

## PRODUKSI BIOPLASTIK POLI (3-HIDROKSIBUTIRAT) (P(3HB)) SECARA PROSES FERMENTASI MENGGUNAKAN BAKTERI *Bacillus brevis* FAAC-20801 DARI MINYAK KELAPA SAWIT SEBAGAI SUMBER KARBON

Krisyanella<sup>1</sup>, Mimi Susanti<sup>1</sup>, dan Akmal Djamaan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi (STIFARM) Padang

<sup>2</sup>Fakultas Farmasi Universitas Andalas Padang

### Abstract

The production of bioplastic P(3HB) with fermentation process by *Bacillus brevis* FAAC-20801 from palm oil as carbon has been carried out.. The fermentation process was conducted through at pH 7, 37°C and agitation rate of 200 rpm for 60 hours. The characterization of the bioplastic production was based on cell growth, P(3HB) content and P(3HB) percentage. Results showed that the optimum time was 48 hours, with fermentation biomass 277 mg, P(3HB) content of 7.2 mg/ 20 mg biomass (36 % b/b). Fermentation process in bioreactor produced P(3HB) higher than in *rotary shaker incubator*.

**Keyword :** *Bacillus brevis*, Bioplastic ( P3HB ), Fermentation Process

### Pendahuluan

Seiring dengan perkembangan peradaban manusia, teknologi pengemasan juga telah berkembang dengan pesat, meskipun kemasan alami tetap digunakan. Di antara bahan kemasan tersebut adalah plastik. Seiring dengan perkembangan peradaban manusia, teknologi pengemasan juga telah berkembang dengan pesat, meskipun kemasan alami tetap digunakan. Di antara bahan kemasan tersebut adalah plastik (DOI, 1990; Wardhana, 1999).

Bioplastik adalah plastik atau polimer yang secara alamiah dapat dengan mudah terdegradasi baik melalui serangan mikroorganisme maupun pengaruh cuaca, kelembaban dan radiasi sinar matahari, sedangkan plastik sintesis terbuat dari hidrokarbon minyak bumi yang sulit diuraikan di alam. Bioplastik atau disebut juga sebagai plastik mudah terurai, secara global sudah dikenal dan telah dikembangkan sejak puluhan tahun yang lalu (Djamaan, 2000; Lee, 1996).

Minyak kelapa sawit merupakan alternatif sumber karbon yang banyak digunakan dalam produksi senyawa bioplastik dewasa ini, hal ini disebabkan karena ia mempunyai asam lemak jenuh dan tidak jenuh yang banyak, yang dapat diuraikan oleh enzim lipase ekstrasel bakteri sehingga dapat digunakan sebagai substrat dasar untuk dapat menghasilkan P(3HB) secara fermentasi (Ketaren, 1986; Anderson, 1990).

### Metode penelitian

#### Alat

Seperangkat alat fermentasi, Bioreaktor, Inkubator, Sentrifugator, Oven dan alat Kromatografi gas

#### Bahan

Minyak kelapa sawit, Bakteri *Bacillus brevis* dan medium fermentasi

### Rancangan Penelitian

#### 1. Sterilisasi Alat dan Bahan

Semua alat yang akan digunakan terlebih dahulu dicuci bersih dan dikeringkan dan kemudian disterilkan dengan autoklaf suhu 121°C, selama 15 menit.

#### 2. Penyiapan Media Pembenuhan

##### a. Pembuatan Nutrien Agar (NA)

20 gram serbuk NA ditimbang, dilarutkan dalam 1 liter aquadest. Setelah itu dipanaskan diatas hot plate, diaduk hingga larut sempurna dan berwarna jernih. Kemudian ditutup dengan sumbat kapas yang dibalut dengan kasa steril. Lalu disterilkan dengan autoklaf suhu 121°C, tekanan 15 lbs selama 15 menit (Pelczar, 1986).

##### b. Pembuatan Nutrien Broth (NB)

8 gram serbuk NB ditimbang, dilarutkan dalam 1 liter aquadest. Setelah itu dipanaskan diatas hot plate, diaduk hingga larut sempurna dan

berwarna jernih. Kemudian ditutup dengan sumbat kapas yang dibalut dengan kasa steril. Lalu disterilkan dengan autoklaf suhu 121°C, tekanan 15 lbs selama 15 menit

### 3. Pembuatan Media Agar Miring

Sebanyak 5 mL media NA yang telah disterilkan, dimasukkan ke dalam tabung reaksi, setelah itu dimiringkan 10-20° pada tatakan, dibiarkan hingga memadat. Pengerjaan dilakukan secara teknis aseptis di dalam Laminar Air Flow atau di dalam lemari aseptis dengan bantuan lampu spritus

### 4. Peremajaan Isolat Bakteri *Bacillus brevis* FAAC 20801

Bakteri *Bacillus brevis* yang telah dimurnikan dipindahkan dengan bantuan jarum ose ke dalam agar miring. Setelah itu diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator dengan suhu 37°C, kemudian disimpan dalam lemari es pada suhu 4°C. Penyiapan Media Fermentasi Biopolymer

5. Bakteri *Bacillus brevis* yang telah dimurnikan dipindahkan dengan bantuan jarum ose ke dalam agar miring. Setelah itu diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator dengan suhu 37°C, kemudian disimpan dalam lemari es pada suhu 4°C

### 6. Pembuatan Inokulum Bakteri *Bacillus brevis* FAAC 20801

Jarum ose digoreskan ke dalam media agar miring yang mengandung bakteri *Bacillus brevis* FAAC 20801, kemudian dimasukkan ke dalam Erlenmeyer yang berisi 250 mL media NB steril. Kemudian ditumbuhkan dalam shaker inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C

7. Proses Fermentasi Medium fermentasi, inokulum bakteri dimasukkan ke dalam bioreaktor 15 liter. Fermentasi dilakukan pada suhu 37°C, setiap periode 42 jam, 48 jam, 54 jam dan 60 jam, sampel diambil sebanyak 250 mL.

### 8. Proses Pemisahan Biomassa dan Supernatan

Proses pemisahan biomassa dan supernatan dilakukan dengan proses sentrifugasi dengan menggunakan alat sentrifus pada kecepatan 3000 rpm selama 20 menit. Lapisan bening supernatan dipisahkan dari endapan biomassa dengan jalan pemipetan. Biomassa dikeringkan dalam oven pada suhu dibawah 70°C

### 9. Pemeriksaan Kualitatif

#### a. Pemeriksaan P(3HB).

Jenis P(3HB) diketahui dengan menggunakan P(3HB) standar yang telah mengalami uji standarisasi. P(3HB) standar dimetanolisis dengan penambahan metanol; H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 98 % (1,7:0,3) dan 2 mL CHCl<sub>3</sub>, lalu dipanaskan 100°C selama 4 jam pada pemanas untuk mengkonversikan P(3HB) menjadi gugus metil ester, yang kemudian diidentifikasi menggunakan kromatografi gas. Jenis P(3HB) dapat diketahui dari waktu retensi munculnya puncak pada kromatogram P(3HB) standar.

#### b. Pemeriksaan pH Medium

Pengukuran pH dari supernatan dengan menggunakan pH meter. Pengukuran pH dilakukan untuk mengetahui tingkat keasaman dari hasil akhir proses fermentasi dan melihat pengaruhnya terhadap produksi bioplastik .

### 10. Pemeriksaan Kuantitatif

#### a. Penetapan Berat Kering Biomassa

Biomassa ditentukan secara gravimetri dengan menggunakan timbangan elektrik. Penentuan dilakukan dengan cara : sampel diambil dengan variasi waktu 42 jam, 48 jam, 54 jam dan 60 jam masing-masing sebanyak 250 mL, kemudian disentrifus pada kecepatan 3000 rpm selama 20 menit. Sehingga terpisah antara lapisan bening supernatan dengan endapan biomassa. Biomassa dipisahkan, lalu dicuci dengan air suling. Sel biomassa dikeringkan dalam oven pada suhu di bawah 70°C.

#### b. Penetapan Kandungan P(3HB)

Biopolimer P(3HB) yang terkandung di dalam sel kering, ditentukan dengan kromatografi gas. Penentuan dilakukan dengan cara: ditimbang secara seksama 20 mg sel kering ditimbang secara seksama, lalu diesterifikasi dengan penambahan 1,7 mL metanol, 0,3 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, dan 2 mL CHCl<sub>3</sub>, lalu dipanaskan pada suhu 100°C selama 4 jam pada alat *heater block*. Esterifikasi dengan tujuan untuk mengkonversi P(3HB) menjadi 3-hidroksi butirat metil ester. Setelah reaksi selesai, ditambahkan 1 mL aquadest ke dalam larutan sehingga terbentuk dua lapisan. Lapisan kloroform dipipet dan diinjeksikan sebanyak 5µl ke dalam kolom kromatografi gas, dideteksi dengan Detektor Ionisasi Nyala (FID). Kondisi pengoperasian kromatografi gas sebagai berikut : temperatur detektor 250°C, injektor 260°C, dan kolom 50°C selama 4 menit dan dinaikkan suhunya 10°C tiap

menit hingga mencapai 180<sup>0</sup>C dan ditambah dengan waktu tunggu selama 3 menit. Kandungan bioplastik dapat dianalisis dari AUC sampel dibandingkan dengan AUC standar dikali dengan jumlah P(3HB) standar (Majid, 1999).

11. Analisa Data

Dari data yang diperoleh dibuat grafik antara: waktu penyamplangan (jam) terhadap berat kering biomassa (g/250mL). pH medium selama fermentasi, dan konsentrasi P(3HB) didalam berat kering sel (% b/b)

Hasil Penelitian

Bakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah *Bacillus brevis* FAAC 20801 yang didapatkan dari peneliti terdahulu yang telah diisolasi dari sampel tanah yang diambil dari tanah kebun tanaman obat (KTO) Universitas Andalas Padang, Sumatera Barat, dan telah diidentifikasi dibalai Penyidikan dan Pengujian Veteriner Regional II .

Fermentasi bioplastik P(3HB) dari minyak kelapa sawit menggunakan bakteri *Bacillus brevis*, menghasilkan jumlah sel kering (biomassa) pada jam ke 42 sebesar 50,3 mg/250 mL, pada jam ke 48 sebesar 277 mg/250 mL, pada jam ke 54 sebesar 148 mg/250 mL dan pada jam 60 sebesar 98 mg/250 mL .

Selama terjadinya proses fermentasi, pH medium pada jam ke 42 adalah sebesar 6,7; pada jam ke 48 adalah sebesar 6,6; pada jam ke 54 adalah sebesar 6,54 dan pada jam ke 60 sebesar 6,5.

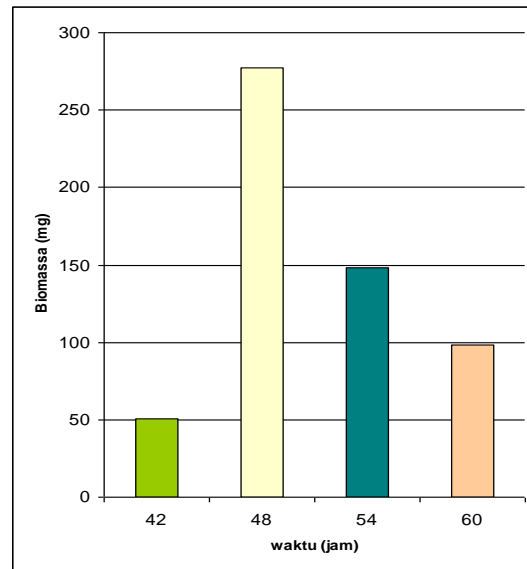
Kandungan P(3HB) dalam biomassa bakteri *Bacillus brevis* pada jam ke 42 adalah sebesar 0,8408 mg/20 mg biomassa, pada jam ke 48 adalah sebesar 7,2001 mg/ 20 mg biomassa, pada jam ke 54 adalah sebesar 1,2644 mg/20 mg biomassa dan pada jam ke 60 adalah sebesar 0,5866 mg/20 mg biomassa .

Pembahasan

Fermentasi oleh bakteri *Bacillus brevis* dengan minyak kelapa sawit menghasilkan biomassa dengan konsentrasi tertinggi pada jam ke 48 yaitu sebesar 277 mg/ 250 mL. Menurut Dwijoseputro, besarnya biomassa yang terbentuk karena bakteri telah mampu beradaptasi dengan suhu pertumbuhan dan nutrien yang dimasukkan kedalam medium fermentasi.

Data Berat Sel Kering (Biomassa) oleh Bakteri *Bacillus brevis* FAAC 20801 pada tabel berikut :

NO	Waktu (Jam)	Berat Sel Kering (Biomassa) mg/250 mL
1	42	50,3
2	48	277
3	54	148
4	60	98



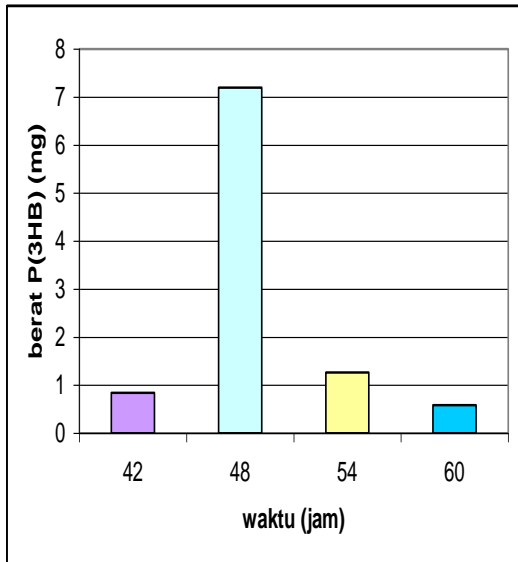
Gambar 1. Grafik Sel Kering (Biomassa) oleh Bakteri *Bacillus brevis* FAAC 20801 pada Suhu 37<sup>0</sup> C

Jumlah P(3HB) yang dihasilkan ditentukan dengan kromatografi gas. AUC sampel pada kromatogram dan dibandingkan dengan AUC kromatogram standar. Pada percobaan ini jumlah terbesar pada jam ke 48 sebesar 7,2001 mg/20 mg biomassa, sedangkan jumlah terkecil jam ke 60 sebesar 0,5866 mg/20 mg biomassa yang disertai penurunan jumlah biomassa . Jumlah biomassa pada jam ke 48 adalah sebesar 277 mg, sedangkan jam ke 60 adalah sebesar 0,5866 mg.

NO	Waktu (Jam)	Berat P(3HB) (mg)
1	42	0,8408
2	48	7,2001
3	54	1,2644
4	60	0,5866

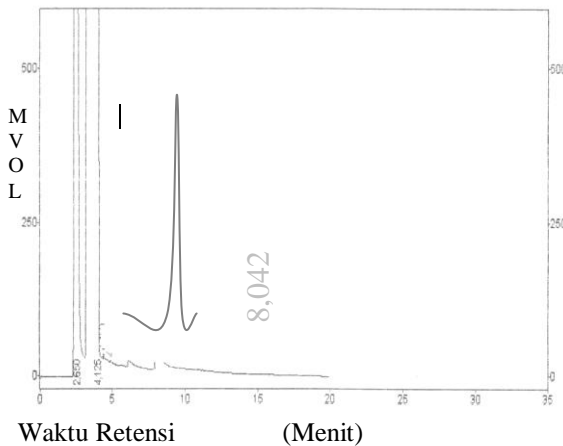
Data Berat P(3HB) oleh Bakteri *Bacillus brevis* FAAC 20801

$$\begin{aligned} & \% \text{ P(3HB) dalam sel kering bakteri} \\ & = 7,2 \text{ mg} / 20 \text{ mg} \times 100 \% \\ & = 36 \% \text{ (b/b)} \end{aligned}$$



**Gambar 2.** Grafik Berat P(3HB) Bakteri *Bacillus brevis* FAAC 20801

- Waktu optimum P(3HB) yang dihasilkan pada jam ke 48



**Gambar 3.** Kromatogram dari P(3HB) jam ke-48

Keterangan :

- Waktu retensi P(3HB) = 8,042
- Luas daerah dibawah kurva P(3HB) standar (AUC) = 2156881
- Berat P(3HB) = AUC sampel / AUC standar x 10 mg
- = 1552976 / 2156881 x 10 mg
- = 7,2 mg

### Kesimpulan

1. Fermentasi dari minyak kelapa sawit dengan menggunakan bakteri *Bacillus brevis* FAAC 20801 dapat menghasilkan senyawa P(3HB).
2. Waktu optimum produksi P(3HB) dari minyak kelapa sawit sebagai sumber karbon oleh bakteri *Bacillus brevis* FAAC 20801 adalah 48 jam sebanyak 7,2 mg/20mg biomassa dengan persentase 36% b/b.
3. Fermentasi dengan minyak kelapa sawit sebagai sumber karbon dan menggunakan alat fermentor (bioreaktor) dengan kapasitas 15 liter ternyata menghasilkan P(3HB) dalam jumlah yang lebih optimum dibandingkan dengan yang dihasilkan oleh peneliti sebelumnya menggunakan alat *rotary shaker incubator*.

### Daftar Pustaka

- Anderson. A. J., Dawes E.A., 1990, Occurance, Metabolism, Metabolic Role, and Industrial Uses of Bacterial Polyhydroxyalkanoates, *Microbial. Rev.*, 54:450-472.
- Djamaan. A., 2000, *Penghasilan Biopolimer oleh mikroorganisme*, Farmasi FMIPA, Universitas Andalas, Padang.
- Doi. Y., 1990, *Microbial Polyester*, VCH Publisher. Inc., New York.
- Ketaren, S., 1986, *Minyak dan Lemak Pangan*, Universitas Indonesia, Jakarta.
- Lee. S. Y., 1996, Bacterial Polyhydroxyalkanoates, *Biotechnol Bioeng.* 49 : 1-14.
- Lee. S. Y., 1996, Plastic Bacteri, *Progress and Project for Polyhydroxyalkanoat Production in Bacteria*, 14 : 1-7.
- Majid. M.I.A., K. Hori., M.Akiyama Y.Doii., 1994, Production of Poly (3-hydroxybutyrate) from Palm Oil By *Alcaligenes Sp* In *Biodegradable Plastic and Polymer.*, Amsterdam.

Pelczar. M.J., 1986, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*,  
Universitas Indonesia, Jakarta.

Wardhana, W. Arya., 1994, *Dampak  
Pencemaran Lingkungan*, Andi,  
Yogyakarta.