

PENGGUNAAN HIDROLISAT JERAMI PADI (*Oryza sativa* Linn) SEBAGAI BAHAN DASAR PRODUKSI BIOPLASTIK POLI(3-HIDROKSIBUTIRAT) DENGAN MENGGUNAKAN BAKTERI *Bacillus cereus*

SKRIPSI SARJANA FARMASI



Oleh:

BERTILYUS ARIYATI

No. BP: 1311011034

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS ANDALAS

PADANG

2019

PERNYATAAN ORISINILITAS DAN PENYERAHAN HAK CIPTA

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Bertiliyus Ariyati

No. BP : 1311011034

Judul Skripsi : Penggunaan Hidrolisat Jerami Padi (*Oryza sativa* Linn) sebagai Bahan Dasar Produksi Bioplastik Poli(3-hidroksibutirat) dengan Menggunakan Bakteri *Bacillus cereus*

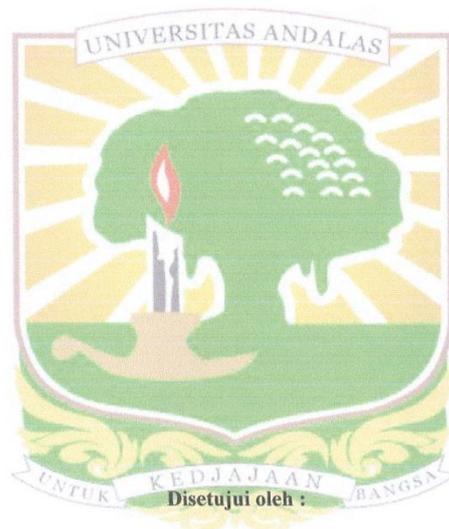
Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Skripsi yang saya tulis merupakan hasil karya saya sendiri, terhindar dari unsur plagiarisme, dan data beserta seluruh isi skripsi tersebut adalah benar adanya.
2. Saya menyerahkan hak cipta dari skripsi tersebut kepada Fakultas Farmasi Universitas Andalas untuk dapat dimanfaatkan dalam kepentingan akademik.

Padang, Januari 2019


Bertiliyus Ariyati

**Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk menempuh ujian
Sarjana Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Andalas
Padang**



Pembimbing I

Pembimbing II


Dr. Muslim Suardi, M.Si, Apt

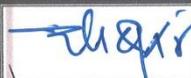
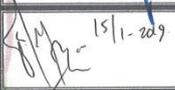

Prof. Dr. Akmal Djamaan, M.S, Apt

Skripsi Ini Telah Dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana Farmasi

Fakultas Farmasi

Universitas Andalas

Padang, Tanggal 7 Januari 2019

No	Nama	Jabatan	Tanda Tangan
1	Dr. Muslim Suardi, M.Si, Apt	Ketua	
2	Prof. Dr. H. Akmal Djamaan, MS, Apt	Anggota	
3	Fithriani Armin, S.Si, M.Si, Apt	Anggota	 15/1-2019
4	Prof. Dr. Hj. Dian Handayani, Apt	Anggota	
5	Deni Noviza, S.Farm, M.Si, Apt	Anggota	

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr.Wb

Alhamdulillah rabbil'alamin segala puji syukur penulis ucapkan kepada Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Penggunaan Hidrolisat Jerami Padi (*Oryza sativa* Linn) sebagai Bahan Dasar Produksi Bioplastik Poli(3-hidroksibutirat) dengan Menggunakan Bakteri *Bacillus cereus*”**. Skripsi ini disusun dalam rangka penyelesaian studi Strata 1 untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) pada Universitas Andalas.

Terima kasih secara khusus penulis persembahkan kepada Bapak Dr. Muslim Suardi, M.Si, Apt selaku pembimbing I, dan Bapak Prof. Dr. Akmal Djamaan, MS, Apt selaku pembimbing II, yang telah memberikan waktu, tenaga, dan pikirannya untuk mengarahkan dan membimbing penulis selama penelitian dan penulisan skripsi ini. Terima kasih juga penulis ucapkan kepada Ibu Prof. Dr. Marlina, MS, Apt selaku penasehat akademik yang senantiasa membimbing penulis selama pendidikan dan perkuliahan.

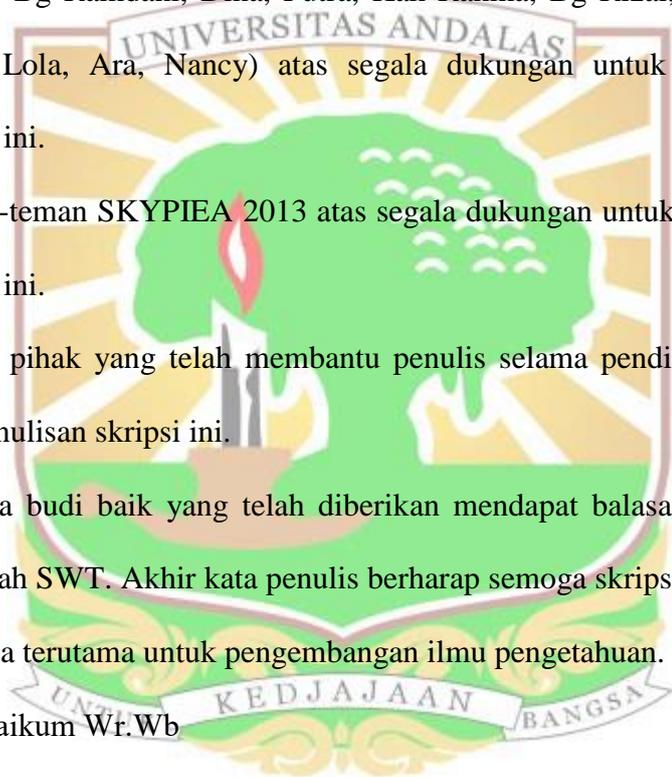
Rasa hormat dan terima kasih yang sebesar-besarnya juga penulis sampaikan kepada:

1. Orang tua, Kopol. Ali Anazar dan Yusma Juita, Abang Ipda. Gerryliyus Febrera, S.Trk, Jimmyliyus Julimen, Nencyliyus Zuleika serta seluruh keluarga besar.

2. Bapak dan Ibu Dosen Fakultas Farmasi Universitas Andalas.
3. Sahabat, saudara, dan teman-teman (Nisa, Ipit, Eghy, Kak Fitri, Miska) yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini.
4. Teman-teman di Laboratorium Bioteknologi (Kak Mita, Kak rindu, Bg Dani, Dira, Kak Fet, Rara, Brigita, Winta, Cakur, Tiak, Anggita, Nita, Dhena, Bg Ramdani, Dina, Putra, Kak Rahma, Bg Rizal, Bg Iwan, Kak Selvi, Lola, Ara, Nancy) atas segala dukungan untuk menyelesaikan skripsi ini.
5. Teman-teman SKYPIEA 2013 atas segala dukungan untuk menyelesaikan skripsi ini.
6. Semua pihak yang telah membantu penulis selama pendidikn, penelitian dan penulisan skripsi ini.

Semoga budi baik yang telah diberikan mendapat balasan yang berlipat ganda dari Allah SWT. Akhir kata penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat bagi kita semua terutama untuk pengembangan ilmu pengetahuan.

Wassalamu'alaikum Wr.Wb



Padang, Januari 2019

Penulis

**PENGGUNAAN HIDROLISAT JERAMI PADI (*Oryza sativa* Linn)
SEBAGAI BAHAN DASAR PRODUKSI BIOPLASTIK POLI(3-
HIDROKSIBUTIRAT) DENGAN MENGGUNAKAN
BAKTERI *Bacillus cereus***

ABSTRAK

Jerami padi merupakan limbah biomassa berselulosa yang berlimpah, dan belum banyak dimanfaatkan. Pada penelitian ini, jerami padi digunakan sebagai sumber karbon dalam fermentasi bakteri untuk produksi biopolimer poli(3-hidroksibutirat), P(3HB). Jerami padi diubah menjadi bentuk hidrolisat menggunakan enzim selulase yang diproduksi oleh fungi *Trichoderma viride*. Hidrolisat dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80 % difermentasi menggunakan inokulum bakteri *Bacillus cereus* dengan konsentrasi 1, 5, dan 10 %. Kandungan P(3HB) dalam biomassa ditentukan dengan kromatografi gas. Hasil menunjukkan biomassa tertinggi yaitu sebesar 84 mg/100mL pada konsentrasi hidrolisat jerami padi 80% dan inokulum 10%. Kandungan P(3HB) tertinggi dihasilkan sebesar 75,8% pada konsentrasi hidrolisat jerami padi 60% dan inokulum 10%.

Kata kunci: jerami padi, fermentasi, poli(3-hidroksibutirat)

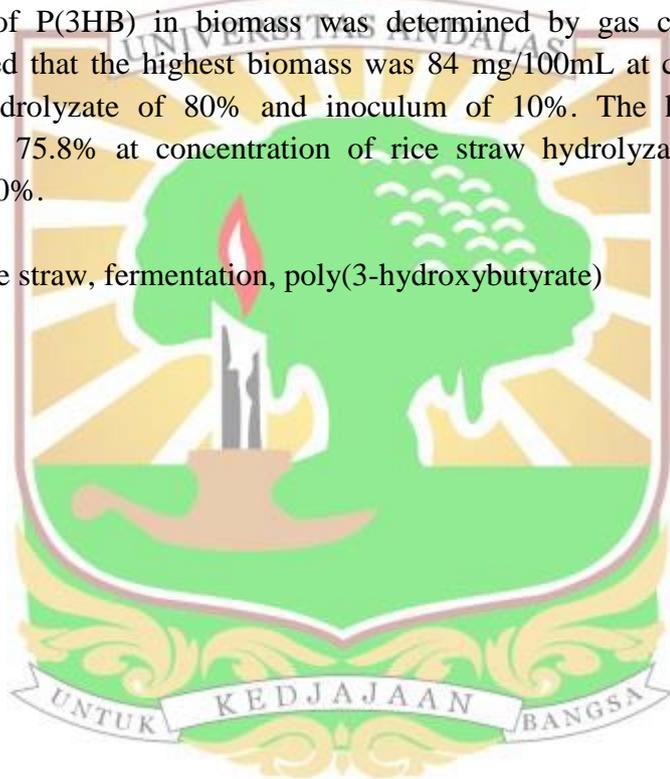


UTILIZATION OF RICE STRAW (*Oryza sativa* Linn) HYDROLYZATE AS SUBSTRATE FOR PRODUCTION OF BIOPLASTIC POLY(3-HYDROXYBUTYRATE) USING *Bacillus cereus*

ABSTRACT

Rice straw, is an abundant raw cellulosic biomass, had not been widely used. In this research, rice straw was used as carbon source in bacteria fermentation for biopolymer poly(3-hydroxybutyrate), P(3HB) production. The rice straw was transformed into hydrolyzate form using cellulase enzyme produced by *Trichoderma viride*. Hydrolyzate at concentration of 20, 40, 60, 80 % was fermentated by *Bacillus cereus* inoculum at concentration of 1, 5, and 10 %. The content of P(3HB) in biomass was determined by gas chromatography. Results showed that the highest biomass was 84 mg/100mL at concentration of rice straw hydrolyzate of 80% and inoculum of 10%. The highest P(3HB) produced was 75.8% at concentration of rice straw hydrolyzate of 60% and inoculum of 10%.

Keywords: rice straw, fermentation, poly(3-hydroxybutyrate)



DAFTAR ISI

JUDUL	i
PERNYATAAN ORISINILITAS DAN PENYERAHAN HAK CIPTA	ii
PENGESAHAN	iii
PERTAHANAN SKRIPSI	iv
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR TABEL	xvii
I. PENDAHULUAN	1
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Biopolimer	4
2.1.1 Defenisi Biopolimer	4
2.1.2 Poli(3-Hidroksialkanoat)	4
2.1.3 Poli(3-Hidroksibutirat)	5
2.1.4 Peranan P(3HB) di dalam Sel Bakteri	7
2.1.5 Granul P(3HB) di dalam Sel Bakteri	7
2.1.6 Biosintesis P(3HB)	8
2.1.7 Biodegradasi P(3HB)	9
2.1.8 Prospek Biopolimer	9

2.2 Jerami Padi	10
2.2.1 Komposisi Kimia Jerami Padi	10
2.2.2 Selulosa	11
2.3 Pretreatment	11
2.4 Fermentasi	12
2.5 Fase Pertumbuhan Bakteri	13
2.6 Bakteri Penghasil Biopolimer P(3HB)	14
2.7 Bakteri <i>Bacillus cereus</i> UAAC 21605 TG5	15
III. PELAKSANAAN PENELITIAN	18
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	18
3.2 Alat dan Bahan	18
3.2.1 Alat	18
3.2.2 Bahan	18
3.3 Prosedur Penelitian	19
3.3.1 Sterilisasi Alat	19
3.3.2 Persiapan Bahan	20
a. Pembuatan Medium PDA	20
b. Pembuatan Medium NA	20
c. Pembuatan Medium NB	20
d. Pembuatan Larutan Mikroelemen	21
e. Penyiapan Sumber Karbon Hidrolisat Jerami	21
f. Pembuatan Medium Fermentasi	22
3.3.3 Prosedur Kerja	22
1. Peremajaan Fungi <i>Trichoderma viride</i>	22
2. Produksi dan Uji Aktivitas Enzim Selulase	22

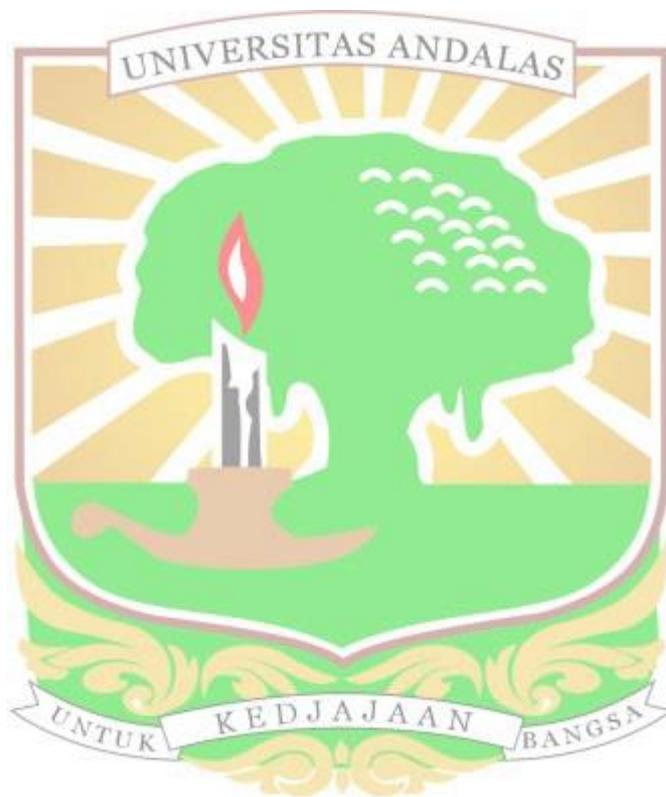
2.1	Produksi Enzim Selulase	22
2.2	Uji Aktivitas Enzim	23
a.	Pembuatan Kurva Standar Glukosa	23
b.	Pengujian Aktivitas Selulase	24
3.	Peremajaan Bakteri <i>Bacillus cereus</i>	24
4.	Pembuatan Inokulum Bakteri <i>Bacillus cereus</i>	25
5.	Fermentasi Bakteri untuk Produksi Biopolimer P(3HB)	25
6.	Proses Pemisahan Biomassa dan Supernatan	25
7.	Pemeriksaan pH Supernatan	26
8.	Penetapan Berat Kering Biomassa	26
9.	Proses Metanolisis	26
10.	Penentuan Kandungan Biopolimer di dalam Sel	27
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN	28
4.1	Hasil	28
4.1.1	Enzim Selulase	28
4.1.2	Hidrolisat Jerami Padi	28
4.1.3	Perolehan Biomassa Kering Bakteri	28
4.1.4	Pemeriksaan pH Supernatan	28
4.1.5	Kandungan Bioplastik P(3HB) dalam Sel Bakteri	29
4.1.6	Persentase Biopolimer P(3HB) dalam Sel Bakteri	29
4.2	Pembahasan	30
V.	KESIMPULAN DAN SARAN	37
5.1	Kesimpulan	37
5.2	Saran	37

DAFTAR PUSTAKA

38

LAMPIRAN

41



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
1.	Data Hasil Penelitian	41
2.	Contoh Perhitungan	56
3.	Dokumen Pendukung Penelitian	58



DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
1.	Struktur Kimia P(3HA)	5
2.	Struktur Kimia P(3HB)	6
3.	Jalur Biosintesis P(3HB) di dalam <i>R. eutropha</i>	9
4.	Pemecahan Lignoselulosa pada Pretreatment	12
5.	Kurva Pertumbuhan Bakteri	14
6.	Hasil Pengamatan Bentuk Sel Bakteri pada Pewarnaan Gram Bakteri Penghasil Bioplastik <i>Bacillus</i> sp5 Kode Isolat TG5	16
7.	Hasil Visualisasi Produk PCR di bawah Sinar UV dari Isolat Bakteri <i>B. cereus</i> UAAC 21605 TG5	17
8.	Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum Larutan Glukosa – DNS yang diuji dengan Alat Spektrofotometer UV-Vis	41
9.	Kurva Kalibrasi Larutan Standar Glukosa – DNS ($y = 0,1105x + 0,1192$)	42
10.	Profil Perbedaan Konsentrasi Inokulum <i>Bacillus cereus</i> terhadap Biomassa, pH Akhir, Kandungan P(3HB), Persentase P(3HB), dan Biomassa Residu pada Sumber Karbon Hidrolisat Jerami 20 % Setelah Fermentasi Selama 48 Jam	44
11.	Profil Perbedaan Konsentrasi Inokulum <i>Bacillus cereus</i> terhadap Biomassa, pH Akhir, Kandungan P(3HB), Persentase P(3HB), dan Biomassa Residu pada Sumber Karbon Hidrolisat Jerami 40 % Setelah Fermentasi Selama 48 Jam	45
12.	Profil Perbedaan Konsentrasi Inokulum <i>Bacillus cereus</i> terhadap Biomassa, pH Akhir, Kandungan P(3HB), Persentase P(3HB), dan Biomassa Residu pada Sumber Karbon Hidrolisat Jerami 60 % Setelah Fermentasi Selama 48 Jam	46
13.	Profil Perbedaan Konsentrasi Inokulum <i>Bacillus cereus</i> terhadap Biomassa, pH Akhir, Kandungan P(3HB), Persentase P(3HB), dan Biomassa Residu pada Sumber Karbon Hidrolisat Jerami 80 % Setelah Fermentasi Selama 48 Jam	47

14.	Profil Perbedaan Konsentrasi Sumber Karbon Hidrolisat Jerami terhadap Biomassa, pH Akhir, Kandungan P(3HB), Persentase P(3HB), dan Biomassa Residu pada Konsentrasi Inokulum <i>Bacillus cereus</i> 1 % setelah Fermentasi Selama 48 Jam	48
15.	Profil Perbedaan Konsentrasi Sumber Karbon Hidrolisat Jerami terhadap Biomassa, pH Akhir, Kandungan P(3HB), Persentase P(3HB), dan Biomassa Residu pada Konsentrasi Inokulum <i>Bacillus cereus</i> 5 % setelah Fermentasi Selama 48 Jam	49
16.	Profil Perbedaan Konsentrasi Sumber Karbon Hidrolisat Jerami terhadap Biomassa, pH Akhir, Kandungan P(3HB), Persentase P(3HB), dan Biomassa Residu pada Konsentrasi Inokulum <i>Bacillus cereus</i> 10 % setelah Fermentasi Selama 48 Jam	50
17.	Kromatogram P(3HB) Standar setelah dimetanolisis menjadi 3-hidroksi Metil Ester	51
18.	Kromatogram P(3HB) dari Sampel pada Konsentrasi Sumber Karbon Hidrolisat Jerami 20% dengan Inokulum (a) 1%, (b) 5%, dan (c) 10%	52
19.	Kromatogram P(3HB) dari Sampel pada Konsentrasi Sumber Karbon Hidrolisat Jerami 40% dengan Inokulum (a) 1%, (b) 5%, dan (c) 10%	53
20.	Kromatogram P(3HB) dari Sampel pada Konsentrasi Sumber Karbon Hidrolisat Jerami 60% dengan Inokulum (a) 1%, (b) 5%, dan (c) 10%	54
21.	Kromatogram P(3HB) dari Sampel pada Konsentrasi Sumber Karbon Hidrolisat Jerami 80% dengan Inokulum (a) 1%, (b) 5%, dan (c) 10%	55
22.	Skema Kerja Produksi Enzim Selulase dari Fungi <i>T. viride</i>	58
23.	Skema Pengujian Aktivitas Enzim Selulase dari Fungi <i>T. viride</i>	59
24.	Skema Kerja Pembuatan Hidrolisat Jerami	60
25.	Skema Kerja Fermentasi Bakteri <i>B. cereus</i> Penghasil Biopolimer P(3HB)	61

26.	Fungi <i>Trichoderma viride</i> dalam Media Agar Miring yang digunakan dalam Penelitian ini	62
27.	Medium Produksi Enzim Selulase dari Fungi <i>T. viride</i> setelah Lima Hari Inkubasi	63
28.	Hasil Sentrifugasi Enzim Selulase dari Fungi <i>T. viride</i>	64
29.	Larutan Standar Glukosa-DNS pada Beberapa Konsentrasi Setelah Pemanasan yang akan diuji dengan Spektrofotometer UV-Vis	65
30.	Proses Sonikasi untuk Pembuatan Hidrolisat Jerami Padi yang digunakan sebagai Sumber Karbon pada Fermentasi P(3HB)	66
31.	Pembuatan Hidrolisat Jerami Padi	67
32.	Hasil Hidrolisat Jerami Padi setelah disentrifus yang digunakan sebagai Sumber Karbon pada Fermentasi P(3HB) menggunakan Bakteri <i>B. cereus</i>	68
33.	Bakteri <i>B. cereus</i> dalam Media Agar Miring yang digunakan untuk Fermentasi P(3HB)	69
34.	Medium Fermentasi Biopolimer P(3HB) menggunakan Bakteri <i>B. cereus</i> setelah Fermentasi selama 24 jam	70
35.	Medium Fermentasi Biopolimer P(3HB) sebelum (a) dan sesudah Sentrifugasi (b)	71
36.	Biomassa Bakteri <i>B. cereus</i> pada Beberapa Konsentrasi yang akan dimetanolisis untuk Pengujian Kandungan Biopolimer P(3HB)	72
37.	Contoh Hasil Metanolisis Biomassa Bakteri <i>B. cereus</i> untuk Mengkonversikan P(3HB) menjadi Hidroksi Metil Ester	73
38.	Alat <i>Gas Chromatograph-Mass Spectrometer</i> yang digunakan untuk Penentuan Kandungan Biopolimer P(3HB)	74
39.	Alat <i>Rotary Shaker Incubator</i> untuk Fermentasi Biopolimer P(3HB) yang digunakan dalam Penelitian ini	75
40.	Alat Sentrifus yang digunakan dalam Penelitian ini untuk memisahkan Biomassa Bakteri <i>B. cereus</i> dan Supernatan setelah Fermentasi selama 48 jam	76

DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
1.	Komposisi Kimia Jerami Padi	10
2.	Hasil Identifikasi Bakteri <i>B. cereus</i> dengan Metode Uji Determinasi Gen 16S rRNA	17
3.	Konsentrasi dan Absorbansi Larutan Standar Glukosa – DNS untuk Pembuatan Kurva Kalibrasi yang diukur pada λ 538 nm Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis	41
4.	Data Berat Biomassa (sel kering), pH Supernatan Kandungan P(3HB) dan Persentase P(3HB) dalam Sel Bakteri <i>B. cereus</i> setelah Fermentasi selama 48 jam menggunakan Sumber Karbon Hidrolisat Jerami Padi	43



BAB I

PENDAHULUAN

Peningkatan limbah plastik sangat signifikan seiring dengan meningkatnya kebutuhan industri dan rumah tangga. Sebagian besar sampah plastik tersebut berasal dari kemasan makanan, dan alat-alat rumah tangga. Sekitar 8 juta ton sampah plastik dihasilkan dan dibuang ke laut setiap tahunnya (Trisunaryanti, 2018).

Akibat adanya peningkatan penggunaan plastik, muncul permasalahan bagaimana mengatasi banyaknya sampah plastik yang dihasilkan. Upaya pengelolaan sampah plastik telah dilakukan seperti daur ulang (*recycling*), tetapi tidak semua sampah plastik dapat diolah melalui proses ini (Trisunaryanti, 2018). Sisa sampah plastik yang menumpuk diatasi dengan pembakaran dan penimbunan. Namun sampah plastik yang ditimbun akan sulit untuk terdegradasi oleh mikroorganisme dan mengakibatkan pencemaran (Keller, 2017).

Salah satu solusi yang tepat untuk menangani menumpuknya limbah plastik tersebut yaitu dengan membuat material plastik dari bahan-bahan yang mudah diurai oleh mikroorganisme, seperti bioplastik. Bioplastik merupakan plastik yang dapat digunakan layaknya plastik konvensional, dan dihasilkan dari bahan alam yang dapat diperbarui (Keller, 2017). Cara yang banyak diteliti adalah fermentasi menggunakan bakteri penghasil biopolimer poli(3-hidroksialkanoat), P(3HA). Yang paling banyak diteliti dari kelompok P(3HA) ialah polimer poli(3-

hidroksibutirat)/P(3HB), karena P(3HB) mempunyai sifat mudah terurai dalam jangka waktu tertentu jika dibuang ke lingkungan (Djamaan, 2011).

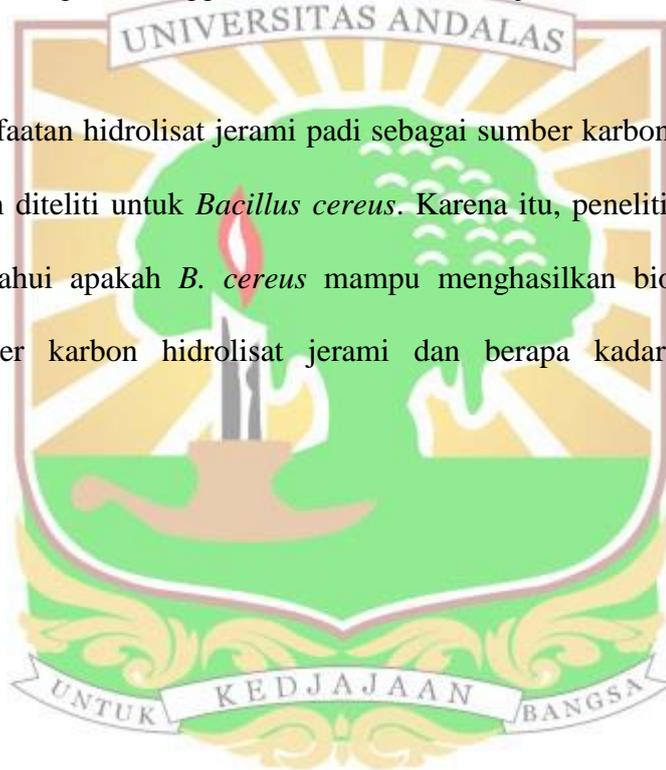
Salah satu mikroorganisme yang menghasilkan P(3HA) adalah kelompok *Bacillus sp.* yang merupakan bakteri Gram positif (Lung, *et al.*, 2014). Pada penelitian sebelumnya, *Bacillus sp.* diketahui dapat menghasilkan P(3HA) 48 % (b/b) dengan sumber karbon asam oktanoat (Lung, *et al.*, 2014), dan 55 % (b/b) dengan sumber karbon rumput laut *Gelidium amansii* yang diberi perlakuan asam (Alkotaini, *et al.*, 2015).

Pada fermentasi biopolimer P(3HB), mikroorganisme akan menghasilkan P(3HB) yang berguna sebagai cadangan bahan makanan dan energi dalam keadaan pertumbuhan yang kurang menguntungkan, yaitu kelebihan sumber karbon tetapi kekurangan nitrogen, fosfat, oksigen, dan magnesium (Djamaan, 2015). Pemanfaatan limbah sebagai sumber karbon untuk fermentasi bioplastik P(3HB) sudah banyak dilakukan. Salah satu limbah dapat dijadikan sebagai sumber karbon yaitu jerami padi. Jerami padi mengandung kurang lebih 39 % selulosa dan 27,5 % hemiselulosa. Kedua bahan polisakarida ini dapat dihidrolisis menjadi gula sederhana, yang kemudian dapat digunakan oleh mikroorganisme untuk menghasilkan P(3HB) (Krisyanella, *et al.*, 2012).

Beberapa peneliti telah memanfaatkan jerami padi sebagai bahan dasar produksi polimer P(3HB). Permata (2016) memanfaatkan jerami padi sebagai sumber karbon untuk fermentasi P(3HB) menggunakan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, dalam bentuk air rebusan dan mikrokristalin selulosa. Persentase P(3HB) yang diperoleh ialah 1,725 % untuk sumber karbon air rebusan, dan

17,185 % untuk mikrokristalin selulosa. Sedangkan Sindhu, *et al.* (2016) memanfaatkan jerami padi dalam bentuk hidrolisat sebagai sumber karbon untuk fermentasi P(3HB) menggunakan *Comamonas sp.*, diperoleh persentase P(3HB) sebanyak 35,86 %. Hidrolisat tersebut diperoleh dengan memberikan *pretreatment* gelombang ultrasonik dan enzim selulase pada jerami padi (Sindhu, *et al.*, 2016). Persentase P(3HB) dengan sumber karbon hidrolisat jerami padi ini lebih tinggi dibandingkan dengan menggunakan air rebusan jerami dan mikrokristalin selulosa.

Pemanfaatan hidrolisat jerami padi sebagai sumber karbon untuk produksi P(3HB) belum diteliti untuk *Bacillus cereus*. Karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah *B. cereus* mampu menghasilkan bioplastik P(3HB) dengan sumber karbon hidrolisat jerami dan berapa kadar P(3HB) yang dihasilkan.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biopolimer

2.1.1 Definisi Biopolimer

American Society For Testing and Material (ASTM) memberikan definisi biopolimer merupakan senyawa yang dapat mengalami perubahan secara alamiah karena aktivitas mikroorganisme seperti bakteri, jamur dan Alga (Djamaan, 2015).

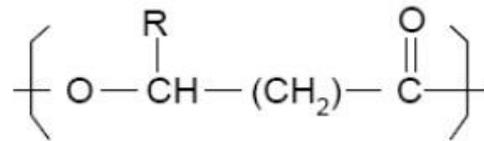
Biopolimer atau bioplastik dibagi menjadi dua kelompok yaitu, biopolimer biourai dan fotourai. Biopolimer biourai adalah plastik yang dapat diuraikan oleh aktivitas enzim yang dihasilkan mikroba yang dapat menyebabkan hidrolisis, sedangkan biopolimer fotourai merupakan plastik yang sangat sensitif terhadap cahaya dan terurai menjadi fragmen-fragmen kecil yang tidak dapat diuraikan lagi (Djamaan, 2015).

2.1.2 Poli(3-Hidroksialkanoat)

Dari berbagai macam penelitian telah ditemukan mikroorganisme tertentu yang mampu menghasilkan suatu senyawa polimer yang secara kimia poli(3-hidroksialkanoat) atau P(3HA) di dalam selnya. Bagi bakteri tersebut polimer ini berguna sebagai cadangan bahan makanan dan energi yang akan digunakan pada keadaan pertumbuhan yang kurang menguntungkan atau kehabisan sumber makanan (Djamaan, 2015). Berbagai mikroorganisme telah diteliti

kemampuannya dalam menghasilkan PHA, diantaranya adalah bakteri Gram positif dan Gram negatif (Lu, *et al.*, 2009).

Secara umum, struktur kimia P(3HA) dapat digambarkan sebagai berikut:



Gambar 1. Struktur Kimia P(3HA) (Djamaan, 2015)

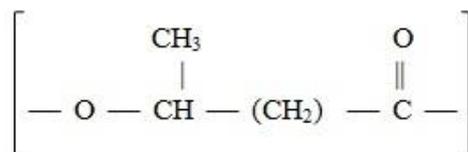
P(3HA) merupakan senyawa yang memiliki rotasi optis aktif, karena memiliki atom C kiral pada posisi C₃ dan dapat terdiri dari unit-unit monomer yang berbeda-beda (Djamaan, 2015). P(3HA) dapat dikategorikan dalam dua kelompok, yaitu P(3HA) yang mempunyai rantai pendek yang mengandung 3-5 atom karbon dan P(3HA) yang mempunyai rantai panjang yang mengandung 6-14 atom karbon di dalam molekulnya (Djamaan, 2015).

2.1.3 Poli(3-Hidroksibutirat)

Poli(3-Hidroksibutirat) atau P(3HB) pertama kali dilaporkan oleh Lemoigne, yang merupakan seorang ahli mikrobiologi dari Prancis pada tahun 1925. Lemoigne menemukan P(3HB) dari sel bakteri *Bacillus megaterium*. Hasil pengekstrakan sel bakteri tersebut dengan menggunakan kloroform menunjukkan bahwa polimer ini merupakan sejenis poliester yang terdiri dari Acid-3-Hidroxybutiric (Djamaan, 2015). Mikroorganisme yang diduga mampu menghasilkan P(3HB) ini di dalam selnya dapat dengan mudah dideteksi dengan menggunakan pewarna *Nile Blue A* 1 %, dimana bakteri yang positif mengandung

P(3HB) akan berfluoresensi jingga keemasan bila dilihat di bawah lampu UV pada λ 360 nm, sedangkan bakteri yang negatif akan memberikan warna hitam. Selain dengan pewarnaan *Nile Blue A* 1 % bisa juga dilakukan dengan pewarnaan menggunakan larutan *Suddan Black* (Djamaan, 2015).

P(3HB) merupakan suatu polimer makromolekul asam D(-)-3-hidroksibutirat yang aktif secara optik karena mempunyai atom karbon asimetrik pada posisi C₃ dari struktur kimianya. Rumus molekul dari P(3HB) adalah C₄H₆O₂ dengan model molekul P(3HB) seperti yang ditunjukkan pada gambar :



Gambar 2. Struktur Kimia P(3HB) (Djamaan, 2015)

Tahap penghabluran dari P(3HB) relatif tinggi yaitu sebanyak 55-80% yang menyebabkan timbulnya masalah dalam pemanfaatan P(3HB) sebagai kemasan dalam bentuk tunggal. Adanya sifat rapuh dan mudah pecah yang dimiliki oleh P(3HB) dapat diatasi dengan menggunakan unit polimer lain yaitu poli (3-hidroksivalerat). Berat molekul P(3HB) berkisar antara 166.000-737.000 bergantung pada strain bakteri penghasil dan sumber karbon yang digunakan. Sifat kelarutan P(3HB) sudah banyak diteliti, yaitu P(3HB) memiliki kelarutan pada pelarut organik yang bersifat non polar (Susanti, 2010).

2.1.4 Peranan P(3HB) di dalam sel bakteri

Pada sebagian besar bakteri, fungsi biologi P(3HB) dapat dikatakan sama dengan glikogen dalam sel mamalia dan pati pada tumbuhan. Dalam keadaan tidak adanya sumber karbon serta nitrogen yang sesuai, sintesis protein dapat terjadi dengan P(3HB) bertindak sebagai sumber karbon untuk proses metabolisme normal di dalam sel bakteri. P(3HB) ditemukan di dalam membran bakteri dan di dalam membran eukariot terutama pada mitokondria dan mikrosom (Djamaan, 2015).

2.1.5 Granul P(3HB) di dalam sel bakteri

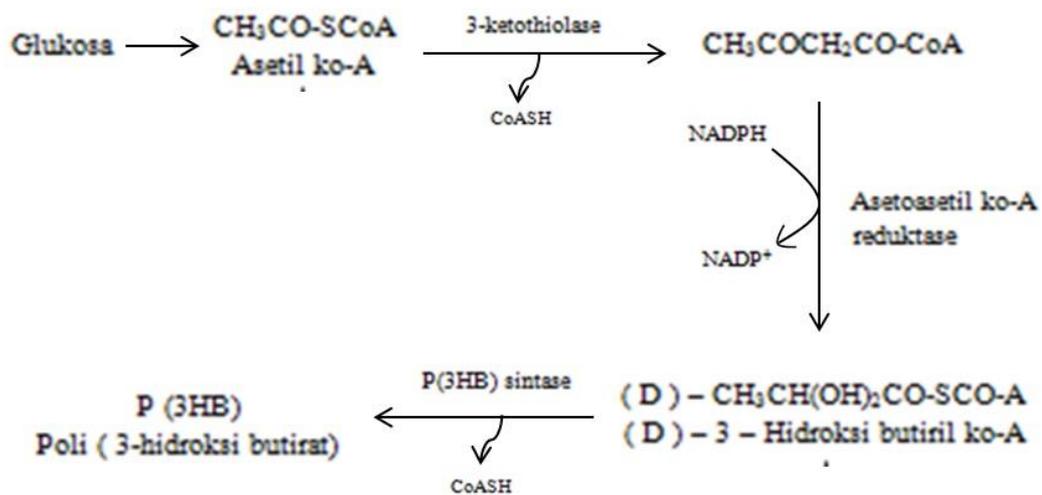
Granul P(3HB) di dalam sel bakteri dapat dilihat dibawah mikroskop elektron transmisi. P(3HB) terdapat di dalam cairan sitoplasmik berupa granul dengan diameter antara 0,3–1,0 μm seperti terdapat di dalam sel *Ralstonia eutropha*. Granul P(3HB) yang diisolasi dari *Bacillus megaterium* berbentuk sfera dengan diameter di antara 0,2–0,7 μm (Djamaan, 2015). Biasanya pada setiap granul mengandung lebih dari 1.000 molekul P(3HB) (Djamaan, 2015).

Kajian ultrastruktur menunjukkan bahwa granul P(3HB) di dalam cairan sitoplasmik dikelilingi oleh satu lapisan membran dengan ketebalan kurang lebih 0,2 μm . Membran tersebut merupakan membran monolapis yang terdiri dari lipid dan protein yang masing-masingnya berkomposisi 0,5% dan 2% dari berat granul P(3HB) (Djamaan, 2015).

2.1.6 Biosintesis P(3HB)

Mikroorganisme tertentu dapat menyimpan polimer P(3HB) yang berguna sebagai cadangan bahan makanan dan energi yang akan digunakan pada keadaan pertumbuhan yang kurang menguntungkan atau kehabisan sumber makanan. Bakteri tertentu dapat mengakumulasi P(3HB) sekitar 30 - 80 % dari berat selnya, pada keadaan pertumbuhan kelebihan sumber karbon tetapi kekurangan unsur penting lainnya seperti nitrogen, oksigen, fosfat, dan magnesium (Djamaan, 2015).

Jalur biosintesis P(3HB) dari sumber karbon glukosa dapat diperkirakan berdasarkan jalur biosintesis yang terjadi pada *Ralstonia eutropha*. Glukosa masuk ke dalam sel dan mengalami katabolisme menurut jalur Entner-Doudoroff dan kompleks piruvat dehidrogenase untuk menghasilkan asetil-KoA. Kemudian melalui kondensasi 2 molekul asetil-KoA membentuk asetoasetil-KoA. Enzim asetoasetil-KoA reduktase berikutnya akan mengubah asetoasetil-KoA menjadi D(-)-3-hidroksibutiril-KoA yang kemudian membentuk P(3HB) dengan aktivitas enzim P(3HB) sintase (Djamaan & Dewi, 2014).



Gambar 3. Jalur Biosintesis P(3HB) di dalam *R. eutropha* (Djamaan, 2015)

2.1.7 Biodegradasi P(3HB)

Mikroorganisme pengurai P(3HB) akan mengeluarkan enzim P(3HB) depolimerase ekstrasel yang dapat menguraikan P(3HB) menjadi monomer yang larut dalam air. Selanjutnya monomer yang larut air ini akan dihidrolisis oleh enzim P(3HB) depolimerase intrasel yang akan mengubah menjadi sumber karbon (Djamaan & Dewi, 2014).

2.1.8 Prospek Biopolimer

Beberapa negara maju mulai mengembangkan penggunaan P(3HA) sebagai bahan plastik pembungkus untuk mengurangi pencemaran lingkungan yang diakibatkan oleh timbunan plastik sintetis. Bahkan pada beberapa negara mulai membatasi penggunaan plastik sintetis, dan mewajibkan penggunaan biopolimer sebagai bahan pembungkus/ kemasan tertentu. Contoh produk biopolimer yang

telah dihasilkan adalah botol shampo oleh Industri Wella di Jerman dan juga filem pembungkus makanan dalam industri makanan dan minuman di Jepang (Djamaan, 2015).

2.2 Jerami Padi

Jerami adalah tanaman padi yang telah diambil buahnya (gabahnya), sehingga tinggal batang dan daunnya. Jerami merupakan limbah pertanian terbesar serta belum sepenuhnya dimanfaatkan. Produksi jerami padi dapat mencapai 12-15 ton per hektar per panen, bervariasi tergantung pada lokasi dan jenis varietas tanaman padi yang digunakan. Jerami padi yang dihasilkan biasanya hanya dimanfaatkan sebagai pakan ternak dimusim kemarau (Kurniasari, *et al.*, 2008).

2.2.1 Komposisi Kimia Jerami Padi

Tabel 1. Komposisi kimia jerami padi (Nisa, 2016)

Komposisi kimia	Jerami padi (%)
Selulosa	43-49
Hemiselulosa	23-28
Lignin	12-16
Abu	15-20
Silika	9-4

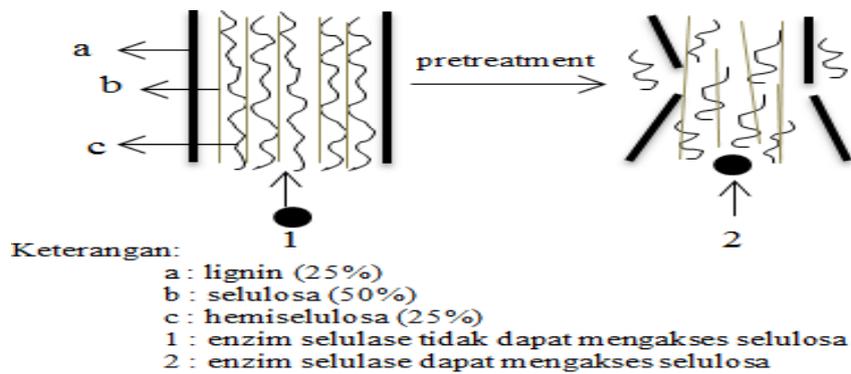
2.2.2 Selulosa

Jerami padi memiliki kandungan selulosa yang tinggi, mencapai 34,2 % (Kurniasari, *et al.*, 2008). Selulosa adalah polimer glukosa yang berbentuk rantai linier dan dihubungkan oleh ikatan β -1,4 glikosidik. Struktur yang linier menyebabkan selulosa bersifat kristalin dan tidak mudah larut. Selulosa tidak mudah didegradasi secara kimia maupun mekanis. Di alam, biasanya selulosa berasosiasi dengan polisakarida lain seperti hemiselulosa atau lignin membentuk kerangka utama dinding sel tumbuhan (Holtzapfle, 2003).

2.3 Pretreatment

Proses *pretreatment* digunakan untuk mengubah struktur lignoselulosa agar lebih mudah diakses oleh enzim yang mengubah polimer karbohidrat (selulosa) menjadi gula yang dapat difermentasi. Semakin kecil ukuran partikel yang digunakan pada proses *pretreatment*, maka rendemen selulosanya akan semakin tinggi karena luas permukaan turut mempengaruhi kecepatan reaksi, semakin luas permukaan reaktan maka dapat memperbesar kesempatan terjadinya tumbukan antar partikel (Sugiarto, *et al.*, 2014).

Proses *pretreatment* bertujuan untuk memecah ikatan antara lignin dan hemiselulosa. Tanpa melalui proses *pretreatment*, enzim selulase tidak dapat mengakses ke dalam selulosa sehingga proses hidrolisis selulosa pada biomassa berselulosa terhambat (Kurniasari, *et al.*, 2008).



Gambar 4. Pemecahan lignoselulosa pada *pretreatment* (Kurniasari, *et al.*, 2008)

Salah satu proses *pretreatment* yang telah dilakukan yakni dengan menggunakan gelombang ultrasonik. Gelombang ultrasonik membantu dalam pengembangan dan fragmentasi dari biomassa karena adanya efek kavitasi. Sonikasi menyebabkan homolisis ikatan lignin – karbohidrat untuk melepaskan lignin dan hemiselulosa (Sindhu, *et al.*, 2016).

2.4 Fermentasi

Kata fermentasi berasal dari bahasa latin yaitu *fervere* yang berarti mendidih. Fermentasi digunakan untuk menyebutkan adanya aktifitas *yeast* pada ekstrak buah dan larutan malt serta biji-bijian. Peristiwa pendidihan tersebut terjadi akibat dari terbentuknya gelembung karbon dioksida oleh proses katabolisme dari gula dalam ekstrak (Djamaan, 2015).

Terdapat perbedaan makna fermentasi secara biokimia dan secara mikrobiologi di industri. Secara biokimia fermentasi diartikan sebagai pembentukan energi melalui katabolisme senyawa organik. Sedangkan dalam industri modern, fermentasi diartikan sebagai suatu proses untuk mengubah bahan

dasar tertentu menjadi suatu produk oleh masa sel mikroorganisme (Djamaan, 2015).

2.5 Fase Pertumbuhan Bakteri

Pertumbuhan bakteri dibagi menjadi empat tahapan yaitu fase lag, fase logaritma (eksponensial), fase stasioner, dan fase kematian (Wignyanto & Hidayat, 2017).

1. Fase Lag

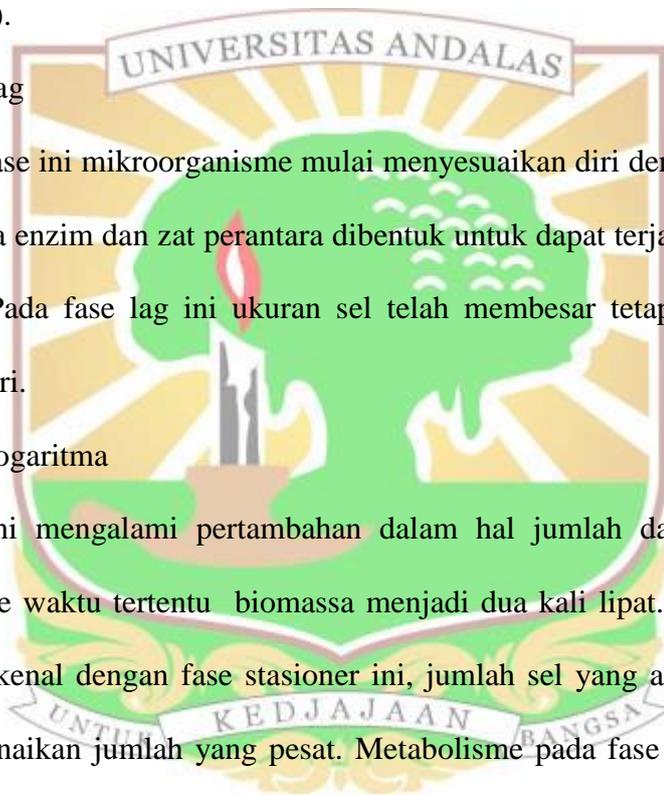
Pada fase ini mikroorganisme mulai menyesuaikan diri dengan lingkungan baru. Beberapa enzim dan zat perantara dibentuk untuk dapat terjadi pertumbuhan lebih lanjut. Pada fase lag ini ukuran sel telah membesar tetapi belum terjadi pembelahan diri.

2. Fase Logaritma

Fase ini mengalami pertambahan dalam hal jumlah dan juga ukuran. Terjadi periode waktu tertentu biomassa menjadi dua kali lipat. Pada fase yang sering juga dikenal dengan fase stasioner ini, jumlah sel yang ada dalam kultur mengalami kenaikan jumlah yang pesat. Metabolisme pada fase ini berlangsung paling cepat.

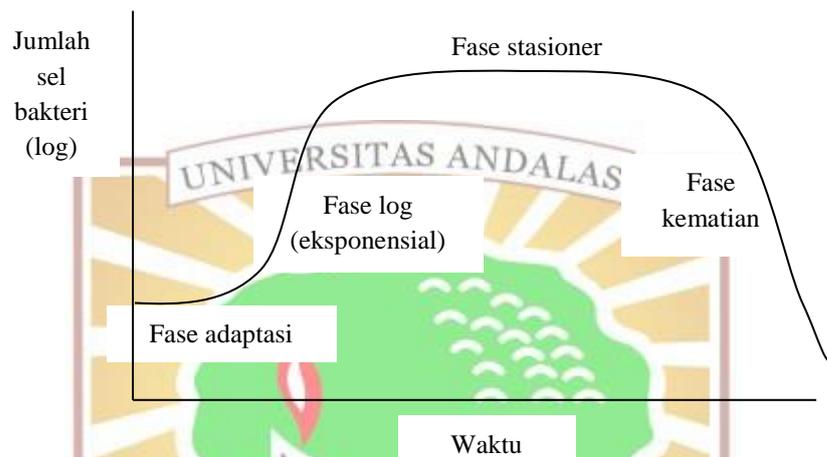
3. Fase Stasioner

Jumlah mikroorganisme cenderung stabil, karena jumlah sel yang membelah diri dan yang mati sama. Kematian bakteri disebabkan karena adanya penurunan kandungan nutrisi dan meningkatnya timbunan zat-zat racun.



4. Fase Kematian

Fase ini dikenal dengan fase menurun. Pada fase ini kecepatan kematian semakin meningkat sedang kecepatan pembelahan terus menerus menurun, sehingga jumlah sel yang mati meningkat dengan cepat.



Gambar 5. Kurva pertumbuhan bakteri (Murwani, 2015)

2.6 Bakteri Penghasil Biopolimer P(3HB)

Berbagai mikroorganisme telah diteliti kemampuannya dalam akumulasi biopolimer, salah satunya adalah bakteri *Bacillus sp.* (Lu, *et al.*, 2009). *Bacillus sp.* merupakan bakteri Gram positif berbentuk batang, memiliki endospora, dan tergolong ke dalam bakteri aerob atau fakultatif aerob. Bakteri ini diketahui mampu menghasilkan enzim selulase bila ditempatkan dalam lingkungan yang terdapat selulosa. Adanya enzim selulosa pada lingkungan hidup *Bacillus sp.* memacu bakteri ini untuk mensekresikan selulase tersebut. Bakteri ini dapat bertindak demikian karena menginginkan produk hasil hidrolisis selulosa oleh

selulase (glukosa) yang merupakan makanan (sumber C) bagi bakteri ini (Bakti, 2012).

Bacillus cereus merupakan salah satu bakteri yang dapat menghasilkan P(3HB) (Djamaan, *et al.*, 2016). *B. cereus* merupakan organisme bersel tunggal, berbentuk batang pendek (rod). Umumnya bakteri ini mempunyai ukuran lebar 1,0 μm – 1,2 μm dan panjang 3 μm – 5 μm . Suhu untuk pertumbuhan maksimum 37 - 48 °C dan minimum 5 – 20 °C. *B. cereus* bersifat kosmopolit, suhu untuk pertumbuhan optimum yakni pada 30 °C. *B. cereus* merupakan saprofit ringan yang tidak berbahaya yang lazim terdapat dalam tanah, air, udara, dan tumbuh-tumbuhan serta mampu membentuk endospora yang tahan panas (Naryaningsih, 2005). *B. cereus* diketahui dapat mengakumulasi P(3HB) dalam selnya yang dideteksi melalui pewarnaan dengan Nile Blue A 1%, dimana jika bakteri positif mengandung P(3HB) akan berflouresensi jingga keemasan bila dilihat pada lampu UV pada λ 365 nm (Djamaan, *et al.*, 2016).

2.7 Bakteri *Bacillus cereus* UAAC 21605 TG5

Bakteri *Bacillus cereus* UAAC 21605 TG5 diisolasi dari sampel tanah puncak Gunung Marapi, Kabupaten Agam, Sumatera Barat. Untuk mengetahui isolat bakteri yang dapat mengakumulasi P(3HB) dalam selnya, dideteksi melalui pewarnaan dengan Nile Blue A dimana jika bakteri positif mengandung P(3HB) akan berflourisensi jingga keemasan bila dilihat pada lampu UV pada λ 365 nm. Dari empat puluh isolat bakteri berbeda yang didapatkan, diperoleh 10 isolat

bakteri yang koloninya berflourisensi jingga setelah diberikan larutan Nile Blue A (Gemeidiya, 2016).

Identifikasi dilakukan terhadap isolat bakteri yang positif menghasilkan P(3HB), yakni meliputi uji mikroskopis, makroskopis, dan uji biokimia. Pengamatan makroskopis menunjukkan warna koloni putih, berbentuk bulat, pinggiran koloni rata sampai bergerigi, dan permukaan koloni halus. Pada pengamatan mikroskopis dan uji biokimia, terlihat sel bakteri berbentuk basil, golongan bakteri gram positif, dan positif katalase. Berdasarkan identifikasi diperoleh 6 jenis bakteri *Bacillus* sp1, *Bacillus* sp2, *Bacillus* sp3, *Bacillus* sp4, *Bacillus* sp5 dan *Bacillus* sp6 (Gemeidiya, 2016).

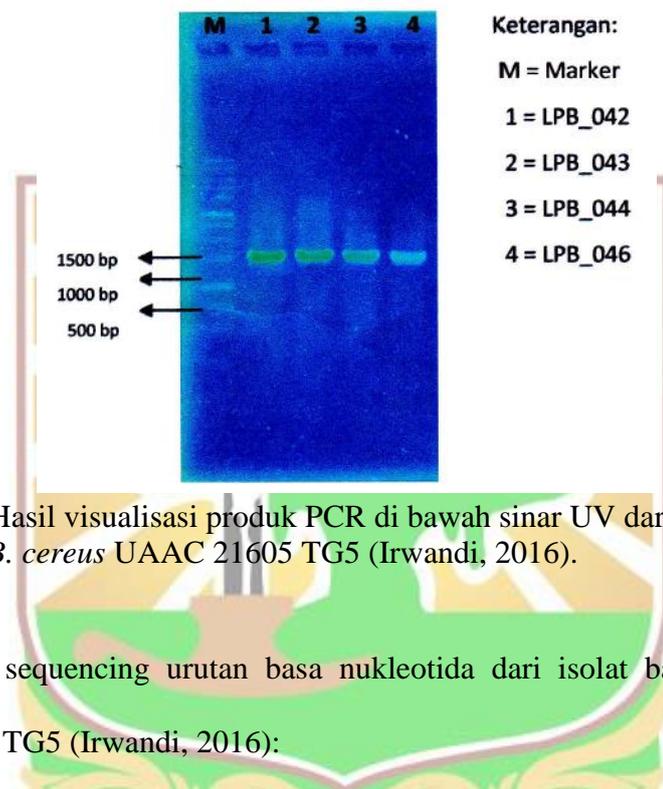
Dari 6 jenis bakteri tersebut dilakukan identifikasi pada *Bacillus* sp5 yang memiliki kemampuan paling tinggi dalam mengakumulasikan P(3HB), dari hasil identifikasi dengan menggunakan metode uji Determinasi Gen 16S rRNA menunjukkan bahwa bakteri tersebut merupakan *B. cereus* dengan kode UAAC 21605 TG5 (Irwandi, 2016).



Gambar 6. Hasil pengamatan bentuk sel bakteri pada pewarnaan Gram bakteri penghasil bioplastik *Bacillus* sp5 kode isolat TG5 (Gemeidiya, 2016).

Tabel 2. Hasil identifikasi bakteri *B. cereus* dengan metode uji determinasi gen 16S rRNA (Irwandi, 2016).

No.	Nama/ Kode Sampel	Hasil Uji	Homology (%)	Metode Uji
1.	UAAC 21605 TG5 042/PO/05/2016	<i>Bacillus cereus</i> strain BPSCM1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	100	Determinasi gen 16S rRNA



Gambar 7. Hasil visualisasi produk PCR di bawah sinar UV dari isolat bakteri *B. cereus* UAAC 21605 TG5 (Irwandi, 2016).

Berikut hasil sequencing urutan basa nukleotida dari isolat bakteri *B. cereus* UAAC 21605 TG5 (Irwandi, 2016):

>Contig_LPB_042 (UAAC 21605_T65)

```

AGAGCTTGCTCTTATGAAGTTAGCGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCATAAGA
CTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGCTAATACCGGATAACATTTTGAACCGCATGGTTCGAAATT
GAAAGGCGGCCTTCGGCTGTCACTTATGGATGGACCCGCGTCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAAC
GGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACA
CGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAG
CAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTCGGGTCGTAAAACCTGTGTTGTTAGGAAGAACAAGTGC
TAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCA
GCCCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCAGGTGG
TTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAACTGGGAGACTT
GAGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAAATCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACA
CCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAACCTGACACTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAAC
AGGATTAGATACCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTAGAGGGTTTCCGCC
CTTTAGTGCTGAAGTTAACGCATTAAGCACTCCGCCGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTC
AAAGGAATTGACGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACCGGAAGA
ACCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAACCCTAGAGATAGGGCTTCTC
    
```

BAB III

PELAKSANAAN PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Mei 2017 – Juli 2018 di Laboratorium Biota Sumatera Universitas Andalas, Laboratorium Sentral, Laboratorium UPTD. Balai Laboratorium Kesehatan Padang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan adalah Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu Pharmaspec 1700[®]), Kromatografi Gas (Shimadzu[®] : GCMS-QP2010 Plus) , *laminar air flow*, *Rotary Shaker Incubator* (Bigger Digital[®]), Sonikator (Elmasonic[®]), inkubator (Gallenkamp[®]), *autoklaf*, oven, sentrifus (KENKO[®]), indikator pH, ayakan *screener*, timbangan analitik, tabung reaksi, jarum Ose, gelas ukur, beker gelas, batang pengaduk, labu Erlenmeyer, lampu spiritus, spatel, gunting, kapas, kasa steril dan pipet tetes.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian adalah jerami padi (*Oryza sativa* Linn), Isolat bakteri *Bacillus cereus* UAAC 21605 TG5 dari tanah puncak Gunung Marapi, aquadest (Bratachem[®]), Nutrien Agar (Merck[®]), Nutrient Broth (Merck[®]), surfaktan Tween 80, Isolat jamur *Trichoderma viride* T1sk dari tanah

rizosfir tanaman pisang di Sumatera Barat, PDA (Oxoid[®]), dedak gandum, alkohol 70 % (Bratachem[®]), asam dinitro salisilat (Himedia[®]), na CMC, FeSO₄ (Merck[®]), MnCl₂ (Merck[®]), CoSO₄ (Merck[®]), CaCl₂ (Merck[®]), CuCl₂ (Merck[®]), ZnSO₄ (Merck[®]), KH₂PO₄ (Merck[®]), K₂HPO₄ (Merck[®]), (NH₄)₂HPO₄, MgSO₄(Merck[®]), *Nutrient Broth* (Merck[®]) dan P(3HB) standar (Biopol[®]).

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Sterilisasi Alat

Alat-alat yang digunakan terlebih dahulu dicuci bersih dan dikeringkan. Alat- alat gelas yang memiliki mulut ditutup dengan kapas yang dibalut kain kasa, lalu semua alat gelas dibungkus dengan menggunakan kertas perkamen, kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 15 lbs, selama 15 menit. Ujung pipet mikro disusun dalam suatu beker gelas, ditutup dengan aluminium foil, kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 15 lbs, selama 15 menit. Spatel dan jarum Ose disterilkan dengan cara flambier di atas nyala api lampu spritus selama 20 detik. Lemari aseptis dibersihkan dari debu dan disterilkan dengan cara menyemprotkan alkohol 70% ke seluruh bagian dalam lemari. Semua pengerjaan dilakukan secara teknik aseptis (Krisyanella, *et al.*, 2012).

3.3.2 Persiapan Bahan

a. Pembuatan Medium PDA

Medium pembenihan fungi *Trichoderma viride* yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Potato Dextrose Agar* (PDA). Serbuk PDA ditimbang sebanyak 39 gram, dilarutkan dalam satu liter aquadest, kemudian dipanaskan di atas alat pemanas, lalu diaduk hingga larut sempurna dan jernih, kemudian ditutup dengan sumbat kapas yang dibalut dengan kain kasa steril. Selanjutnya disterilkan dengan autoklaf dengan suhu 121°C, tekanan 15 lbs, selama 15 menit.

b. Pembuatan Medium NA

Medium pembenihan bakteri *Bacillus cereus* yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Nutrien Agar* (NA). Serbuk NA ditimbang sebanyak 23 gram, dilarutkan dalam satu liter aquadest, kemudian dipanaskan di atas alat pemanas, lalu diaduk hingga larut sempurna dan berwarna jernih, kemudian ditutup dengan sumbat kapas yang dibalut dengan kain kasa steril. Selanjutnya disterilkan dengan autoklaf dengan suhu 121°C, tekanan 15 lbs, selama 15 menit (Krisyanella, *et al.*, 2012).

c. Pembuatan Medium NB

Medium untuk inokulum bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Nutrient Broth* (NB). Serbuk NB ditimbang sebanyak 8 gram, dilarutkan dalam satu liter aquadest, kemudian dipanaskan di atas alat pemanas, lalu diaduk hingga larut sempurna dan berwarna jernih, kemudian ditutup dengan sumbat

kapas yang dibalut dengan kain kasa steril. Selanjutnya disterilkan dengan autoklaf dengan suhu 121°C, tekanan 15 lbs, selama 15 menit.

d. Pembuatan Larutan Mikroelemen

Larutan mikroelemen dibuat dengan melarutkan $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 2,78 g, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 1,98 g, $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 2,81 g, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1,67 g, $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,17 g, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,29 g ke dalam 1 liter HCl 1 N (Djamaan & Dewi, 2014).

e. Penyiapan Sumber Karbon Hidrolisat Jerami

Sumber karbon yang digunakan berasal dari jerami padi (*Oryza sativa* Linn). Jerami padi yang dimaksud adalah bagian batang padi tanpa akar yang sudah dipanen, diambil kemudian dibersihkan, tangkai buah dan buahnya dibuang (Halim, 2002). Selanjutnya jerami padi dikeringkan dengan bantuan sinar matahari selama 12 jam, setelah kering jerami padi dirajang menjadi ukuran ± 1 cm, dihaluskan dengan cara menggiling jerami padi dengan alat penggiling, hingga membentuk serbuk jerami.

Serbuk jerami kemudian dibuat dalam bentuk hidrolisat. Sebanyak 3 gram serbuk jerami dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer 100 mL, ditambahkan surfaktan Tween 80 0.25 mL, enzim selulase 20 Unit/mL, dan aquadest 30 mL. Campuran disonikasi dengan alat sonikator selama 6 menit. Setelah itu, sampel diinkubasi dengan *Rotary Shaker Incubator* pada suhu 50 °C kecepatan 200 rpm selama 9 jam. Selanjutnya sampel disentrifus untuk memisahkan residu yang tidak terhidrolisis dengan hidrolisat. Hidrolisat digunakan sebagai sumber karbon untuk produksi biopolimer P(3HB) (Sindhu, *et al.*, 2016). Hidrolisat jerami dibuat dalam

600 mL, yang akan digunakan sebagai sumber karbon pada fermentasi biopolimer P(3HB).

f. Pembuatan Medium Fermentasi

Media fermentasi untuk produksi biopolimer P(3HB) dibuat dengan cara melarutkan 3,7 g KH_2PO_4 , 5,8 g K_2HPO_4 , 1,1 g $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, 0,25 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, dan 10 mL larutan mikroelemen ke dalam 1 Liter air suling steril, pH larutan diatur hingga mendekati 7. Jika pH kurang dari 7 maka dinaikkan dengan menambahkan NaOH 0,1 N. Kemudian media disterilkan dengan autoklaf suhu 121 °C, tekanan 15 lbs selama 15 menit (Djamaan & Dewi, 2014).

3.3.3 Prosedur Kerja

1. Peremajaan Fungi *Trichoderma viride*

Fungi *T. viride* dipindahkan dengan jarum Ose ke media PDA. Pengerjaan dilakukan secara aseptis pada *laminar air flow*, kemudian diinkubasi pada suhu 28°C selama 7-10 hari, kemudian disimpan pada suhu 4°C saat spora *T. viride* telah terbentuk (Li, *et al.*, 2009).

2. Produksi dan Uji Aktivitas Enzim Selulase

2.1 Produksi Enzim Selulase

Produksi enzim dilakukan dalam labu Erlenmeyer 250 mL yang berisi media garam mineral (KH_2PO_4 0,05%, MgSO_4 0,05%) dan 5 gram dedak gandum sebagai substrat. Rasio padatan dan cairan yaitu 1:3. Labu Erlenmeyer ditutup dan

disterilkan pada suhu 121°C selama 20 menit. Setelah dingin, 0,5 mL suspensi spora *T. viride* diinokulasikan ke dalam media fermentasi dan diinkubasi selama 3 hari (Gupta, *et al.*, 2015).

Selanjutnya enzim diekstraksi dengan menambahkan 25 mL aquadest ke dalam labu Erlenmeyer 250 mL dimana enzim diproduksi, kemudian diaduk selama 45 menit dengan kecepatan 150 rpm dan disaring dengan kertas saring. Ekstrak disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 10.000 rpm. Supernatan yang terbentuk merupakan sumber enzim selulase, ditandai dengan terjadinya perubahan warna larutan setelah ditambahkan asam dinitro salisilat/ DNS (Gupta, *et al.*, 2015).

2.2. Uji Aktivitas Enzim

a. Pembuatan Kurva Standar Glukosa

Pembuatan kurva standar glukosa dilakukan dengan membuat larutan standar glukosa 250 µg/mL yang dilarutkan dalam aquadest. Kemudian larutan standar ditambahkan asam dinitro salisilat/ DNS (1:1), dipanaskan pada suhu 100°C selama 15 menit. Setelah dingin, panjang gelombang serapan maksimum larutan glukosa ditentukan dengan Spektrofotometer UV-Vis.

Selanjutnya larutan glukosa dibuat dengan konsentrasi bertingkat 100, 120, 140, 160, 180, 200, 220 µg/mL, dengan melakukan pengenceran dari larutan standar glukosa 250 µg/mL. Kemudian pada masing-masing konsentrasi larutan ditambahkan DNS (1:1), dipanaskan pada suhu 100°C selama 15 menit. Setelah dingin, serapan masing-masing larutan tersebut diukur dengan Spektrofotometer

UV-Vis. Selanjutnya kurva kalibrasi dibuat dengan memplot masing-masing konsentrasi dengan nilai serapan (Gupta, *et al.*, 2015; Suryadi, *et al.*, 2017).

b. Pengujian Aktivitas Selulase

Aktivitas enzim selulase diukur dengan mereaksikan 0,5 mL sampel ekstrak enzim selulase dengan 0,5 mL larutan CMC 2% b/v dalam penyangga sitrat 0,05 M (pH 4,8). Campuran diinkubasi pada suhu 50 °C selama 30 menit. Setelah diinkubasi, 3 mL DNS ditambahkan ke dalam campuran dan dipanaskan selama 5 menit dalam air mendidih agar timbul reaksi warna. Prosedur yang sama dilakukan terhadap blanko, tapi penambahan enzim dilakukan setelah proses pemanasan. Perlakuan sampel dan blanko dilakukan dalam waktu bersamaan. Absorbansi diukur pada panjang gelombang serapan maksimum glukosa menggunakan Spektrofotometer UV-Visible (Gupta, *et al.*, 2015).

Harga absorbansi yang diperoleh diplotkan pada kurva standar glukosa untuk mengetahui konsentrasi gula reduksi. Aktivitas enzim selulase dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Aktivitas (Unit/mL)} = \frac{\text{mg glukosa} \times 1000}{\text{Mr glukosa} \times \text{waktu inkubasi} \times \text{volume sampel}} \times \text{Faktor pengenceran}$$

3. Peremajaan Bakteri *Bacillus cereus*

Bakteri *B. cereus* diinokulasikan pada media NA yang sebelumnya dibuat menjadi agar miring dalam tabung reaksi. Pengerjaan dilakukan secara teknik aseptis pada *laminar air flow*, kemudian diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator dengan suhu 37 °C (Djamaan, 2011).

4. Pembuatan Inokulum Bakteri *Bacillus cereus*

Inokulum bakteri *B. cereus* penghasil biopolimer P(3HB) dibuat dengan menggosokkan 1-2 Ose bakteri *B. cereus* ke dalam media *Nutrient Broth* (NB) steril. Kemudian diinkubasi dengan *rotary shaker incubator* pada suhu 30°C pada putaran 200 rpm selama 24 jam (Djamaan & Dewi, 2014). Inokulum dibuat dalam konsentrasi 1, 5 dan 10 % untuk 100 mL medium fermentasi.

5. Fermentasi Bakteri untuk Produksi Biopolimer P(3HB)

Proses fermentasi biopolimer P(3HB) menggunakan bakteri *B. cereus* dilakukan pada kondisi optimum dalam *rotary shaker incubator* yaitu pada suhu 30°C pada putaran 200 rpm selama 48 jam (Krisyanella, *et al.*, 2012). Fermentasi dilakukan dengan menggunakan sumber karbon hidrolisat jerami padi pada konsentrasi 20%; 40%; 60%; 80% untuk 100 mL medium fermentasi pada masing-masing konsentrasi inokulum. Setelah itu disentrifus dan dikeringkan kemudian ditentukan berat biomasanya.

6. 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 supernatan dipisahkan dari endapan biomassa dengan cara pemipetan. Lapisan supernatan digunakan untuk menentukan pH, sedangkan biomassa dikeringkan dalam oven suhu di bawah 70 °C selama 24 jam atau hingga bobot konstan untuk ditentukan bobot kering dan kandungan biopolimernya (Krisyanella, *et al.*, 2012).

7. Pemeriksaan pH Supernatan

Pengukuran pH menggunakan indikator pH. Pengukuran pH dilakukan untuk mengetahui tingkat keasaman dari hasil akhir proses fermentasi dan melihat pengaruhnya terhadap produksi biopolimer (Krisyanella, *et al.*, 2012).

8. Penetapan Berat Kering Biomassa

Penetapan berat kering biomassa 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 pada suhu di bawah 70 °C selama 24 jam atau hingga bobot konstan, dan hasil biomassa kering diperoleh. Kemudian berat sel kering ditentukan dengan penimbangan (Krisyanella, *et al.*, 2012).

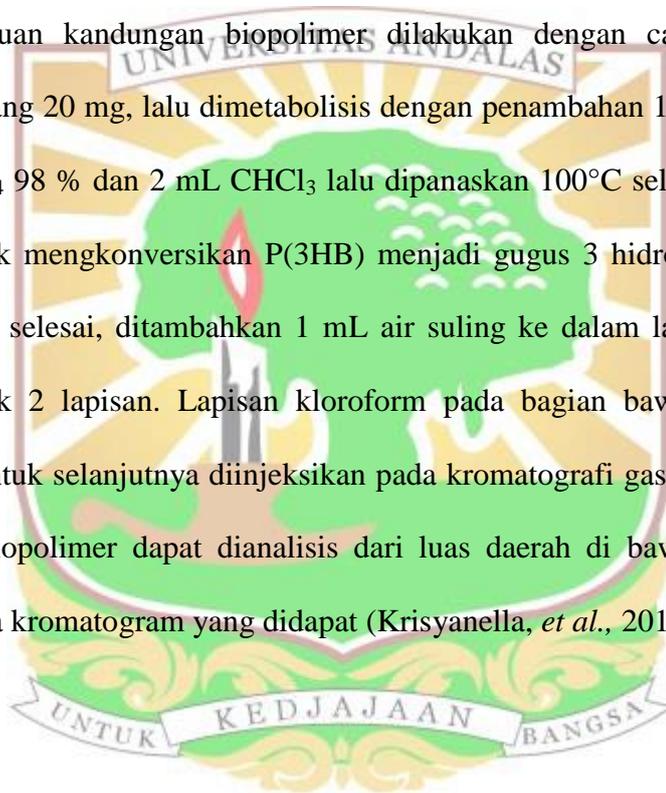
9. Proses Metanolisis

Jenis P(3HB) diketahui dengan menggunakan P(3HB) standar sebanyak 2 mg. P(3HB) standar dimetanolisis dengan penambahan 1,7 mL metanol; 0,3 mL H₂SO₄ 98 % dan 2 mL CHCl₃, 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 (Krisyanella, *et al.*, 2012).

10. Penentuan Kandungan Biopolimer di dalam Sel

Biopolimer P(3HB) yang terkandung di dalam sel kering ditentukan dengan kromatografi gas. Kondisi pengoperasian kromatografi gas sebagai berikut: Temperatur detektor 250°C, injektor 260°C, dan kolom 50°C (kolom kapiler DB-5MS), selama 4 menit dan dinaikkan suhunya 10°C tiap menit hingga mencapai 180°C dan ditimbang dengan waktu tunggu selama 3 menit.

Penentuan kandungan biopolimer dilakukan dengan cara berikut: sel kering ditimbang 20 mg, lalu dimetabolisis dengan penambahan 1,7 mL metanol ; 0,3 mL H₂SO₄ 98 % dan 2 mL CHCl₃ 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 pada bagian bawah dipipet dan dipisahkan, untuk selanjutnya diinjeksikan pada kromatografi gas sebanyak 1 µL. Kandungan biopolimer dapat dianalisis dari luas daerah di bawah kurva yang terbentuk pada kromatogram yang didapat (Krisyanella, *et al.*, 2012).



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

4.1.1 Enzim Selulase

Untuk satu kali produksi enzim selulase pada labu Erlenmeyer 250 mL, volume enzim selulase yang diperoleh adalah ± 20 mL. Enzim selulase memiliki aktivitas 4,095 Unit/mL (Lampiran 1).

4.1.2 Hidrolisat Jerami Padi

Hasil pengolahan jerami padi dalam bentuk hidrolisat pada labu Erlenmeyer 100 mL menggunakan enzim selulase 20 Unit/mL menghasilkan hidrolisat jerami padi sebanyak ± 28 mL.

4.1.3 Perolehan Biomassa Kering Bakteri

Perolehan biomassa kering dari fermentasi biopolimer P(3HB) menggunakan bakteri *Bacillus cereus* dapat dilihat pada Lampiran 1, Tabel 4.

4.1.4 Pemeriksaan pH Supernatan

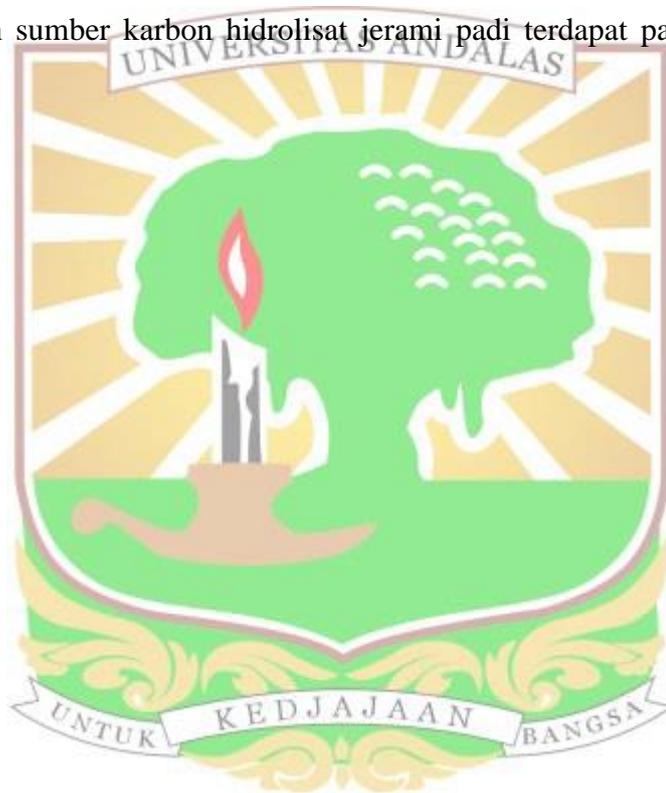
Pemeriksaan pH Supernatan dari medium pengkulturan setelah dipisahkan dengan biomassa terdapat pada lampiran 1, Tabel 4.

4.1.5 Kandungan bioplastik P(3HB) dalam sel bakteri

Kandungan P(3HB) dalam biomassa bakteri *Bacillus cereus* dengan sumber karbon hidrolisat jerami padi dapat dilihat pada Lampiran 1, Tabel 4.

4.1.6 Persentase Biopolimer P(3HB) dalam Sel Bakteri

Persentase biopolimer P(3HB) yang terdapat dalam sel bakteri *Bacillus cereus* dengan sumber karbon hidrolisat jerami padi terdapat pada Lampiran 1, Tabel 4.



4.2 Pembahasan

Pada penelitian ini fungi penghasil enzim selulase yang digunakan adalah *Trichoderma viride* T1sk yang diisolasi oleh Dr. Ir. Nurbailis, MS dari Fakultas Pertanian, Universitas Andalas, Padang. Fungi *T. viride* yang diisolasi dan dimurnikan berasal dari tanah rizosfir tanaman pisang di berbagai daerah di Sumatera Barat, yakni pada daerah Kabupaten Tanah Datar, Kabupaten Solok, dan Kabupaten Padang Pariaman. *Trichoderma* spp. merupakan fungi kosmopolit yang dapat ditemukan pada berbagai jenis tanah (Nurbailis, 2008).

Aktivitas enzim selulase yang diproduksi dihitung dengan kurva standar glukosa. Pembuatan kurva standar glukosa menggunakan larutan standar glukosa, kemudian diencerkan pada beberapa konsentrasi. Pada setiap konsentrasi, larutan glukosa direaksikan dengan larutan asam dinitrosalisilat/ *dinitrosalicylic acid* (DNS). Setelah pemanasan, larutan menjadi berwarna orange kemerahan sehingga absorbansi dapat diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Pada penelitian ini didapatkan panjang gelombang serapan maksimum larutan glukosa-DNS yaitu 538 nm (Lampiran 1, Gambar 8).

Penggunaan reagen DNS bertujuan untuk menentukan aktivitas enzim melalui penentuan jumlah gula reduksi yang terbentuk. Semakin tinggi aktivitas enzim, maka semakin banyak gula reduksi yang dihasilkan. Dalam kondisi alkali gula pereduksi akan mereduksi asam 3,5-dinitrosalisilat membentuk senyawa yang dapat diukur absorbansinya pada panjang gelombang 538 nm (Argo, *et al.*, 2013). DNS sebagai oksidan direduksi membentuk asam 3-amino-5-nitrosalisilat. Ketika terdapat gula reduksi dalam sampel, maka akan terbentuk larutan yang

berwarna orange kemerahan karena larutan DNS yang awalnya berwarna kuning telah bereaksi dengan gula reduksi. Semakin tinggi konsentrasi gula, maka kepekatan warna juga semakin meningkat.

Reagen DNS terdiri dari asam dinitrosalisilat, Na-K tartrat, fenol, Na bisulfit, dan NaOH. Na-K tartrat digunakan untuk melindungi reaksi dari oksigen yang terlarut, fenol digunakan untuk meningkatkan intensitas warna, Na bisulfit digunakan untuk menstabilkan warna yang terbentuk, NaOH digunakan untuk mencapai kondisi basa agar reaksi bisa terjadi, dan pemanasan berguna untuk mempercepat terjadinya reaksi (Suryadi, *et al.*, 2017). Berdasarkan analisis kurva standar glukosa dan absorbansi dari sampel, didapatkan aktivitas enzim selulase sebesar 4,095 unit/mL. Enzim selulase yang diperoleh digunakan untuk pembuatan sumber karbon hidrolisat jerami padi. Sehingga untuk satu kali produksi hidrolisat jerami yang memerlukan enzim selulase 20 Unit/mL, digunakan enzim selulase sebanyak 5 mL.

Bakteri penghasil bioplastik P(3HB) yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Bacillus cereus* yang diisolasi dan dimurnikan oleh peneliti sebelumnya yang berasal dari sampel tanah puncak Gunung Marapi, Kabupaten Agam, Sumatera Barat. Bakteri ini telah diidentifikasi molekuler di Laboratorium Pengujian Bioteknologi, Cibinong, Bogor. Hasilnya menunjukkan bahwa bakteri ini adalah *B. cereus* koleksi mikroba pada Laboratorium Biota Sumatera Universitas Andalas Padang.

Fermentasi untuk produksi bioplastik P(3HB) menggunakan sumber karbon hidrolisat jerami padi. Bahan yang digunakan yaitu jerami padi yang

diambil dari persawahan di sekitar daerah Limau Manis, Kota Padang. Jerami padi yang dimaksud adalah bagian batang padi yang akar, daun, dan buahnya sudah dibuang agar sampel yang digunakan bersih dan tidak bercampur dengan material-material yang tidak diinginkan. Jerami padi kemudian dikeringkan dengan bantuan sinar matahari selama 12 jam, yang bertujuan untuk mengurangi kadar air dalam sampel sehingga dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama tanpa ditumbuhi jamur. Setelah kering, jerami padi dihaluskan dengan cara digiling menggunakan alat penggiling sehingga membentuk serbuk jerami dan diayak menggunakan ayakan 212 μm .

Hidrolisat jerami padi dibuat dengan menggunakan serbuk jerami padi, ditambahkan enzim selulase yang diekstraksi dari fungi *Trichoderma viride* T1sk. Kemudian diberikan *pretreatment* gelombang ultrasonik atau sonikasi, yang bertujuan untuk memecah ikatan antara lignin dan hemiselulosa dari jerami padi. Pecahnya ikatan ini akan memudahkan akses enzim selulase untuk menghidrolisis selulosa menjadi gula yang lebih sederhana atau glukosa. Biomassa berselulosa terdiri dari tiga komponen utama meliputi selulosa, hemiselulosa dan lignin. Keberadaan lignin dan hemiselulosa akan mengurangi laju hidrolisis karena terjadi adsorpsi enzim selulase terhadap lignin (Kurniasari, *et al.*, 2008).

Setelah disonikasi, serbuk jerami kemudian diinkubasi pada suhu 50 °C dengan *Rotary Shaker Incubator* selama 9 jam. Hal ini bertujuan untuk mengoptimalkan hidrolisis selulosa menjadi glukosa oleh enzim pada suhu dimana enzim bekerja secara optimal, agar diperoleh gula reduksi yang lebih besar. Kemudian sampel yang telah diinkubasi, disentrifus untuk memisahkan

residu yang tidak terhidrolisis dengan hidrolisat. Pada penelitian sebelumnya oleh Sindhu, *et al.* (2016), diperoleh hidrolisat dengan kadar gula reduksi tertinggi sebesar 37,4 mg/mL, setelah melakukan optimasi dari jumlah jerami padi yang digunakan, enzim selulase yang dipakai, waktu sonikasi dan lama inkubasi. Sehingga pada penelitian ini, pembuatan sumber karbon hidrolisat jerami dilakukan pada kondisi optimum yang diperoleh peneliti sebelumnya.

Fermentasi dilakukan dengan menggunakan inokulum pada konsentrasi 1%, 5%, 10% untuk masing-masing variasi sumber karbon, yakni 20%, 40%, 60%, 80%. Medium fermentasi dibuat dalam jumlah yang sama yaitu 100 mL untuk setiap konsentrasi. Inokulum merupakan kultur bibit dari mikroorganisme yang akan digunakan dalam proses fermentasi, dimana kondisi mikroorganisme tersebut harus dalam keadaan aktif (Krisyanella, *et al.*, 2012). Karena itu bakteri *Bacillus cereus* yang digunakan dalam penelitian ini harus diremajakan terlebih dahulu, untuk merubah bakteri menjadi aktif dari kondisi dorma setelah disimpan dalam waktu yang lama. Konsentrasi inokulum yang digunakan juga harus cukup untuk mencapai media fermentasi yang optimum, karena akan mempengaruhi produk yang dihasilkan setelah fermentasi. Pada umumnya, inokulum yang digunakan dalam suatu proses fermentasi berkisar antara 3 - 10% dari volume total medium (Djamaan, 2015).

Proses fermentasi yang dilakukan untuk produksi bioplastik P(3HB) dilakukan dengan alat *rotary shaker incubator* pada suhu 30°C, putaran 200 rpm selama 48 jam. Pada suhu ini bakteri mengalami pertumbuhan yang optimum, karena *Bacillus cereus* merupakan bakteri mesofilik. Kecepatan putaran dari alat

rotary shaker incubator juga sangat berpengaruh pada proses fermentasi. Putaran dari alat bertujuan untuk menjaga agar larutan medium yang mengandung nutrisi bagi bakteri menjadi homogen.

Setelah fermentasi, medium pengkulturan disentrifus untuk memisahkan antara biomassa yang terbentuk dengan supernatan. Biomassa yang diperoleh kemudian dikeringkan dan ditimbang. Dari seluruh konsentrasi, diperoleh biomassa kering tertinggi yakni pada konsentrasi hidrolisat jerami padi 80%, inokulum 10% yaitu sebesar 84 mg/100 mL, dan yang terendah pada konsentrasi hidrolisat jerami 20%, inokulum 1% yaitu 28 mg/100 mL. Dilihat dari data yang didapatkan, semakin meningkatnya sumber karbon yang digunakan dan jumlah inokulum yang semakin tinggi maka biomassa yang diperoleh juga semakin besar. Namun terjadi penurunan biomassa pada konsentrasi hidrolisat jerami 60%, inokulum 5% dan konsentrasi hidrolisat jerami 80%, inokulum 5% tetapi jumlah penurunan tidak terlalu besar.

Kadar P(3HB) dari biomassa kering bakteri ditentukan dengan menggunakan alat kromatografi gas. Kadar P(3HB) ditentukan dari *Area Under Curve/AUC* yang dihasilkan pada kromatogram. AUC sampel dibandingkan dengan AUC standar P(3HB).

Hasil kandungan P(3HB) tertinggi diperoleh pada konsentrasi hidrolisat jerami padi 60%, inokulum 10% yaitu sebesar 15,16 mg/20 mg dan persentase P(3HB) sebesar 75,8%. Ini berarti jumlah sumber karbon hidrolisat jerami yang digunakan dalam fermentasi P(3HB) oleh bakteri *Bacillus cereus* yang optimum terjadi pada konsentrasi sumber karbon 60%, inokulum 10%. Penelitian

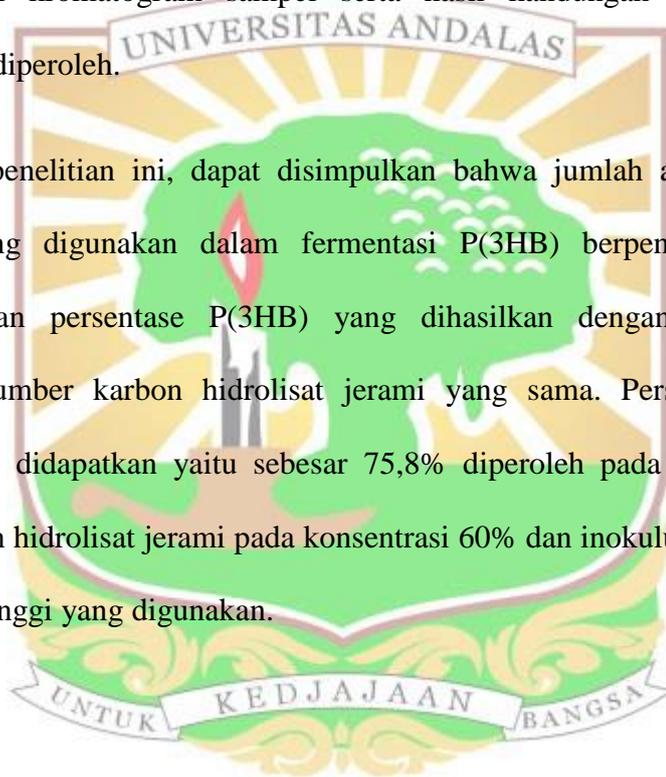
sebelumnya oleh Permata (2016), hasil kandungan dan persentase P(3HB) dari fermentasi oleh *Pseudomonas aeruginosa* menggunakan sumber karbon mikrokristalin selulosa/MCC tertinggi didapatkan pada konsentrasi 1% yaitu sebesar 3,437 mg/20mg dan persentase 17,185%, meskipun konsentrasi tertinggi MCC yaitu 1,5%. Dari data penelitian dapat dilihat bahwa kandungan dan persentase bioplastik P(3HB) yang dihasilkan tergantung kepada sumber karbon dan jenis bakteri yang digunakan untuk fermentasi.

Dari keseluruhan data yang dihasilkan, kandungan dan persentase P(3HB) yang didapatkan berbeda untuk setiap konsentrasi inokulum, meskipun jumlah sumber karbon hidrolisat jerami yang digunakan sama. Pada konsentrasi hidrolisat jerami 20% persentase P(3HB) tertinggi dihasilkan oleh inokulum 1%, pada konsentrasi hidrolisat jerami 40% persentase P(3HB) tertinggi diperoleh oleh inokulum 10%, pada konsentrasi hidrolisat jerami 60% persentase P(3HB) tertinggi dihasilkan oleh inokulum 10%, dan pada konsentrasi hidrolisat jerami 80% persentase P(3HB) tertinggi dihasilkan oleh inokulum 1%. Konsentrasi inokulum berpengaruh terhadap hasil bioplastik P(3HB) yang dihasilkan, dilihat dari kandungan dan persentase yang berbeda dari masing-masing konsentrasi inokulum pada jumlah sumber karbon hidrolisat yang sama.

Hasil kandungan dan persentase P(3HB) yang didapatkan, juga dipengaruhi pada saat pengujian dengan kromatografi gas. Pada konsentrasi sumber karbon hidrolisat 40%, kandungan dan persentase P(3HB) yang diperoleh antara inokulum 1% dan inokulum 10% tidak jauh berbeda, yakni 38,32% untuk inokulum 1%, dan 38,47% untuk inokulum 10%. Hal ini dapat disebabkan karena

pada saat metanolisis tidak sempurna. Ketika sampel dipanaskan pada suhu 100 °C selama 4 jam pada pemanas untuk mengkonversikan P(3HB) menjadi 3-hidroksi metil ester, kloroform yang terdapat pada sampel menguap akibat adanya celah ditabung reaksi yang digunakan. Sedangkan P(3HB) mudah larut dalam kloroform (Djamaan, 2015). Selain itu, pada saat menginjektikan sampel pada alat kromatografi gas dilakukan pada kondisi dan waktu yang berbeda. Sehingga mempengaruhi kromatogram sampel serta hasil kandungan dan persentase P(3HB) yang diperoleh.

Pada penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa jumlah atau konsentrasi inokulum yang digunakan dalam fermentasi P(3HB) berpengaruh terhadap kandungan dan persentase P(3HB) yang dihasilkan dengan menggunakan konsentrasi sumber karbon hidrolisat jerami yang sama. Persentase P(3HB) tertinggi yang didapatkan yaitu sebesar 75,8% diperoleh pada sampel dengan sumber karbon hidrolisat jerami pada konsentrasi 60% dan inokulum 10% sebagai inokulum tertinggi yang digunakan.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian dapat diambil kesimpulan diantaranya :

1. Konsentrasi hidrolisat jerami padi sebagai sumber karbon yang optimum pada saat fermentasi P(3HB) oleh bakteri *Bacillus cereus* adalah 60%, dengan inokulum 10%.
2. Kandungan P(3HB) tertinggi diperoleh pada konsentrasi hidrolisat jerami padi 60%, dengan inokulum 10% adalah 15,16 mg/20mg (75,8%).

5.2 Saran

Disarankan kepada peneliti selanjutnya untuk:

1. Melakukan optimasi terhadap pH, agitasi, dan suhu untuk memperoleh kondisi yang optimum pada fermentasi P(3HB) menggunakan sumber karbon hidrolisat jerami padi dengan bakteri *B. cereus*.
2. Menemukan bahan sumber karbon lain yang dapat dimanfaatkan dalam fermentasi bioplastik P(3HB).

DAFTAR PUSTAKA

Alkotaini B, Sathiyamoorthi E, Kim BS. Potential of *Bacillus megaterium* for Production of Polyhydroxyalkanoates Using the Red Algae *Gelidium amansii*. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*. 2015;20:856-860.

Argo BD, Wahyuningtyas P, Nugroho WA. Studi Pembuatan Enzim Selulase dari Mikrofungi *Trichoderma reesei* dengan Substrat Jerami Padi sebagai Katalis Hidrolisis Enzimatik pada Produksi Bioetanol. *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis*. 2013;1(1):21-25.

Bakti CP. Optimasi Produksi Enzim Selulase dari *Bacillus sp.* BPPT CC RK2 dengan Variasi pH dan Suhu Menggunakan Response Surface Methodology. [Skripsi]. Depok: Universitas Indonesia; 2012.

Djamaan A, Agustien A, Gemeidiya R, Jannah M, PD Asiska, QA Wangi. Isolation and Identification of Bioplastic Producing Bacteria from Soil at the Top of Marapi Volcano Mountain, West Sumatra, Indonesia. *Der Pharma Chemica*. 2016;8(11):160-166.

Djamaan A. Biosintesis Biopolimer Poli(3-hidroksibutirat) Campuran Minyak Kelapa Sawit dan 2-butanol Sebagai Sumber Karbon. *Majalah Farmasi Indonesia*. 2011;22(4):315-322.

Djamaan A, Dewi AP. Metode Produksi Biopolimer dari Minyak Kelapa Sawit, Asam Oleat, dan Glukosa. Padang: Andalas University Press; 2014.

Djamaan A. Konsep Produksi Biopolimer P(3HB) dan P(3HB-ko-3HV) Secara Fermentasi. Padang: Andalas University Press; 2015.

Gupta C, Jain P, Kumar D, Dixit AK, Jain RK. Production of Cellulase Enzyme from Isolated Fungus and its Application as Efficient Refining Aid for Production of Security Paper. *International Journal of Applied Microbiology and Biotechnology Research*. 2015;3:11-19.

Gemeidiya R. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Penghasil Bioplastik Poli(3-Hidroksibutirat) dari Tanah Puncak Gunung Marapi yang Ditumbuhkan dalam Media Minyak Kelapa Sawit-Bakto Agar. [Skripsi]. Padang: Universitas Andalas; 2016.

Halim A, Ben ES, Sulastri E. Pembuatan Mikrokristalin Selulosa dari Jerami Padi (*Oryza sativa* Linn) dengan Variasi Waktu Hidrolisa. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*. 2002;7(2):80-87.

Holtzaple MT. Hemicelluloses In In Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition Second Edition. Texas, USA: Texas A&M University; 2003.

Irwandi. Optimasi Proses Produksi Bioplastik dari Bahan Dasar Minyak Kelapa Sawit dengan Isolat *Bacillus* spp. [Tesis]. Padang: Universitas Andalas; 2016.

Keller M. Advances in Polyhydroxyalkanoate (PHA) Production. Austria: University of Graz; 2017.

Krisyanella, Djamaan A, Aulia W. Optimasi Proses Produksi Bioplastik Poli(3-Hidroksibutirat) dengan Bakteri *Bacillus* sp FAAC 20801 Menggunakan Bahan Dasar Jerami Padi Secara Fermentasi. Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi. 2012;17(1):60-72.

Kurniasari L, Hartati I, Yulianto ME. Kajian Hidrolisa Enzymatis Jerami Padi untuk Produksi Bioetanol. Momentum. 2008;4(1):56-64.

Li XH, Yang HJ, Roy B, Park EY, Jiang LJ, Wang D, Miao YG. Enhanced Cellulase Production of the *Trichoderma viride* mutated by Microwave and Ultraviolet. Microbiological Research. 2009;165:190-198.

Lu J, Tappel RC, Nomura CT. Mini-Review: Biosynthesis of Poly(hydroalkanoates). Journal of Macromolecular Science. 2009;49:226-248.

Lung CC, Tan GYA, Li L, Ge L, Wang L, Razaad IMN, Li Y, Zhao L, Mo Y, Wang JY. Start A Research on Biopolymer Polyhydroxyalkanoate (PHA): A Review. Polymers. 2014;6:706-754.

Murwani S. Dasar-dasar Mikrobiologi Veteriner. Malang: Universitas Brawijaya Press; 2015.

Naryaningsih A. Keefektifan *Bacillus cereus* ATCC 11778 (Bakteri Gram Positif) dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (Bakteri Gram Negatif) sebagai Bioakumulator Kadmium. [Tesis]. Semarang: Universitas Diponegoro; 2005.

Nisa K. Memproduksi Kompos dan Mikroorganisme Lokal (MOL). Jakarta: Bibit Publisher; 2016.

Nurbailis. Karakterisasi Mekanisme *Trichoderma* spp. Indigenus Rizosfir Pisang untuk Pengendalian Penyakit *Fusarium oxysporum* f.sp. cubense Penyebab Penyakit Layu Fusarium pada Tanaman Pisang. [Disertasi]. Padang: Program Pascasarjana Universitas Andalas; 2008.

Permata DL. Penggunaan Jerami Padi (*Oryza sativa* Linn) sebagai Bahan Dasar Produksi Biopolimer Poli(3-hidroksibutirat) dengan Menggunakan *Pseudomonas aeruginosa*. [Skripsi]. Padang: Universitas Andalas; 2016.

Sindhu R, Kuttiraja M, Prabisha TP, Bonod P, Sukumaran RK, Pandey A. Development of A Combined Pretreatment and Hydrolysis Strategy of Rice Straw for the Production of Bioethanol and Biopolymer. *Bioresource Technology*. 2016;215:110-116.

Sugiarto Y, Mahfut LN, Rilek NM, Atrinto ACP, Khotimah M. Pengaruh Frekuensi Ultrasonik dan Konsentrasi NaOH pada Proses Pretreatment Bioetanol Pelepah Sawit. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 2014;15(3):213-222.

Suryadi H, Sutriyo, Sari HR, Rosikhoh D. Preparation of Microcrystalline Cellulose from Water Hyacinth Powder by Enzymatic Hydrolysis Using Cellulase of Local Isolate. *J Young Pharm*. 2017;9(1):s19-s23.

Susanti M. Produksi Bioplastik Poli (3-Hidroksibutirat) (P(3HB)) Secara Proses Fermentasi Menggunakan Bakteri *Bacillus Brevis* FACC-20801 dari Minyak Kelapa Sawit Sebagai Sumber Karbon. [Skripsi]. Padang: Stifarm; 2010.

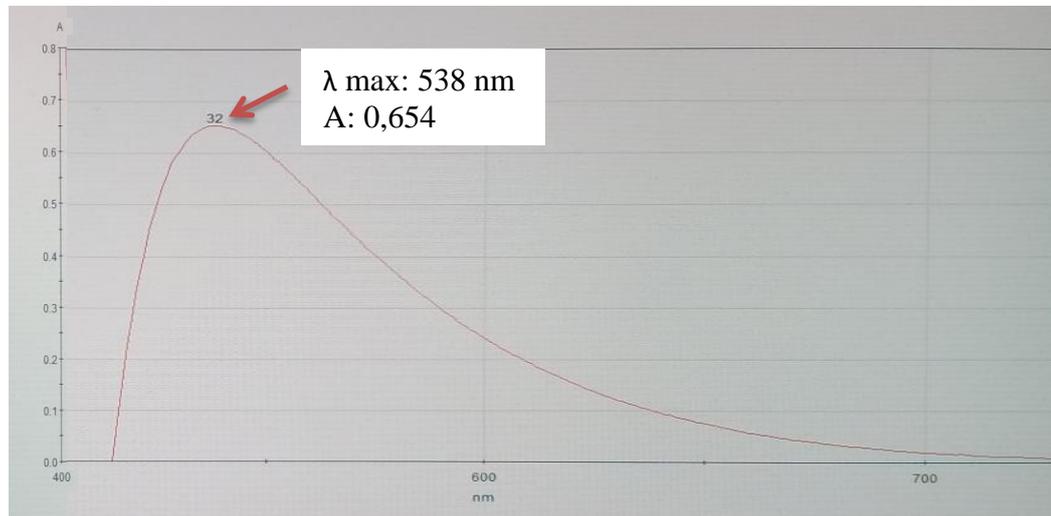
Trisunaryanti W. Dari Sampah Plastik Menjadi Bensin dan Solar. Yogyakarta: Gajah Mada University Press; 2018.

Wignyanto, Hidayat N. Bioindustri. Malang: Universitas Brawijaya Press; 2017.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Hasil Penelitian

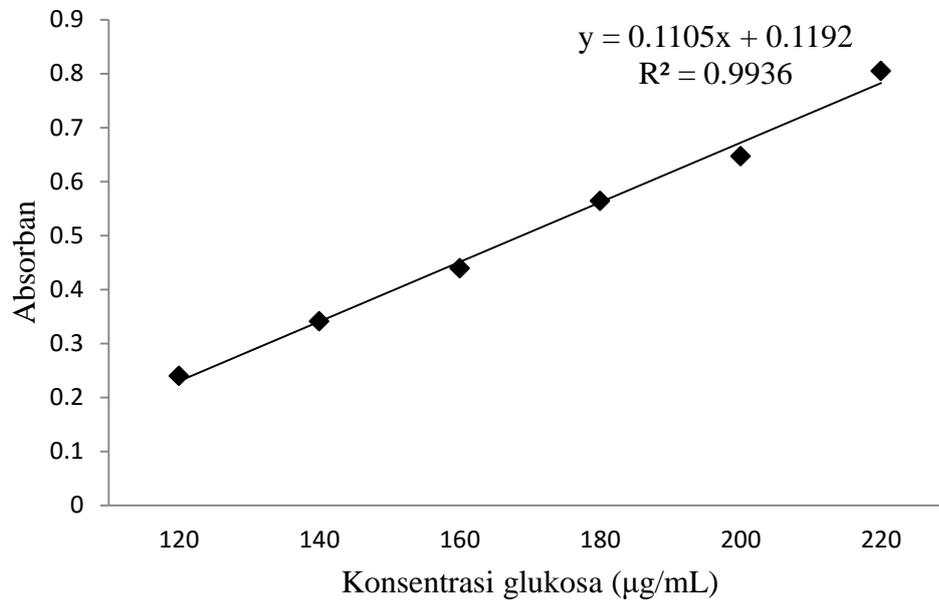


Gambar 8. Penentuan panjang gelombang serapan maksimum larutan glukosa – DNS yang diuji dengan alat Spektrofotometer UV-Vis

Tabel 3. Konsentrasi dan absorbansi larutan standar glukosa – DNS untuk pembuatan kurva kalibrasi yang diukur pada λ 538 nm menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Konsentrasi glukosa ($\mu\text{g/mL}$)	Absorban
120	0,240
140	0,341
160	0,439
180	0,564
200	0,647
220	0,805

Lampiran 1. (Lanjutan)



Gambar 9. Kurva kalibrasi beberapa konsentrasi larutan standar glukosa – DNS terhadap absorban



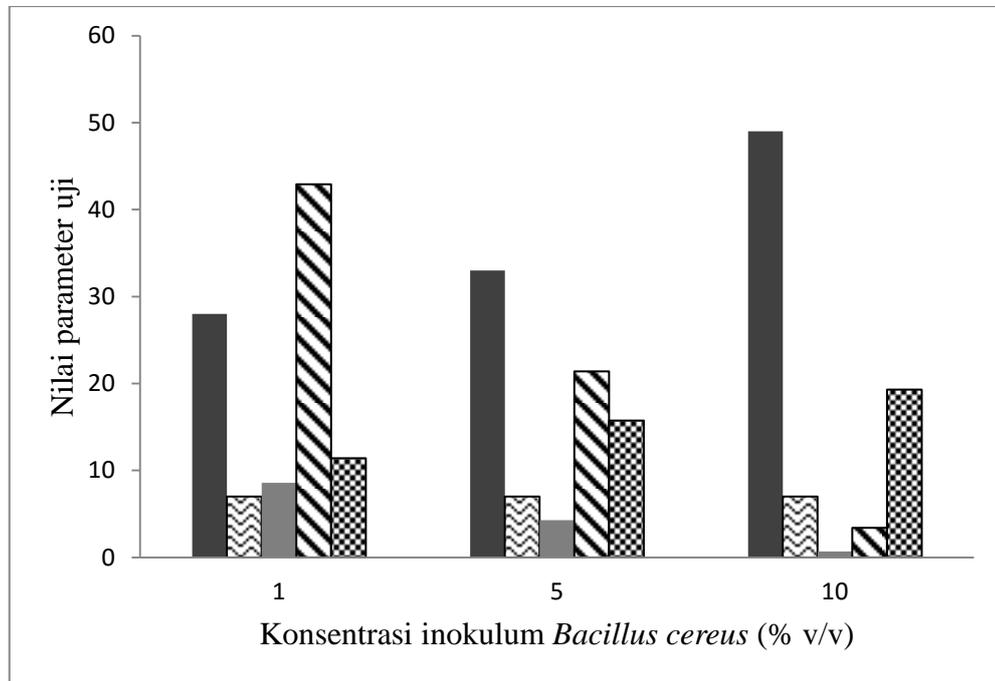
Lampiran 1. (Lanjutan)

Tabel 4. Data berat biomassa (sel kering), pH supernatan, kandungan P(3HB) dan persentase P(3HB) dalam sel bakteri *Bacillus cereus* setelah fermentasi selama 48 jam menggunakan sumber karbon hidrolisat jerami padi

No	Konsentrasi Hidrolisat Jerami Padi (%)	Konsentrasi inokulum (%)	pH Supernatan	Biomassa (mg/100 mL)	Waktu Retensi	Area Under Curve (AUC)	Kandungan P(3HB) (mg/20 mg)	Persentase P(3HB) (%)
1	20	1	7	28	3,715	7329127	8,585	42,925
		5	7	33	3,619	3653303	4,279	21,395
		10	7	49	3,608	583999	0,684	3,420
2	40	1	7	39	3,702	6542910	7,664	38,320
		5	7	45	3,628	1761010	2,062	10,310
		10	7	52	3,614	6568562	7,694	38,470
3	60	1	7	57	3,626	3121898	3,657	18,285
		5	7	38	3,700	8985086	10,520	52,600
		10	7	66	3,605	12941996	15,160	75,800
4	80	1	6,5	80	3,619	8451895	9,900	49,500
		5	6,5	74	3,620	5140087	6,021	30,105
		10	6,5	84	3,619	1574986	1,845	9,225



Lampiran 1. (Lanjutan)

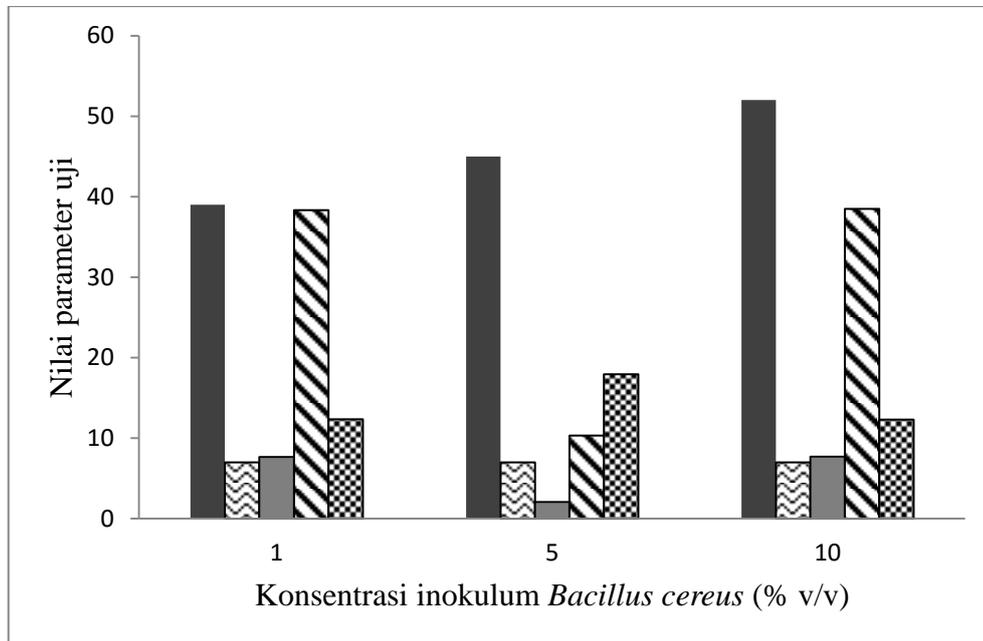


Gambar 10. Profil perbedaan konsentrasi inokulum *Bacillus cereus* terhadap biomassa, pH akhir, kandungan P(3HB), persentase P(3HB), dan biomassa residu pada sumber karbon hidrolisat jerami 20 % setelah fermentasi selama 48 jam

Keterangan :

- biomassa (mg/100mL)
- ▨ pH akhir
- kandungan P(3HB) (mg/20mg)
- ▨ persentase P(3HB) (%)
- ▨ biomassa residu (mg/20mg)

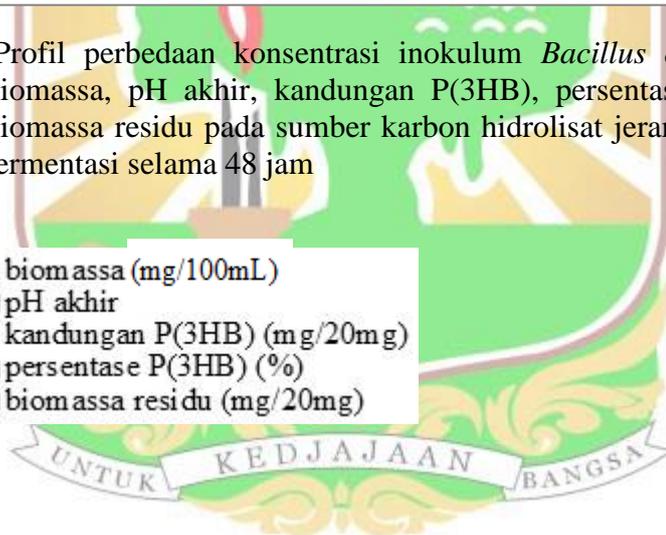
Lampiran 1. (Lanjutan)



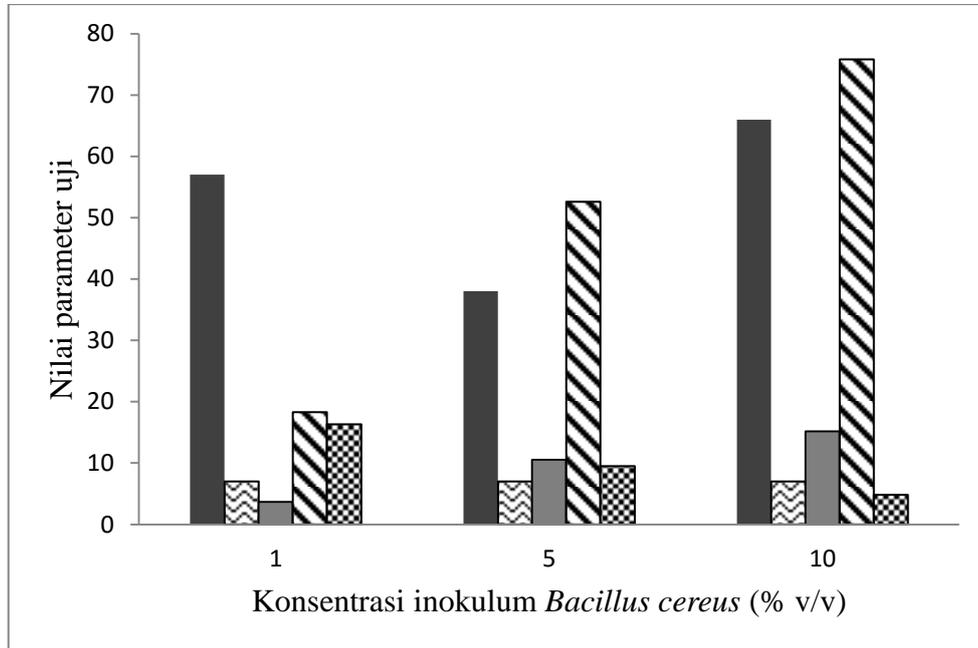
Gambar 11. Profil perbedaan konsentrasi inokulum *Bacillus cereus* terhadap biomassa, pH akhir, kandungan P(3HB), persentase P(3HB), dan biomassa residu pada sumber karbon hidrolisat jerami 40 % setelah fermentasi selama 48 jam

Keterangan :

- biomassa (mg/100mL)
- ▨ pH akhir
- kandungan P(3HB) (mg/20mg)
- ▨ persentase P(3HB) (%)
- ▨ biomassa resi du (mg/20mg)



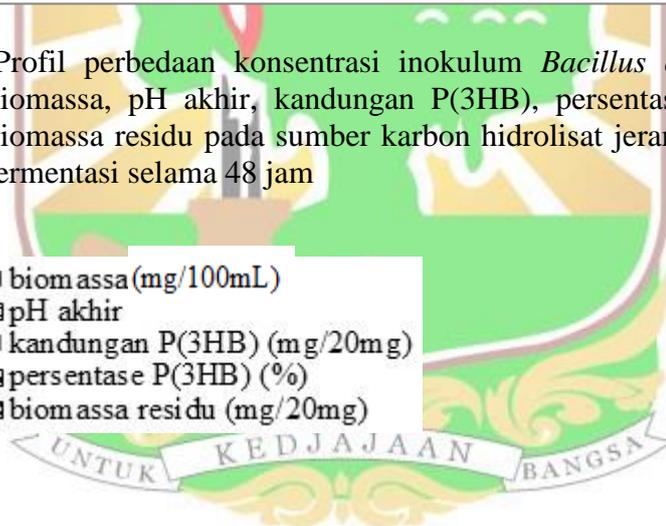
Lampiran 1. (Lanjutan)



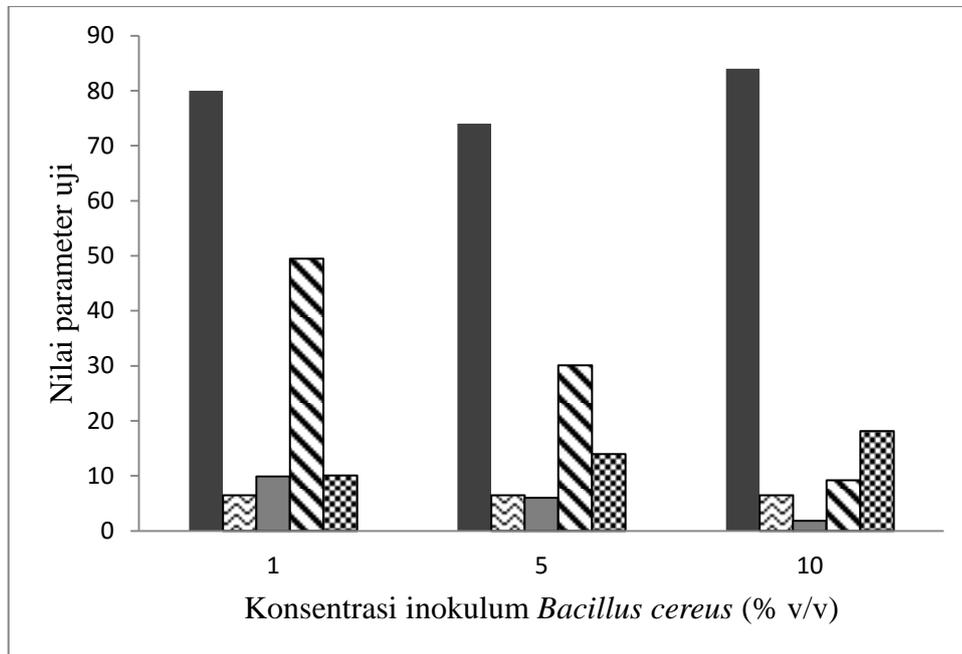
Gambar 12. Profil perbedaan konsentrasi inokulum *Bacillus cereus* terhadap biomassa, pH akhir, kandungan P(3HB), persentase P(3HB), dan biomassa residu pada sumber karbon hidrolisat jerami 60 % setelah fermentasi selama 48 jam

Keterangan :

- biomassa (mg/100mL)
- ▨ pH akhir
- kandungan P(3HB) (mg/20mg)
- ▨ persentase P(3HB) (%)
- ▨ biomassa residu (mg/20mg)



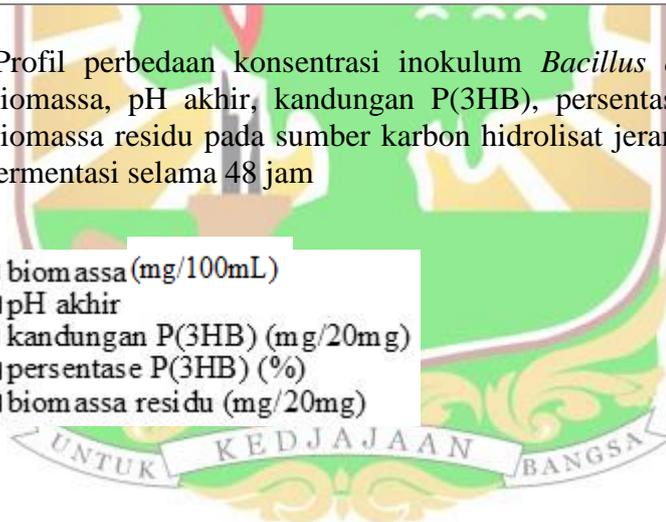
Lampiran 1. (Lanjutan)



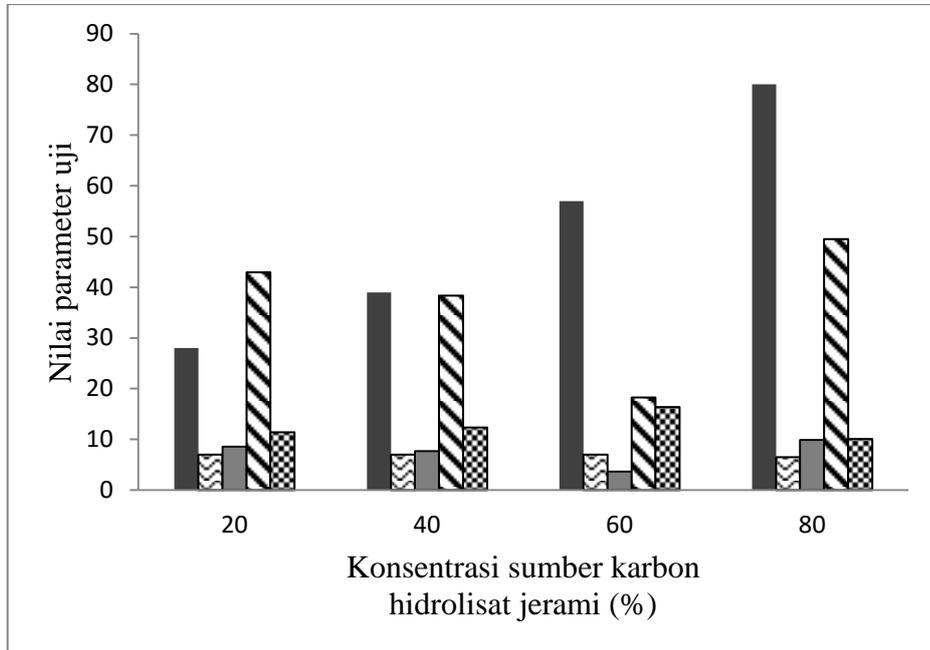
Gambar 13. Profil perbedaan konsentrasi inokulum *Bacillus cereus* terhadap biomassa, pH akhir, kandungan P(3HB), persentase P(3HB), dan biomassa residu pada sumber karbon hidrolisat jerami 80 % setelah fermentasi selama 48 jam

Keterangan :

- biomassa (mg/100mL)
- ▨ pH akhir
- kandungan P(3HB) (mg/20mg)
- ▨ persentase P(3HB) (%)
- ▨ biomassa residu (mg/20mg)



Lampiran 1. (Lanjutan)



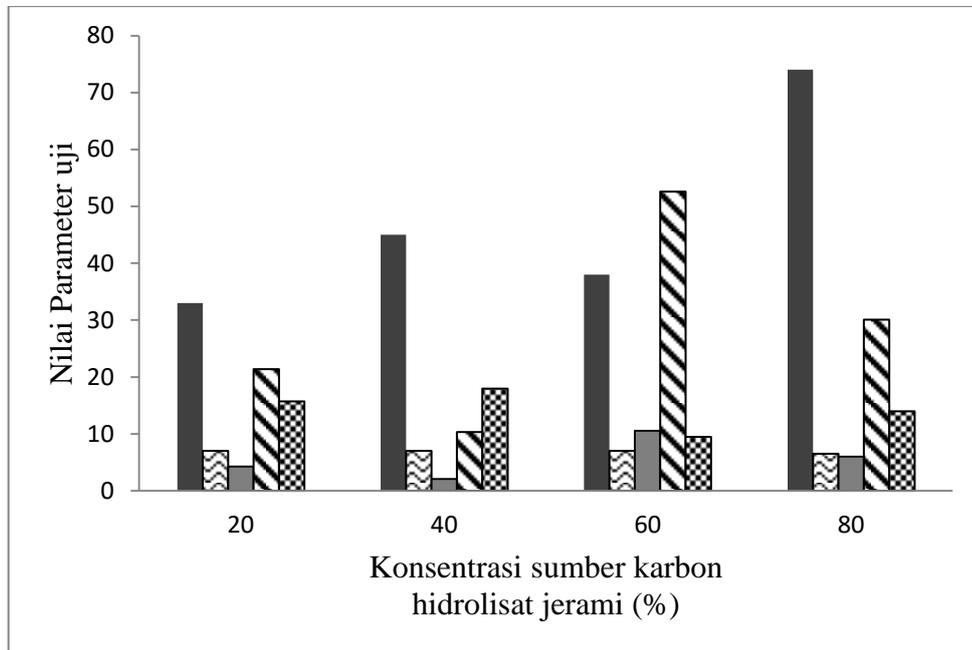
Gambar 14. Profil perbedaan konsentrasi sumber karbon hidrolisat jerami terhadap biomassa, pH akhir, kandungan P(3HB), persentase P(3HB), dan biomassa residu pada konsentrasi inokulum *Bacillus cereus* 1 % setelah fermentasi selama 48 jam

Keterangan :

- biomassa (mg/100mL)
- ▨ pH akhir
- kandungan P(3HB) (mg/20mg)
- ▨ persentase P(3HB) (%)
- ▨ biomassa residu (mg/20mg)



Lampiran 1. (Lanjutan)



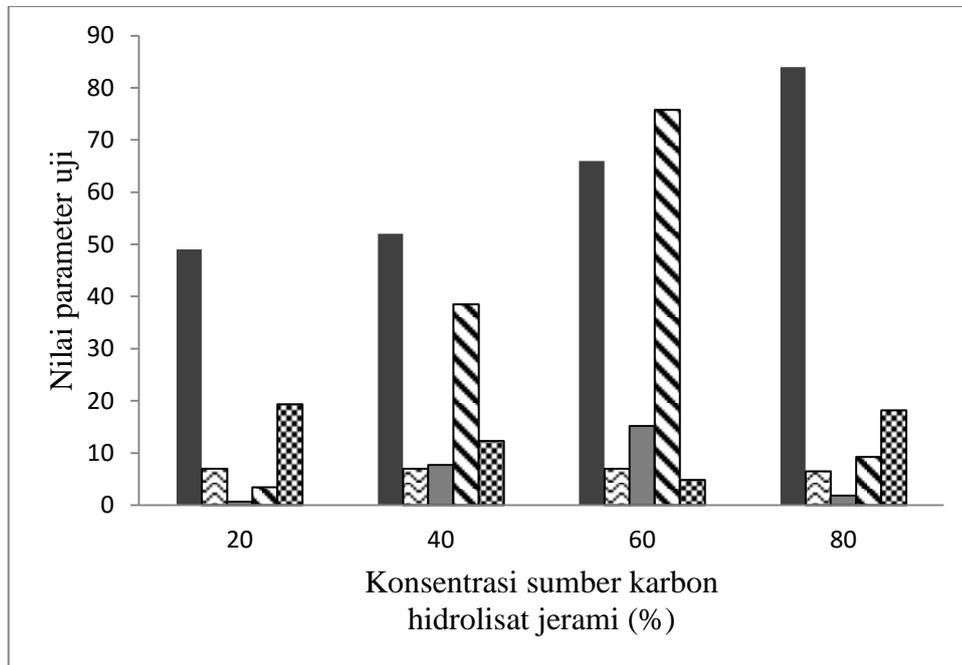
Gambar 15. Profil perbedaan konsentrasi sumber karbon hidrolisat jerami terhadap biomassa, pH akhir, kandungan P(3HB), persentase P(3HB), dan biomassa residu pada konsentrasi inokulum *Bacillus cereus* 5 % setelah fermentasi selama 48 jam

Keterangan :

- biomassa (mg/100mL)
- ▨ pH akhir
- kandungan P(3HB) (mg/20mg)
- ▨ persentase P(3HB) (%)
- ▨ biomassa residu (mg/20mg)



Lampiran 1. (Lanjutan)

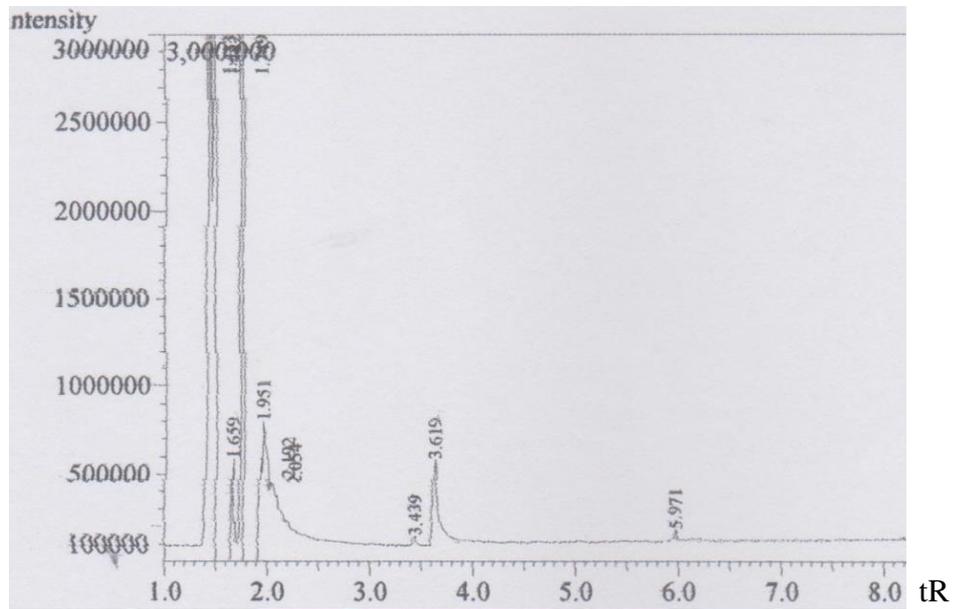


Gambar 16. Profil perbedaan konsentrasi sumber karbon hidrolisat jerami terhadap biomassa, pH akhir, kandungan P(3HB), persentase P(3HB), dan biomassa residu pada konsentrasi inokulum *Bacillus cereus* 10 % setelah fermentasi selama 48 jam

Keterangan :

- biomassa (mg/100mL)
- ▨ pH akhir
- kandungan P(3HB) (mg/20mg)
- ▨ persentase P(3HB) (%)
- ▨ biomassa residu (mg/20mg)

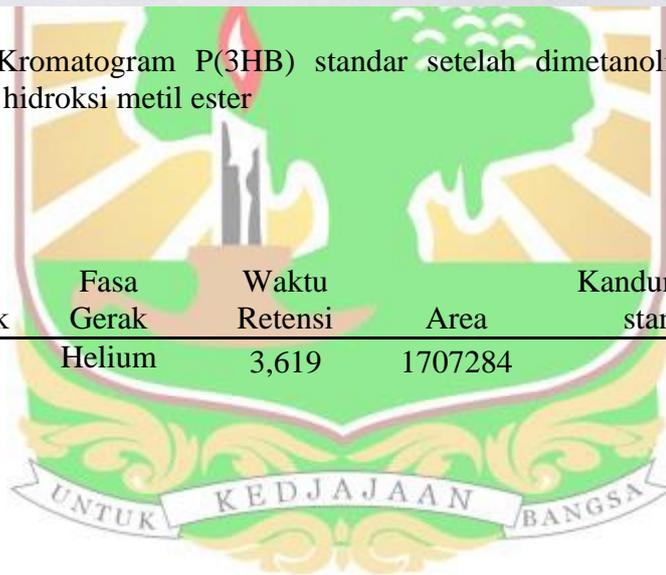
Lampiran 1. (Lanjutan)



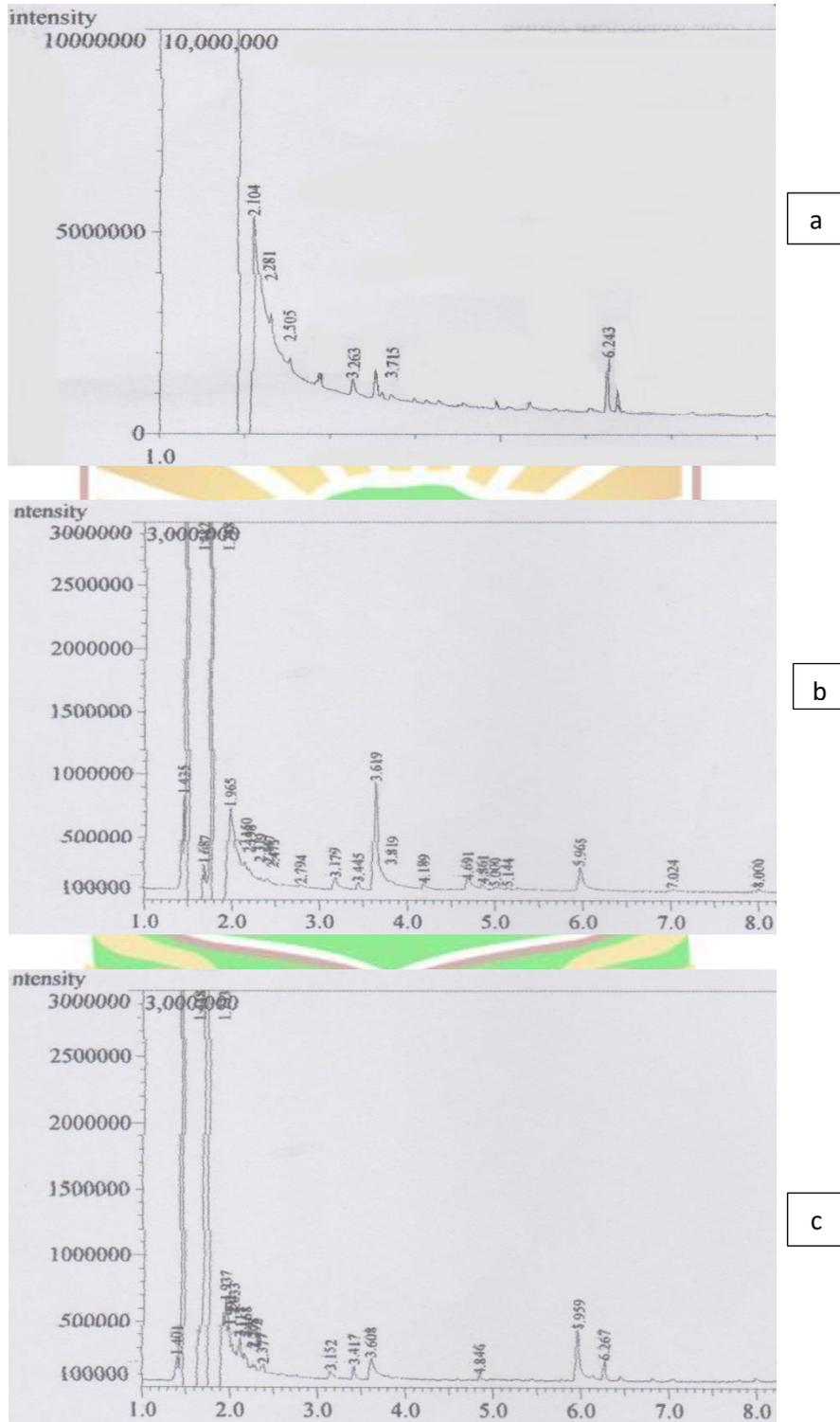
Gambar 17. Kromatogram P(3HB) standar setelah dimetanolisis menjadi 3-hidroksi metil ester

Keterangan :

Nama Puncak	Fasa Gerak	Waktu Retensi	Area	Kandungan P(3HB) standar (mg)
P(3HB)	Helium	3,619	1707284	2

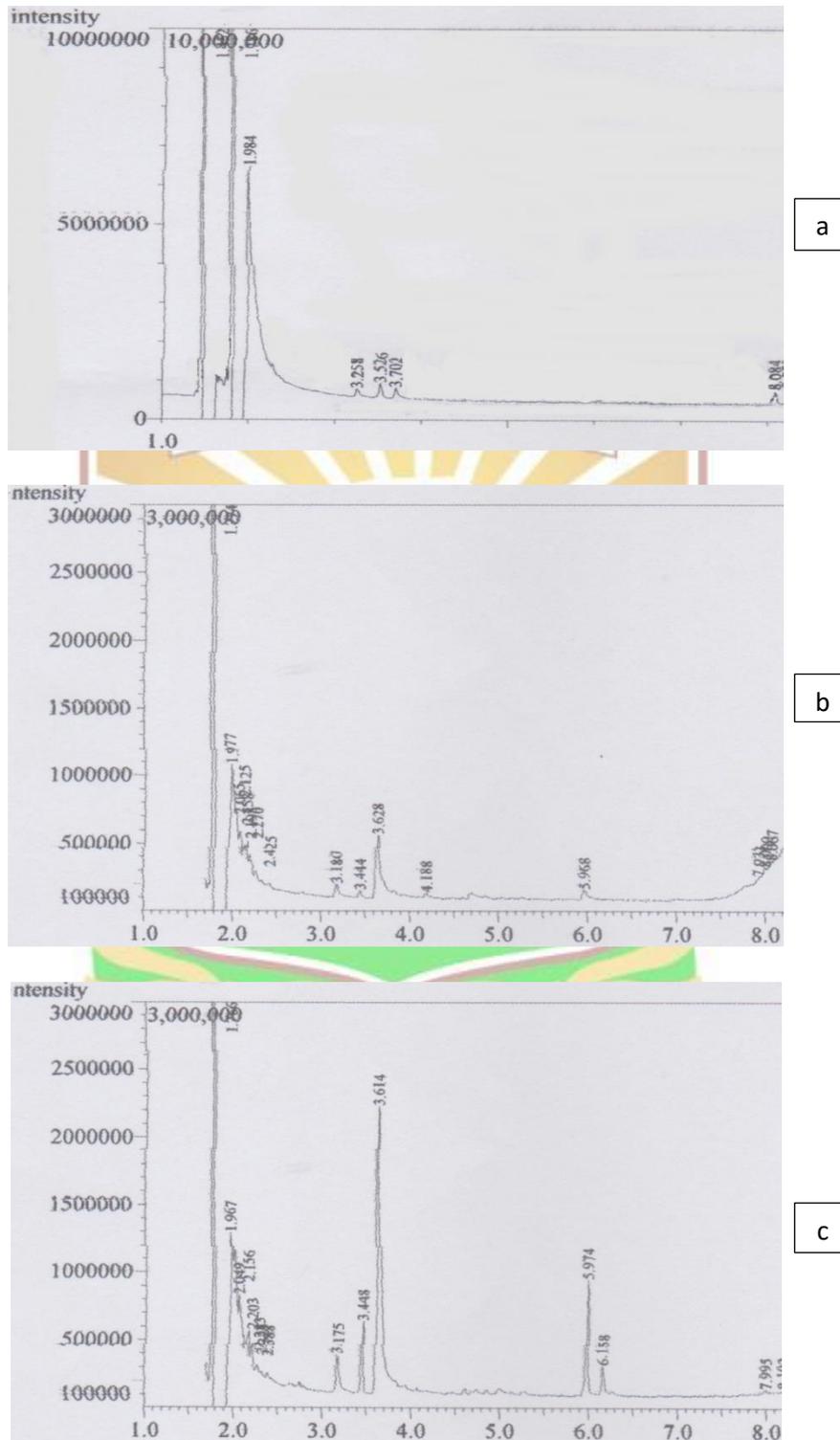


Lampiran 1. (Lanjutan)



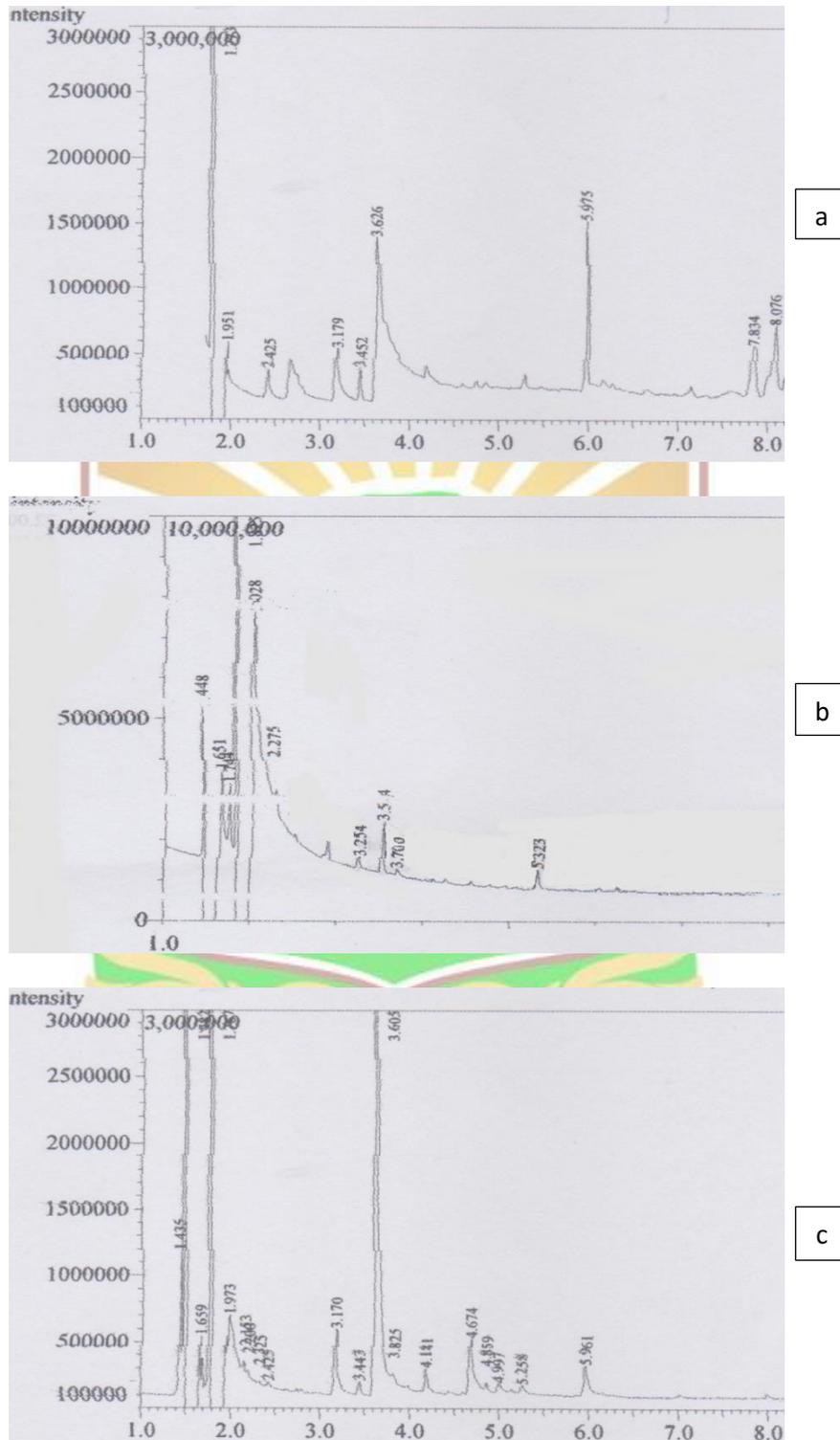
Gambar 18. Kromatogram P(3HB) dari sampel pada konsentrasi sumber karbon hidrolisat jerami 20% dengan inokulum (a) 1%, (b) 5%, dan (c) 10%

Lampiran 1. (Lanjutan)



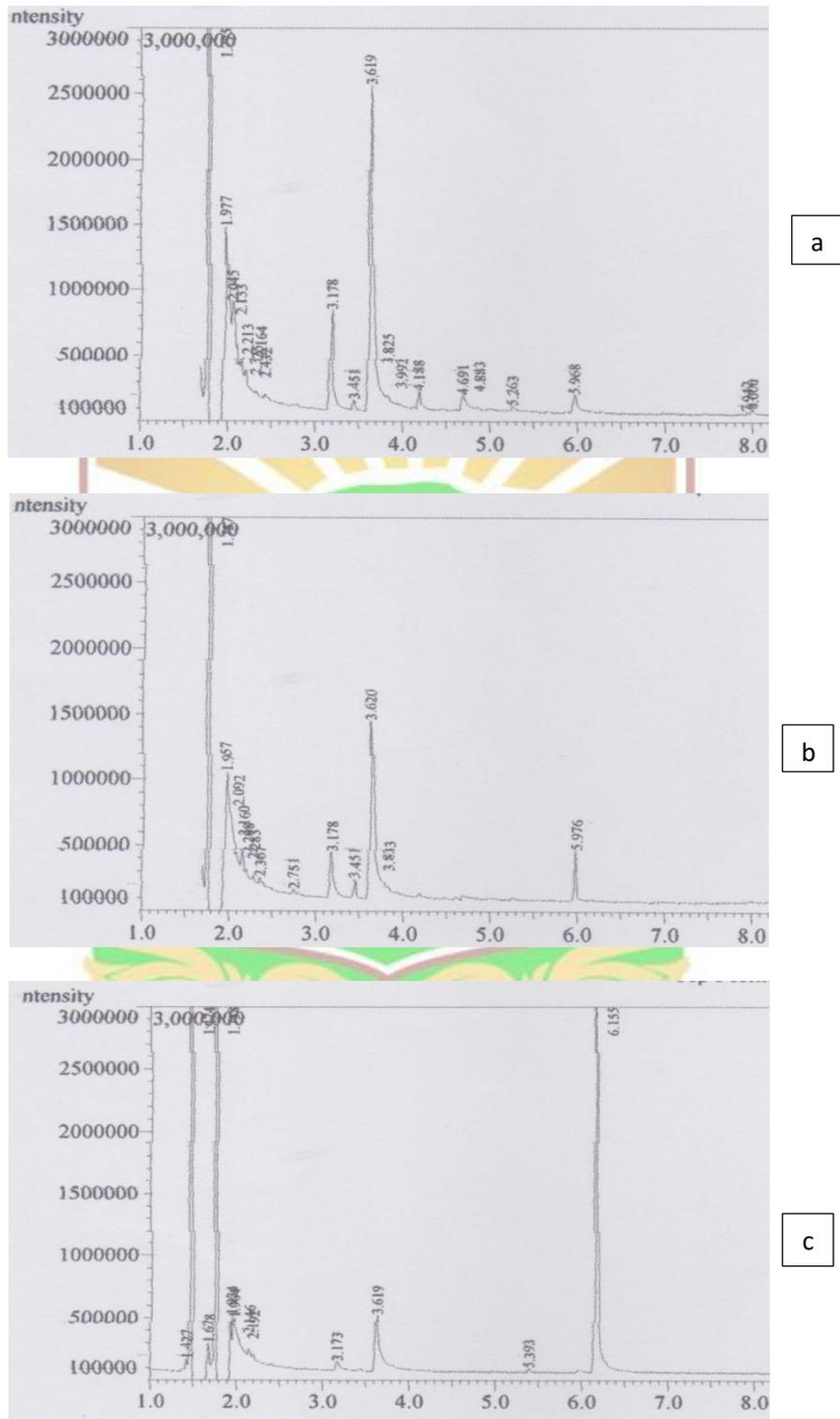
Gambar 19. Kromatogram P(3HB) dari sampel pada konsentrasi sumber karbon hidrolisat jerami 40% dengan inokulum (a) 1%, (b) 5%, dan (c) 10%

Lampiran 1. (Lanjutan)



Gambar 20. Kromatogram P(3HB) dari sampel pada konsentrasi sumber karbon hidrolisat jerami 60% dengan inokulum (a) 1%, (b) 5%, dan (c) 10%

Lampiran 1. (Lanjutan)



Gambar 21. Kromatogram P(3HB) dari sampel pada konsentrasi sumber karbon hidrolisat jerami 80% dengan inokulum (a) 1%, (b) 5%, dan (c) 10%

Lampiran 2. Contoh Perhitungan

1. Aktivitas enzim selulase

a. Absorban sampel 1 : 0,450

$$y = 0,1105x + 0,1192$$

$$0,450 = 0,1105x + 0,1192$$

$$x = 2,993 \text{ mg}$$

Aktivitas enzim sampel 1 (Unit/mL)

$$\begin{aligned} &= \frac{\text{mg glukosa} \times 1000}{\text{Mr glukosa} \times \text{waktu inkubasi} \times \text{volume sampel}} \times \text{faktor pengenceran} \\ &= \frac{2,993 \text{ mg} \times 1000}{180 \times 30 \text{ menit} \times 0,5 \text{ mL}} \times 5 \\ &= 5,542 \text{ Unit/mL} \end{aligned}$$

b. Absorban sampel 2 : 0,411

$$y = 0,1105x + 0,1192$$

$$0,411 = 0,1105x + 0,1192$$

$$x = 2,640 \text{ mg}$$

Aktivitas enzim sampel 2 (Unit/mL)

$$\begin{aligned} &= \frac{\text{mg glukosa} \times 1000}{\text{Mr glukosa} \times \text{waktu inkubasi} \times \text{volume sampel}} \times \text{faktor pengenceran} \\ &= \frac{2,640 \text{ mg} \times 1000}{180 \times 30 \text{ menit} \times 0,5 \text{ mL}} \times 5 \\ &= 4,888 \text{ Unit/mL} \end{aligned}$$

c. Absorban sampel 3 : 0,230

$$y = 0,1105x + 0,1192$$

$$0,230 = 0,1105x + 0,1192$$

$$x = 1,002 \text{ mg}$$

Aktivitas enzim sampel 3 (Unit/mL)

$$= \frac{\text{mg glukosa} \times 1000}{\text{Mr glukosa} \times \text{waktu inkubasi} \times \text{volume sampel}} \times \text{faktor pengenceran}$$

$$= \frac{1,002 \text{ mg} \times 1000}{180 \times 30 \text{ menit} \times 0,5 \text{ mL}} \times 5$$

$$= 1,855 \text{ Unit/mL}$$

Rata-rata aktivitas enzim selulase (Unit/mL)

$$= \frac{\text{Aktivitas enzim sampel 1} + \text{Aktivitas enzim sampel 2} + \text{Aktivitas enzim sampel 3}}{3}$$

$$= \frac{5,542 + 4,888 + 1,855}{3}$$

$$= 4,095 \text{ Unit/mL}$$

2. Kandungan sampel P(3HB) pada konsentrasi sumber karbon hidrolisat jerami padi 60 % dengan inokulum 10 % menggunakan bakteri *Bacillus cereus*

$$\text{Kandungan Sampel P(3HB)} = \frac{\text{AUC Sampel}}{\text{AUC Standar}} \times \text{kandungan standar}$$

$$= \frac{12941996}{1707284} \times 2 \text{ mg}$$

$$= 15,16 \text{ mg}$$

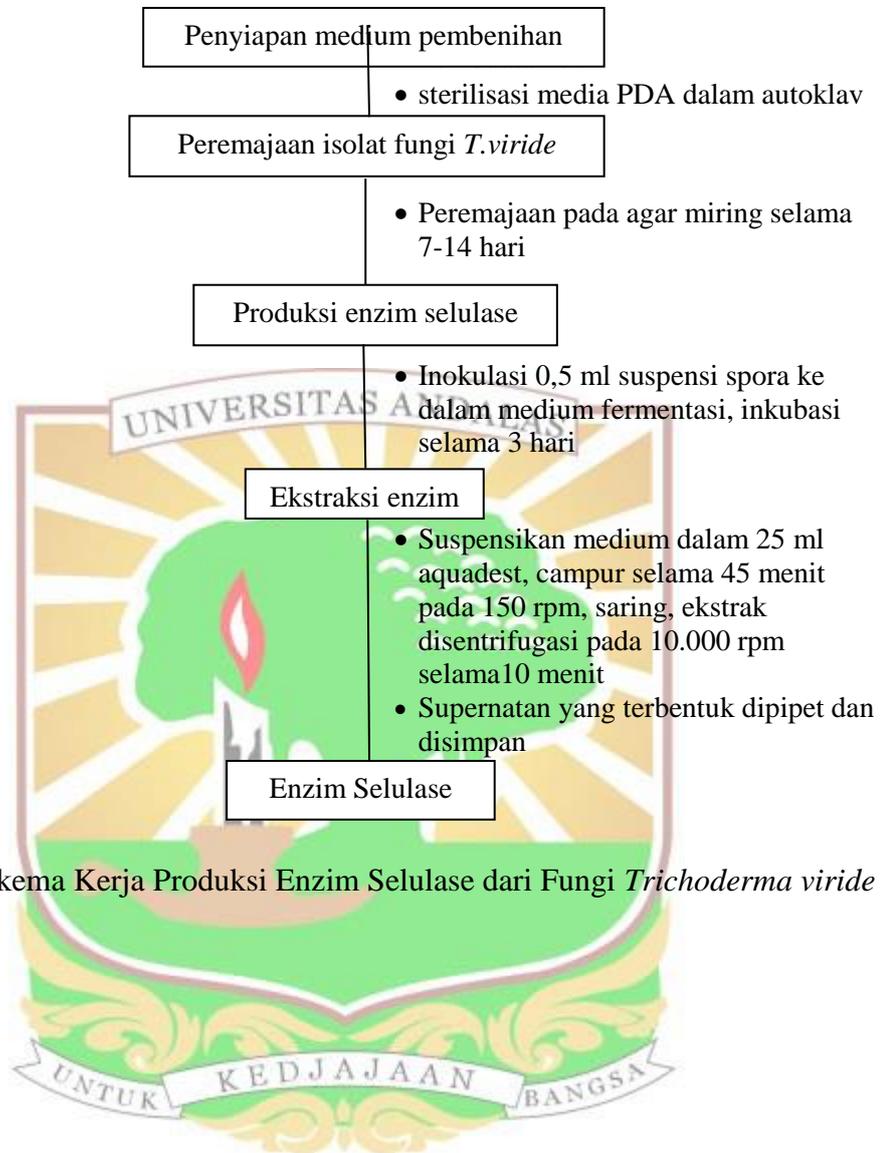
3. Persentase P(3HB) sampel pada konsentrasi sumber karbon hidrolisat jerami padi 60 % dengan inokulum 10 % menggunakan bakteri *Bacillus cereus*

$$\text{Persentase P(3HB)} = \frac{\text{Kandungan Sampel}}{\text{Massa sampel ditimbang}} \times 100 \%$$

$$= \frac{15,16 \text{ mg}}{20 \text{ mg}} \times 100 \%$$

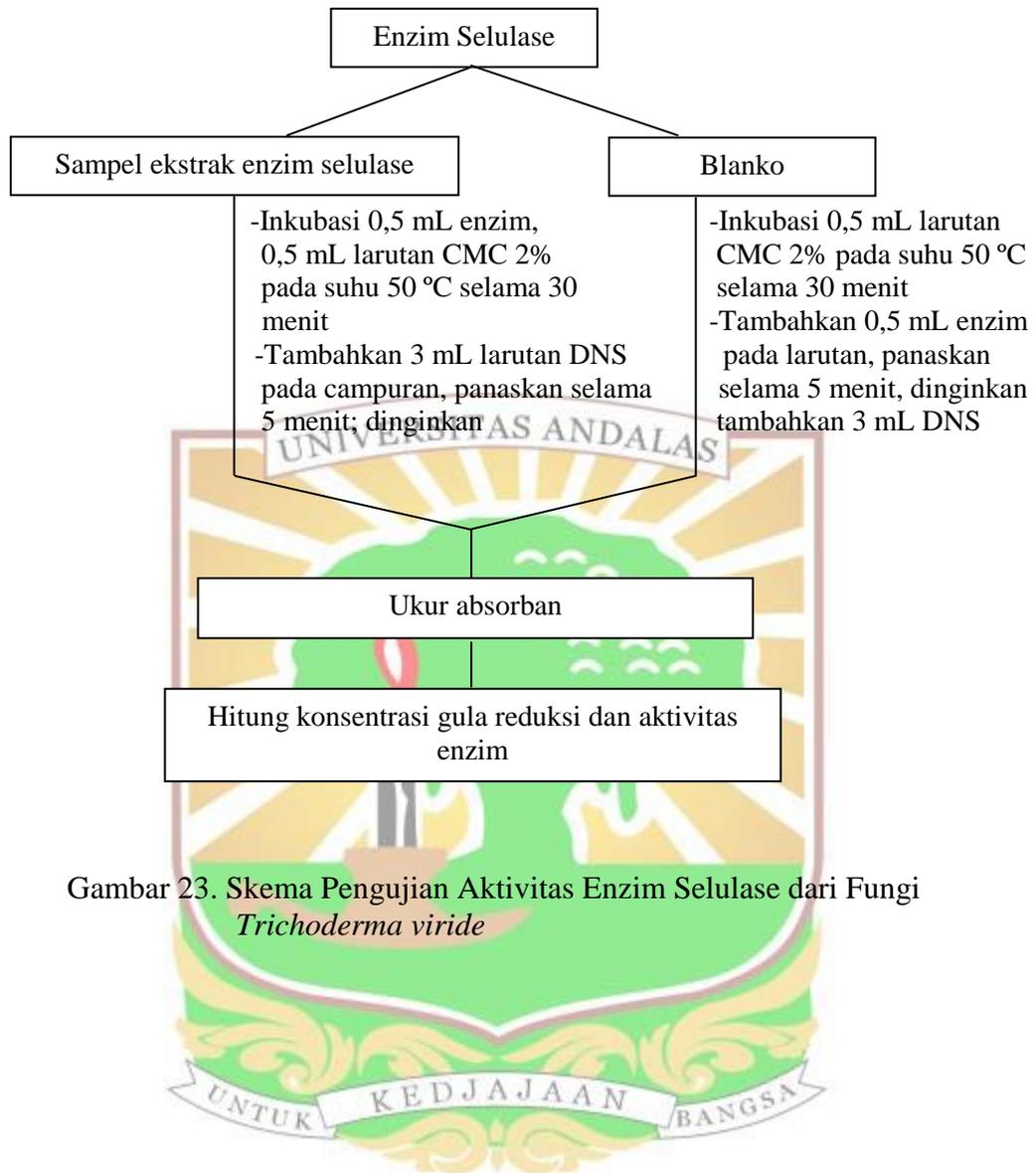
$$= 75,8 \%$$

Lampiran 3. Dokumen Pendukung Penelitian



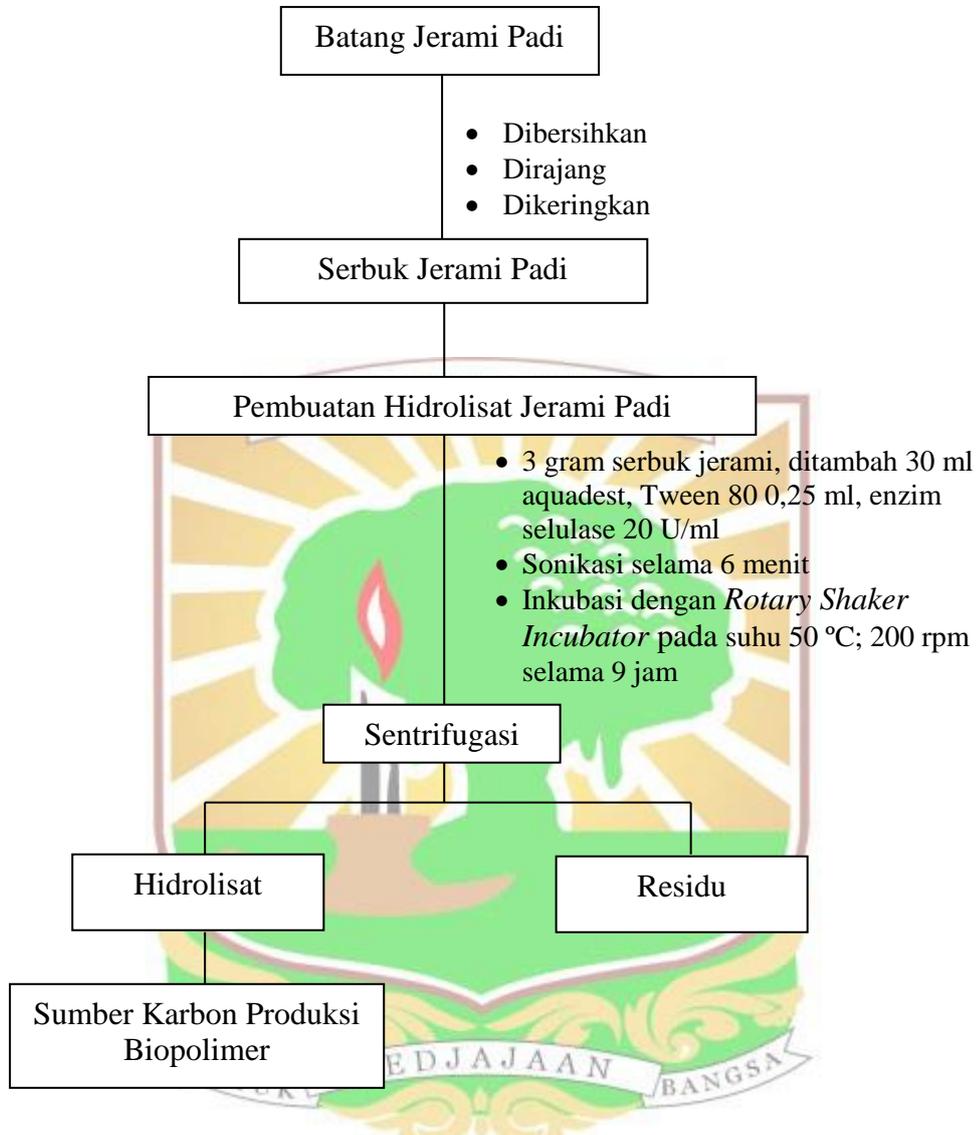
Gambar 22. Skema Kerja Produksi Enzim Selulase dari Fungi *Trichoderma viride*

Lampiran 3. (Lanjutan)



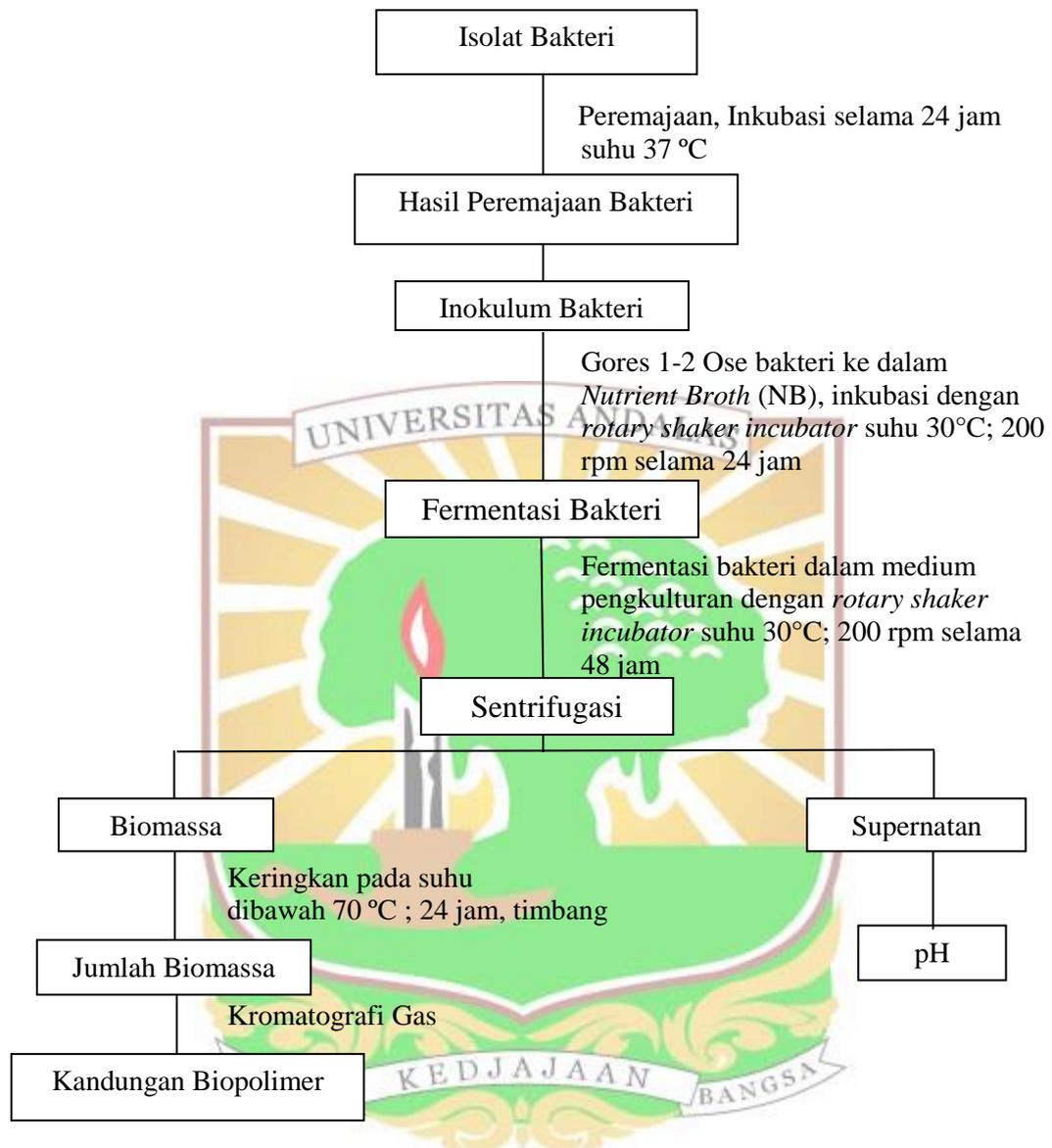
Gambar 23. Skema Pengujian Aktivitas Enzim Selulase dari Fungi *Trichoderma viride*

Lampiran 3. (Lanjutan)



Gambar 24. Skema Kerja Pembuatan Hidrolisat Jerami

Lampiran 3. (Lanjutan)



Gambar 25. Skema Kerja Fermentasi Bakteri *Bacillus cereus* Penghasil Biopolimer P(3HB)

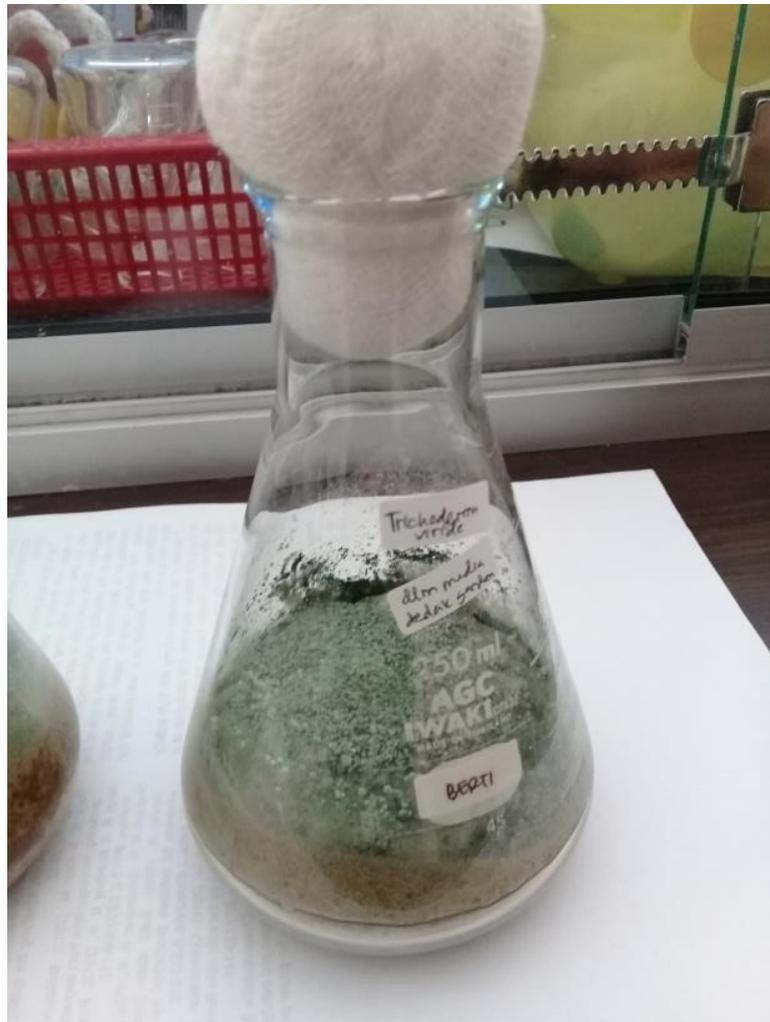
Lampiran 3. (Lanjutan)



Gambar 26. Fungi *Trichoderma viride* dalam media agar miring yang digunakan dalam penelitian ini



Lampiran 3. (Lanjutan)



Gambar 27. Medium produksi enzim selulase dari fungi *Trichoderma viride* setelah lima hari inkubasi

Lampiran 3. (Lanjutan)



Gambar 28. Hasil sentrifugasi enzim selulase dari fungi *Trichoderma viride*



Lampiran 3. (Lanjutan)



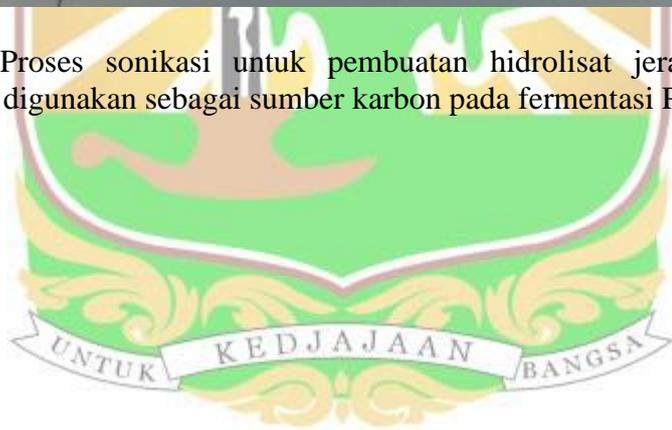
Gambar 29. Larutan standar glukosa-DNS pada beberapa konsentrasi setelah pemanasan yang akan diuji dengan Spektrofotometer UV-Vis



Lampiran 3. (Lanjutan)



Gambar 30. Proses sonikasi untuk pembuatan hidrolisat jerami padi yang digunakan sebagai sumber karbon pada fermentasi P(3HB)



Lampiran 3. (Lanjutan)



Gambar 31. Pembuatan hidrolisat jerami padi



Lampiran 3. (Lanjutan)



Gambar 32. Hasil hidrolisat jerami padi setelah disentrifus yang digunakan sebagai sumber karbon pada fermentasi P(3HB) menggunakan bakteri *Bacillus cereus*

Lampiran 3. (Lanjutan)



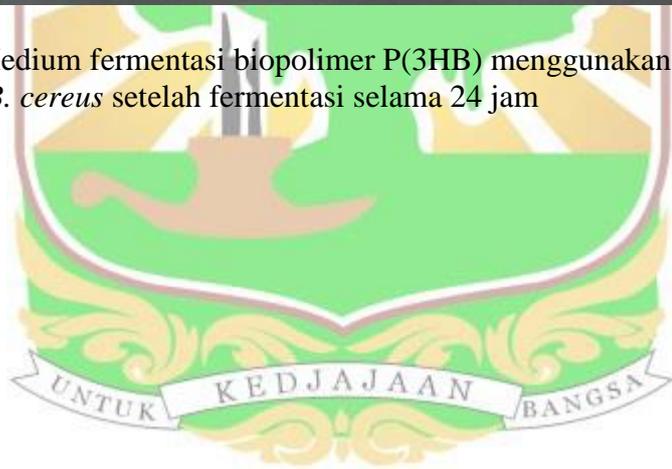
Gambar 33. Bakteri *B. cereus* dalam media agar miring yang digunakan untuk fermentasi P(3HB)



Lampiran 3. (Lanjutan)



Gambar 34. Medium fermentasi biopolimer P(3HB) menggunakan bakteri *B. cereus* setelah fermentasi selama 24 jam



Lampiran 3. (Lanjutan)



Gambar 35. Medium fermentasi biopolimer P(3HB) sebelum (a) dan sesudah sentrifugasi (b)

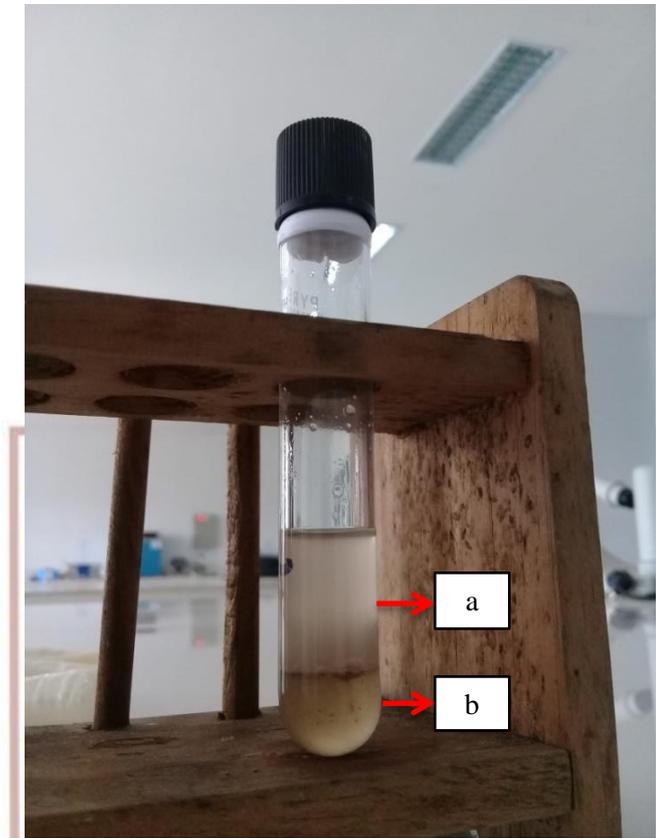
Lampiran 3. (Lanjutan)



Gambar 36. Biomassa bakteri *Bacillus cereus* pada beberapa konsentrasi yang akan dimetanolisis untuk pengujian kandungan biopolimer P(3HB)



Lampiran 3. (Lanjutan)



Gambar 37. Contoh hasil metanolisis biomassa bakteri *Bacillus cereus* untuk mengkonversikan P(3HB) menjadi hidroksi metil ester

Keterangan :

- a : fase air
- b : fase kloroform

Lampiran 3. (Lanjutan)



Gambar 38. Alat *Gas Chromatograph-Mass Spectrometer* yang digunakan untuk penentuan kandungan biopolimer P(3HB)



Lampiran 3. (Lanjutan)



Gambar 39. Alat *Rotary Shaker Incubator* untuk fermentasi biopolimer P(3HB) yang digunakan dalam penelitian ini



Lampiran 3. (Lanjutan)



Gambar 40. Alat sentrifus yang digunakan dalam penelitian ini untuk memisahkan biomassa bakteri *B. cereus* dan supernatan setelah fermentasi selama 48 jam

