

OPTIMASI PROSES PRODUKSI BIOPLASTIK POLI (3-HIDROKSIBUTIRAT) DENGAN BAKTERI *Bacillus sp* FAAC 20801 MENGGUNAKAN BAHAN DASAR JERAMI PADI SETELAH FERMENTASI

Akmal Djamaan¹, Witra Aulia², dan Krisyanella²

¹Fakultas Farmasi Universitas Andalas Padang

²Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi STIFARM, Padang

Abstract

The optimization of production process of bioplastic poly (3 - hidroxybutirat) (P(3HB) fermentation by *Bacillus sp* FAAC 20801 bacteria, using straw as carbon source has been carried out. Detection of P(3HB) produced using gas chromatography. The highest glucosa level obtain by using H₂SO₄ 5% for hidrolisis. From 46800 mg straw (glucosa concentration 200 mg/mL) produce 5379 mg biomassa and 0.058 mg P(3HB) ; from 83400 mg straw (glucosa concentration 400 mg/mL) produce 5011 mg biomassa and 0.124 mg P(3HB) ; from 142800 mg straw (glucosa concentration 600 mg/mL) produce 3992 mg biomassa and 2.309 mg P(3HB).

Keyword : Straw, Glucosa, Poly (3-hidroxybutirat) P(3HB)

Pendahuluan

Polimer merupakan makromolekul besar yang terbentuk dari unit-unit atau monomer berulang sederhana. Salah satu kelompok polimer ini adalah plastik. Kebutuhan masyarakat akan plastik akhir-akhir ini sangat meningkat yang menyebabkan meningkatnya produksi plastik, salah satunya plastik sintesis. Telah diketahui bahwa plastik sintesis merupakan makromolekul yang terdiri dari molekul-molekul sederhana yang dapat dilihat dari hasil reaksi-reaksi seperti reaksi polimeri, addisi, dan eliminasi (Stevens, 2001). Belakangan ini perhatian tertuju pada biosintesis secara fermentasi dengan menggunakan mikroorganisme penghasil biopolymer poli (3-hidroksibutirat) atau disingkat dengan P(3HB). Biopolimer merupakan bahan yang dapat mengalami penguraian secara alamiah oleh aktifitas mikroorganisme seperti bakteri, jamur dan alga.

Biopolimer ini tidak hanya membantu mengurangi volume sampah plastik, tetapi juga berfungsi sebagai bahan kimia, bahan pertanian, penyalut bahan obat yang memungkinkan terkendalinya pelepasan obat-obatan. Beberapa mikroorganisme telah diketahui dapat menghasilkan P(3HB) di dalam selnya, yang berguna sebagai cadangan bahan makanan dan tenaga untuk pertumbuhannya pada keadaan pertumbuhan yang kurang menguntungkan, misalnya kekurangan nitrogen, fosfat, oksigen dan magnesium. Biopolimer yang telah terbentuk didalam sel mikroorganisme tersebut dapat diperoleh dengan cara ekstraksi, lalu dapat diproses lebih lanjut sesuai dengan yang diinginkan, terutama sebagai pengganti plastik sintetik yang dibuat dari petroleum (Cowd, 1991).

Petroleum merupakan sumber daya alam yang sekarang ini ketersediannya sudah mulai terbatas karena tidak dapat diperbaharui. Untuk mengatasi masalah diatas, maka dilakukan berbagai penelitian untuk menghasilkan plastik yang ramah lingkungan, mudah diuraikan (*Biodegradable*) dan dihasilkan dari sumber daya alam yang dapat diperbaharui (Doi, 1990).

Penggunaan plastik sintesis saat ini semakin meningkat, terutama dibidang industri dan rumah tangga. Hal ini disebabkan karena sifatnya yang tahan air, tidak mudah pecah dan tahan penguraian. Produksi plastik sintesis telah melebihi seratus juta ton setiap tahunnya. Plastik sintesis setelah digunakan akhirnya menjadi sampah, sehingga menyebabkan terjadinya pencemaran lingkungan yang serius, dan terganggunya ekosistem laut (Djamaan, 2000).

Padi adalah tanaman rumput yang berumpun kuat, tinggi 80-130 cm, termasuk golongan tanaman semusim atau tanaman muda yaitu tanaman yang biasanya berumur pendek, kira-kira empat sampai lima bulan dan hanya satu kali bereproduksi dan akan mati atau dimatikan. Batang berbuku-buku, pada setiap bukunya terdapat satu daun yang secara keseluruhan tersusun dalam dua baris (Aak, 1990).

Jerami padi adalah bagian batang padi yang dibuang setelah dipanen dengan sedikit bulir-bulir buah dan tangkainya tanpa akar dan bagian yang lain. Jerami padi merupakan limbah pertanian yang terdiri dari batang dan daun tanaman yang sudah diambil buahnya (Aak, 1990).

Pada penelitian ini yang dimaksud dengan jerami padi adalah bagian batangnya yang telah dibuang

bahagian daunnya dan bulir padinya. Beberapa faktor lingkungan yang mempengaruhi antara lain curah hujan, suhu, kesuburan tanah dan pemupukan. Jerami padi mengandung kurang lebih 39 % selulosa dan 27,5 % hemiselulosa. Kedua bahan polisakarida ini dapat dihidrolisis menjadi gula sederhana. Keuntungan dari jerami padi ini sendiri selain tidak bersaing dengan bahan pangan, juga sangat berguna untuk pupuk kompos (Lubis, 1983).

Metodologi Penelitian

Alat

Alat yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah tabung reaksi, jarum ose, gelas ukur, beker glass, batang pengaduk, labu erlenmeyer, lampu spiritus, spatel, lemari aseptis, lemari es (National[®]), autoklaf (All American[®]), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu[®]), rotary shaker inkubator (Bigger Digital[®]), laminar air flow (ESCO[®]), inkubator (Gallenkamp[®]), alat sentrifus (Hettich[®]), kromatografi gas (Shimadzu[®]), gunting, benang, kapas, kasa dan aluminium foil.

b. Pembuatan Medium Nutrien Broth (NB)

Serbuk NB ditimbang sebanyak 13 gram, dilarutkan dalam 1 liter air suling, kemudian dipanaskan diatas alat pemanas hingga jernih. Kemudian ditutup dengan sumbat kapas yang dibalut dengan kain kasa steril. Lalu disterilkan dengan autoklaf suhu 121°C tekanan 15 lbs selama 15 menit.

Prosedur Kerja (Depkes RI, 1979; Depkes RI 1995)

1. Sterilisasi

Alat-alat yang digunakan terlebih dahulu dicuci bersih dan dikeringkan. Alat-alat gelas yang memiliki mulut ditutup dengan kapas yang dibalut dengan kain kasa, lalu semua alat dibungkus dengan kertas perkamen, kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 15 lbs, selama 15 menit. Spatel dan jarum ose disterilkan dengan cara flambier diatas nyala api lampu spiritus selama 20 detik. Lemari aseptis dibersihkan dari debu dan disterilkan dengan cara disemprotkan alkohol 70 % keseluruh bagian dalam lemari. Semua pengerjaan dilakukan secara teknik aseptik.

2. Penyiapan Medium Perbenihan

a. Pembuatan Medium Nutrien Agar (NA)

Serbuk NA ditimbang sebanyak 23 gram, dilarutkan dalam 1 liter aquadest, kemudian dipanaskan diatas alat pemanas, lalu diaduk hingga

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

3. Pembuatan Medium Agar Miring

Sebanyak 4 mL media NA steril, dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dimiringkan 30° - 45° pada tatakan, lalu dibiarkan hingga memadat. Pengerjaan dilakukan secara teknik aseptik di dalam laminar air flow atau di dalam lemari aseptis dengan bantuan lampu spiritus (Hadioetomo, 1985).

4. Peremajaan Isolasi Bakteri *Bacillus sp* FAAC 20801

Bakteri *Bacillus sp* FAAC 20801 yang telah dimurnikan dipindahkan dengan bantuan jarum ose ke media agar miring. Pengerjaan dilakukan secara teknik aseptis pada laminar air flow, kemudian diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator dengan suhu 37°C.

5. Penyiapan Sampel Jerami Padi

Jerami padi diperoleh dari hasil pemanenan yang masih segar dengan jenis varietas padi yang sama. Dibersihkan dari daun kemudian dirajang, dikeringkan dalam rumah kaca selama 2 minggu dan diserbukkan.

6. Penentuan Kadar Air Sampel Jerami

Krus porselen dikeringkan dalam oven selama 15 menit dan didinginkan dalam desikator selama 15 menit kemudian ditimbang. Setelah itu, 1 gram sampel ditimbang dan dimasukkan kedalam cawan. Cawan beserta isinya ditempatkan didalam oven pada suhu 100-105°C selama 2-3 jam, kemudian cawan dipindahkan ke dalam desikator selama 15 menit. Setelah dingin ditimbang kembali dan dikeringkan kembali sampai diperoleh berat konstan (Slamet dan Bambang, 1984).

7. Penentuan Kadar Glukosa Hidrolisat Jerami Padi

Serbuk jerami ditimbang sebanyak 18 gram masukan ke dalam tiap wadah perebus (3 buah). Lalu ditambahkan NaOH dengan konsentrasi 1 % b/v ; 5 % b/v ; 10 % b/v dan dipanaskan selama 3 jam, lalu biarkan dingin, kemudian disaring sehingga didapatkan hidrolisat serbuk jerami.

Pengerjaan ini juga dilakukan dengan menggunakan H₂SO₄ p, yaitu dengan penambahan H₂SO₄ dengan konsentrasi yang sama (1 % v/v ; 5 % v/v ; 10 % v/v) dan pengerjaan yang sama juga maka didapatkan hidrolisat serbuk jerami. Masing-masing hidrolisat jerami padi ini diukur kadar glukosanya dengan metoda Luff Schrool, dari hasil pengukuran ini didapatkan kadar glukosa tertinggi.

8. Penyiapan Larutan Luff Schoorl

25 gram CuSO₄.5H₂O ditimbang, dan sejauh mungkin bebas besi, kemudian dilarutkan dalam 100 mL aquadest. 50 gram asam sitrat ditimbang, dilarutkan dalam 50 mL aquadest dan 388 gram soda murni (Na₂CO₃.10H₂O) larutkan dalam 300 - 400 mL air mendidih. Larutan asam sitrat dituangkan ke dalam larutan soda sambil digoyang hati-hati. Selanjutnya ditambahkan larutan CuSO₄, biarkan hingga dingin, kemudian ditambahkan aquadest sampai 1 liter. Bila terjadi kekeruhan di diamkan kemudian disaring (Slamet & Bambang, 1984).

9. Penentuan Kadar Glukosa dengan Metoda Luff Schoorl

25 mL hidrolisat diambil dan ditambahkan 25 ml larutan Luff Schoorl dalam erlenmeyer. Dibuat pula perlakuan blanko yaitu 25 ml larutan Luff Schoorl dengan 25 mL air suling. Dipanaskan sekitar 2 menit sampai mendidih dan diteruskan selama 10 menit dengan nyala kecil. Selanjutnya segera didinginkan dan tambahkan 15 mL KI 30 % dan dengan hati-hati tambahkan 25 mL H₂SO₄ 25 %. Kemudian dititrasi dengan Na-thiosulfat 0,1 N memakai indikator pasta amyllum sebanyak 2-3 ml. Untuk memperjelas perubahan warna pada akhir titrasi maka sebaiknya pati diberikan pada saat titrasi hampir berakhir .

Perhitungan :

Dengan mengetahui selisih larutan Na-thiosulfat yang terpakai antara titrasi blanko dan titrasi sampel, yang kemudian hasilnya dicocokkan pada tabel berikut ini, maka dapat diketahui jumlah glukosa dalam sampel.

Tabel 1. Penentuan Glukosa dalam Suatu Bahan dengan Metode Luff Schoorl

ml 0,1 N Na- thiosulfat	Glukosa mg C ₆ H ₁₂ O ₆		ml 0,1 N Na- thiosulfat	Glukosa mg C ₆ H ₁₂ O ₆	
		Δ			Δ
1.	2,4	2,4	13.	33,0	2,7
2.	4,8	2,4	14.	35,7	2,8
3.	7,2	2,5	15.	38,5	2,8
4.	9,7	2,5	16.	41,3	2,9
5.	12,2	2,5	17.	44,2	2,9
6.	14,7	2,5	18.	47,1	2,9
7.	17,2	2,6	19.	50,0	3,0
8.	19,8	2,6	20.	53,0	3,0
9.	22,4	2,6	21.	56,0	3,1
10.	25,0	2,6	22.	59,1	3,1
11.	27,6	2,7	23.	62,2	-
12.	30,3	2,7	24.	-	-

Selanjutnya dihitung kadar glukosa dengan menggunakan rumus :

$$= \frac{\text{mg glukosa} \times \text{pengenceran}}{\text{Volume sampel(mL)} \times 1000} \times 100\%$$

10. Hidrolisis Jerami Padi

Serbuk jerami ditimbang sebanyak 300 gram, kemudian dimasukan ke dalam wadah perebus, lalu ditambahkan H₂SO₄ 5 % v/v dan dipanaskan selama 3 jam, lalu dibiarkan dingin, kemudian disaring, didapatkan hidrolisat serbuk jerami.

Hidrolisat dipekatkan hingga 50 mL (ekstrak pekat). Untuk kadar glukosa 200 mg/mL, ekstrak pekat dipipet sebanyak 7,8 mL ; untuk kadar glukosa 400 mg/mL, ekstrak pekat dipipet sebanyak 13,9 mL ; untuk kadar glukosa 600 mg/mL, ekstrak pekat dipipet sebanyak 23,8 mL, lalu dimasukkan masing-masing ke dalam erlenmeyer 250 mL.

11. Penyiapan Medium Fermentasi Biopolimer

a. Pembuatan Larutan Mikroelemen

Larutan mikroelemen dibuat dengan melarutkan 2,78 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 1,98 g $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; 2,81 g $\text{CuSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 1,67 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 0,17 g $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; dan 0,29 g $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ kedalam 1 liter HCl 0,1 N. Larutan mikroelemen ini disterilkan dengan menggunakan autoklaf suhu 121°C tekanan 15 lbs selama 15 menit.

b. Sumber Nitrogen

Larutan dapar fosfat pH 6 dibuat dengan cara melarutkan 0,5 g $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$ dan 1 mL larutan mikroelemen ke dalam 1 liter air suling steril, Sehingga pH larutan mendekati 6. Apabila pH lebih dari 6 maka diatur dengan penambahan H_3PO_4 18 N lalu tambahkan KH_2PO_4 8 g ; K_2HPO_4 2 g sebagai pendapar.

c. Sumber Karbon

Sebagai sumber karbon digunakan ekstrak hasil pengolahan jerami dengan jumlah 200 mg, 400 mg dan 600 mg. Sumber karbon ini dilarutkan dengan larutan dapar fosfat yang telah disterilkan hingga 1 liter.

12. Pembuatan Suspensi dan Inokulum Bakteri Penghasil Biopolimer P(3HB)

Pembuatan suspensi bakteri penghasil biopolimer P(3HB) yaitu bakteri *Bacillus sp* FAAC 20801 dibuat dengan cara menggosokkan jarum ose ke dalam isolat bakteri penghasil biopolimer dan dimasukkan ke dalam masing-masing erlenmeyer 100 mL yang berisi 50 mL air suling steril. Kemudian diukur masing-transmitannya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada λ 530 nm sehingga didapatkan transmittan 25 % (Lay, 1994). 5 mL suspensi tersebut dipipet dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 mL, ditambahkan medium fermentasi biopolimer sampai 100 mL hingga terbentuk inokulum 5 %.

13. Pengkulturan Bakteri Dalam Medium.

Dilakukan pengkulturan bakteri panghasil biopolimer P(3HB) *Bacillus sp* FAAC 20801 dalam *rotary shaker incubator* 200 rpm selama 48 jam. Pengkulturan ini dilakukan pada suhu optimum pertumbuhan bakteri yaitu 30°C . Setelah disentrifus dan dikeringkan kemudian ditentukan berat biomassanya (Lay, 1994).

14. Proses Fermentasi P(3HB)

Fermentasi dilakukan pada kondisi optimum pertumbuhan bakteri penghasil biopolimer *Bacillus sp* FAAC 20801 yaitu pada suhu 30°C selama 48 jam dengan agitasi 200 rpm. Proses fermentasi dilaksanakan di dalam erlenmeyer 250 ml yang berisi masing-masing 100 mL medium fermentasi dilakukan di dalam alat *rotary shaker incubator*.

15. 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 cara pipetan. Lapisan supernatan digunakan untuk menentukan pH, sedangkan biomassa dikeringkan dalam oven suhu dibawah 70°C selama 24 jam atau hingga bobot konstan untuk ditentukan berat kering dan kandungan biopolimernya dan (Depkes RI, 1995).

16. Pemeriksaan pH Supernatan

Pengukuran pH menggunakan pH meter. Pengukuran pH dilakukan untuk mengetahui tingkat keasaman dari hasil akhir proses fermentasi dan melihat pengaruhnya terhadap produksi biopolimer (Lay, 1994).

17. Penetapan Berat Kering Biomassa

Biomassa ditentukan secara gravimetri dengan menggunakan timbangan elektrik. Penentuan dilakukan dengan cara ; 100 mL sampel disentrifus pada kecepatan 3000 rpm selama 20 menit sehingga terpisah antara lapisan bening supernatan dengan endapan biomassa. Biomassa dipisahkan, lalu dicuci dengan aquadest. Sel biomassa lalu dikeringkan dengan oven suhu dibawah 70°C selama 24 jam atau hingga bobot konstan, dan didapatkan hasil biomassa kering. Kemudian ditentukan berat sel kering dengan penimbangan (Lay, 1994) dan (Djamaan, 2002).

18. Penentuan Kandungan Biopolimer di Dalam Sel

Biopolimer P(3HB) yang terkandung di dalam sel kering ditentukan dengan kromatografi gas. Gambar alat dapat dilihat pada lampiran 16 gambar 23. Penentuan dilakukan dengan cara berikut : sel kering ditimbang 20 mg, lalu dimetabolisis dengan penambahan 1,70 mL metanol ; 0,30 ml H_2SO_4 p

dan 2 ml CHCl_3 lalu dipanaskan 100°C selama 4 jam pada pemanas untuk mengkonversikan P(3HB) menjadi gugus 3 hidroksi metil ester. Setelah reaksi selesai, ditambahkan 1 mL air suling ke dalam larutan, sehingga akan terbentuk 2 lapisan. Lapisan kloroform dipipet dan diinjeksikan 5 μL ke dalam kromatografi gas dengan detektor *Flame Ionization Detector* (FID). Kondisi pengoperasian kromatografi gas sebagai berikut : suhu detektor 250°C , injektor 260°C , dan kolom 50°C , selama 4 menit dan dinaikkan suhunya 10°C tiap menit hingga mencapai 180°C dan ditimbang dengan waktu tunggu selama 3 menit. Kandungan biopolimer dapat dianalisis dari luas daerah dibawah kurva yang terbentuk pada kromatogram yang didapat (Djamaan, 2002).

19. Analisis Data

Dari data yang diperoleh, dibuat kurva antara : berbagai konsentrasi sampel terhadap peningkatan biomassa sel bakteri penghasil P(3HB) yang dihasilkan dipaparkan dalam bentuk tabel dan grafik.

Hasil

Tabel 2. Hasil Pengukuran Kadar Glukosa dengan Metoda Luff Schrool

No	Kode	Volume titrasi	% Glukosa
1	NaOH 1%	22,5	0,0194
2	NaOH 5%	21,5	0,0410
3	NaOH 10%	21,5	0,0410
4	H_2SO_4 1%	8,95	0,8120
5	H_2SO_4 5%	7,5	1,7871
6	H_2SO_4 10%	11,5	1,3376

Tabel 3. Karakterisasi bakteri *Bacillus sp* FAAC 20801

No	Uji Biokimia	<i>Bacillus sp</i> FAAC 20801
1	Koloni (warna, bentuk, sifat)	Kemerah-merahan
2	Haemolysis	+
3	Gram (Morfologi, Spora, dll)	Gram (+) Batang (basil) berspora sentral
4	Aerob/Anaerob	Aerob

5	H ₂ S	-
6	Gas	-
7	Indol	-
8	Laktosa	+
9	Motilitas	+
10	Glukosa	+
11	Sukrosa	-
12	Manitol	-
13	Merah Metil	-
14	Voges Proskauer	-
15	Katalase	+
16	Oksidasi Fermentasi	-
17	Oksidase	+
18	Urease	-
19	Sitrat	-
20	Nitrat	-
21	Gelatine	+
22	TsiA m/k	-

Tabel 4. Hasil Pengukuran pH Supernatan

No	Cairan Hasil Fermentasi dengan Kadar Glukosa (mg/mL)	pH Supernatan
1	200	6
2	400	6
3	600	6

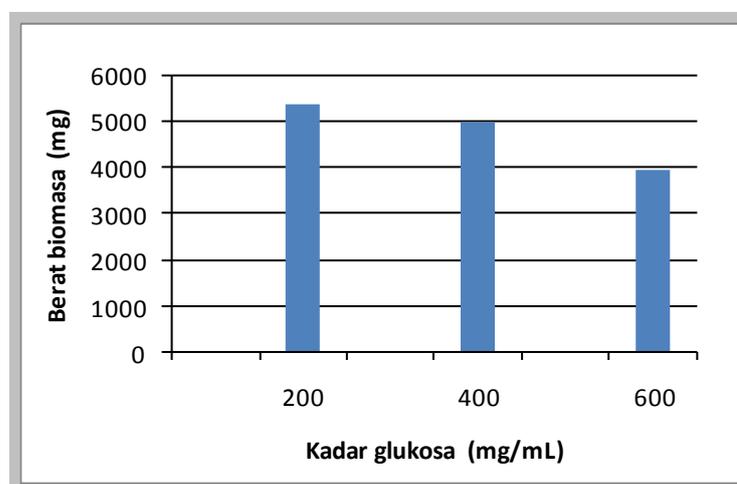
Berat jerami padi yang dibutuhkan untuk kadar glukosa I. 200mg/mL adalah 46.800 mg ; II. 400mg/mL adalah 83.220 mg ; III. 600mg/mL adalah 142.800 mg.

Berat biomassa yang diperoleh pada kadar glukosa I. 200 mg/100 mL adalah 5.379 mg ; II. 400 mg/100 mL adalah 5.011 mg; III. 600 mg/100 mL adalah 3.992 mg.

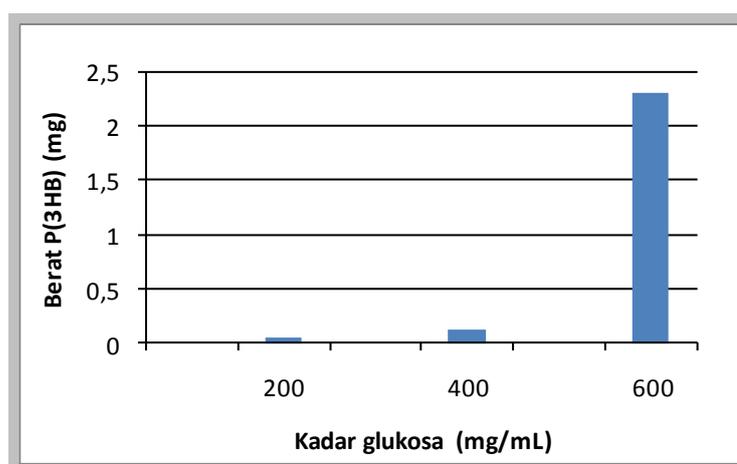
Untuk isolat I. 200 mg/100 mL diperoleh kandungan P(3HB) adalah 0,058 mg dan % P(3HB) adalah 0,290 (%b/b) ; II. 400 mg/100 mL diperoleh kandungan P(3HB) adalah 0,124 mg dan % P(3HB) 0,620 (b/b%) ; III. 600 mg/100 ml diperoleh kandungan P(3HB) adalah 2,309 mg dan % P(3HB) 11,545 (%b/b).

Tabel 5. Hasil Kadar Glukosa (mg/mL), Berat Jerami Padi (mg), Berat Biomassa (mg), Berat P(3HB) (mg), Kandungan P(3HB) (% b/b)

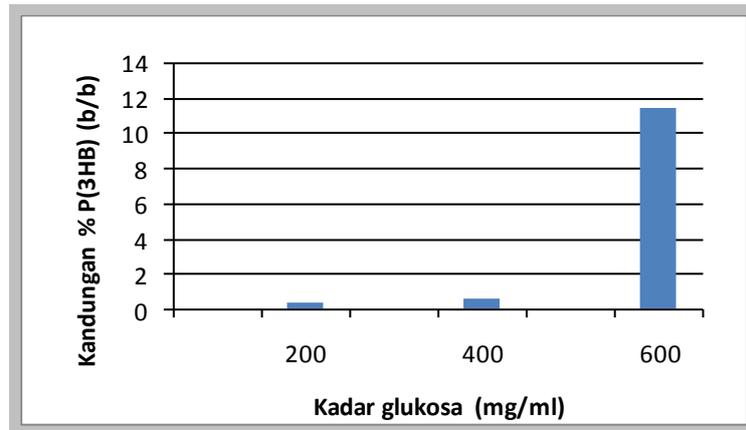
No	Kadar glukosa yang ditambahkan (mg/mL)	Berat jerami padi yang dibutuhkan (mg)	Berat Biomassa (mg)	Berat P(3HB) (mg)	Kandungan P(3HB) (%b/b)
1	200	46.800	5379	0,058	0,290
2	400	83.400	5011	0,124	0,620
3	600	142.800	3992	2,309	11,545



Gambar 1. Kurva Hubungan Berat Biomassa (mg) dengan Kadar Glukosa (mg/mL)



Gambar 2. Kurva Hubungan Berat P(3HB) (mg) dengan Kadar Glukosa (mg/mL)



Gambar 3. Kurva Hubungan Kandungan P(3HB) (b/b %) dengan Kadar Glukosa (mg/mL)

Pembahasan

Inokulum adalah substansi yang mengandung mikroorganisme bahan lain yang dimasukkan pada proses inokulasi. Inokulum (starter) yang digunakan untuk industri fermentasi harus memenuhi kriteria yaitu : kultur mikroba harus dalam keadaan aktif, sehat sehingga fase lag dalam proses fermentasi seminimal mungkin, harus tersedia dalam jumlah yang memadai untuk tercapainya proporsi inokulum dan media fermentasi yang optimal, harus terbebas dari kontaminan, kemampuan membentuk produk harus stabil (Djamaan, 2002).

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah jerami padi dari jenis padi sokan, yang diambil dari areal persawahan di daerah limau manis, Padang, Sumatera Barat. Bagian yang digunakan adalah batangnya. Sebelum digunakan, jerami yang masih segar dibersihkan dan dikeringkan selama 14 hari di rumah kaca, kemudian dicacah dan dihaluskan (grinder). Pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air jerami sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lama, tanpa ditumbuhi oleh jamur. Pencacahan dimaksudkan untuk memperkecil ukuran jerami, sehingga lebih mudah dihaluskan.

Hidrolisis asam dapat dikategorikan melalui dua pendekatan umum, yaitu hidrolisis asam dengan konsentrasi tinggi pada suhu rendah dan hidrolisis asam dengan konsentrasi rendah pada suhu tinggi. Namun karena harga asam kuat cukup mahal, hidrolisis selulosa dengan asam konsentrasi tinggi jarang diterapkan secara komersial (Oura, 1983).

Pada penelitian ini hidrolisis jerami dilakukan dengan menggunakan asam sulfat pekat (H_2SO_4 p).

Asam berfungsi sebagai katalis non spesifik yang dapat membebaskan struktur kristal selulosa dengan memperluas daerah amorf serta membebaskan dari lapisan lignin. Asam pekat dapat menghidrolisis selulosa pada tingkat konversi yang tinggi. Hidrolisis menggunakan asam akan lebih ekonomis, akan tetapi asam pekat bersifat korosif sehingga memerlukan biaya tambahan untuk perawatan alat-alat produksi (Oura, 1983).

Kadar glukosa jerami padi yang didapatkan dari proses hidrolisis masih tergolong rendah, hal ini disebabkan karena hidrolisis dengan bantuan asam tidak bersifat spesifik menghidrolisis selulosa, tetapi juga menghidrolisis komponen lain seperti hemiselulosa dan lignin. Kedua komponen ini masih terdapat pada fraksi selulosa yang ikut terhidrolisis membentuk gula-gula non pereduksi. Hidrolisis selulosa akan menghasilkan glukosa sedangkan hemiselulosa akan menghasilkan xilosa, manisa, asam asetat, galaktosa dan glukosa (Ollsen and Hahn, 1996).

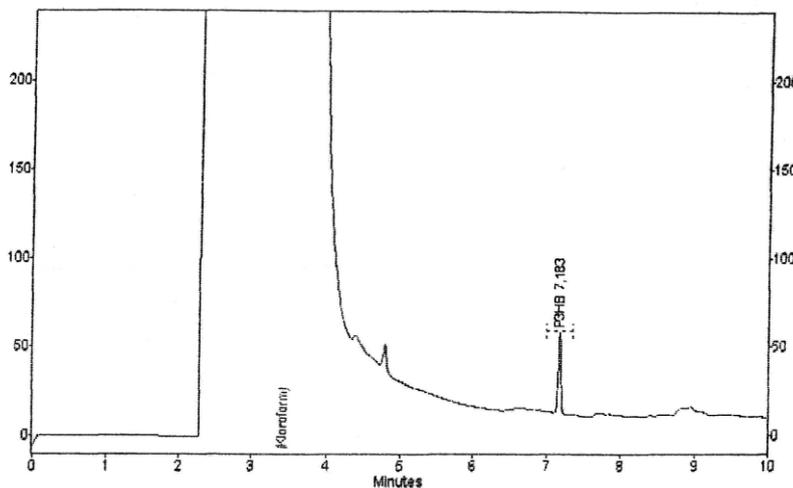
Pengkulturan bakteri dilakukan dengan memvariasikan jumlah sumber karbon glukosa yang digunakan, dimana jumlah sumber karbon glukosa yang digunakan yaitu I. 200 mg/100 mL, II. 400 mg/100 mL, III. 600 mg/100 mL medium pertumbuhan. Dari data yang didapat dapat diambil kesimpulan bahwa pertumbuhan biomassa terjadi dari awal medium pertumbuhan. Maka dapat diambil kesimpulan yaitu makin banyak sumber karbon glukosa makin sedikit biomassa yang dihasilkan. Ini disebabkan karena sebagian biomassa telah berubah menjadi P(3HB), sehingga makin besar sumber karbon glukosa makin banyak kandungan P(3HB) dan % P(3HB) dalam sel kering bakteri yang dihasilkan.

Penggoncangan dalam *shaker incubator* dilakukan selama fermentasi menyebabkan campuran dalam medium pertumbuhan bakteri menjadi homogen sehingga nutrisi yang terdapat pada medium dapat digunakan dengan efektif. Pada penelitian ini digunakan kecepatan putar 200 rpm. Ini disebabkan pada kecepatan putar 200 rpm penggoncangan yang terjadi sempurna sehingga nutrisi yang ada di dalam media dapat digunakan secara maksimal

Fermentasi bakteri penghasil biopolimer P(3HB) dilakukan dengan pemberian sumber karbon glukosa sebanyak I. 200 mg/100 mL ; II. 400 mg/100 mL ; III. 600 mg/100 mL medium pertumbuhan dan larutan vitamin, pH 6, agitasi 200 rpm selama 48 jam pada suhu 30°C. Dilakukan pemisahan biomassa dan supernatan melalui proses sentrifugasi dengan alat sentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit. Lapisan biomassa bagian bawah dipisahkan, lalu dikeringkan dalam oven pada suhu 70°C hingga bobot konstan. Sel kering bakteri dimetanolisis pada suhu 100°C selama 4 jam, terbukti adanya kandungan biopolimer P(3HB) pada sel bakteri setelah diinjeksikan pada kromatografi gas, sebelum diinjeksikan sampel yang telah kering dimetanolisis terlebih dahulu. Sampel berupa sel

kering ditimbang sebanyak 20 mg, ditambah 1,7 ml metanol, 0,3 ml H₂SO₄ p dan 2 ml CHCl₃ dipanaskan pada oven suhu 100°C selama 4 jam menggunakan tabung reaksi bertutup rapat untuk mengkonversikannya menjadi gugus metil ester. Setelah reaksi selesai, tambahkan 1 mL aquadest ke dalam larutan, kocok kuat hingga terbentuk dua lapisan (Dwidjoseputro, 1982). Lapisan kloroform dipipet dan diinjeksikan sebanyak 5 µL ke dalam kromatografi gas dengan menggunakan kolom *RTX-1*. Setelah diperoleh hasil kromatografi gas dari P(3HB), kemudian ditentukan kromatografi standar untuk mengetahui waktu retensinya. Selanjutnya ditentukan luas daerah dibawah kurva dari P(3HB) dari sampel ini terdeteksi standar. Adanya kandungan P(3HB) dari sampel di deteksi berdasarkan waktu retensi P(3HB) standar dan kadarnya ditentukan berdasarkan luas daerah dibawah kurva (Djamaan, 2002).

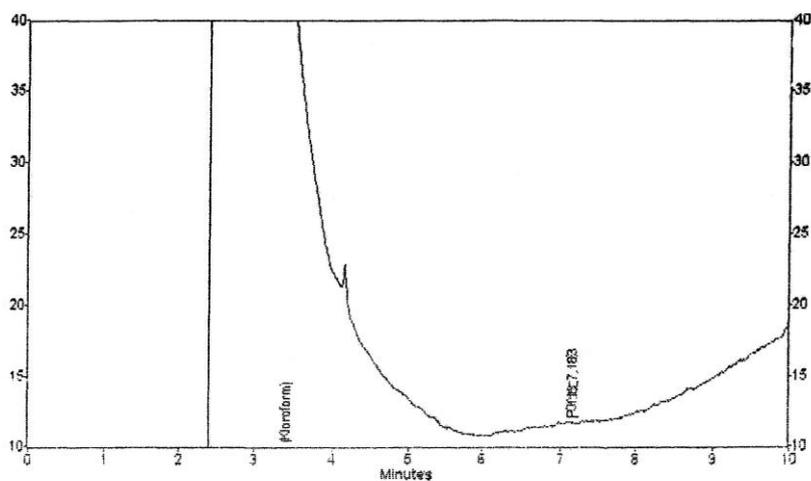
Hasil kromatogram P(3HB) dari bakteri *Bacillus sp* FAAC 20801 pada sampel 200 mg/mL glukosa waktu retensinya 7,183 (Gambar 4) pada sampel 400 mg/ml glukosa waktu retensinya 7,192 (Gambar 5) dan pada sampel 600 mg/mL glukosa waktu retensinya 6,933 (Gambar 6).



Keterangan :

- Waktu retensi P(3HB) = 7,183
- Luas daerah dibawah kurva (AUC) = 316991

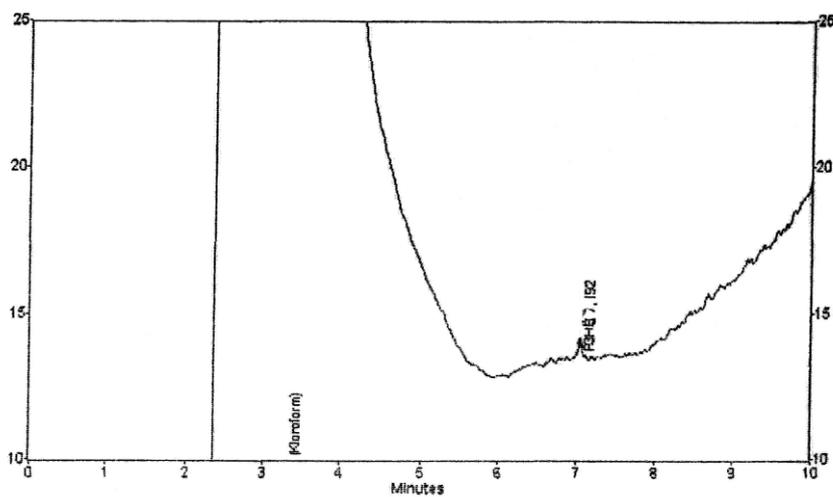
Gambar 4. Hasil Kromatogram P(3HB) Standar



Keterangan :

- Waktu retensi P(3HB) = 7,183
- Luas daerah dibawah kurva P(3HB) standar (AUC) = 3678

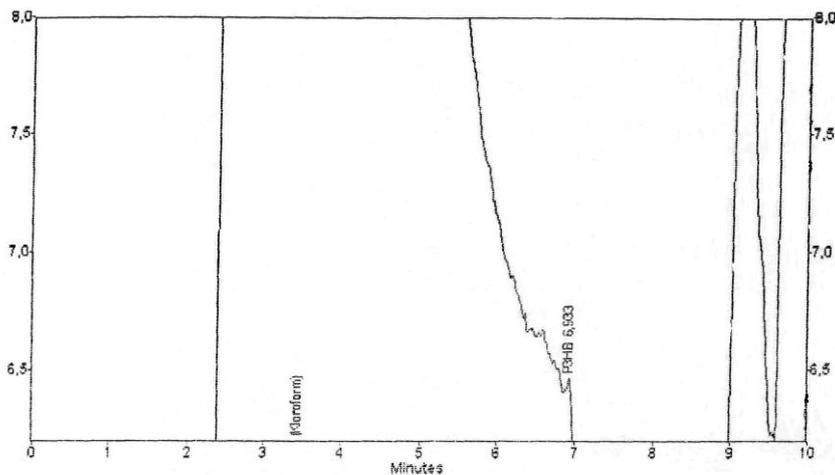
Gambar 5. Hasil Kromatogram P(3HB) Sampel 200 mg dari Bakteri *Bacillus sp* FAAC 20801



Keterangan :

- Waktu retensi P(3HB) = 7,192
- Luas daerah dibawah kurva P(3HB) standar (AUC) = 7917

Gambar 6. Hasil Kromatogram P(3HB) Sampel 400 mg dari Bakteri *Bacillus sp* FAAC 20801



Keterangan :

- Waktu retensi P(3HB) = 6,933
- Luas daerah dibawah kurva P(3HB) standar (AUC) = 146397

Gambar 7. Hasil Kromatogram P(3HB) Sampel 600 mg dari Bakteri *Bacillus sp* FAAC 20801

Pada pH akhir medium fermentasi, masing-masing cairan supernatan adalah sama, ini menunjukkan bahwa pH banyak menghasilkan sekunder seperti asam-asam organik. Hasil fermentasi tidak seluruhnya P(3HB), tetapi juga asam-asam organik yang merupakan produk fermentasi akibat adanya kontaminasi atau penguraian (Oksidasi) P(3HB) selama penyiapan maupun pembuatan P(3HB). Pembentukan P(3HB) terjadi karena adanya nutrisi pada medium pertumbuhan. Penggunaan nutrisi ini dapat terlihat dengan menurunnya atau meningkatnya jumlah karbon yang diberikan dalam medium. Keadaan ini untuk memberikan suatu keadaan lingkungan yang kurang menguntungkan bagi bakteri. Bakteri akan menghasilkan polimer jika keadaan lingkungan kurang menguntungkan, seperti kekurangan nitrogen (Djamaan, 2002).

Kesimpulan

Setelah dilakukan penelitian mengenai fermentasi bioplastik P(3HB) dengan bakteri *Bacillus sp* FAAC 20801 dari bahan dasar jerami padi, maka dapat diambil kesimpulan :

1. Biopolimer P(3HB) dapat disintesis oleh bakteri *Bacillus sp* FAAC 20801 dengan bahan dasar jerami sebagai sumber karbon secara fermentasi.
2. Kandungan glukosa tertinggi didapatkan pada H₂SO₄ 5 %.

3. Dengan berat serbuk jerami padi 46.800 mg untuk kadar glukosa 200 mg/mL menghasilkan biomassa 5.379 mg dan P(3HB) 0,058 mg ; serbuk jerami padi 83.400 mg untuk kadar glukosa 400 mg/mL menghasilkan biomassa 5.011 mg dan P(3HB) 0,124 mg ; serbuk jerami padi 142.800 mg untuk kadar glukosa 600 mg/mL menghasilkan biomassa 3.992 mg dan P(3HB) 2,309 mg.
4. Makin tinggi sumber karbon glukosa makin sedikit biomassa yang dihasilkan. Ini disebabkan karena sebagian biomassa telah berubah menjadi P(3HB), sehingga makin besar sumber karbon glukosa makin banyak kandungan P(3HB) dan % P(3HB) dalam sel kering bakteri yang dihasilkan.
5. Waktu retensi P(3HB) standar muncul pada 7,183 menit dengan luas daerah dibawah kurva (AUC) 316991, untuk isolat I. 200 mg/100 mL diperoleh kandungan P(3HB) adalah 0,058 mg dan % P(3HB) adalah 0,290 (%b/b) ; II. 400 mg/100 ml diperoleh kandungan P(3HB) adalah 0,124 mg dan % P(3HB) 0,620 (%b/b) ; III. 600 mg/100 ml diperoleh kandungan P(3HB) adalah 2,309 mg dan % P(3HB) 11,5459 (%b/b).

DAFTAR PUSTAKA

Aak., 1990, *Budidaya Tanaman Padi*, Penerbit Kasinius, Yogyakarta.

- Cowd, M. A., 1991, *Kimia Polimer*, terjemahan : Harry, F. Penerbit ITB, Bandung.
- Departemen Kesehatan RI, 1979, *Farmakope Indonesia*, Edisi III, Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI, 1995, *Farmakope Indonesia*, Edisi IV, Jakarta.
- Doi, Y., 1990. *Microbial Polyester*, VCH Publisher. Inc., New york.
- Djamaan, A., 2000, *Penghasilan Biopolimer oleh Mikroorganisme*, Jurusan Farmasi, FMIPA, Unand, Padang.
- Djamaan, A., 2002, *Teknologi Fermentasi Industri I*, Hand Out (modul) I Mata Kuliah Bioteknologi Farmasi, Program Studi Farmasi FMIPA UNAND, Padang.
- Dwijoseputro, D., 1982, *Dasar - Dasar Mikrobiologi*, Penerbit Jembatan, Malang, 13 : 1-181.
- Hadioetomo, S., 1985, *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek*, Gramedia, Jakarta.
- Lubis, D., A., 1983, *Ilmu Makanan Ternak*. cetakan kedua, PT. Pembangunan, Jakarta.
- Lay, B. W., 1994, *Analisis Mikroba di Laboratorium*, P.T. Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Oura, F., 1983, *Reaction Product of Yeast Fermentation. Biotechnologi*. 3, Academic Press, New York.
- Ollsen, L., and Hahn, H. B., 1996, Fermentation of Lignocellulosik Hydrolysates for Ethanol Production. *Enzyme Micro. Technol.* 18, 312-331.
- Slamet, S. dan Bambang H. S., 1984, *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*, edisi III, Liberty, Yogyakarta.
- Stevens, M., P., 2001, *Polymer Chemistry*, Oxford University Press. Inc.