

Biosintesis biopolimer poli(3-hidroksibutirat) campuran minyak kelapa sawit dan 2-butanol sebagai sumber karbon

Biosynthesis of a biopolymer poly(3-hydroxybutyrate) from a mixture of palm oil and 2-butanol as carbon sources

Akmal Djamaan

Bioteknologi Biota Sumatera, Fakultas Farmasi, Universitas Andalas, Padang

Abstrak

Poli(3-hidroksibutirat) atau [P(3HB)] merupakan senyawa biopolimer dalam sel yang disimpan di dalam sel bakteri tertentu yang berguna sebagai cadangan bahan makanan dan energi bila kondisi lingkungan kurang menguntungkan. Proses ini dikembangkan untuk biosintesis sumber biopolimer baru untuk keperluan bidang farmasi, kedokteran dan industri kemasan ramah lingkungan. Pada penelitian ini dilaporkan bahwa bakteri *Erwinia* sp. USMI-20 yang diisolasi dari tanah ditemukan dapat mengakumulasi P(3HB) di dalam sel nya setelah ditumbuhkan dalam media yang mengandung larutan mineral media dengan campuran minyak kelapa sawit dan 2-butanol sebagai sumber karbon. Proses fermentasi dijalankan dalam labu Erlenmeyer 250 mL yang berisi masing-masing 100 mL media dengan pH 7.0, suhu 30 °C, and penggoncangan 200 rpm selama 48 jam. Polimer yang dihasilkan dilakukan diamati berdasarkan kepada pertumbuhan sel (biomasa) dan kandungan polimer yang dihasilkan menggunakan kromatografi gas. Hasil percobaan menunjukkan bahwa dengan menggunakan campuran minyak kelapa sawit+2-butanol (4,62g/L+0,89g/L) dihasilkan P(3HB) sebesar 50,86% b/b dengan biomasa 5,82g/L; campuran minyak kelapa sawit+2-butanol (4,62g/L+1,65g/L) dihasilkan P(3HB) sebesar 57,77 % b/b dengan biomasa 6,01g/L campuran minyak kelapa sawit+2-butanol (4,62g/L+2,48g/L) dihasilkan P(3HB) sebesar 55,85% b/b dengan biomasa 6,57g/L campuran minyak kelapa sawit+2-butanol (4,62g/L+3,29g/L) dihasilkan P(3HB) sebesar 56,37% b/b dengan biomasa 6,67 g/L dan campuran minyak kelapa sawit+2-butanol (4,62g/L+4,12g/L) dihasilkan P(3HB) sebesar 47,70 % b/b dengan biomasa 6,33g/L

Kata kunci: biopolymer, poli(3-hidroksibutirat), minyak kelapa sawit dan 2-butanol

Abstract

Polyhydroxybutyrate [P(3HB)] are synthesized as carbon and energy reserve materials by many types of microorganisms under certain environmental condition. These biosynthetic polyesters have much received attention as they can be considered to be a source for developing novel biodegradable plastic materials for pharmaceutical, medical and biodegradable packages industries. In this case, *Erwinia* sp. USMI-20, a locally soil isolated microorganism has been found to accumulate P(3HB) in its cells during growth on mineral-media with a mixture of palm oil and 2-butanol as carbon source. Fermentation process was conducted through a feedbatch cultivation under aerobic condition at pH 7.0, incubation temperature 30 °C, and agitation rate of 200 rpm for 48 hours. The characterization of the polymer production was based on cell growth (biomass) and polymer content detected by a gas chromatography methode. Result showed that from a mixture of palm oil:2-butanol (4.62g/L+0.89g/L) produced P(3HB) of 50.86 %w/w with biomass of 5.82g/L; a mixture of palm oil:2-butanol

(4.62g/L+1.65g/L) produced P(3HB) of 57,77% w/w with biomass of 6.01g/L, a mixture of palm oil:2-butanol (4.62g/L+2.48g/L) produced P(3HB) of 55.85% w/w with biomass of 6.57g/L, a mixture of palm oil:2-butanol (4.62g/L+3.29 g/L) produced P(3HB) of 56.37% w/w with biomass of 6.67g/L and a mixture of palm oil:2-butanol (4.62g/L+4.12g/L) produced P(3HB) of 47.70% w/w with biomass of 6.33g/L

Key words: biopolymer, poly(3-hydroxybutyrate), palm oil, and n-butanol.

Pendahuluan

Poli(3-hidroksibutirat) atau P(3HB) adalah biopolimer yang dewasa ini banyak digunakan dalam bidang farmasi dan medis, yaitu sebagai zat pembawa sediaan obat lepas lambat (*sustained release drug*), matriks untuk memperbaiki rekahan tulang, benang jahit operasi, sumber senyawa kiral untuk obat-obatan dan memperbaiki struktur kulit pada operasi plastik (Rezwan *et al.*, 2006; Nubia *et al.*, 2007; Gonzalez-Garcia *et al.*, 2008; Williams *et al.*, 1999).

Di beberapa negara maju seperti Inggris, Jepang, Jerman, Korea Selatan dan Amerika Serikat telah mulai dikembangkan penggunaan biopolimer ini sebagai bahan kemasan plastik untuk mengurangi pencemaran lingkungan yang disebabkan oleh plastik sintesis selama ini (Page, 1995; Doi, 1990; Djamaan, 2011). Di Indonesia, upaya ke arah itu belum banyak mendapat perhatian sehingga kerusakan lingkungan yang terjadi pada saat ini sangat mengkhawatirkan.

Untuk mencari solusi permasalahan tersebut di atas, berbagai kajian dan usaha telah dilakukan, antara lain menghasilkan plastik yang ramah lingkungan atau mudah terurai (*biodegradable plastic*) (Lee, 1996). Salah satu cara yang banyak diteliti adalah fermentasi menggunakan bakteri penghasil biopolimer poli(3-hidroksialkanoat), P(3HA). Diketahui bahwa bakteri tertentu menghasilkan P(3HA) di dalam selnya yang berfungsi sebagai cadangan makanan dan energi pada kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan, misalnya: kekurangan nitrogen dan fosfat (Anderson and Dawes, 1990). Biopolimer yang dihasilkan oleh bakteri tersebut, dapat diekstrak keluar dari selnya dan diproses lebih lanjut sesuai dengan keperluan yang diinginkan.

Dari kelompok P(3HA), polimer poli(3-hidroksibutirat), P(3HB) adalah yang paling banyak diteliti dan dihasilkan oleh berbagai

mikroorganisma (Majid *et al.*, 1994). Hal ini disebabkan oleh karena P(3HB) mempunyai sifat 100 % mudah terurai dalam jangka waktu tertentu bila dibuang ke lingkungan (Djamaan *et al.*, 2003).

Pada percobaan ini, diteliti penggunaan campuran minyak kelapa sawit dengan 2-butanol sebagai sumber karbon pada untuk memproduksi P(3HB) secara fermentasi menggunakan bakteri *Erwinia* sp. USMI-20. Dari penelitian terdahulu bakteri ini telah terbukti dapat menghasilkan P(3HB) dari sumber karbon minyak kelapa sawit tunggal (Djamaan, 2004). Minyak kelapa sawit digunakan adalah untuk mencari sumber karbon alternatif yang lebih murah sebagai pengganti glukosa yang selama ini digunakan, sehingga biaya produksinya dapat diturunkan. Sementara itu, penggunaan 2-butanol sebagai inducer pembentukan komponen 3-hidroksibutirat pada tahap awal fermentasi, karena secara teoritis 2-butanol lebih mudah diubah oleh bakteri menjadi 3-hidroksibutirat dibandingkan dengan asam-asam lemak yang berasal dari minyak kelapa sawit yang cukup kompleks (Eggink *et al.*, 1992; Fukui dan Doi, 1998).

Metodologi

Penyiapan Bakteri penghasil P(3HB)

Sebagai mikroorganisma penghasil pada percobaan ini, adalah bakteri *Erwinia* sp. USMI-20. Karakteristik dan kemampuannya menghasilkan P(3HB) telah dilaporkan oleh Majid *et al.*, (1999). Stok murni bakteri ditumbuhkan dalam medium Nutrien Agar dalam media agar-miring, diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37 °C selama 24 jam, kemudian disimpan didalam lemari es. Sebelum digunakan bakteri dari stok murni ini, diremajakan terlebih dahulu menggunakan media cair Nutrient Broth selama 30 jam, dan kemudian ditentukan kerapatan bakterinya dengan alat Spectronic UV/VIS sehingga diperoleh kepekatan dengan nilai transmitan 25% (Djamaan, 2010).

Kondisi Fermentasi

Proses fermentasi dijalankan dalam labu Erlenmeyer 250 mL yang berisi masing-masing 100 ml media dengan pH 7.0, suhu 30 °C, and penggoncangan dalam alat *Rotary Shaker Incubator* 200 rpm selama 48 jam. Jumlah inokulum bakteri penghasil P(3HB) terhadap volume medium fermentasi adalah sebesar b3% v/v. (Djamaan, 2004). Bakteri *Erwinia* sp. USMI-20 ditumbuhkan dalam medium mineral yang mengandung minyak kelapa sawit dan 2-butanol sebagai sumber karbon dengan formula, sebagai berikut :

Formula 1: minyak kelapa sawit:2-butanol= 4,62g/L: 0,89g/L; Formula 2: minyak kelapa sawit:2-butanol = 4,62g/L: 1,65g/L; Formula 3: minyak kelapa sawit:2-butanol = 4,62g/L: 2,48g/L; Formula 4: minyak kelapa sawit:2-butanol = 4,62 g/L: 3,29g/L Formula 5: minyak kelapa sawit: 2-butanol = 4,62g/L: 4,12g/L

Komposisi medium mineral yang digunakan untuk satu liter air suling adalah sebagai berikut: 3,7 g KH_2PO_4 ; 5,8 K_2HPO_4 ; 1,1 g $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$; 10 ml larutan $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,1 M dan 1 ml larutan unsur mikro. Larutan unsur mikro terdiri atas: 2,78 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 1,98 g $\text{MnCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 2,81 g $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 1,67 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 0,17 g $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 0,29 g $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dalam 1 liter asam klorida 0,1 M (Majid *et al.*, 1999).

Penentuan Kandungan polimer

Fermentasi dilakukan selama 48 jam, kemudian cairan fermentasi disentrifugasi dengan kecepatan 15.000 rpm untuk memisahkan sel bakteri dan sisa media fermentasi. Kemudian selnya dibekukan (*freeze drying*) selama 24 jam dan beratnya ditimbang sebagai data biomassa sel.

Kandungan P(3HB) di dalam sel ditentukan dengan metode kromatografi gas setelah P(3HB) diubah menjadi 3-hidroksi metil ester dengan cara metolisis (esterifikasi) menggunakan metanol-kloroform dalam asam sulfat pekat sambil dididihkan selama 4 jam (Braunegg *et al.*, 1978). Kolom yang digunakan adalah Supelcowax (panjang 30 m dengan diameter 0,32 mm) dan detektor FID (Flame Ionisation Detector). Sebagai pembanding digunakan standar P(3HB) original (Aldrich Chemical).

Hasil dan Pembahasan

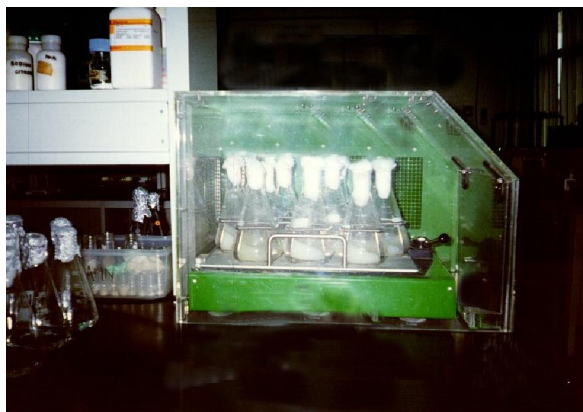
Gambar 1 memperlihatkan proses biosintesis biopolimer P(3HB) menggunakan alat *rotary shaker incubator*. Dalam kajian ini proses fermentasi dijalankan di dalam labu Erlenmeyer berkapasitas 500 ml yang masing-masingnya berisi 100 ml medium mineral yang mengandung minyak kelapa sawit dan 2-

butanol sebagai sumber karbon. Pengaturan pH hanya dilakukan pada awal preparasi medium dan proses fermentasinya dengan sekelompok (*batch*). Jumlah minyak kelapa sawit yang ditambahkan ke dalam medium adalah dengan jumlah yang tetap yaitu 4,62 g/L, sedangkan jumlah 2-butanol bervariasi. Tujuannya adalah untuk mengetahui berapa jumlah 2-butanol optimum yang perlu ditambahkan untuk mendapatkan kandungan polimer P(3HB) tertinggi.

Hasil fermentasi menunjukkan bahwa biomasa tertinggi diperlihatkan oleh komposisi substrat fermentasi yang mengandung campuran minyak kelapa sawit 4,62g/L dengan 3,29g/L kosubstrat 2-butanol, yaitu dengan berat 6,67g/L. Namun nilai biomasa ini tidak terlalu berbeda dengan jumlah 2-butanol 2,48g/L (Tabel I) . Dengan demikian perlu dilihat jumlah kandungan polimernya sebagai perbandingan, untuk memilih di antara keduanya mana yang lebih baik.

Kandungan polimer P(3HB) dalam sel bakteri *Erwinia* sp. USMI-20 dalam percobaan ini ditentukan dengan alat kromatografi gas. Sampel berupa biomassa sel bakteri terlebih dahulu dilakukan metanolisis dengan penambahan metanol, kloroform dan asam sulfat pekat. Tujuan metanolisis adalah untuk mengubah monomer 2-hidroksibutirat menjadi bentuk esternya yaitu 3-hidroksi metil ester yang dapat dideteksi oleh kolom kromatografi gas (Braunegg, 1978), seperti ditunjukkan pada Gambar 2.

Tabel II, menunjukkan pengaruh perbedaan komposisi sumber karbon yang digunakan terutama jumlah 2-butanol terhadap jumlah polimer dan prosentase polimer P(3HB) yang diakumulasi di dalam sel bakteri *Erwinia* sp. USMI-20. Secara keseluruhan, dari lima komposisi sumber karbon yang digunakan dalam percobaan ini, dihasilkan jumlah polimer P(3HB) antara 2,96-3,76 g/L dengan prosentase antara 47,70-57,77%b/b. Nilai ini cukup tinggi, yang sekitar 50% dari berat sel bakteri tersebut adalah biopolimer P(3HB). Menurut Page (1995), di dalam sel bakteri penghasil P(3HB), biopolimer tersebut disimpan berupa granula-granula cadangan makanan yang tersebar dan berenang-renang di dalam cairan sitoplasma.



Gambar 1. Proses biosintesis biopolimer P(3HB) menggunakan bakteri *Erwinia* sp. -20 dalam medium mineral yang mengandung sumber karbon kelapa sawit 4,62 g/L dan 2-butanol dengan berbagai variasi konsentrasi pada suhu 30°C, pH 7, agitasi 200 rpm selama 48 jam, menggunakan alat *rotary shaker incubator*.

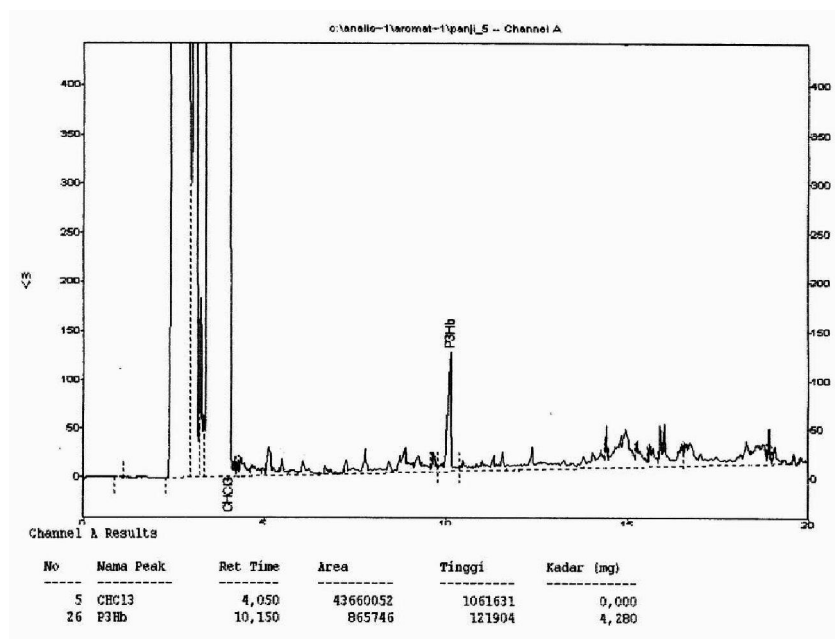
Tabel 1. Data pertumbuhan sel bakteri (biomasa) *Erwinia* sp. USMI-20 dalam medium mineral yang mengandung sumber karbon minyak kelapa sawit 4,62 g/l dan 2-butanol dengan berbagai variasi konsentrasi pada suhu 30°C, pH 7, agitasi 200 rpm selama 48 jam.

(j)	Sumber Karbon minyak Kelapa Sawit 2-butanol		Biomasa (g/L)
	(g/L)	(g/L)	
1	4,62	0,89	5,82
2	4,62	1,65	6,01
3	4,62	2,48	6,57
4	4,62	3,29	6,67
5	4,62	4,12	6,33

Granul cadangan makanan ini akan digunakan kembali oleh bakteri tersebut bila kondisi lingkungan kurang menguntungkan atau kehabisan sumber makanan. Sementara itu, Doi (1990) menyatakan pada bakteri *Ralstonia eutropha*, kandungan polimer di dalam selnya dapat mencapai 85% dari berat selnya bila dikulturkan dalam medium yang mengandung glukosa sebagai sumber karbonnya. Granul bioplastik ini dapat dilihat dengan jelas di bawah mikroskop elektron transmisi.

Untuk mengetahui kandungan polimer di dalam sel bakteri, ditentukan dengan kaedah kromatografi gas (Gambar 2). Sebagai baku dalaman (internal standard) digunakan asam kaproat metil ester. Kandungan P(3HB) dihitung dengan cara membandingkan nisbah

luas daerah di bawah kurva P(3HB) terhadap baku dalaman. Nisbah tersebut digunakan untuk menghitung kandungan polimer yang dihasilkan, terhadap senyawa baku P(3HB) yang telah diketahui beratnya. Pada Tabel II dan Gambar 3, dapat dilihat bahwa komposisi sumber karbon yang menghasilkan jumlah polimer paling tinggi adalah minyak kelapa sawit 4,62g/L+ 2-butanol 3,29g/L yaitu dengan jumlah polimer 3,76g/L. Akan tetapi bila dilihat prosentase polimer di dalam sel, ternyata komposisi sumber karbon yang memberikan prosentase tertinggi adalah minyak kelapa sawit 4,62g/L+2-butanol 1,65g/L. Hal ini disebabkan oleh perbedaan jumlah biomasa keduanya setelah pengkulturan dalam medium dengan komposisi



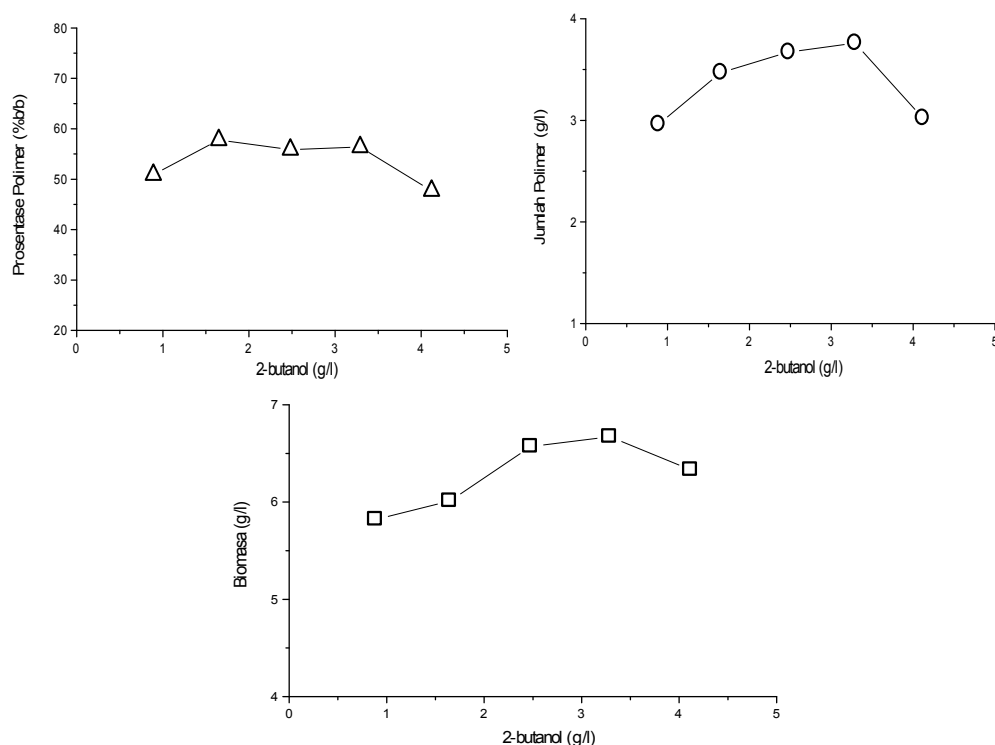
Gambar 2. Contoh kromatogram kromatografi gas untuk mendeteksi kandungan biopolimer P(3HB) di dalam sel bakteri *Erwinia* sp. USMI-20. Monomer 3-hidroksimetil ester terdeteksi pada waktu retensi 10,15 menit.

Tabel II Jumlah polimer dan prosentase kandungan polimer P(3HB) yang dihasilkan oleh *Erwinia* sp. USMI-20 dalam medium mineral yang mengandung sumber karbon minyak kelapa sawit 4,62 g/L dan 2-butanol dengan berbagai variasi konsentrasi pada suhu 30°C, pH 7, agitasi 200 rpm selama 48 jam.

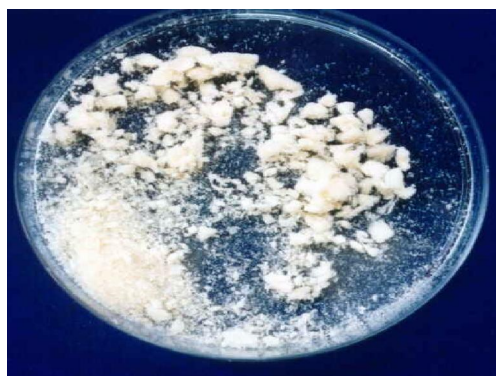
(j)	Sumber Karbon		Jumlah Polimer (g/L)	Prosentase Polimer (%b/b)
	Minyak Kelapa Sawit (g/L)	2-butanol (g/L)		
1	4,62	0,89	2,96	50,86
2	4,62	1,65	3,47	57,77
3	4,62	2,48	3,67	55,85
4	4,62	3,29	3,76	56,37
5	4,62	4,12	3,02	47,70

sumber karbon yang berbeda. Berdasarkan fakta ini, untuk produksi P(3HB) dengan kapasitas volume media yang lebih besar sebaiknya dipilih komposisi sumber karbon dengan penambahan 2-butanol yang lebih kecil yaitu 1,65g/L dengan prosentase 57,77% b/b sehingga biaya produksi dapat lebih rendah terutama biasa untuk pengadaan sumber karbon.

Minyak kelapa sawit mengandung banyak sumber karbon berupa asam lemak, antara lain: asam palmitat (40%), asam oleat (43%), asam linoleat (13%), dan asam stearat (4%) (Madjid, 1994). Secara teoritis, untuk dapat menghasilkan P(3HB), bakteri penghasil bioplastik terlebih dahulu berupaya mengubah asam-asam lemak tersebut menjadi asetil-CoA dengan bantuan enzim β -oksidase.



Gambar 3. Profil biomasa sel bakteri *Erwinia* sp. USMI-20, jumlah polimer dan prosentase polimer yang dihasilkan setelah pengkulturan dalam medium mineral yang mengandung minyak kelapa sawit 4,62 g/L dan 2-butanol dengan berbagai variasi konsentrasi.



Gambar 4. menunjukkan bentuk sel bakteri (biomasa) *Erwinia* sp. USMI-20 setelah dikeringkan menggunakan alat *freeze drier*.

Selanjutnya dengan perantaraan enzim 3-ketotiolase akan menggabungkan dua molekul asetil-koA membentuk asetoasetil-koA. Sementara itu penambahan 2-butanol sebagai sumber karbon kedua akan menginduksi pembentukan 2 molekul asetil-koA. Tahap

berikutnya yaitu pembentukan 3-hidroksibutirilkoA dari asetoasetilkoA dengan bantuan enzim asetoasetilkoA reduktase. Akhirnya, 3-hidroksibutiril-koA membentuk senyawa poli(3-hidroksibutirat), P(3HB) dengan aktivitas enzim P(3HB) sintase.

Penelitian ini mempunyai prospek cerah untuk dilanjutkan ke tahap optimasi dan produksi P(3HB) skala pilot dalam upaya menghasilkan senyawa bioplastik yang ramah lingkungan. Di samping itu juga merupakan terobosan baru dalam rangka diversifikasi pemanfaatan minyak kelapa sawit yang banyak dihasilkan oleh negara kita.

Kesimpulan

Hasil percobaan produksi P(3HB) secara fermentasi menggunakan bakteri *Erwinia* sp. USMI-20 menunjukkan bahwa dengan menggunakan campuran minyak kelapa

sawit+2-butanol (4,62 g/L+0,89 g/L) dihasilkan P(3HB) sebesar 50,86% b/b dengan biomasa 5,82 g/L; campuran minyak kelapa sawit+2-butanol (4,62g/L+1,65g/L) dihasilkan P(3HB) sebesar 57,77% b/b dengan biomasa 6,01g/L campuran minyak kelapa sawit+2-butanol (4,62g/L+2,48g/L) dihasilkan P(3HB) sebesar 55,85% b/b dengan biomasa 6,57g/L campuran minyak kelapa sawit+2-butanol (4,62g/L+3,29g/L) dihasilkan P(3HB) sebesar 56,37% b/b dengan biomasa 6,67g/L dan campuran minyak kelapa sawit+2-butanol (4,62g/L+4,12g/L) dihasilkan P(3HB) sebesar 47,70% b/b dengan biomasa 6,33 g/L.

Daftar pustaka

- Anderson, A. J. and Dawes, E. A. (1990), Occurrence, metabolism, metabolic role, and industrial uses of bacterial of polyhydroxy alkanoates, *Microbiol. Rev.* 54: 450-472.
- Braunegg, G., Sonnleitner, B. and Lafferty, R. M. (1978). A rapid gas chromatography method for the determination of poly- β -hydroxybutyric acid in microbial biomass. *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 6: 29-37.
- Djamaan, A., M.N. Azizan and M.I.A. Majid, 2003. Biodegradation of Microbial Polyesters P(3HB) and P(3HB-co-3HV) under The Tropical Climate Environment, *Int. J. Polym. Degrad. Stab.* 80: 513-518.
- Djamaan, A. 2004. Penghasilan dan Pencirian P(3HB) dan P(3HB-ko-3HV) dari Berbagai Sumber Karbon oleh *Erwinia* sp USMI-20. *Tesis Doktor Falsafah*. Penang: Universitas Sains Malaysia.
- Djamaan, A. 2010. Mikroorganisme dan Penggunaannya dalam Berbagai Bidang. Andalas University Press, Padang.
- Djamaan, A. 2011. Konsep Produksi Biopolimer P(3HB) dan P(3HB-ko-3HV) Secara Fermentasi, Andalas University Press, Padang.
- Doi, Y. 1990. Microbial Polyester, UCH Publ. Inc. New York.
- Eggink, g., de Waard, P. and Huijberts, G. N. M. (1992). The role of fatty acid biosynthesis and degradation in the supply of substrates for poly(3-hydroxyalkanoate) formation in *Pseudomonas putida*. *FEMS Microbiol. Rev.* 103: 159-164.
- Fukui, T. and Doi, Y. (1998). Efficient production of polyhydroxyalkanoates from plant oil by *Alcaligenes eutrophus* and its recombinant strain. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 49: 333-336.
- Gonzalez-Garcia, Y., Nungaray J., Córdova J., González R., Koller M., Atlic M. & Braunegg G. 2008. Biosynthesis and Characterization of Polyhydroxyalkanoates in The Polysaccharide-degrading Marine Bacterium *Saccharophagus degradans* ATCC 43961, *J. Indian Microbiol. Biotechnol.*, DOI 10.1007/s10295-007-0299-0
- Lee, S. Y. (1996). Bacterial polyhydroxyalkanoates, *Biotechnol. Bioeng.* 49: 1-14.
- Majid, M. I. A., Akmal, D., Few, L. L., Agustien, A., Toh, M. S., Samian, M. R., Najimudin, N. & Azizan, M. N. 1999. Production of Poly(3-hydroxybutyrate) and Its Copolymer Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) by *Erwinia* sp. USMI-20. *Int. J. Biol. Macromol.* 25: 95-104.

- Majid, M.I.A., K. Hori., M. Aklyama & Y. Doi. 1994. Production of Poly(3-Hydroxybutyrate) from Plant Oil by *Alcaligenes sp.* *Biodegradable Plastics and Polymers*, Elsevier Science B. V, Amsterdam.
- Nubia M., Ivonne M., Dionisio M., Victoria G., Dolly R., Diego S., Juan G., Fabio A., Armando E and Dolly M. 2007. Bioprospecting and characterization of poly-hydroxyalkanoate (PHAs) producing bacteria isolated from Colombian sugarcane producing areas, *African J. of Biotechnol.*, 6 (13)1536-1543.
- Page, W.J. 1995. Bacterial Polyhydroxyalkanoates, Natural Biodegradable Plastic with a Great Future. *Canadian J. Microbiol.* 41(suppl.1): 1-3
- Rezwan K., Q. Z. Chen., J. J. Blaker & A. R Boccaccini. 2006. Biodegradable and Bioactive Porous Polymer/Inorganic Composite Scaffolds for Bone Tissue Engineering. *Biomaterials*, 27: 3413-3431
- Williams, S. F., Martin, D. P., Horowitz, D. M & Peoples, O. P. 1999. PHA Application: Addressing the Price Performance Issue I. Tissue Engineering. *Int. J. Biol. Macromol.* 25: 111-121.

Akmal Djamaan
Fakultas Farmasi, Universitas Andalas, Padang
Email :akmaldjamaan@yahoo.co.id.
08126667 6566