

Artikel Review

Pengaruh Oksigen Pada Akumulasi Poly Hydroxy Alkanoates (PHA)

M. Khoiron Ferdiansyah

¹⁾ Prodi Teknologi Pangan, Fakultas Teknik, Universitas PGRI Semarang JL. Sidodadi Timur 24 Semarang, Email: khoironferdiansyah@upgris.ac.id

Abstrak

Polyhydroxyalkanoates (PHA) adalah salah satu contoh dari bioplastik. PHA disintesis oleh bakteri sebagai karbon atau komponen simpanan energi ketika jumlah intake karbon berlebihan dan beberapa nutrisi seperti nitrogen, fosfor, dan oksigen dalam kondisi yang terbatas. Pemberian aerasi oksigen sangat mempengaruhi produksi dan akumulasi PHA. Tingkat aerasi oksigen yang rendah akan meningkatkan konsentrasi PHA. Penetapan suplai oksigen pada batas level tertentu yang tepat akan dapat meningkatkan produktivitas atau akumulasi PHA, tanpa mengganggu pertumbuhan mikroorganisme.

Kata kunci: polyhydroxyalkanoates, bioplastik, oksigen,

1. PENDAHULUAN

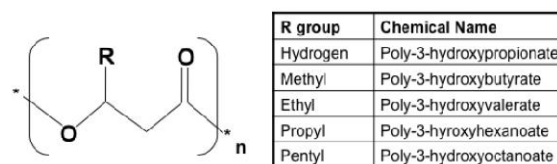
Sejauh ini, hampir 260 juta ton polimer plastik diproduksi di seluruh bagian dunia. Polimer plastik tersebut umumnya dibuat dari bahan minyak bumi. Saat menjadi sampah, polimer plastik dari bahan minyak bumi tersebut tentunya akan sangat susah didegradasi oleh mikroorganisme pengurai. Hal itu menyebabkan polusi tersendiri yang dapat merusak alam. Oleh karena itu, dibutuhkan teknologi terbaru yang dapat memberikan dampak yang lebih baik untuk alam, tanpa mengurangi fungsi dari plastik itu sendiri. Bioplastik atau biodegradable plastik adalah salah satu solusi yang dapat diberikan untuk menggantikan peran dari polimer plastik sintetis. Menurut The American Society for Testing and Materials, biodegradable plastik dapat didefinisikan sebagai plastik yang mampu didegradasi secara alami oleh mikroorganisme seperti bakteri, fungi, dan alga.

Polyhydroxyalkanoates (PHA) adalah salah satu contoh dari bioplastik. Biodegradable polymer seperti polyhydroxyalkanoates (PHA) dapat mengurangi polusi yang disebabkan oleh meningkatnya kebutuhan polimer global (Dietrich et al., 2017). PHA disintesis oleh berbagai tipe bakteri sebagai karbon atau komponen simpanan energi ketika jumlah

karbon berlebihan dan beberapa nutrisi seperti nitrogen, fosfor, dan oksigen dalam kondisi yang terbatas. Polimer tersebut disimpan dalam bentuk granula tak larut sampai dengan kondisi lingkungan sekitar mendukung untuk pertumbuhan bakteri. Berat dari polimer berkisar 200.000-3.000.000 Daltons, tergantung kondisi dan mikroorganisme yang memproduksi (Reemmer, 2009).

2. JENIS-JENIS PHA

Banyak Bacteria dan bahkan Archaea dari Halobacte-riaceae family diketahui dapat mensintesis PHA. Gen-gen yang dibutuhkan pada proses sintesis PHA dibagi menjadi empat kelas, tergantung dari konstruksi sub unit dan substratnya. PHB adalah spesifik tipe dari PHA, dimana variabel R-group adalah berasal dari methyl group, seperti yang ada pada Gambar 1.



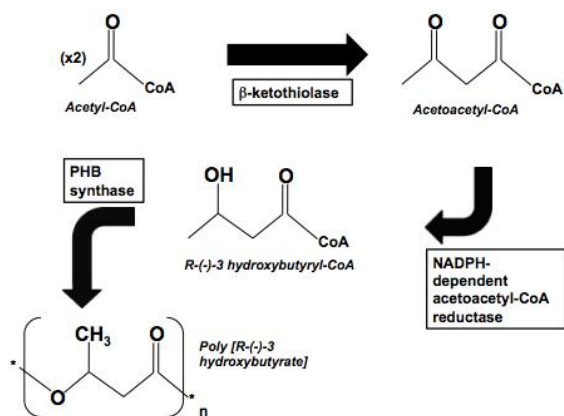
Gambar 1. Struktur PHA. R adalah variabel yang menunjukkan beberapa tipe PHA

Ferdiansyah, 2017

Polyhydroxyalkanoates (PHA) adalah poliester alami yang terakumulasi sebagai material cadangan interselular selama periode dan kondisi pertumbuhan yang kurang seimbang pada beberapa bakteri. Karakteristik dari PHA umumnya mengandung unit 3-hydroxyacid monomer, dengan poly-b-hydroxybutyric acid (PHB). PHB merupakan salah satu jenis PHA yang paling menarik untuk dieksplorasi karena mempunyai sifat fisik dan kimia yang hampir sama dengan plastik polypropylene (PP) (Seon, 1999). Poly-b-hydroxybutyrate (PHB) merupakan biodegradable thermoplastic polyester yang diproduksi oleh beberapa bakteri dari sumber karbon yang berbeda-beda dalam kondisi oksigen, nitrogen, phosphate, sulfur, magnesium atau potasium yang sangat terbatas (Savenkova, 1998)

3. PHA BIOSYNTHETIC PATHWAY

Tahap awal dari sintesis PHB adalah kondensasi dari 2 molekul acetyl-CoA oleh beta-ketothiolase untuk membentuk acetoacetyl-CoA. Molekul yang terkondensasi kemudian bereaksi dengan acetoacetyl-CoA reductase untuk membentuk 3-hydroxybutyryl-CoA yang mana reaksi tersebut dipengaruhi oleh NADPH. Tahap akhir polimerisasi adalah dengan bantuan PHB-synthase, seperti yang ada pada Gambar 2.



Gambar 2. Reaksi enzimatik pembentukan PHB pada *R. Eutro-pha* (Reemmer, 2009)

4. Faktor-Faktor Umum yang Mempengaruhi Produksi PHA

Beberapa faktor yang mempengaruhi produksi PHA adalah ketersediaan oxygen, nitrogen, phosphate, sulphur, magnesium atau potassium. Banyak literatur melaporkan mengenai pengaruh suplai oksigen dan nitrogen pada saat produksi PHB di Azotobacteriaceae. Keterbatasan nitrogen tidak mampu memicu produksi PHB pada Azotobacter spp. Ammonium adalah salah satu substrat terpenting yang akan mengendalikan nitrogenase, tidak hanya menekan sintesisnya tetapi juga menghambat aktivitasnya. Penambahan ammonium sangat penting untuk pertumbuhan sel bakteri, maupun akumulasi PHB (Savenkova, 1998). Rasio C/N yang tinggi ataupun rendah dapat mempengaruhi kondisi fisiologis mikroorganisme, termasuk proliferasi sel dan polimerisasi PHB (Chanprateep et al., 2008)

5. Pengaruh Oksigen Pada Akumulasi Poly Hydroxy Butyrate (PHB)

Poly Hydroxy Butyrate (PHB) adalah spesifik tipe dari PHA, dimana variabel R-group adalah berasal dari methyl group. Akumulasi PHB akan terjadi ketika terjadi keterbatasan suplai oksigen pada saat fermentasi mikroorganisme, seperti pada Azotobacter beijerinckii. Namun, keterbatasan suplai oksigen dapat berakibat pada berkurangnya pertumbuhan sel-sel mikroorganisme (Carter et al., 1979 dalam Savenkova, 1998). Pada penelitian lain dengan menggunakan mikroorganisme Azotobacter chroococcum didapatkan hasil yang sedikit berbeda, dimana hasil dari penelitian tersebut adalah peningkatan pertumbuhan dari Azotobacter chroococcum setelah diberikan aerasi oksigen yang cukup dengan sistem feed batch fermentation, serta didapatkan hasil peningkatan akumulasi PHB. Hal ini menjadi catatan bahwa penetapan suplai oksigen pada batas level tertentu yang tepat juga dapat meningkatkan produktivitas PHB. Dengan kata

Ferdiansyah, 2017

lain perlu dilakukan sistem optimasi yang tepat agar didapatkan hasil peningkatan pertumbuhan sel dan juga akumulasi PHB sekaligus (Lee et al., 1995 dalam Savenkova, 1998).

Savenkova et al. (1998) telah melakukan penelitian mengenai pengaruh suplai fosfat dan aerasi terhadap produksi PHB dengan menggunakan *Azotobacter chroococcum*. Pada penelitian tersebut, Savenkova et al. menggunakan teknik pemberian volume kultur mikroba yang berbeda (50 ml dan 100 ml) sebagai salah satu variabel penelitian. Semakin banyak volume kultur mikroba yang diberikan maka akan semakin banyak dibutuhkan suplai oksigen. Artinya, akan semakin sedikit oksigen yang ada di lingkungan media fermentasi karena habis untuk memenuhi kebutuhan mikroba.

Tahapan penelitian yang dilakukan oleh Savenkova et al. (1998), yaitu dengan menumbuhkan *Azotobacter chroococcum* 23 pada media fermentasi (per liter) yang berisi 40•0 g glucose, 3•0 g NH₄NO₃, 0•64 g K₂HPO₄, 0•2 g KH₂PO₄, 0•41 g MgSO₄•7H₂O, 0•1 g CaCl₂, 10 mg FeSO₄•x•7H₂O, 0•5 g Na-citrate dan 6 mg Na₂MoO₄•x•2H₂O. Kandungan dari K₂HPO₄ dan KH₂PO₄ bervariasi untuk menjaga konsentrasi total PO₄³⁻ sebesar 0,15-1,5 g/liter tergantung dari kondisi eksperimen. Botol eksperimen yang berkapasitas 750ml diletakkan pada rotari shaker dengan kondisi suhu 30C dan kecepatannya 190 rpm. Aqueous ammonia (28%) diberikan sebagai sumber nitrogen. Feed-back fermentation disiapkan dengan kondisi yang sama, namun dengan kapasitas yang lebih besar (2 liter). Kultur yang ada selanjutnya dikultivasi pada suhu 30C selama 24 jam pada botol eksperimen yang kemudian dipindahkan ke media fermentasi. pH dan suhu dijaga pada angka 7,2 dan 30C. Laju alir udara dan agitasi dijaga dengan kisaran 0,5-2,0 vvm dan 300-1000 rpm.

Beberapa analisa yang dilakukan antara lain yaitu pertumbuhan sel dengan menghitung optical density pada culture broth pada panjang gelombang 540 nm. Penentuan konsentrasi sel juga didapatkan dengan menghitung dry cell weight (DCW). Residual Mass (RD) merupakan biomassa non-PHB yang dikalkulasi dari total berat kering dikurangi PHB (db). Konsentrasi glukosa ditentukan melalui reagen DNS. Phosphate ditentukan dengan mereaksikan dengan reagen amidol. Konsentrasi PHB didapatkan melalui Gas Chromatography.

Dari data penelitian yang ada pada Tabel 1, dapat diketahui bahwa suplai fosfat dan aerasi oksigen saling berhubungan. Konsentrasi PHB yang tinggi dihasilkan pada pemberian fosfat dengan kadar yang rendah. Hal ini berarti bahwa PHB akan terakumulasi pada kondisi nutrisi yang terbatas dan tidak boleh berlebihan. Pada Tabel 1 juga menunjukkan peningkatan pertumbuhan sel (DCW) akan lebih tinggi pada pemberian aerasi dengan kadar oksigen yang lebih tinggi. Namun dengan aerasi kadar oksigen yang lebih tinggi, justru didapatkan konsentrasi PHB yang lebih rendah. Aerasi oksigen juga berpengaruh pada laju uptake orthophosphate, dimana laju uptake akan meningkat pada aerasi dengan level oksigen yang lebih rendah seperti yang ditunjukkan pada Gambar 3 (Savenkova et al., 1998)

Penelitian lain oleh Alejandra et al. (2010) menerangkan bahwa pertumbuhan sel mikroorganisme dan konsentrasi biomassa akan meningkat pada laju aerasi yang tinggi, sebaliknya pada laju aerasi yang rendah akan meningkatkan konsentrasi PHB. Alasan yang dikemukakan, bahwa pada laju aerasi yang rendah akan terjadi peningkatan konsumsi substrat (sumber karbon) dengan penggunaan energi yang lebih efisien. Namun dari penelitian yang dilakukan oleh Hartati et al. (2009) menunjukkan hasil yang berbeda, dimana pada periode aerob yang lebih panjang maka konsentrasi PHA yang didapatkan justru semakin besar. Hal tersebut dikarenakan

Ferdiansyah, 2017

semakin panjang periode aerob maka kesempatan mikroorganisme untuk berkembang semakin besar.

6. KESIMPULAN

Polyhydroxyalkanoates (PHA) adalah salah satu contoh dari bioplastik. PHA disintesis oleh bakteri sebagai karbon atau komponen simpanan energi ketika jumlah intake karbon berlebihan dan beberapa nutrisi seperti nitrogen, fosfor, dan oksigen dalam kondisi yang terbatas. Polimer tersebut disimpan dalam bentuk granula tak larut sampai dengan kondisi lingkungan sekitar mendukung untuk pertumbuhan bakteri. Polyhydroxybutyric (PHB) merupakan jenis PHA yang paling banyak dieksplorasi. Beberapa faktor yang mempengaruhi produksi PHA antara lain ketersediaan oksigen, nitrogen, phosphate, sulphur, magnesium atau potassium.

Pemberian aerasi oksigen sangat mempengaruhi produksi dan akumulasi PHA. Tingkat aerasi oksigen yang rendah akan meningkatkan konsentrasi PHA. Hal ini dikarenakan PHA akan cenderung terbentuk

pada lingkungan kondisi nutrisi yang terbatas. Alasan lain yang dikemukakan, bahwa pada laju aerasi yang rendah akan terjadi peningkatan konsumsi substrat (sumber karbon) dengan penggunaan energi yang lebih efisien. Namun dari penelitian yang lain menunjukkan hasil yang berbeda, dimana pada periode aerob yang lebih panjang maka konsentrasi PHA yang didapatkan justru semakin besar. Hal tersebut dikarenakan semakin panjang periode aerob maka kesempatan mikroorganisme untuk berkembang semakin besar.

Hal ini menjadi catatan bahwa penetapan suplai oksigen pada batas level tertentu yang tepat akan dapat meningkatkan produktivitas atau akumulasi PHA, tanpa mengganggu pertumbuhan mikroorganisme. Dengan kata lain perlu dilakukan sistem optimasi sintesis yang tepat agar didapatkan hasil peningkatan akumulasi PHA dan juga pertumbuhan mikroorganisme sekaligus.

Tabel 1. Pengaruh suplai fosfat dan aerasi oksigen pada akumulasi PHB serta pertumbuhan *Azotobacter chroococcum*

Aeration (culture volume) (ml)	Time (h)	PO ₄ ³⁻ in medium (g/litre)		Glucose in medium (g/litre)	DCW (g/litre)	PHB (%)	PO ₄ ³⁻ /RB (g/g)
		Initial	Current	Current			
50	12	0.62	0.42	37.0	1.18	17.1	0.21
		1.05	0.40	34.6	1.28	17.6	0.26
		1.59	1.26	32.2	1.23	13.8	0.31
100	12	0.62	0.39	35.0	0.80	31.3	0.42
		1.05	0.73	32.3	1.02	32.7	0.46
		1.59	1.26	32.0	0.96	28.5	0.48

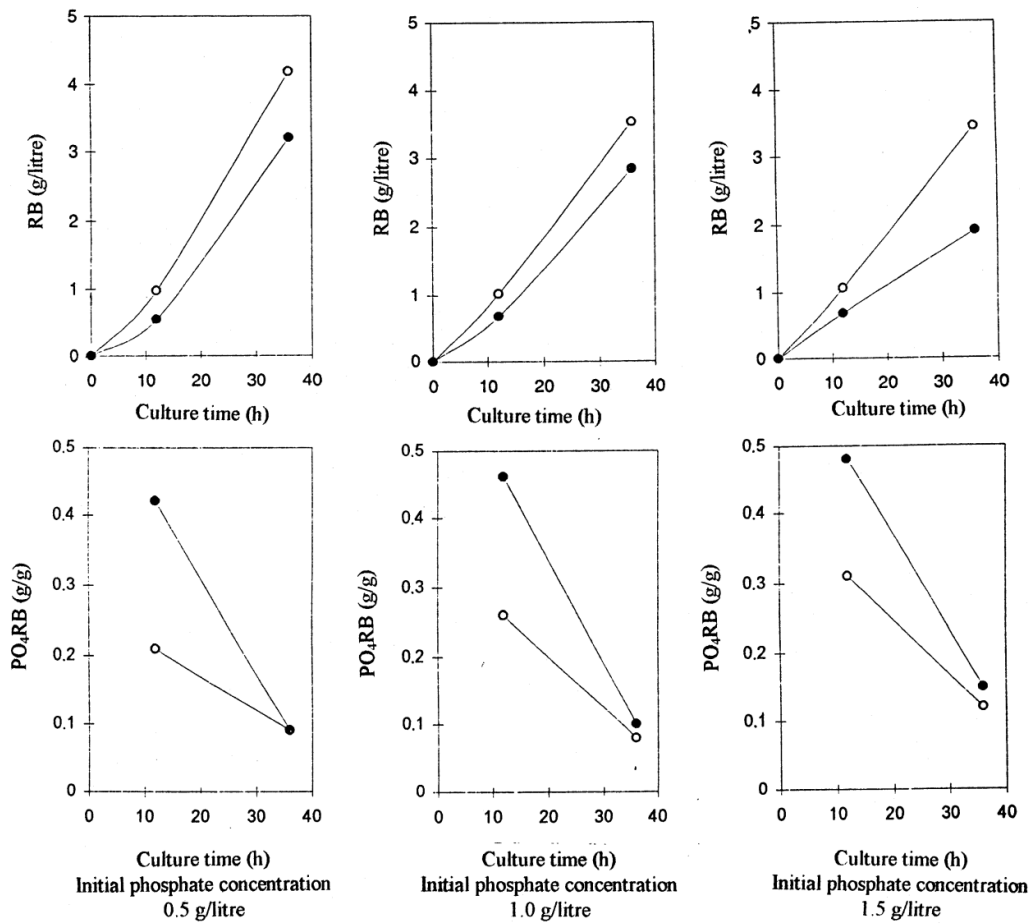
Keterangan:

DCW : Dry Cell Weight

RB : Residual (*non PHB biomass*)

(Savenkova *et al.*, 1998)

Ferdiansyah, 2017



Gambar 3. Pengaruh perbedaan kondisi suplai fosfat dan dua level aerasi terhadap konsentrasi residu biomassa dan akumulasi fosfat *Azobacter chroococcum* 23 cells. (○) 50 ml culture (●) 100 ml culture.

Ferdiansyah, 2017

7. DAFTAR PUSTAKA

- Alejandra de Almeida, Andrea M. Giordano, Pablo I. Nikel, M. Julia Pettinari. 2010. Aeration affects poly(3-hydroxybutyrate) synthesis from glycerol and glucose in recombinant *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.* doi:10.1128/AEM.02706-09
- Chanprateep, S., Katakura, Y., Visetkoop, S., Shimizu, H., Kulpreecha, S., Shioya, S. 2008. Characterization of new isolated *Ralstonia eutropha* strain A-04 and kinetic study of biodegradable copolyester poly(3-hydroxy butyrate-co-4-hydroxy butyrate) production. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 35, 1205–1215
- Dietrich, K., Dumont, M.J., Rio, L.F.D., Orsat, V. 2017. Producing PHAs in the bioeconomy — Towards a sustainable bioplastic. *Sustainable Production and Consumption* (2017) 9: 58-70
- Hartati, I., Riwayati, I., Kurniasari, L. 2009. Pembuatan polihidroksialkanoat dari limbah cair industri terigu dalam sequencing batch reactor. *Momentum*, Vol. 5, No.1, April 2009: 11-15
- Reemer, Jessica. 2009. Advances in the synthesis and extraction of biodegradable polyhydroxyalkanoates in plant systems – A review. *MMG 45 Basic Biotechnology* (2009) 5: 44-49
- Savenkova, L., Gercberga, Z., Kizhlo, Z., Stegantseva, E. 1998. Effect of phosphate supply and aeration on poly- β -hydroxybutyrate production in *Azotobacter chroococcum*. *Process Biochemistry* 34 (1999) 109-114
- Seon-Won Kim, Pil Kim, Jung H. Kim. 1999. Production of Poly (3-hydroxy butyrate-co-3-hydroxy valerate) from *Methylobacterium organophilum* by potassium-limited feed-batch culture. *Enzyme and Microbial Technology* 24: 555-560