengamatan ternyata sudah terlihat diameter zona bening. Padahal menurut metode [6], rasio zona bening terlihat setelah dilakukan inkubasi selama 35 hari. Setelah hari keenam masa inkubasi, pertumbuhan diameter kapang semakin lebar melebihi diameter zona bening, sehingga sulit melakukan pengamatan rasio zona bening. Oleh sebab itu, masa inkubasi hari keenam digunakan sebagai acuan perhitungan rasio zona bening meskipun diameter zona bening lebih kecil daripada diameter kapang.

Pada Gambar 1 dapat terlihat bahwa dari 21 isolat yang diujikan, terdapat 5 isolat yang menunjukkan aktivitas zona bening. *Gliomastix* sp.2 menunjukkan rasio zona bening tertinggi yaitu 0,98 cm, diikuti nilai terbesar hingga terkecil selanjutnya adalah *Chaetomium* sp. (0,97 cm), *Fusarium* sp. (0,94 cm), *Mortierella* sp. (0,89 cm) dan *Paecilomyces* sp.4 (0,86 cm). Dengan asumsi bahwa semakin besar nilai rasio zona bening, semakin banyak enzim yang disekresikan, maka

urutan tersebut menunjukkan urutan potensi isolat kapang pendegradasi PHB.

Zona bening yang muncul saat pengamatan menunjukkan diameter yang lebih kecil dibandingkan dengan diameter kapang, sehingga hasil rasio zona bening menunjukkan nilai < 1 cm. Menurut [15], pertumbuhan koloni dan pembentukan zona bening isolat tersebut ketika ditumbuhkan dalam medium yang mengandung PHB memperlihatkan perbedaan yang kecil, hal ini mengindikasikan bahwa isolat-isolat tersebut mungkin hanya mensekresikan sejumlah kecil enzim selama pertumbuhannya.

Laju pembentukan zona bening atau laju penguraian PHB adalah fungsi dari empat faktor seperti laju pertumbuhan kapang, sekresi enzim, aktivitas enzim, dan difusi enzim ke media agar. Sifat fisika kimia polimer juga mempengaruhi proses penguraian, seperti komposisi monomer, kristalinitas, dan strukturnya. Konsentrasi agar-agar juga diduga dapat membatasi proses penguraian ketika jumlahnya lebih dari 3% w/v [15].

Studi degradasi enzimatik PHB secara umum berfokus pada pemanfaatan depolimerase. PHB rusak oleh intraseluler PHB (i-PHB) dan ekstraseluler PHB (e-PHB) yang disekresikan oleh mikroorganisme. Enzim ekstraseluler akan memecah ikatan rantai panjang polimer menjadi molekul yang larut dalam air sehingga mampu melintasi membran sel kapang. Sedangkan enzim intraseluler akan mengubah molekul menjadi bentuk yang dapat masuk dalam rangkaian jalur metabolisme seluler. Dalam sistem daur ulang PHB, materi PHB akan didegradasi secara enzimatik menjadi oligomer atau monomer oleh PHB depolimerase, dan menghasilkan senyawa hasil penguraian yang kemudian akan dimanfaatkan oleh mikroorganisme. PHB depolimerase merupakan jenis enzim hidrolase yang secara spesifik bertindak untuk menghidrolisis ikatan *carboxylic ester*. Nama sistematis dari kelas enzim ini adalah *poly [(R)-3-hydroxybutanoate] hydrolase* [16].

Lipase adalah enzim yang berfungsi dalam mengkatalisasi hidrolisis ester asam lemak gliserol. Enzim ini merupakan jenis enzim *watersoluble* yang mampu bereaksi dengan substrat *insoluble*, sehingga enzim ini mampu bereaksi pada substrat yang tidak larut dalam air tetapi larut pada pelarut organik lainnya. Enzim lipase dapat diklasifikasikan berdasarkan spesifikasinya seperti *regioselectivity*, substrat, atau *enantioselectivity*. Regioselektivitas dari lipase berdasarkan pada posisi spesifik terbagi menjadi dua yaitu lipase nonspesifik, bertanggung jawab atas hidrolisis acak dari semua ikatan gliserida yang terbentuk antara asam lemak dan gliserol, serta lipase spesifik 1,3 dengan posisi spesifik pada ikatan ester di posisi 1,3 triasilgliserol. Lipase juga telah diteliti dalam degradasi poliester, dimungkinkan bahwa enzim lipase pertama-tama akan menghidrolisis molekul polimer pada permukaan partikel sehingga terbentuk kompleks enzim-substrat. Laju pengikisan PHB oleh enzim lipase sangat tergantung pada kristalinitas sampel PHB [16].

Penelitian mengenai uji zona bening pada medium beremulsi plastik dan aktivitas enzim PHB depolimerase pada kapang belum banyak dilakukan, sehingga hasil penelitian ini belum bisa dibandingkan dengan penelitian-penelitian sebelumnya. Dari kelima genus isolat kapang tersebut, yang

paling sering ditemukan dalam penelitian degradasi polimer plastik pada medium cair adalah genus *Chaetomium*, *Paecilomyces* dan *Fusarium* [17]. Genus *Gliomastix*, dan *Mortierella* masih belum ditemukan penelitian mengenai degradasi plastik. Sehingga hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai wacana baru tentang potensi kelima isolat tersebut dalam mendegradasi plastik.

Menurut [17], *Aspergillus niger* mempunyai kemampuan dalam mendegradasi plastik. Dimana spesies ini dalam penelitian [18] menunjukkan aktivitas enzim lipase sebesar 0,0063 U/mL. Namun pada uji skrining degradasi plastik PHB, isolat *A. niger* tidak dapat mendegradasi plastik. Ini menunjukkan bahwa perbedaan strain kapang memberikan pengaruh terhadap kuantitas dan aktivitas enzim yang dihasilkan.

IV. KESIMPULAN

Isolat kapang yang diisolasi dari tanah Wonorejo Pantai Timur Surabaya berpotensi dalam mendegradasi polimer *Poly Hydroxy Butyrate* (PHB). Dari 21 isolat yang diujikan terdapat 5 isolat yang mampu menunjukkan aktivitas degradasi melalui parameter rasio zona bening. *Gliomastix* sp.2 menunjukkan rasio zona bening tertinggi yaitu 0,98 cm, diikuti nilai terbesar hingga terkecil selanjutnya adalah *Chaetomium* sp. (0,97 cm), *Fusarium* sp. (0,94 cm), *Mortierella* sp. (0,89 cm) dan *Paecilomyces* sp.4 (0,86 cm). Saran untuk penelitian selanjutnya yaitu perlu dilakukan uji potensi kapang tersebut terhadap plastik sintesis berbahan baku minyak bumi, selain itu pengaruh suhu dan pH dapat dilakukan untuk mengetahui lingkungan optimum kapang dalam mendegradasi PHB.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya, Ibunda dan Ayahanda tercinta yang telah memberikan doa restu dan segala bentuk pengorbanannya baik moril maupun materiil, kakak dan adik yang sangat penulis sayangi, selalu memberi semangat dan dukungan serta teman-teman seperjuangan yang selalu saling memberi semangat dalam berjuang. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya yang telah mendukung penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Kathiresan, K., "Polythene and Plastics-degrading Microbes from The Mangrove Soil. Rev", *Biol. Trop.*, 51 (2003) 629-634.
- [2] Anonim, *Plastics Recycling Information Sheet*, <http://www.wasteonline.org.uk/resources/InformationSheets/Plastics> (11 September 2012).
- [3] Ermawati, R., "Konversi Limbah Plastik sebagai Sumber Energi Alternatif", *Jurnal Riset Industri*, Vol. V, No.3 (2011) 257-269.
- [4] Doi, Y., *Microbial Polyesters*, VCH, NewYork (1990).
- [5] Juari, *Pembuatan dan Karakterisasi Bioplastik dari*

- Poly-3-hidroksialkanoat (PHA) yang dihasilkan Ralstonia eutropha pada Hidrolisat Pati Sagu dengan Penambahan Dimetil Flalat (DMF)*, Skripsi, Departemen Teknologi Industri Pertanian FTP IPB, Bogor (2006).
- [6] Chrisnayanti, E., Efrida M., Rofiq S., Lies D., Hardaning P., dan Yutaka T., “Kerentanan Poliester Alifatik Terhadap Biodegradasi”, *Jurnal Mikrobiologi Indonesia*, Vol 5, No.1 (2000).
- [7] Ursa, K., Jozefa F., and Andrej K., “Polyamide – 6 Fibre Degradation by Lignolytic Fungus”, *Polymer degradation and stability*, 97 (2003) 99-104.
- [8] Leja, K. and G. Lewandowicz, “Polymer Biodegradation and Biodegradable Polimers – a Review”, *Polish J. Of Environ. Stud.*, Vol 19 2 (2010) 255-266.
- [9] Pinzari, F., G. Pasquariello, and A. D. Mico, “Biodeterioration of Paper: A SEM Study of Fungal Spoilage Reproduced Under Controlled Conditions”, *Macromol. Symp*, 238 (2006) 57-66.
- [10] Francesc, X., P. Boldu, R. Summerbell, and G. S. D. Hoog, “Fungi Growing on Aromatic Hydrocarbons: Biotechnology’s Unexpected Encounter with Biohazard”, FEMS, *Microbiol. Rev*, 30 (2006) 109-130.
- [11] Lee K, Gimore D, Huss M, “Fungal Degradation of the Bioplastic PHB (Poly-3-hydroxybutyric acid)”, *J. Polymer Environ*, 13 (2005) 33-40.
- [12] Hawksworth, D.L., “The Fungal Dimension Biodiversity”, *Mycological Research*, 95 (1991) 641-645.
- [13] Kuswytasari, N. D., Shovitri, M., and Andriyadi, R. D., *Soil Molds Diversity in The Coastal Wonorejo Surabaya*, Proceeding International Conference on mathematics and Science (ICOMS), Surabaya (2011).
- [14] Nishida, H. & V. Tokiwa, “Distribution of Polyhydroxybutyrate and Poly- A-Caprolactone Aerobic Degrading Micro Organisms in Different Environments”, *J. Environ. Polym. Degrad*, 1(1993) 227-233.
- [15] Sriwahyono, “Uji Kemampuan Bakteri Termofil Kompos dalam Menguraikan Poly (3-Hydroxybutyrate) dan Kopolimernya dengan Menggunakan Metode Polymer Overlay”, *J.Tek.Ling*, P3TL-BPPT, 5 (2004) 174-186.
- [16] Contreras, A.R., Margarita, C.M., and Maria, S.M., “Enzymatic Degradation of Poly (3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate) by Commercial Lipase”, *Polymer Degradation and Stability*, 97 (2012) 597-604.
- [17] Geweely, N.S and Salama, A.O., “Enhancement of Fungal Degradation of Starch Based Plastic Polymer by Laser Induced Plasma”, *African Journal of Microbiology Research*, 5(2011) 3273-3281.
- [18] Dikma, N., *Seleksi Isolat Kapang Tanah Wonorejo Penghasil Enzim Lipase*, Skripsi, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya (2012).