

Pengaruh Massa Awal Poli (trimetilen-sebasat) terhadap Laju Biodegradasi dalam Media Cair Menggunakan *Mucor miehei* secara Aerob

Akhmad Kholisul Fuad ^{1)*}, Diah Mardiana ¹⁾, Anna Roosdiana ²⁾

¹⁾ Program Magister Kimia, Jurusan Kimia, Fakultas MIPA Universitas Brawijaya

²⁾ Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya

Diterima tanggal 21 Maret 2012, direvisi tanggal 9 April 2012

ABSTRAK

Penulis telah melakukan penelitian tentang pengaruh massa poli (Trimetilen-Sebasat) terhadap laju biodegradasi oleh *Mucor miehei* dalam media cair secara aerob. Poli (trimetilen-sebasat) merupakan biodegradable poliester alifatik linier, dapat diuraikan oleh enzim lipase yang dihasilkan oleh *Mucor miehei*. Pengaruh massa poli (trimetilen-sebasat) dalam proses biodegradasi dilakukan pada variasi 0,06; 0,08; 0,1; 0,12 dan 0,14 g. Proses biodegradasi dilakukan selama 12 jam, media cair yang digunakan adalah *Complex media* merupakan jenis media yang kaya nutrisi untuk pertumbuhan *Mucor miehei*, dan dikondisikan pada pH 5. Gas CO₂ yang dihasilkan dialirkan ke dalam 50 mL NaOH 0,1 M kemudian dilakukan titrasi secara volumetri dengan HCl 0,05 M sebelumnya telah ditambahkan indikator MO (metil orange) dan PP (phenolptalein). Laju gas CO₂ yang dihasilkan pada masing-masing variasi massa poli (Trimetilen-sebasat) secara berurutan adalah 0,287 x 10⁻³; 0,102 x 10⁻³; 0,137 x 10⁻³; 0,016 x 10⁻³; dan 0,039 x 10⁻³ M/jam. Laju CO₂ yang dihasilkan semakin besar massa poli (terimetilen-sebasat) semakin menurun.

Kata kunci: *aerob, poli(trimetilen-sebasat), laju biodegradasi, Mucor miehei*

ABSTRACT

The author has conducted research about the effect of poly(trimethylene-sebacate) mass toward the rate of biodegradation using *Mucor miehei* in aerobic liquid media. Poly(trimethylene-sebacate) is a biodegradable linear aliphatic polyester, that can be degraded by *Mucor miehei* lipase. To determine the effect of poly(trimethylene-sebacate) mass in the biodegradation, the mass of poly(trimethylene-sebacate) were varied 0.06 g, 0.08 g, 0.1 g, 0.12 g and 0.14 g. Biodegradation process carried out for 12 hours, using liquid of *Complex media*, which was nutrient rich for *Mucor miehei* growth, and solution at pH 5. The resulting CO₂ gas was flowed into the 50 mL reservoir of 0.1 M NaOH, followed by titration using 0.05 M HCl and MO (methyl orange) and PP (phenolptalein) indicator. The rate of CO₂ gas were 0.287 x 10⁻³ M/h; 0.102 x 10⁻³ M/h; 0.137 x 10⁻³ M/h; 0.016 x 10⁻³ M/h; and 0.039 x 10⁻³ M/h respectively. The greater rate of CO₂ produced the lower mass of poly(trimethylene-sebacate).

Key word: *aerobic, Poly(trimethylene-sebacate), biodegradation rate, Mucor miehei*

PENDAHULUAN

Limbah padat kantong plastik yang sulit

*Corresponding author :
E-mail: ak_fuad@yahoo.co.id

terurai, memerlukan penanganan serius mengingat pembuangan di tempat penimbunan dapat menimbulkan gas rumah kaca [1] dan jika dibakar menghasilkan gas yang bersifat korosif serta beracun [2]. Untuk mengatasi hal ini dikembangkan plastik *biodegradable*, yang

telah diproduksi secara komersial di beberapa negara maju, namun kebanyakan bahan plastik *biodegradable* masih menggunakan sumber daya alam tak terbarukan.

Satu potensi polimer *biodegradable* adalah poli(trimetilen-sebasat), suatu poliester dengan struktur linier yang bersifat ramah lingkungan karena ikatan ester ini bersifat mudah dihidrolisis [3], poli(trimetilen-sebasat) juga berbahan dasar dari sumber terbarukan. Namun untuk mengetahui potensinya sebagai bahan ramah lingkungan perlu dilakukan uji biodegradasi.

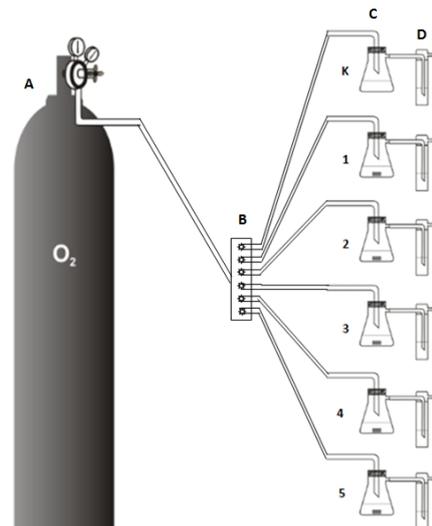
Biodegradasi poliester dapat dilakukan dalam media yang mengandung nutrisi baik padat maupun cair menggunakan mikroba penghasil enzim lipase [4], seperti halnya penggunaan kapang *Mucor miehei* [5]. Biodegradabilitas poli(trimetilen-sebasat) yang didasarkan pada penurunan massa polimer dipengaruhi oleh kondisi degradasi serta ketersediaan nutrisi bagi *Mucor miehei*. Pada kondisi anaerob dalam media cair dengan nutrisi terbatas, penurunan massa maksimum sebesar 8,73% dicapai setelah 504 jam [6]. Adapun pada kondisi aerob dalam media yang mengandung nutrisi berlebih diperoleh penurunan massa 3,72% setelah inkubasi 12 jam [7]. Pengamatan terhadap produk yang dihasilkan yaitu gas CO₂ diperoleh laju maksimum saat 12 jam adalah $7,38 \times 10^{-4}$ M/jam. Pada penelitian ini kajian lebih lanjut dilakukan dengan cara melakukan variasi massa awal poli(trimetilen-sebasat). Parameter yang diamati adalah laju pembentukan gas CO₂. Hasil uji dapat melengkapi informasi mengenai potensi polimer ini sebagai bahan baku untuk plastik ramah lingkungan.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat: Sampel utama yang digunakan adalah poli(trimetilen-sebasat), *Mucor miehei* (Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia FMIPA UB) yang diremajakan dalam media PDA, *Complex media* serta keperluan analisis saat karakterisasi. Alat utama adalah rangkaian peralatan biodegradasi (Gambar 1):

tabung O₂, selang penghubung, *Büchner Flask*, wadah penampung NaOH, serta peralatan pendukung saat produksi *Mucor miehei* yaitu inkubator merek Heraeus tipe B-5042, *shaker* merk Edmund tipe 25, autoklaf merk All American Model 25X, kompor listrik, pH meter merk Scoot-Gerate tipe CG.820, seperangkat alat gelas, dan neraca analitik Mettler tipe AE 50.

Cara Kerja, *Mucor miehei* yang telah diremajakan dalam media PDA dan diproduksi dalam media cair *complex media* dimasukkan dalam erlenmeyer yang telah disiapkan pada rangkaian alat biodegradasi. Media cair yang digunakan mengandung inducer asam sebasat.



Gambar 1. Rangkaian Alat Biodegradasi, dimana A tabung gas O₂; B pengatur laju gas O₂, C media biodegradasi, D penampung NaOH, k adalah control, 1 – 5 adalah media biodegradasi dengan variasi massa poli(trimetilen-sebasat).

Media biodegradasi dalam Erlenmeyer II sampai VI ditambahkan massa poli(trimetilen-sebasat) berturut – turut 0,06; 0,08; 0,1; 0,12 dan 0,14 g, sedangkan Erlenmeyer I (K) digunakan sebagai kontrol. Setelah semua Erlenmeyer terpasang kemudian dialirkan O₂ dan dilakukan biodegradasi selama 12 jam secara paralel untuk semua Erlenmeyer. Gas CO₂ yang terbentuk selama biodegradasi ditampung dalam wadah yang telah diisi dengan larutan NaOH, kemudian dianalisis

secara volumetri menggunakan larutan HCl 0,05 M dengan indikator fenolftalein dan metil jingga.

Karakterisasi poli (trimetilen-sebasat) setelah biodegradasi juga dianalisis berdasarkan perkiraan berat molekul rerata polimer. Metoda yang dilakukan adalah melalui analisis gugus ujung secara volumetri menggunakan larutan KOH alkoholis.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Biodegradasi Poli (trimetilen-sebasat).

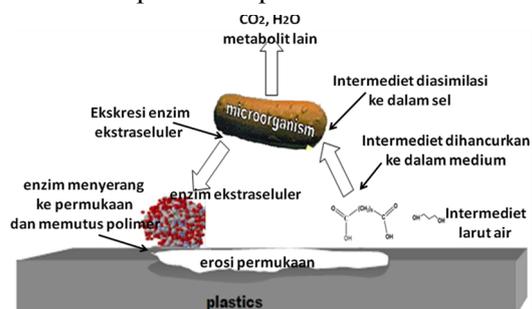
Poli(trim etilen-sebasat) merupakan poliester alifatik linier yang mempunyai sifat *biodegradable* karena dapat diuraikan oleh enzim lipase melalui gugus ester pada poli(trimetilen-sebasat). *Mucor miehei* menghasilkan enzim lipase dengan aktivitas 2,3555 unit pada pH 5 [8].

Complex media terdapat pepton yang berfungsi sebagai sumber energi, karbon, nitrogen, dan sulfur yang dibutuhkan oleh mikroba untuk pertumbuhannya. Vitamin dan senyawa organik lainnya disediakan oleh ekstrak *yeast*, sehingga *Mucor miehei* yang digunakan memiliki pasokan sumber nutrisi yang cukup untuk mempertahankan pertumbuhannya. Selain itu juga ditambahkan asam sebasat yang berfungsi sebagai inducer.

Enzim lipase ekstraseluler termasuk enzim induksi yang bekerja di luar sel untuk mengubah nutrisi disekitarnya, sehingga memungkinkan nutrisi memasuki sel dan diuraikan untuk menyediakan energi yang cukup bagi metabolisme sel [9]. Induser asam sebasat berfungsi memacu *Mucor miehei* memproduksi lipase untuk mengkatalisis nutrisi yang dapat dimanfaatkan untuk pertumbuhan hidup kapang baik metabolit primer atau sekunder. Menurut Jacob-Monod [10] di dalam Mikroba pada kromosomnya terdapat sedikitnya 4 gen yang mengatur ribosom memproduksi enzim lipase. Gen regulator (R) mengkode produksi dari protein repressor. Protein repressor ini akan berikatan dengan gen Operator (O) yang berperan mengontrol fungsi dari gen Struktural (S),

sedangkan gen Promoter (P) menginisiasi adanya RNA polymerase yang mentranskripsi DNA menjadi mRNA yang berperan mensintesis protein. Induser asam sebasat berperan sebagai penginaktif protein repressor dari gen R sehingga RNA polymerase dapat bergerak ke gen S yang akan mentranskripsi mRNA untuk mensintesis enzim lipase. Tanpa adanya asam sebasat sebagai inducer kemungkinan protein repressor akan berikatan dengan gen O dan menutup pergerakan dari RNA polimerase sehingga tak terjadi sintesis protein (lipase).

Laju Pembentukan Gas CO₂. Penentuan laju biodegradasi dapat dilakukan dengan menentukan pembentukan gas CO₂. Hal ini didasarkan pada terbentuknya metabolit sesuai mekanisme seperti tampak pada Gambar 2. Namun untuk menjamin terbentuknya gas CO₂ maka diperlukan input O₂ secara berlebih, karena keberadaan O₂ berpengaruh pada produksi lipase. Gas O₂ yang dialirkan, juga berperan untuk mendorong agar gas CO₂ yang terbentuk dapat terserap dalam NaOH.



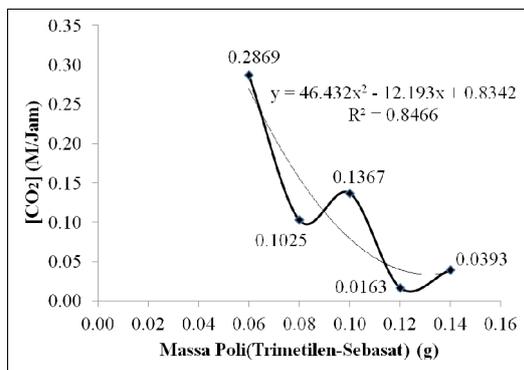
Gambar 2. Mekanisme Biodegradasi Plastik secara aerob [12]

Gas O₂ yang dialirkan ke dalam media biodegradasi dilakukan secara kontinu karena kelarutan O₂ dalam air sangat rendah (6,99 ppm pada 35°C) [11]. Diduga jika jumlah O₂ terbatas maka metabolisme yang terjadi pada *Mucor miehei* juga tidak optimal dan ada kemungkinan produksi enzim lipase juga menjadi terbatas, mengingat dalam sel O₂ berfungsi sebagai *acceptor electron* dari NADH dalam proses respirasi yang menghasilkan ATPs dan NAD. ATPs merupakan senyawa penyimpan energi yang diperlukan untuk proses biosintesis sedangkan

NAD diperlukan untuk siklus Krebs. Jumlah O_2 yang terbatas akan menghambat pembentukan ATPs sehingga akan menurunkan proses biosintesis (pertumbuhan biomassa).

Adapun hasil pengukuran gas CO_2 selama biodegradasi poli(trimetilen-sebasat) dalam media cair menggunakan *Mucor miehei* selama 12 jam disajikan pada Gambar 3. Tampak bahwa semakin tinggi massa awal polimer yang digunakan laju pembentukan gas CO_2 cenderung menurun. Dengan demikian tak ada korelasi antara peningkatan jumlah substrat dengan jumlah produk. Hal ini disebabkan substrat poli (trimetilen-sebasat) bukan merupakan sumber makanan yang dapat dimetabolisme langsung oleh *Mucor miehei*.

Di samping itu pada biodegradasi terjadi proses yang kompleks antara reaksi fermentasi dan reaksi hidrolisis secara enzimatik yang keduanya tak dapat dipisahkan. Pada proses ini produk yang dihasilkan kemungkinan bukan hanya gas CO_2 tetapi terdapat senyawa lain yang kemungkinan tak dapat masuk dalam siklus metabolisme sehingga selama 12 jam belum sampai terbentuk gas CO_2 .



Gambar 3. Grafik konsentrasi CO_2 yang terbentuk selama biodegradasi dengan variasi massa substrat

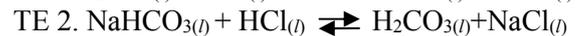
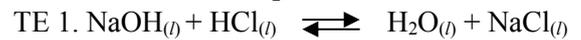
Di samping itu, sangat dimungkinkan terjadi kompetisi dalam memanfaatkan sumber karbon antara poli(trimetilen sebasat) dengan komponen dalam media, seperti pepton. Kapang pada reaksi fermentasi akan lebih memilih sumber karbon yang lebih sederhana. Oleh karena itu pada penelitian ini jumlah gas

CO_2 sulit menjadi tolok ukur biodegradabilitas polimer.

Reaksi:



Reaksi Penentuan CO_2 :



Gambar 4. Reaksi penentuan CO_2

Hasil yang kurang selaras kemungkinan juga dipengaruhi oleh perubahan sifat kimia maupun sifat fisik lingkungan, dalam hal ini adalah karakter media yang berubah selama proses berlangsung. Biodegradasi menggunakan mikroorganisme merupakan proses fermentasi, sehingga perubahan sifat media dimungkinkan mempengaruhi pertumbuhan kultur, konsentrasi dan morfologi biomassa serta konsentrasi produk.

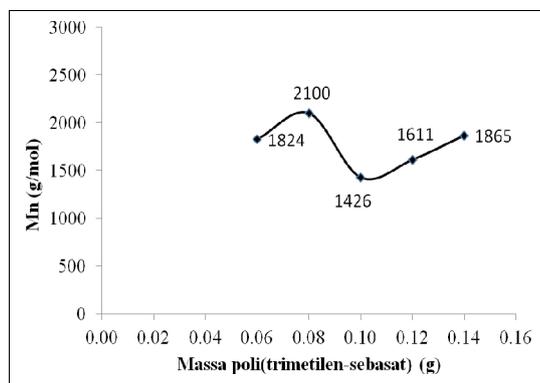
Suatu media yang memiliki sifat aliran non-Newtonian, terutama jika memiliki viskositas tinggi akan menyebabkan penghambatan transfer O_2 ke dalam sistem sehingga enzim lipase yang diperlukan untuk katalisis reaksi hidrolisis polimer menjadi terhambat. Bilamana reaksi hidrolisis terbatas, materi yang terdapat dalam media memiliki ukuran besar dan tak dapat berdifusi ke dalam sel sehingga sumber nutrisi berkurang. Atas dasar ini maka sebagai pendukung hasil biodegradasi, juga dilakukan penentuan berat molekul rerata polimer setelah biodegradasi.

Bilangan asam setara dengan satu mol gugus asam pada satu gram sampel yang dititrasi menggunakan satu mol KOH.

Bilangan asam dapat digunakan untuk memperkirakan harga berat molekul rata – rata didasarkan pada analisis gugus fungsi yang terikat pada ujung poli(trimetilen-sebasat). Harga bilangan asam yang semakin rendah menunjukkan bahwa rantai poli(trimetilen-sebasat) semakin panjang dan berat molekul rata-rata semakin besar [13].

$$\text{Bilangan asam (mmol/g)} = \frac{(V_s - V_B) \times C_{KOH}}{w}$$

$$\text{Berat molekul (g/mol)} = \frac{n \times 10^3}{\text{Bilangan asam}} \quad (1)$$



Gambar 5. Berat molekul poli(trimetilen-sebasat) setelah proses biodegradasi.

Berdasarkan Gambar 5, berat molekul rerata setelah biodegradasi tidak menunjukkan pola, karena saat massa polimer semakin naik berat molekul rerata meningkat kemudian turun dan meningkat kembali. Fenomena ini dimungkinkan terjadi karena poli (trimetilen-sebasat) bukan polimer homodispersi sehingga memiliki berat molekul yang bervariasi. Saat biodegradasi dan terjadi reaksi hidrolisis akan berlangsung secara acak, baik untuk polimer dengan rantai pendek maupun rantai lebih panjang. Bila hidrolisis terjadi untuk rantai lebih pendek maka berat molekul rerata akan meningkat dan sebaliknya.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa, laju CO_2 yang dihasilkan selama proses biodegradasi dengan variasi massa awal poli (trimetilen-sebasat) cenderung menurun, ini menunjukkan bahwa laju biodegradasi poli (trimetilen-sebasat) semakin menurun.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulisan ini tidak lepas dari bantuan banyak pihak baik secara langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terimakasih kepada: Dr. Diah Mardiana, MS, Dra. Anna Roosdiana, M.App.Sc, dan segenap pihak yang telah

memberikan dorongan, semangat, do'a, dan bantuan dalam menyelesaikan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Ahmann, D dan Dorgan J. R. (2009), Bioengineering for Pollution Prevention through Development of Biobased Energy and Materials State of the Science Report, EPA/600/R-07/028, p.76-78.
- [2] Evita, Ci, Efrida M, Rofiq So, Lies Di, Hardaningpranamudai & Yutaka T, (2000), Kerentanan Poliester Alifatik Terhadap Biodegradasi Biodegradability of Aliphatic Polyester, *Jurnal Mikrobiologi Indonesia*, 32-35.
- [3] Steven, M.P. (2001), *Kimia Polimer*, Cetakan pertama. Diterjemahkan oleh Sopyan L. PT Pradnya Paramita, Jakarta.
- [4] Belal, E.A. (2003), *Investigations on The Biodegradation of Polyesters by Isolated Mesophilic Microbes*. Dissertation, Technischen Universität Carolo-Wilhelmina.
- [5] Jay, J. M.. (1991), *Modern Food Biotechnology*, 4th ed. Van Nostrand Reinhold, New York.
- [6] Ciptawati, E. (2009), *Biodegradasi Poli(Trimetilen-Sebasat) Dalam Media Cair Yang Mengandung Mucor miehei*, Skripsi, FMIPA Universitas Brawijaya, Malang.
- [7] Anggraini, S.D. (2010), *Laju Pembentukan Gas CO_2 Pada Biodegradasi Poli(trimetilen-sebasat) Secara Aerob Dalam Media Cair Yang Mengandung Mucor Miehei*. Skripsi, FMIPA Universitas Brawijaya, Malang.
- [8] Permatasari, E.F. (2002), *Isolasi dan Karakterisasi Ekstrak Kasar Enzim Lipase dari Mucor miehei*. Skripsi, FMIPA Universitas Brawijaya, Malang.
- [9] Waluyo, L. (2004), *Mikrobiologi Umum*, UMM Press, USA
- [10] Monod, J. 1949. The growth of bacterial cultures, *Ann. Rev. Microbiol.*, 3, 371-394.

- [11] Manfaati, R, (2010), *Kinetika Dan Variabel Optimum Fermentasi Asam Laktat Dengan Media Campuran Tepung Tapioka Dan Limbah Cair Tahu Oleh Rhizopus Oryzae*, Tesis, Universitas Diponegoro Semarang.
- [12] Muller, R.J. (2006), Biological Degradation of Synthetic Polyester-Enzymes as Potential Catalyst for Polyester Recycling, *Process Biochemistry Mei 2006*, 41(6): 2124-2128.
- [13] Bakar, A.R.D., I. Ahmad, and A. Ramli (2006), Chemical Recycling of Pet Waste from Soft Drink Bottles to Produce a Thermosetting Polyester Resin, *Malaysia J. Chem.*, 8(1): 022-026.