

SINTESIS DAN KARAKTERISASI FILM POLI (3-HIDROKSIBUTIRAT-CO-4-HIDROKSIBUTIRAT) UNTUK BIDANG PERTANIAN

Meri Suhartini dan Rahmawati

Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi (PATIR)-BATAN

Jl. Cinere-Pasar Jum'at, Jakarta 12720

ABSTRAK

SINTESIS DAN KARAKTERISASI FILM POLI (3-HIDROKSIBUTIRAT-CO-4-HIDROKSIBUTIRAT) UNTUK BIDANG PERTANIAN. Telah dilakukan biosintesis kopolimer poli (3-hidroksibutirat-co-4-hidroksibutirat), [P(3HB-co-4HB)], menggunakan bakteri *D. acidovorans* dengan substrat karbon asam n-butirat dan 1,4-butanadiol untuk dimanfaatkan dalam bidang pertanian. Kopolimer yang dihasilkan dikarakterisasi dan diuji biodegradasinya secara enzimatik dan penimbunan dalam tanah. Film P(3HB-co-4HB) yang dihasilkan memiliki suhu leleh antara 50 °C hingga 180 °C dan kristalinitas 27% hingga 65%. Uji degradasi enzimatik dilakukan dalam larutan enzim PHB depolimerase dari *R. pickettii* T1 dan enzim lipase dari *R. delemar*. Laju degradasi dengan enzim PHB depolimerase mencapai 100% pada sampel P(3HB), P(3HB-co-15% mol 4HB) dan P(3HB-co-24% mol 4HB) setelah 24 jam. Sedangkan laju degradasi dengan enzim lipase lebih cepat mencapai 100%, yaitu setelah 12 jam pada sampel P(3HB-co-92% mol 4HB). Laju degradasi kopolimer dalam tanah paling cepat terjadi pada film P(3HB-co-74% mol 4HB).

Kata kunci : Kopolimer, P(3HB-co-4HB), *D. acidovorans*, PHB depolymerase, *R. pickettii* T1, Lipase, *R. delemar*

ABSTRACT

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF POLY (3-HYDROXYBUTYRATE-CO-4-HYDROXYBUTYRATE) FOR AGRICULTURAL APPLICATION. Biosynthesis of Poly(3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate) copolymer, [P(3HB-co-4HB)], by *D. acidovorans* using n-butyric acid and 1,4-butanediol as mixed carbon substrates for agricultural application has been done. The copolymer products were characterized and the degradation were tested by enzymatic and soil burial test. P(3HB-co-4HB) film products show melting temperature between 50°C until 180°C and cristallinity between 27-65%. Enzymatic degradation test of P(3HB-co-4HB) film was carried out in aqueous solution of PHB depolymerase purified from *R. pickettii* T1 and lipase from *R. delemar*. Enzymatic degradation rate of P(3HB), P(3HB-co-15% mol 4HB) and P(3HB-co-24% mol 4HB) films in aqueous solution of PHB depolymerase showed a fast decrease in weight loss which reached 100% after 24 hours treatment. While enzymatic degradation rate of P(3HB-co-92% mol 4HB) film in aqueous solution of lipase showed faster decrease in weight loss, which reach 100% after 12 hours. And the P(3HB-co-74% mol 4HB) films showed the fastest degradation rate in soil.

Key words : Copolymer, P(3HB-co-4HB), *D. acidovorans*, PHB depolymerase, *R. pickettii* T1, Lipase, *R. delemar*

PENDAHULUAN

Dewasa ini, plastik merupakan bahan yang paling banyak digunakan dalam berbagai aspek kehidupan, termasuk dalam bidang pertanian. Dalam kurun waktu antara tahun 1985 sampai dengan tahun 1999, penggunaan plastik meningkat sebesar 149%.

Seiring dengan diperkenalkannya teknik bercocok tanam yang baru (seperti *mulching*, *low tunnel*, *large tunnel*, hidroponik dan *greenhouses*), maka penggunaan plastik dalam bidang pertanian semakin meningkat. Pada tahun 2001 konsumsi plastik dunia

untuk bidang pertanian diperkirakan mencapai 2,8 juta ton [1].

Film plastik dalam bidang pertanian dapat digunakan untuk meningkatkan kualitas dan kuantitas hasil produksi yaitu dengan cara meningkatkan suhu tanah sehingga dapat memperpendek waktu panen dengan hasil yang mutunya baik. Teknik yang paling banyak digunakan untuk memperoleh hasil tersebut ialah teknik *mulching*. Pada tahun 2002, lebih dari 10 juta hektar lahan pertanian di seluruh dunia menggunakan teknik *mulching*, dan lebih dari 90% di antaranya berada di Asia. Untuk 10 juta hektar lahan pertanian yang menggunakan teknik *mulching*, diperlukan plastik lebih dari 2,5 juta ton per tahun. Jumlah tersebut belum termasuk kebutuhan plastik untuk teknik pertanian lainnya seperti *low tunnel*, *direct covering* and *green houses*.

Jenis plastik yang banyak digunakan dalam bidang pertanian antara lain adalah PE (*Poly Ethylene*), PP (*Poly Propylene*), EVA (*Ethylene Vinyl Acetate*) dan PVC (*Poly Vinyl Chloride*). Tingginya tingkat penggunaan plastik jenis tersebut khususnya dalam bidang pertanian menimbulkan permasalahan baru, yakni kekhawatiran akan habisnya sumber daya alam minyak bumi yang digunakan sebagai bahan baku pembuatan plastik sintetis, dan permasalahan sampah plastik, karena sampah plastik sisa hasil panen tidak dapat dibuang begitu saja ke lingkungan. Pengolahan sampah yang kurang tepat dapat menyebabkan terjadinya kerusakan lingkungan. Sisa sampah plastik yang dibiarkan, dikubur atau dibakar tanpa terkontrol dapat menyebabkan lepasnya zat-zat berbahaya yang dapat berdampak buruk terhadap lingkungan, baik itu udara maupun tanah. Langkah terbaik yang dapat dilakukan dalam menangani sampah plastik ialah dengan cara daur ulang, tetapi langkah tersebut relatif mahal sehingga menjadi kurang ekonomis untuk para petani.

Untuk mengatasi permasalahan sampah plastik dan keterbatasan bahan baku pembuatan plastik sintetis, maka dikembangkan plastik (polimer) yang dapat terdegradasi secara alamiah (*biodegradable polymer*) yang berasal dari mikroorganisme [2], yaitu suatu poliester mikrobial. *Biodegradable polymer* akan terurai secara alamiah melalui proses yang melibatkan panas matahari dan tekanan mekanis. Polimer tersebut pada akhirnya akan diuraikan oleh aktivitas mikrobial di dalam tanah menjadi CO₂, air dan bahan-bahan alami lainnya. Berbeda dengan *photodegradable polymer* yang secara alami hanya dapat mengalami *fragmentasi* saja tetapi tidak dapat terdegradasi secara sempurna, sehingga masih meninggalkan residu sampah. Dengan menggunakan *biodegradable polymer*, petani tidak akan direpotkan lagi dengan masalah pembuangan dan pengolahan sisa sampah plastik pada akhir panen, dan kekhawatiran akan habisnya bahan baku pembuatan plastik sintetis mendapatkan solusinya.

Makromolekul alami, seperti protein, selulosa dan kanji umumnya dapat terbiodegradasi akibat proses

hidrolisis yang diikuti oksidasi. Sehingga polimer dengan rangka yang dapat terhidrolisis, seperti ester, sangat mudah terbiodegradasi oleh mikroorganisme dan enzim hidrolitik.

P(3HB-co-4HB) adalah kopolimer dari poli (3-hidroksibutirat), P(3HB), termasuk dalam kelas poliester mikrobial poli (hidroksialkanoat). Poliester mikrobial ini bersifat termoplastik dan *biodegradable*. Selain itu sifat fisik kopolimer mikrobial ini dapat diatur dengan melakukan variasi struktur molekul dan komposisi kopolimer, sehingga dapat dibuat menjadi material polimer berupa plastik yang bersifat kristal keras hingga karet yang sangat elastis.

Dalam penelitian ini dipelajari biosintesis dan karakteristik film P(3HB-co-4HB) serta kemampuannya terbiodegradasi melalui uji degradasi enzimatik dan *soil burial test* (uji penimbunan dalam tanah).

METODE PERCOBAAN

Biosintesis dan Fraksionasi

Biosintesis dan fraksionasi dilakukan untuk memperoleh kopolimer P(3HB-co-4HB) dengan komposisi sampel P(3HB-co-4HB) yang tinggi.

Mikroorganisme *D. Acidovorans* (IFO 13582) ditanam pada medium kaya nutrisi dengan suhu 26 °C. Untuk meningkatkan sintesis poliester, sel dipindahkan ke medium bebas nitrogen yang mengandung sumber karbon asam n-butirat dan 1,4-butanadiol. Poliester P(3HB-co-4HB) yang dihasilkan heterogen dan mengandung campuran kopolimer sehingga harus dilakukan fraksionasi dalam pelarut campuran aseton-air atau kloroform-heptana untuk mendapatkan distribusi komposisi yang sempit [3-5].

Fraksionasi dilakukan dengan melarutkan sampel (0,3 g) dalam aseton panas (30 mL) untuk memperoleh komposisi sampel P(3HB-co-4HB) yang tinggi. Kemudian dilakukan penyaringan dan bagian yang tidak larut dikeringkan dengan vakum selama 48 jam. Filtratnya disimpan pada 7 °C selama 24 jam lalu disentrifugasi untuk memisahkan endapannya. Selanjutnya filtrat dilarutkan dengan air hingga konsentrasi aseton mencapai 95%, setelah larut semua disimpan pada 7 °C selama 24 jam dan diisolasi.

Prosedur yang sama dilakukan berulang-ulang dengan menurunkan konsentrasi aseton hingga terbentuk endapan yang terlihat jelas. Endapan sampel P(3HB-co-4HB) (0,3 g) dilarutkan dalam kloroform panas (30 mL), lalu ditambahkan n-heptana. Kemudian campuran disimpan pada suhu ruang selama 24 jam dan dilakukan sentrifugasi (4000 rpm) untuk memisahkan endapan. Endapan yang diperoleh dikeringkan menggunakan vakum selama 48 jam. Prosedur yang sama dilakukan berulang-ulang hingga terbentuk endapan yang terlihat jelas

Karakterisasi Film P(3HB-co-4HB)

Karakterisasi film P(3HB-co-4HB) yang dilakukan meliputi penentuan suhu leleh (T_m) menggunakan *DSC*, penentuan berat molekul menggunakan *GPC*, pengukuran kristalinitas menggunakan *XRD* dan pengamatan morfologi kopolimer P(3HB-co-4HB) menggunakan *SEM*.

Data *DSC* kopolimer direkam menggunakan *DSC-60* Shimadzu dengan laju pemanasan 10 °C/menit dibawah aliran nitrogen 30 mL/menit. 3 mg sampel P(3HB-co-4HB) dibungkus dalam panci aluminium dan dipanaskan dari 0 °C hingga 200 °C. Suhu leleh ditentukan dari *DSC endotherm*, dan puncak suhu leleh ditetapkan sebagai suhu melting (T_m).

Penentuan berat molekul dilakukan dengan kromatografi gel permeasi (*GPC*) menggunakan *HLC-802A High Performance Liquid Chromatograph* (Tosoh) pada 38 °C dilengkapi kolom TSK-gel 4 kolom dan refraktometer diferensial RI-8. Eluen yang digunakan adalah kloroform, dengan laju alir 0,1 mL/menit, larutan sampel dibuat konsentrasi 1 g/L. Kurva kalibrasi dibuat dengan standar polistiren.

Pengukuran difraksi sinar-x sudut lebar dilakukan dengan Rigaku Rotaunit RU-200 menggunakan berkas sinar-x $\text{CuK}\alpha$ dengan filter nikel ($\lambda = 0,1542$ nm). Difraksi direkam pada suhu 25 °C dengan kecepatan *scan* 1°/menit. Pola hamburan sinar-x sudut kecil direkam dengan sistem kolimasi *pinhole* (diameter 0,2 mm dan diameter 0,2 mm) dan jarak antara spesimen dengan film 25 cm.

Pengamatan morfologi film P(3HB-co-4HB) ditentukan menggunakan *SEM* (*Scanning Electron Microscopy*) JEOL JSM-5400 dengan akselerasi tegangan 15 kV.

Uji degradasi Enzimatik

Uji degradasi enzimatik dilakukan untuk mengetahui laju biodegradasi polimer oleh enzim. Enzim PHB depolimerase yang digunakan diisolasi dari *Ralstonia pickettii* T1 [6] dan enzim lipase diisolasi dari *Rhizopus delemar* [7,8]. Degradasi enzimatik film P(3HB-co-4HB) dilakukan dalam buffer fosfat 0,1 M (pH 7,4) pada suhu 37 °C. Film P(3HB-co-4HB) (berat 10 mg; dimensi 10x10 mm; tebal 0,1 mm) ditempatkan dalam tabung reaksi kecil yang mengandung 1,0 mL buffer. Reaksi dimulai dengan penambahan larutan PHB depolimerase (1,5 µg) atau lipase (285 µg). Larutan diinkubasi disertai pengocokan. Film P(3HB-co-4HB) kemudian dicuci dengan air distilasi, lalu metanol dan dikeringkan. Berat yang hilang dihitung sebagai persentase penurunan berat dari berat film mula-mula.

$$\text{Berat hilang (\% berat)} = [(W_g - W_d) / W_g] \times 100 \dots\dots (1)$$

Dimana W_g dan W_d adalah berat sampel sebelum dan sesudah uji degradasi enzimatik.

Soil Burial Test (Uji Penimbunan Dalam Tanah)

Soil burial test dilakukan untuk mengetahui laju biodegradasi polimer dalam tanah. Sampel P(3HB) dan kopolimernya, P(3HB-co-26% mol 4HB) dan P(3HB-co-74% mol 4HB) dilakukan dengan pot bunga plastik menggunakan tanah dari daerah Kiryu, Universitas Gunma. Sampel disiram setiap 6 hari agar kandungan kelembabannya cukup. Suhu dan kelembaban tanah diatur pada 28 °C dan 60% menggunakan AC.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Biosintesis dan Karakterisasi

Biosintesis kopolimer P(3HB-co-4HB) dilakukan menggunakan bakteri *D. Acidovorans* dengan sumber karbon asam n-butirat dan 1,4-butanadiol. Polimer P(3HB-co-4HB) yang dihasilkan dibuat film (lapisan tipis) dengan cara menyemprotkannya pada cetakan yaitu cawan petri, kemudian dipanaskan pada 185 °C dan dibiarkan pada suhu ruang selama beberapa minggu sehingga mengkristal seluruhnya. Berikut ini adalah gambar peralatan fermentasi yang digunakan dalam percobaan.



Gambar 1. Peralatan biosintesis kopolimer P(3HB-co-4HB) secara fermentasi.

Karakteristik terpenting dari poliester mikrobal adalah bersifat termoplastik dan *biodegradable*. Sifat fisik kopolimer mikrobal ini dapat diatur dengan melakukan variasi struktur molekul dan komposisi kopolimer, sehingga kopolimer ini dapat dibuat menjadi material polimer berupa plastik yang bersifat kristal keras hingga karet yang sangat elastis. Poliester mikrobal berperilaku sebagai termoplastik (dengan suhu leleh 50 °C hingga 180 °C) dan dapat diproses dengan ekstrusi konvensional dan peralatan cetak.

Tabel 1 memuat data berat molekul, kristalinitas dan karakteristik termal sampel P(3HB) dan P(3HB-co-4HB).

Kristalinitas kopolimer mengalami penurunan dari 65 menjadi 27 dengan penambahan 26 % mol 4HB pada

Tabel 1. Berat molekul dan karakteristik termal sampel P(3HB-co-4HB).

Sampel	T_m^a (°C)	Berat molekul ^b		Kristalinitas ^c (%)
		$M_n \times 10^{-4}$	M_w/M_n	
P(3HB)	178	11	2,2	65±5
P(3HB-co-26%mol 4HB)	61	7,4	3,0	27±5
P(3HB-co-74%mol 4HB)	53	9,3	2,8	35±5

- a. Ditentukan menggunakan DSC
- b. Ditentukan menggunakan GPC
- c. Ditentukan menggunakan x-ray

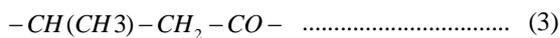
sampel P(3HB), dan mengalami kenaikan dari 27 menjadi 35 pada sampel 74 %mol 4HB. Penurunan kristalinitas diperkirakan bukan karena komponen 4HB memenuhi kisi kristal 3HB, melainkan karena adanya ketidakteraturan yang menyebabkan kekasaran pada permukaan kristal, sehingga nilai kristalinitas sampel 26 %mol 4HB lebih rendah dari sampel 74 %mol 4HB. Suhu leleh (T_m) P(3HB-co-4HB) bergantung pada kandungan 4HB dan kristalinitas [3].

Karena itu meskipun kristalinitas sampel 26%mol 4HB lebih rendah dari sampel 74%mol 4HB, tetapi suhu lelehnya lebih tinggi, yakni 61 °C. Ini berarti suhu leleh P(3HB-co-4HB) lebih besar dipengaruhi oleh komposisi kopolimer dibandingkan dengan kristalinitas.

Polihidroksibutirat P(3HB) memiliki karakteristik fisik yang hampir sama dengan polipropilen (PP), yaitu pada suhu leleh, kristalinitas, modulus Young dan *tensile strength*. Tetapi karena struktur penyusunnya berbeda, P(3HB) merupakan pengulangan dari unit :



yang memiliki gugus fungsi yang bersifat hidrofil sehingga membentuk rantai polimer dengan ikatan yang dapat terhidrolisis, sedangkan PP merupakan pengulangan dari :



menyebabkan sifatnya berbeda. P(3HB) mengalami degradasi yang sempurna, sensitif (bereaksi) terhadap asam dan basa, memiliki permeabilitas oksigen yang bagus dan larut dalam kloroform dan pelarut terklorinasi. P(3HB) bersifat resisten terhadap *uv* karena tidak mempunyai ikatan rangkap terkonjugasi. P(3HB) memiliki densitas lebih besar dari air sehingga tenggelam dalam air dan terbiodegradasi dalam sedimen. P(3HB) memiliki nilai *extension to break* yang sangat rendah

Tabel 2. Karakteristik fisik dan termal beberapa polimer [9].

Parameter	P(3HB)	PP	PET	Nylon-6,6
Temperatur leleh (°C)	180	176	267	265
Glass-transition temp (°C)	4	-10	69	50
Kristalinitas (%)	60-80	50-70	30-50	40-60
Densitas (g/cm ³)	1,250	0,905	1,385	1,14
Modulus Young (Gpa)	3,5	1,7	2,9	2,8
Tensile strength (Mpa)	40	38	70	83
Extension to break (%)	6	400	100	60
Resistensi uv	Bagus	Kurang	-	-
Resistensi pelarut	Kurang	Bagus	-	-
Permeabilitas oksigen (cm ³ m ⁻² atm ⁻¹ d ⁻¹)	45	1700	-	-

- PHB : Polihidroksibutirat
- PP : Polipropilen
- PET : Polietilen tereftalat

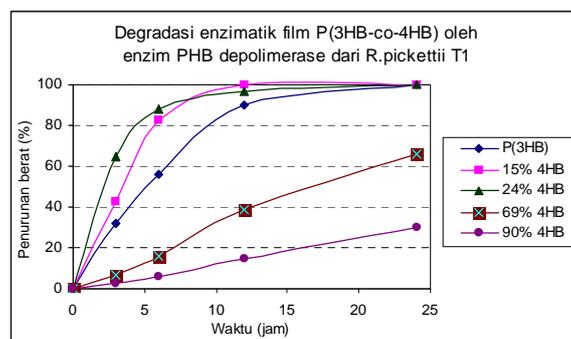
dibandingkan PP, sehingga P(3HB) bersifat lebih keras tapi rapuh. Sementara itu PP tidak mempunyai gugus fungsi yang bersifat hidrofil sehingga degradasinya tidak signifikan dan densitas PP lebih kecil dari air maka PP tidak tenggelam dalam air dan tidak terdegradasi dalam sedimen. Berikut ini adalah karakteristik fisik dan termal beberapa polimer yang banyak digunakan.

Keunggulan polimer polihidroksibutirat dari *biodegradable polymer* lainnya adalah sifatnya yang tidak larut dalam air dan relatif tahan terhadap degradasi hidrolitik. Sedangkan *biodegradable polymer* lainnya yang memiliki gugus hidroksil seperti poli(vinil alkohol) dan poli(asam akrilat) larut dalam air atau sensitif terhadap kelembaban.

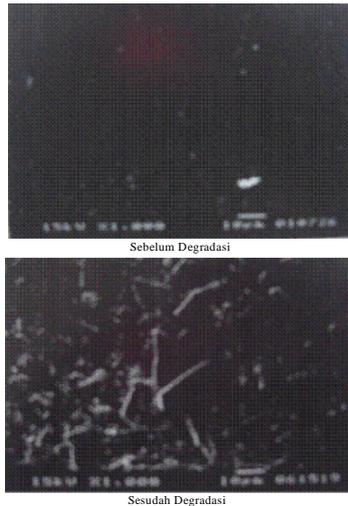
Uji Degradasi Enzimatik

Uji degradasi enzimatik adalah metode yang paling tepat untuk mengetahui laju biodegradasi polimer dalam waktu yang singkat. Polimer dapat terbiodegradasi dengan katalis enzim jika rantai polimer tepat pada sisi aktif enzim. Ini merupakan alasan mengapa poliester alifatik yang lentur dapat terdegradasi sedangkan poliester aromatik yang bersifat kaku tidak terdegradasi [10,11]. Telah diketahui bahwa unit 3HB dapat didegradasi oleh enzim PHB depolimerase dari *R. pickettii* T1, dan unit 4HB dapat didegradasi oleh enzim lipase dari *R. delemar* [6-8]. Pada penelitian ini dievaluasi kemampuan polimer terbiodegradasi secara enzimatik oleh enzim PHB depolimerase dari *R. pickettii* T1 dan enzim lipase dari *R. delemar*.

Gambar 2 menunjukkan degradasi enzimatik (pengikisan) film P(3HB-co-4HB) dalam larutan PHB depolimerase dari *R. pickettii* T1. Pada Gambar 2 terlihat bahwa kopolimer dengan kristalinitas rendah (15%mol 4HB dan 24%mol 4HB) menunjukkan laju degradasi yang lebih cepat daripada P(3HB), yang berarti degradasi lebih menyukai kondisi amorf. Kondisi amorf lebih disukai karena untuk melakukan degradasi ikatan polimer hanya membutuhkan sedikit enzim PHB depolimerase dibandingkan kondisi kristalin. Kopolimer P(3HB-co-69%mol 4HB) menunjukkan laju degradasi lebih lambat daripada P(3HB). Laju degradasi kopolimer P(3HB-co-90%mol 4HB) menjadi semakin lambat, sama



Gambar 2. Degradasi enzimatik film P(3HB-co-4HB) oleh enzim PHB depolimerase dari *R. pickettii* T1.



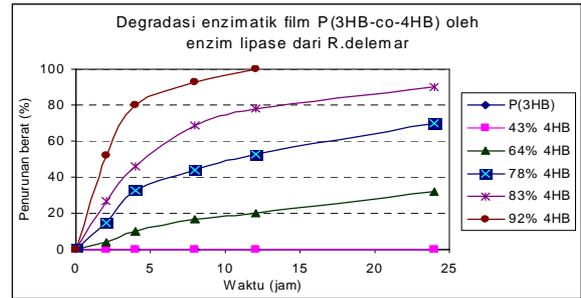
Gambar 3. Foto SEM film P(3HB-co-69% mol 4HB) sebelum dan sesudah degradasi oleh enzim PHB depolimerase.

halnya dengan P(4HB) pada literatur [6], meskipun keduanya menunjukkan penurunan berat 25% hingga 30% dalam waktu 24 jam. Pada kondisi percobaan yang sama tidak terjadi pengikisan film P(3HB-co-4HB) tanpa adanya enzim.

Hasil pengamatan morfologi film P(3HB-co-69% mol 4HB) menggunakan SEM ditunjukkan dalam Gambar 3. Sebelum degradasi enzimatik, permukaan film halus dan setelah degradasi enzimatik selama 6 jam, permukaan film menjadi kasar. Diperkirakan degradasi enzimatik oleh enzim PHB depolimerase terjadi pada permukaan film. Berdasarkan pengamatan ini dapat diketahui bahwa kemampuan kopolimer P(3HB-co-4HB) terbiodegradasi oleh enzim PHB depolimerase sangat bergantung pada komposisi kopolimer dan kristalinitas, dan degradasi enzimatik film oleh enzim PHB depolimerase terjadi dari permukaan film. Hasil yang diperoleh sesuai dengan peneliti sebelumnya [12], dimana degradasi enzimatik suatu poliester yaitu polikaprolakton oleh jamur (termasuk ragi) yang diamati menggunakan SEM memperlihatkan bahwa degradasi pada sampel amorf lebih disukai.

Setelah polimer pada daerah amorf terdegradasi, daerah kristal akan terdegradasi mulai dari tepi film menuju ke bagian dalam. Studi terhadap pengaruh degradasi enzimatik pada berat molekul dan distribusi berat molekul menunjukkan tidak terjadi perubahan setelah poliester mikrobial didegradasi [13]. Hal ini berarti pada proses tersebut hanya polimer pada permukaan sampel yang mengalami degradasi dan produk degradasinya (yang memiliki berat molekul rendah) larut dalam medium di sekitar sampel.

Gambar 4 menunjukkan profil degradasi enzimatik dalam larutan enzim lipase dari *R.delemar*. Enzim lipase ini diketahui mendegradasi komponen 4HB secara selektif dan berperilaku kebalikan dari PHB depolimerase. Pada sampel P(3HB) dan P(3HB-co-43% mol 4HB) tidak terjadi penurunan berat

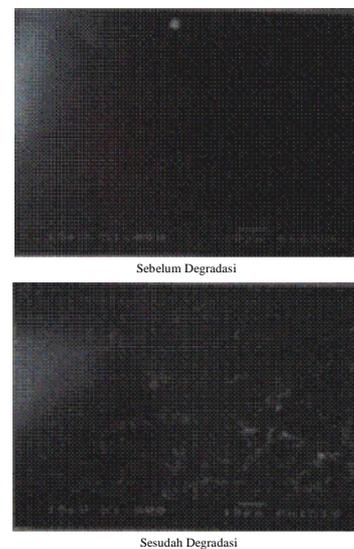


Gambar 4. Degradasi enzimatik film P(3HB-co-4HB) oleh enzim lipase dari *R. delemar*.

bahkan setelah perlakuan selama 24 jam. Pada sampel P(3HB-co-92% mol 4HB) terjadi penurunan berat yang cepat hingga mencapai 100% setelah diberikan perlakuan selama 12 jam. Sampel lain dengan komposisi antara 43 % mol hingga 92 % mol 4HB menunjukkan penurunan berat yang bersesuaian dengan kenaikan kandungan 4HB, dan mendekati konstan setelah lebih dari 5 jam perlakuan.

Penurunan berat film P(3HB-co-4HB) diperkirakan karena gugus ester pada rantai polimer 4HB lebih terbuka sehingga mudah diserang oleh enzim dibandingkan gugus ester pada unit 3HB yang bercabang, yang menyebabkan rintangan sterik. Berbeda dengan enzim PHB depolimerase, laju pengikisan oleh enzim lipase sangat bergantung pada kristalinitas sampel. Perbedaan antara kedua enzim ini disebabkan oleh struktur fungsional dan mekanisme biodegradasinya. Hasil yang diperoleh sesuai dengan yang terdapat pada peneliti sebelumnya [14]. Berdasarkan percobaan diketahui bahwa kemampuan kopolimer P(3HB-co-4HB) terbiodegradasi oleh enzim lipase sangat bergantung pada komposisi kopolimer.

Gambar 5 adalah hasil pengamatan morfologi film P(3HB-co-64% mol 4HB) menggunakan SEM sebelum dan sesudah degradasi enzimatik selama 6 jam.



Gambar 5. Foto SEM film P(3HB-co-64% mol 4HB) sebelum dan sesudah degradasi oleh enzim lipase.

Permukaan film yang terdegradasi menunjukkan kerusakan akibat enzim lipase. Berdasarkan literatur tidak terjadi kerusakan di bagian dalam film, karena enzim hanya mendegradasi rantai poliester pada permukaan film [9].

Soil Burial Test

Soil burial test merupakan cara termudah untuk mengetahui kemampuan suatu bahan terdegradasi dan memiliki kondisi yang sama dengan pembuangan sampah sebenarnya. *Soil burial test* dilakukan menggunakan pot bunga plastik seperti yang ditunjukkan pada Gambar 6.



Gambar 6. Pot bunga plastik yang digunakan dalam *soil burial test*.

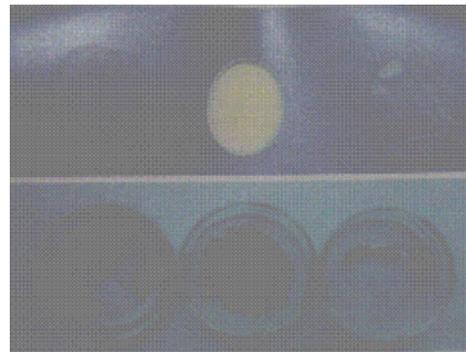
Untuk mengetahui karakter biodegradasi sampel, film P(3HB) dan P(3HB-co-4HB) diletakkan di permukaan dan di dalam tanah. Gambar 7 menunjukkan foto P(3HB) dan kopolimernya (26% mol 4HB dan 74% mol 4HB) dalam cetakan film sebelum dan sesudah *soil burial test* selama 1 bulan pada 25 °C. Jika dibandingkan antara P(3HB) dan kopolimernya yaitu P(3HB-co-26% mol 4HB) dan P(3HB-co-74% mol 4HB), laju degradasi yang paling cepat setelah 1 bulan adalah film P(3HB-co-74% mol 4HB).

Pada dasarnya laju degradasi polimer di lingkungan dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu [13]:

1. Struktur polimer, khususnya sifat hidrofil dan adanya gugus fungsi pada rantai utama, juga berat molekul dan distribusi berat molekul
2. Bentuk fisis dan morfologis dari polimer, berbentuk kristal (derajat dan bentuk kristalin) atau amorf (suhu transisi gelas)
3. Kondisi lingkungan (suhu, pH, kelembaban udara, ketersediaan oksigen dan cahaya.) dan keberadaan substansi untuk pertumbuhan mikroorganisme
4. Populasi mikroba
5. *Surface to volume ratio*, ukuran sampel dan kemurnian sampel
6. Durasi pengujian
7. Metode kontak antara sampel dan mikroorganisme, dalam larutan, gel dan *soil burial*.

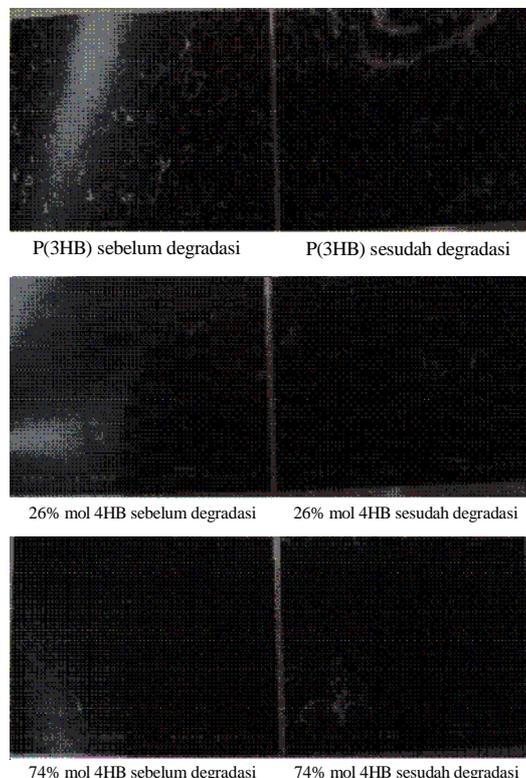
Sampel P(3HB-co-74% mol 4HB) memiliki laju degradasi paling cepat, ini berarti semakin banyak unit 4HB yang masuk pada rantai P(3HB) menyebabkan bertambahnya laju degradasi. Hal ini disebabkan struktur

molekul 4HB lebih terbuka sehingga mudah bereaksi dibandingkan unit 3HB yang bercabang, yang menyebabkan rintangan sterik. Walaupun berat molekul dan kristalinitas film P(3HB-co-74% mol 4HB) lebih tinggi dibandingkan P(3HB-co-26% mol 4HB), tetapi karena faktor yang paling berpengaruh pada laju degradasi polimer adalah struktur polimer, maka film P(3HB-co-74% mol 4HB) paling cepat mengalami degradasi.



Gambar 7. Foto P(3HB) dan kopolimernya (26% mol 4HB dan 74% mol 4HB) dalam cetakan film sebelum dan sesudah *soil burial test*.

Gambar 8 menunjukkan pengamatan film P(3HB) dan kopolimernya (26% mol 4HB dan 74% mol 4HB) menggunakan SEM sebelum dan sesudah *soil burial test* selama 1 bulan. Perubahan yang signifikan terjadi



Gambar 8. Foto SEM film P(3HB) dan kopolimernya (26 % mol 4HB dan 74 % mol 4HB) sebelum dan sesudah *soil burial test*.

pada film P(3HB-co-74% mol 4HB) setelah dilakukan *soil burial test*, yang menunjukkan laju degradasi paling cepat dibandingkan P(3HB) dan P(3HB-co-26% mol 4HB).

KESIMPULAN

Film P(3HB-co-4HB) yang dihasilkan pada penelitian ini memiliki suhu leleh antara 50 °C hingga 180 °C dan kristalinitas 27 % hingga 65 %. Suhu leleh P(3HB-co-4HB) lebih besar dipengaruhi oleh komposisi kopolimer dibandingkan dengan kristalinitas. Uji degradasi enzimatik film P(3HB-co-4HB) dalam larutan PHB depolimerase dari *R. pickettii* T1 menunjukkan laju degradasi kopolimer lebih cepat terjadi pada kondisi amorf (kristalinitas rendah), yaitu pada sampel P(3HB-co-15% mol 4HB) dan P(3HB-co-24% mol 4HB) dan degradasi enzimatik film terjadi dari permukaan film.

Degradasi enzimatik film P(3HB-co-4HB) oleh enzim lipase dari *R. delemar* menunjukkan laju degradasi sangat bergantung pada kristalinitas sampel dan kemampuan kopolimer P(3HB-co-4HB) terbiodegradasi oleh enzim lipase bergantung pada komposisi kopolimer. Laju degradasi kopolimer dalam tanah paling cepat terjadi pada film P(3HB-co-74% mol 4HB), yang berarti laju pengikisan oleh tanah sangat dipengaruhi oleh struktur polimer. Berdasarkan uji degradasi yang telah dilakukan, film P(3HB-co-4HB) dapat terbiodegradasi secara sempurna sehingga sangat tepat untuk dimanfaatkan dalam bidang pertanian.

DAFTARACUAN

- [1]. O. F. VILPOUX, M. P. CEREDA, *Technology, Use and Potentialities of Latin American Starchy tubers.*, 1 Ed. Botucatu : ONG raizes, **3** (2004) 542
- [2]. A. G. ANDREOPOULOS, *J. Elastomer and Plastics*, **24**(4) (1994) 308
- [3]. H. MITOMO, W. C. HSIEH, K. NISHIWAKI, K. KASUYA and Y. DOI, *Polymer*, **42** (2001) 3455
- [4]. H. MITOMO, N. MORISHITA and Y. DOI, *Polymer*, **36** (1995) 2573
- [5]. Y. ARAI, A. CAO, N. YOSHIE and Y. INOUE, *Polym. Int.*, **48** (1999) 1219
- [6]. Y. SAITO and Y. DOI, *Int. J. Biol. Macromol.*, **16** (1994) 99
- [7]. Y. SAITO, Y. DOI and M. SCANDOLA, *Int. J. Biol. Macromol.*, **16** (2) (1994) 99
- [8]. Y. SAITO, S. NAKAMURA, M. HIRAMATSU and Y. DOI, *Polym. Int.*, **39** (1996) 169
- [9]. Y. DOI, *Microbial Polyesters*, VCH Publisher, New York, (1990) 101
- [10]. J. E. POTTS, R. A. CLEUDINNING, W. B. ACKART and W. D. NIEGICH, *Polymer and Ecological Problems*, Plenum Press, New York, (1973) 61
- [11]. Y. TOKIWA and T. SUZUKI, *Agric. Biol. Chem.*, **54** (1971) 603
- [12]. C. V. BENEDICT, J. A. CAMERON and S. J. HUANG, *J. Appl. Polym. Sci.*, **28** (1983) 335
- [13]. R. W. LENZ, *Biodegradable Polymers*, In N. A. PEPPAS and R. S. LANGER (Eds). *Advances in Polymer Science : Biopolymers I*. Springer - Verlag, Berlin, (1993) 22
- [14]. Y. DOI, Y. KANESAWA, M. KUNIOKA and T. SAITO, *Macromolecules*, **23** (1990) 26