

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biopolimer

Biopolimer adalah polimer *biodegradable* alami yang diakumulasikan oleh mikroorganisme (Martínez, 2011). Polimer merupakan makromolekul besar yang terbentuk dari unit-unit atau monomer berulang sederhana. Salah satu kelompok polimer ini adalah plastik (Djamaan dan Dewi, 2014). Sementara *biodegradable* berarti dapat diuraikan secara kimia oleh mikroorganisme (Gill, 2014).

Biopolimer dibagi menjadi dua kelompok yaitu, biopolimer biourai dan fotourai. Biopolimer biourai yaitu plastik yang dapat diuraikan oleh enzim yang dihasilkan oleh mikroba secara hidrolisis, sedangkan biopolimer fotourai yaitu plastik yang sensitif terhadap cahaya dan terurai menjadi fragmen-fragmen kecil yang tidak dapat diuraikan lagi (Djamaan, 2011).

2.2 Bioplastik

Bioplastik merupakan biopolimer alami yang disintesis dan dikatabolisme oleh berbagai organisme (Suriyamongkol *et al.*, 2007). Bioplastik disintesis dari bahan yang dapat diperbaharui seperti dari jagung (asam polilaktik), tebu (Biopolietilen), lemak (Biopolietilen generasi kedua) (Brodin, 2017). Bahan lainnya yang dapat diperbarui seperti pati, minyak nabati, dan mikroba. Ketersediaan bahan dasarnya di alam sangat melimpah dengan keragaman struktur tidak beracun. Bahan yang dapat diperbarui ini memiliki biodegradabilitas yang tinggi sehingga sangat berpotensi untuk dijadikan bahan pembuat bioplastik

(Stevens, 2002). Bioplastik dapat dikatabolisme secara kimia oleh mikroorganisme seperti bakteri dan jamur (Djamaan, 2011) menjadi senyawa-senyawa alami seperti air, karbondioksida, dan kompos (Gill, 2014).

2.3 Poli- β -Hidroksialkanoat

Polihidroksialkanoat (PHA) adalah biopoliesters, disimpan di dalam sel sebagai bahan penyimpan energi oleh berbagai mikroorganisme. PHA juga bersifat biokompatibilitas dan biodegradabilitas. Pada bakteri tersebut polimer ini berguna sebagai cadangan bahan makanan dan energi yang akan digunakan pada keadaan pertumbuhan yang kurang menguntungkan (Djamaan, 2015). Sementara, PHA memiliki berbagai aplikasi di berbagai industri seperti sektor biomedis termasuk rekayasa jaringan, *patch* bio-implan, pengiriman obat, pembedahan dan pembalut luka (Raza, 2017).

2.4 Poli (3-Hidroksibutirat)

P(3HB) adalah cadangan makanan dalam granular-granular sitoplasma pada sel bakteri dengan ukuran yang berbeda tiap spesiesnya. PHB dihasilkan oleh bakteri secara intraseluler yang berfungsi sebagai sumber karbon dan cadangan energi. Sumber karbon adalah substrat yang diperlukan dalam metabolisme bakteri. Sumber karbon yang dapat digunakan untuk sintesa PHB ialah glukosa, pati, molase, asam sitrat, asam asetat, alkohol, sukrosa, dan lain-lain. Glukosa merupakan substrat yang paling banyak digunakan dalam produksi PHB, glukosa dipilih karena mudah dimetabolisme oleh bakteri (Yuli *et al.*, 2008).

2.4.1 Sejarah Penemuan Poli(3-Hidroksibutirat)

Seorang ilmuwan dari Prancis, Lemoigne pertama kali menemukan Poli (3-hidroksibutirat) atau P(3HB), dalam sel sitosol pada bakteri *Bacillus megaterium* pada tahun 1925 (Chee *et al.*, 2010). Identifikasi mikroorganisme yang menghasilkan P(3HB) menggunakan pewarna *Nile BlueA* 1% atau *Sudan Black* (Djamaan, 2011) bakteri yang positif mengandung P(3HB) akan berfluoresensi jingga keemasan bila dilihat di bawah lampu UV pada panjang gelombang 360 nm, sedangkan yang negatif akan menunjukkan warna hitam (Ostle dan Holt, 1982). Penemuan ini memicu indentifikasi pada berbagai strain bakteri seperti *archaebacteria*, bakteri gram positif, dan bakteri gram negatif serta bakteri fotosintetik termasuk *cyanobacteria* untuk mengakumulasikan P(3HB) baik secara aerobik dan anaerobik (Chee *et al.*, 2010).

2.4.2 Bakteri Penghasil Bioplastik P(3HB)

Bakteri penghasil bioplastik P(3HB) menurut Djamaan, 2004 dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 1. Bakteri penghasil P(3HB) (Djamaan, 2004).

<i>Actinetobacter</i>	<i>Gamphosphaeria</i>	<i>Photobacterium</i>
<i>Actinomycetes</i>	<i>Haemophilus</i>	<i>Pseudomonas</i>
<i>Aphanothese</i>	<i>Halobacterium</i>	<i>Ralstonia</i>
<i>Aquaspirillum</i>	<i>Hypomicrobium</i>	<i>Rhizobacterium</i>

<i>Azospirillum</i>	<i>Lamprocytis</i>	<i>Rhodobacter</i>
<i>Azotobacter</i>	<i>Lampropedia</i>	<i>Rhodospirillum</i>
<i>Bacillus</i>	<i>Leptothrix</i>	<i>Sphaerotilus</i>
<i>Beggiatoa</i>	<i>Methylobacterium</i>	<i>Sprillum</i>
<i>Beijerinckia</i>	<i>Methylosinus</i>	<i>Spirulina</i>
<i>Caulbacter</i>	<i>Methylocystis</i>	<i>Streptomyces</i>
<i>Chlorofrexus</i>	<i>Micrococcus</i>	<i>Syntropomonas</i>
<i>Cholorogloea</i>	<i>Microcoleus</i>	<i>Thiobacillus</i>
<i>Chromobacter</i>	<i>Microcystis</i>	<i>Thiocapsa</i>
<i>Clostridium</i>	<i>Moraxella</i>	<i>Thiocystis</i>
<i>Chroomatium</i>	<i>Mycoplana</i>	<i>Thiodictyon</i>
<i>Derxia</i>	<i>Nitrobacter</i>	<i>Thiopedia</i>
<i>Ectothiorhodspira</i>	<i>Nitrococcus</i>	<i>Thiospaera</i>
<i>Escherichia</i>	<i>Nocardia</i>	<i>Vibrio</i>
<i>Erwinia</i>	<i>Oceanospirillum</i>	<i>Xanthobacter</i>
<i>Ferrobacillus</i>	<i>Paracoccus</i>	<i>Zoogloea</i>

Prinsip penumbuhan bakteri dalam bioreaktor untuk menghasilkan senyawa P(3HB) yaitu menggunakan substrat yang mengandung sumber karbon

yang berlebih dengan mengurangi unsur penting lainnya seperti nitrogen. Hal ini dikarenakan kecendrungan bakteri mengonsumsi sumber karbon lebih tinggi sehingga pertumbuhan sel bakteri menjadi tidak seimbang. Akibatnya bakteri akan menghasilkan granul sebagai cadangan makanan di dalam selnya. Ketika simpanan bakteri telah mencapai jumlah banyak, peneliti dapat mengekstraknya keluar sel, sehingga diperoleh resin polimer yang dapat dikembangkan untuk berbagai keperluan (Djamaan, 2015).

2.4.3 Granul P(3HB) di dalam Sel Bakteri

Granul polimer intraseluler diakumulasikan di sitoplasma hingga 90% dari berat kering sel dalam kondisi kekurangan nutrisi (nitrogen atau oksigen) dengan adanya kelebihan karbon (Reddy *et al.*, 2003). Granul P(3HB) di dalam sel bakteri dilihat jelas di bawah mikroskop elektron transmisi. Diameter granul yang terdapat dalam sitoplasma bakteri *Bacillus megaterium* berbentuk stefa telah diisolasi berkisar antara 0,2 – 0,7 μ m (Djamaan, 2011). Sementara dalam sel *Erwinia sp*, USMI-20, granul P(3HB) dalam setiap sel bakteri bervariasi antara 1 – 10 granul dengan kapasitas granul 40 – 60 % dari volume sel (Djamaan dan Agustien, 2006).

Kajian ultrastruktur menunjukkan granul P(3HB) di dalam sitoplasmik dikelilingi oleh satu lapisan membran dengan ketebalan kurang lebih 0,2 μ m. Membran monolapis tersebut terdiri dari lipid dan protein yang masing-masing 0,5% dan 2% dari berat granul P(3HB). Pembentukan granul dimulai dari pemecahan substrat menjadi asetil ko-A yang kemudian menjadi (D)-3-hidroksibutiril ko-A melalui reaksi kondensasi 2 molekul asetil ko-A. Kemudian

enzim P(3HB) sintesa akan memperpanjang rantai dengan cara berikatan dengan (D)-3-hidroksibutiril ko-A. Perpanjangan rantai akan meningkatkan ukuran granul P(3HB) (Djamaan, 2011).

2.4.4 Peranan P(3HB) di dalam Sel Bakteri

P(3HB) terdapat dalam membran bakteri dan di dalam sebagian membran eukariot terutama pada mitokondria dan mikrosom. P(3HB) berperan sebagai sumber karbon dan tenaga dalam keadaan kekurangan nutrisi. Dalam ketiadaan sumber karbon serta kepekaan nitrogen yang sesuai, sintesis protein dapat terjadi dengan P(3HB) bertindak sebagai sumber karbon untuk proses metabolisme normal di dalam sel bakteri. Proses metabolisme ini sebagai pengawal proses redoks sel. Peranan P(3HB) sebagai bahan cadangan di dalam sel bakteri didukung oleh sifatnya dihasilkan dalam berat molekul yang tinggi serta tingkat kelarutannya yang rendah sehingga tidak akan meningkatkan tekanan osmotik. *Azospirillum brasilense* mempunyai jangka waktu hidup yang lama karena memiliki P(3HB) yang tinggi. Fungsi biologi P(3HB) dapat dikatakan sama dengan glikogen dalam sel mamalia dan kanji pada tumbuhan (Djamaan, 2011).

2.4.5 Sifat Fisika dan Kimia P(3HB)

Poli (3-hidroksibutirat) memiliki titik lebur yang sangat tinggi, yaitu 175-180°C (Gahlawat dan Soni, 2017). P(3HB) tidak larut air, relatif tahan terhadap degradasi hidrolitik, dan permeabilitas oksigen yang baik. Sama halnya menurut Hrabak (1992), P(3HB) mempunyai karakteristik mirip dengan 3 keunikan, yaitu termoplastik, 100% tahan air, dan 100% *biodegradable*. Selain itu, P(3HB) memiliki ketahanan terhadap sinar UV, namun tidak tahan terhadap kondisi asam

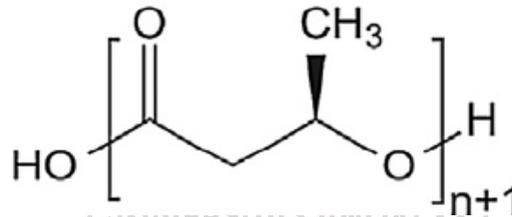
dan basa (Kumaravel *et al.*, 2010). Pada tabel 2 memperlihatkan perbandingan karakteristik antara polipropilen dan P(3HB).

Tabel 2. Perbandingan karakteristik polipropilen dan P(3HB) (Atkinson dan Maituna, 1991)

Parameter	PP	P(3HB)
Titik leleh, Tm (°C)	171-186	171-182
Suhu transisi kaca , Tg (°C)	-15	5-10
Kristalinitas (%)	65-70	65-80
Densitas (g/cm)	0,905-0,94	1,23-1,5
Bobot Molekul, Mw (105)	2,2-7,0	1,0-8,0
Distribusi bobot molekul	5-12	2,2-3
Modulus kelenturan (Gpa)	1,7	3,5-4,0
Kekuatan tarik (Mpa)	39	40
Pemanjangan hingga putus (%)	400	6-8
Resistensi terhadap ultraviolet	Buruk	Baik
Resistensi terhadap pelarut	Baik	Buruk

P(3HB) adalah polimer makromolekul asam D(-)-3-hidroksibutirat yang aktif secara optik karena mempunyai atom karbon asimetrik pada posisi C₃ dari struktur kimianya. Formula empiris P(3HB) ialah (C₄H₆O₂)_n. Jumlah n berkisar antara 600 – 35.000. Semakin besar jumlah n, maka akan menghasilkan polimer dengan berat molekul yang besar dengan sifat kimia dan kelenturan yang lebih

baik. Faktor yang mempengaruhi harga n ini antara lain strain mikroorganisme penghasil P(3HB), jenis substrat yang digunakan, enzim P(3HB) sintase, dan keadaan fermentasi (suhu, kelembapan, dan kecepatan pengoncangan) (Djamaan, 2011). Struktur kimia P(3HB) sebagai berikut:



Gambar 1. Struktur kimia P(3HB) (Djamaan, 2011)

2.4.6 Potensi Aplikasi Bioplastik P(3HB)

Dalam bidang farmasi, sifat ketidaktoksikan P(3HB) telah membuktikan penggunaannya sebagai mikrokapsul untuk mengontrol pembebasan obat pada kadar yang diinginkan baik secara *in-vivo*, maupun secara *in-vitro* (Djamaan, 2015). Aplikasi biopolimer P(3HB) juga sebagai matriks bahan obat lepas lambat (*Sustained release*). Sediaan obat dibuat berupa mikrokapsul dengan bahan aktif model hormon levonogestrel dan verapamil HCl. Hasil yang didapatkan sangat baik dan berpotensi dikembangkan menjadi suatu formula baru dalam industri farmasi modern di masa datang (Djamaan, 2013). P(3HB) ini sangat stabil. Kajian mengenai kadar pembebasan aklarubisin yang dibungkus dengan selaput tipis P(3HB) adalah sangat lambat, 10% b/b yang dibebaskan dalam 120 jam secara *in-vivo*. Sehingga menghasilkan produk obat lepas terkendali untuk tujuan terapi jangka panjang (Doi,1990). P(3HB) digunakan sebagai benang untuk jahitan luka pembedahan dan piring tulang untuk menetapkan rekahan tulang serta untuk

merangsang pertumbuhan tulang (Pena *et al.*, 2014). Hal ini diduga karena kesamaan sifat piezoelektriknya dengan tulang alamiah. Biopolimer ini juga berpeluang digunakan dalam bidang rekayasa kulit (*tissue engineering*) (Rezwan *et al.*, 2006; Nubia *et al.*, 2007; Gonzalez-Garcia *et al.*, 2008).

Penggunaan P(3HB) sebagai bahan plastik pembungkus untuk mengurangi pencemaran lingkungan yang disebabkan oleh timbunan plastik sintetis. Penggunaan plastik sintetis mulai dibatasi dan beralih ke biopolimer sebagai bahan pembungkus kemasan produk. Produk biopolimer yang telah dihasilkan contohnya botol sampo oleh industri wella di Jerman dan juga filem pembungkus makanan dan minuman di Jepang. Dengan demikian, penggunaan biopolimer bakteri P(3HB) peluangnya sangat terbuka karena sifat ramah lingkungan dan bukan dari minyak bumi yang ketersediaannya makin menipis di alam (Djamaan, 2015).

Peneliti di Belanda menggunakan MCL-P(3HB) yang dihasilkan oleh *P. Putida* sebagai campuran pembuatan cat dengan kualitas sangat baik. Hal ini dikarenakan sifat plastis dari P(3HB), sehingga dihasilkan kekentalan yang baik untuk menghasilkan permukaan pengecatan yang licin dan lebih tahan terhadap air dan jamur (Djamaan, 2015).

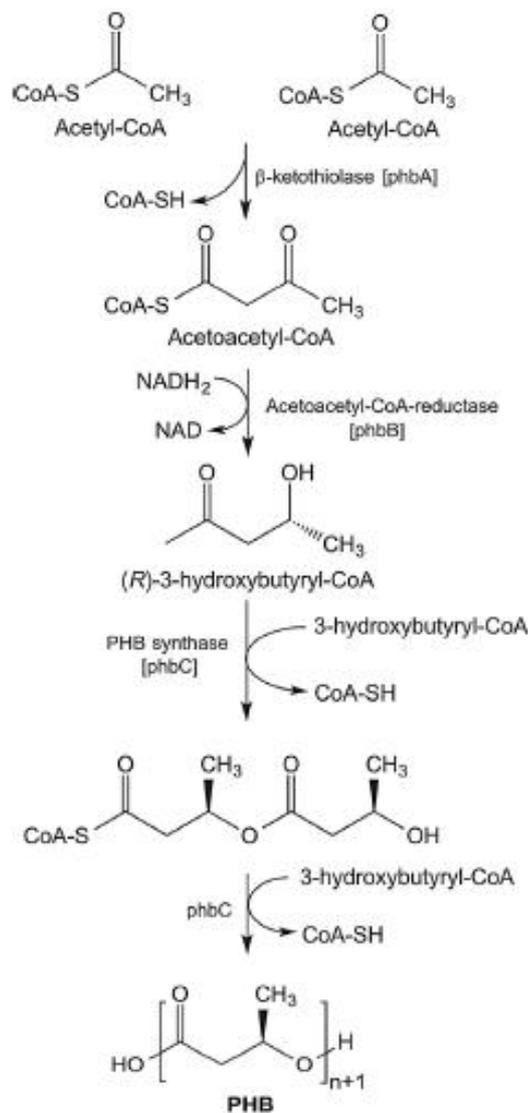
2.4.7 Biosintesis P(3HB)

Kajian awal P(3HB) disintesis dari asetil-KoA dalam sel *Ralstonia eutropha* (Chen dan Jiang, 2017; Czerniecka *et al.*, 2014). Semua karbon yang digunakan diubah terlebih dahulu menjadi asetil-KoA sebelum proses dimulai (Dawes dan Senior, 1973). P(3HB) disintesis dari asetil-KoA melalui kerja 3 jenis

enzim yaitu β -ketothiolase, asetoasetil-KoA reduktase dan sintase PHB (Kosseva dan Rusbandi, 2017).

Pada Gambar 2 jalur biosintesa P(3HB) dari asetil ko-A, tahap pertama, enzim β -ketothiolase akan mengubah asetil ko-A menjadi asetoasetil ko-A reaksi kondensasi dua molekul asetil ko-A. Reaksi selanjutnya, asetoasetil ko-A yang telah terbentuk akan diuraikan oleh enzim asetoasetil ko-A reduktase menjadi (R)-3-hidroksibutiril ko-A dengan mengubah NADH_2 menjadi NAD. Tahap akhir adalah pembentukan P(3HB) dari (R)-3-hidroksibutirat ko-A dengan melibatkan enzim ketiga, yaitu P(3HB) sintetase dengan jalan melepaskan Co-ASH (Kosseva dan Rusbandi, 2017).





Gambar 2. Jalur biosintesis P(3HB) dari asetil-koA dalam *Ralstonia eutrophal* (Kosseva dan Rusbandi, 2017).

2.5 Fermentasi

Fermentasi adalah proses perubahan kimiawi dari senyawa kompleks menjadi lebih sederhana dengan bantuan enzim yang dihasilkan oleh mikroba. Proses fermentasi menyebabkan terjadinya perubahan substrat menjadi produk baru oleh mikroba (Jay, 2005). Fermentasi berasal dari kata *fervere* (latin) yang berarti mendidih. Peristiwa pendidihan tersebut terjadi akibat terbentuknya gelembung karbondioksida oleh proses katabolisme dari gula dalam ekstrak

(Suprihatin, 2010). Salah satu contoh proses ialah aksi ragi pada ekstrak buah selama pembuatan minuman beralkohol.

Menurut Jay (2005) berdasarkan penerapannya dalam industri komersial, proses fermentasi dapat dikelompokkan menjadi lima tipe, yaitu:

1. Fermentasi untuk produksi biomassa

Bagian ini dibagi atas dua proses utama, yaitu produksi sel ragi untuk roti dan produksi sel bakteri untuk makanan atau hewan (protein sel tunggal). Produksi yang telah berkembang di Indonesia adalah sel mikrobial inokulum tempe dan ragi tape. Namun, sel mikrobial non-inokulum juga mulai dikembangkan. Mikrobial utamanya adalah bakteri probiotik. Bakteri probiotik dikemas dalam bentuk kapsul atau kaplet.

2. Fermentasi untuk produksi enzim

Dalam fermentasi untuk produksi enzim menggunakan sistem kendali induksi dengan jalan memasukkan suatu inducer dalam medium, sementara represi umpan balik dapat dihindari melalui teknik mutasi atau seleksi. Produksi yang termasuk kedalam proses ini yakni produksi protease, amilase, pektinase, aminoglikosidase, laktase, glukosa oksidase dan glukosa isomerase. Produksi dengan sistem pengendali ini guna memperoleh produksi dalam jumlah yang cukup, maka sistem kendali yang digunakan harus dapat dimanipulasi.

3. Fermentasi untuk produksi metabolit

Biakan mikroorganisme dapat mensintesis senyawa metabolit sekunder pada fase stationer, dimana fungsinya belum diketahui secara pasti dalam metabolisme sel. Metabolisme sekunder juga dapat terjadi dalam biakan kontinu pada pertumbuhan lambat. Contoh metabolit sekunder adalah, antibiotika, steroid, asam kojik, poliketida dan polimer.

Fermentasi untuk produksi metabolit telah banyak dilakukan diantaranya etanol (untuk minuman penyegar beralkohol dan sebagai campuran bahan bakar motor), asam sitrat (digunakan sebagai pemberi rasa pada makanan dan minuman industri), aseton dan butanol (sebagai pelarut di industri)

4. Fermentasi untuk produksi rekombinan

Teknik DNA rekombinan dipakai untuk mengubah urutan nukleotida suatu gen, sehingga mengubah struktur protein dan sandinya. Cara ini juga dipakai untuk memproduksi obat baru dengan mengubah aktifitas protein. Salah satu contohnya ialah protein yang digunakan sebagai obat, seperti insulin untuk hormon pertumbuhan manusia.

5. Fermentasi untuk modifikasi senyawa (Transformasi)

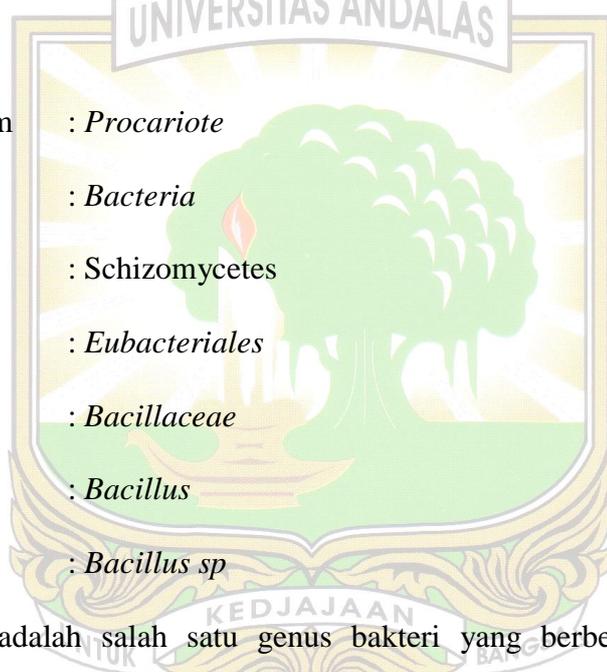
Sel mikroorganisme dapat mengkonversi senyawa organik tertentu menjadi senyawa baru dengan katalisis dari sel atau enzimnya seperti, dehidrogenasi, oksidasi, dehidrasi, dan kondensasi, dekarboksilasi, aminasi, deaminasi dan isomerasi, yang mempunyai struktur inti yang sama tetapi mempunyai nilai ekonomis yang lebih baik. Sementara proses biotransformasi mempunyai keuntungan seperti reaksinya spesifik,

berlangsung pada suhu rendah dan produksinya lebih tinggi. Produksi senyawa dengan nilai tinggi yang termasuk kedalam proses ini seperti steroid, prostaglandin, antibiotika, juga konversi anhidrotetrasiklin menjadi tetrasiklin, naftalen menjadi asam salisilat dan etanol menjadi asam asetat.

2.6 *Bacillus* sp. UAAC 21501

Dalam proses fermentasi untuk menghasilkan bioplastik P(3HB), dibutuhkan *Bacillus* sp. UAAC 21501. Berikut adalah taksonomi bakteri *Bacillus*

sp :



Kingdom : *Procariote*
Divisio : *Bacteria*
Kelas : *Schizomycetes*
Ordo : *Eubacteriales*
Family : *Bacillaceae*
Genus : *Bacillus*
Spesies : *Bacillus sp*

Bacillus adalah salah satu genus bakteri yang berbentuk batang dan termasuk anggota divisi *bacteria*. *Bacillus* merupakan bakteri yang bersifat aerob obligat atau fakultatif, dan positif terhadap uji enzim katalase, motilitas (Borah *et al.*, 2002).

Bakteri *Bacillus* sp UAAC 21501 merupakan bakteri termofilik yang diisolasi dari sumber air panas, Bukik Gadang, Kabupaten Solok, Sumatera Barat, untuk menghasilkan P(3HB). Penapisan dari 29 isolat diperoleh 3 isolat yang mampu memperlihatkan fluoresensi jingga. Namun diantara ke-3 isolat tersebut

Bacillus sp-3 yang memperlihatkan fluoresensi paling jingga. Berdasarkan uji menggunakan pereaksi *Nile Blue A* 1% dan diinkubasi selama 30 menit, lalu dilihat di bawah sinar UV pada panjang gelombang 365 nm, koloni bakteri ini memberikan warna fluoresensi jingga, sehingga bakteri ini dinyatakan positif dapat menghasilkan senyawa P(3HB) (Yuliadi,2015).

Karakteristik Isolat bakteri *Bacillus* sp. UAAC dilakukan pengamatan secara makroskopis, mikroskopis, dan uji biokimia (Tabel 3). Selanjutnya, peneliti sebelumnya telah dilakukan uji determinasi gen 16S rRNA terhadap bakteri *Bacillus* sp UAAC 21501 dan didapatkan hasil bahwa bakteri *Bacillus* sp UAAC 21501 mirip 99% dengan bakteri *Bacillus licheniformis* Strain 2C . Berikut hasilnya seperti tabel di bawah ini:

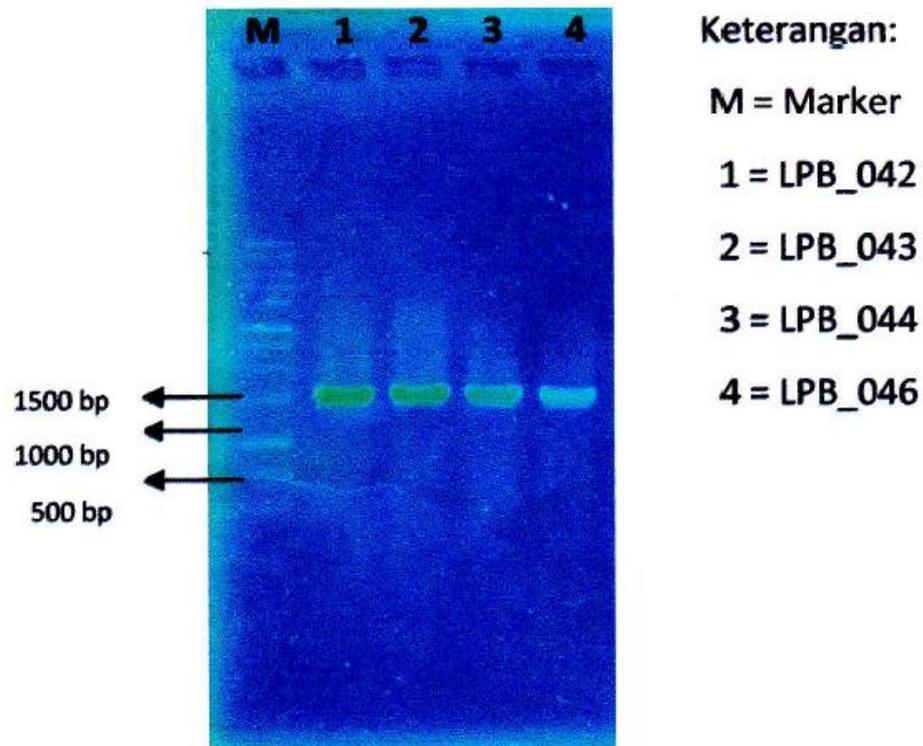
Tabel 3. Karakteristik isolat bakteri *Bacillus* sp. UAAC 21501 penghasil bioplastik (Yulialdi, 2015)

Pengamatan	Hasil
Makroskopis	
Bentuk koloni	Bulat
Warna koloni	Putih
Pinggiran	Rata
Elevasi Permukaan	Datar Halus
Mikroskopis	
Pewarnaan Gram	+
Bentuk Sel	Basil
Ukuran (panjang)	0,4 μm
Ukuran (lebar)	0,1 μm
Pewarnaan Endospora	-
Uji Biokimia	
Uji Motilitas	Motil
Uji Katalase	+
Uji Nutrient Agar	+
Uji Aerob/Anaerob	+
Uji TSIA	+
Uji H ₂ S	-

Uji Oksidase	-
Uji Indol	-
Uji Urea	+
Uji Citrat	-
Uji Laktosa	-
Uji Glukosa	-
Uji Sukrosa	-
Uji Mannitol	-
Uji Methyl Red	+
Uji Voges Proskaiter	+
Uji Oksidasi Fermentasi	-
Uji Arabinose	-
Uji Xylose	-
Uji Nitrat	-
Uji Gelatin	+

Tabel 4. Hasil identifikasi dengan metode uji determinasi gen 16S rRNA (Lab Bioteknologi LIPI, 2016)

No	Nama / Kode Sampel	Hasil uji	Homology	Metode Uji
1	UAAC 21501 LS 046/PO/05/2016	<i>Bacillus licheniformis</i> strain 2C	99	Determinasi gen 16S rRNA



Gambar 3 : Hasil visualisasi produk PCR di bawah sinar UV Dari isolat bakteri *Bacillus* sp UAAC 21501 (Lab Bioteknologi LIPI, 2016)

Berikut hasil sequencing urutan basa nukleotida dari isolat bakteri *Bacillus* sp

UAAC 21501 (Lab Bioteknologi LIPI, 2016) :

>Contig_LPB_046(UAAC_21501_TL5)

CAGTCGAGCGGACCGACGGGAGCTTGCTCCCTTAGGTGACGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGG
 TAACCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGCTTGATTGAACC
 GCATGGTTCAATCATAAAAGGTGGCTTTTCAGCTACCACCTTGCAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCT
 AGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCGACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGTGATCGGCCACA
 CTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGA
 AAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGTTTTTCGGATCGTAAACTCTGTTGTTAGGG
 AAGAACAAGTACCGTTTCGAATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAAGCCACGGCTAACT
 ACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGC
 GCGCAGGCGGTTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCCGCTCAACCGGGGAGGTCATTGGAAACT
 GGGGAACCTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAATTCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTG
 GAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTCTCTGGTCTGTAACCTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGG
 AGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGAGGGTT
 TCCGCCCTTTAGTGCTGCAGCAAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGA
 AACTCAAAGGAATTGACGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTTAATTCGAAGCAACGCG
 AAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAACCTTAGAGATAGGGCTTCCCCTTCGGGGGCGAG
 AATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCAGCAACGA
 GCGCAACCTTGTATCTTAGTTGCCAGCATTAGTTGGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGTGACAAAC

CGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACA
ATGGGCAGAACAAAGGGCAGCGAAGCCGCGAGGCTAAGCCAATCCCACAAAATCTGTTCTCAGTTCG
GATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCG
GTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCCGCCGTCACACCACGAGAGTTTGTAAACACCCGAAGT
CGGTGAGGTAACCTTTTGGAGCCAGCCGCCGAAGGTGGGACAGATGAT

2.7 Klasifikasi Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L)

Dalam proses fermentasi untuk menghasilkan bioplastik P(3HB), dibutuhkan tanaman tebu sebagai sumber karbon baru. Berikut adalah klasifikasi tanaman tebu (*Saccharum officinarum* L) menurut Steenis (2006) :



Kingdom : *Plantae*
Super Divisi : *Spermatophyta*
Divisi : *Magnoliophyta*
Kelas : *Liliopsida*
Ordo : *Poales*
Famili : *Graminae*
Genus : *Saccharum*
Spesies : *Saccharum officinarum* L

2.8 Analisa P(3HB) Menggunakan Kromatografi Gas

Kromatografi merupakan metode pemisahan campuran yang didasarkan pada perbedaan distribusi dari komponen-komponen campuran tersebut diantara dua fase yaitu fase diam dan fase gerak. Berdasarkan fase gerak yang digunakan, kromatografi dibedakan menjadi dua golongan besar yaitu kromatografi gas dan kromatografi cair (Gandjar dan Rohman, 2007).

Analisa kadar P(3HB) dengan menggunakan kromatografi gas yaitu mengubah senyawa menjadi metil ester. Metil ester merupakan derivat asam-asam lemak yang paling populer untuk analisis secara kromatografi gas. Pembuatan metil ester dapat dilakukan dengan menggunakan boron trifluorida, asam klorida atau methanol, asam sulfat atau methanol dan asam perklorat atau methanol (Gandjar dan Rahman, 2007). Penambahan methanol atau asam sulfat untuk mengkonversi P(3HB) menjadi bentuk esternya yaitu gugus 3 hidroksi metil ester. Senyawa ester yang mudah menguap ini yang akan dianalisa menggunakan kromatografi gas (Djamaan dan Dewi, 2014).

