

## BIOSINTESIS KOPOLIMER POLI(3-HIDROKSIBUTIRAT-co-4-HIDROKSIBUTIRAT) MENGGUNAKAN SUBSTRAT KARBON CAMPURAN ASAM n-BUTIRAT DAN 1,4-BUTANADIOL

Meri Suhartini dan Rahmawati

Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi (PATIR) - BATAN  
Jl. Cinere, Pasar Jum'at, Jakarta 12720

### ABSTRAK

**BIOSINTESIS KOPOLIMER POLI(3-HIDROKSIBUTIRAT-co-4-HIDROKSIBUTIRAT) MENGGUNAKAN SUBSTRAT KARBON CAMPURAN ASAM n-BUTIRAT DAN 1,4-BUTANADIOL.** Kopolimer poli(3-hidroksibutirat-co-4-hidroksibutirat), [P(3HB-co-4HB)] dibiosintesis oleh *D. acidovorans* menggunakan substrat karbon campuran asam n-butirat dan 1,4-butanadiol. Kondisi optimum biosintesis kopolimer P(3HB-co-4HB) oleh *D. acidovorans* adalah pada konsentrasi substrat karbon 10 g/L, pH 7,0, waktu inkubasi 72 jam dan suhu inkubasi 26 °C. Kandungan polimer P(3HB-co-4HB) tertinggi diperoleh dengan menggunakan campuran asam n-butirat dan 1,4-butanadiol sebagai substrat karbon. Hasil biosintesis menunjukkan kandungan 4HB meningkat secara linier dari 0 % mol hingga 94 % mol dengan peningkatan kandungan substrat 1,4-butanadiol.

**Kata kunci :** Kopolimer, poli(3-hidroksibutirat-co-4-hidroksibutirat), asam n-butirat, 1,4-butanadiol, *D. acidovorans*

### ABSTRACT

**BIOSYNTHESIS OF POLY(3-HYDROXYBUTYRATE-co-4- HYDROXYBUTYRATE) COPOLYMER USING n-BUTYRIC ACID AND 1,4-BUTANEDIOL AS MIXED CARBON SUBSTRATES.** Poly(3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate) copolymer, [P(3HB-co-4HB)], was biosynthesized by *D. acidovorans* using n-butyric acid and 1,4-butanediol as mixed carbon substrates. The optimum condition of biosynthesis P(3HB-co-4HB) copolymer is at mixed carbon substrates 10 g/L, pH 7,0, incubation time 72 hours and incubation temperature 26 °C. In order to obtain the highest polymer contents of P(3HB-co-4HB) by *D. acidovorans*, n-butyric acid and 1,4-butanediol were used as the mixed carbon substrates. Biosynthesis product shows the 4HB contents linearly increased from 0 mol % to 94 mol % as the increased of 1,4-butanediol substrates content.

**Key words :** Copolymer, poly(3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate), n-butyric acid, 1,4-butanediol, *D. acidovorans*

### PENDAHULUAN

Plastik merupakan salah satu material kimia yang menyebabkan permasalahan lingkungan. Plastik umumnya dibuat dari polimer sintetik, yang memiliki sifat mudah dibentuk, resistensi kimianya tinggi dan elastisitas yang dapat diatur sesuai kebutuhan. Sifat inilah yang membuatnya populer dan banyak digunakan sebagai bahan sekali pakai yang dapat langsung dibuang dan sebagai bahan pembungkus.

Plastik memiliki berat molekul yang berkisar dari ribuan hingga jutaan g/mol. Ukuran molekul yang sangat besar ini membuatnya resisten terhadap biodegradasi dan akibatnya akan menumpuk di lingkungan untuk waktu yang lama. Untuk menanggulangi permasalahan lingkungan yang disebabkan oleh plastik, beberapa negara

melakukan program manajemen limbah, salah satunya dengan pembuatan plastik yang dapat terbiodegradasi. Penelitian tentang plastik yang dapat terbiodegradasi meliputi polihidroalkanoat (PHA), polilaktida, poliester alifatik, polisakarida, kopolimer, maupun campurannya.

Poliester alifatik, P(3HB) dan kopolimernya, P(3HB-co-4HB) merupakan poliester termoplastik yang *biodegradable* dan *biocompatible*, dihasilkan oleh bakteri *Ralstonia eutropha* atau *Alcaligenes latus*. P(3HB-co-4HB) juga dapat dihasilkan oleh *R. eutropha* dalam kultur nitrogen terbatas, dengan substrat karbon asam 4-hidroksibutirat [1],  $\gamma$ -butirolakton [2] atau 1,4-butanadiol [3] dimana komposisinya bervariasi dari 0 % mol hingga 34 % mol 4HB, tergantung

komposisi substrat karbon. Kopolimer P(3HB-co-4HB) dengan komposisi bervariasi yang berkisar antara 0% mol hingga 83% mol 4HB dihasilkan oleh *A. latus* dari sumber karbon campuran asam 3-hidroksibutirat dan asam 4-hidroksibutirat [4]. Biosintesis P(3HB-co-4HB) melalui fermentasi dari *Delftia acidovorans* DS-17, *R. eutropha* dan *A. latus* dari berbagai substrat karbon [5,6]. Dilaporkan karakteristik termal dan fisik dari 0% mol hingga 100% mol 4HB serta produksi P(3HB-co-4HB) dan terpoliester oleh *D. acidovorans* dalam larutan 1,4-butanadiol dan pentanol bebas nitrogen [7].

Biosintesis dengan mikroorganisme sangat dipengaruhi oleh faktor kultur [8]. Faktor kultur yang utama yaitu komposisi medium, konsentrasi substrat karbon, pH, suhu, waktu inkubasi, konsentrasi mikroorganisme, dan suplai oksigen. Pada sel kering, berat dan kandungan polimer mengalami perubahan signifikan selama fermentasi oleh *D. acidovorans* menggunakan  $\text{CaCl}_2$  dan  $\text{MgSO}_4$  dalam komposisi sedang [9]. Perubahan kandungan polimer tersebut diperkirakan karena konsentrasi bakteri dalam percobaan [10].

Dalam penelitian ini dipelajari pengaruh konsentrasi sumber karbon, pH, waktu inkubasi, dan produksi polihidroksialkanoat pada biosintesis polimer P(3HB-co-4HB). Disamping itu dipelajari pula penentuan sumber karbon campuran dan biosintesis kopolimer P(3HB-co-4HB) oleh *D. acidovorans* dari sumber karbon campuran asam n-butirat dan 1,4-butanadiol yang memerlukan biaya relatif rendah.

## METODE PERCOBAAN

### Penyediaan Strain

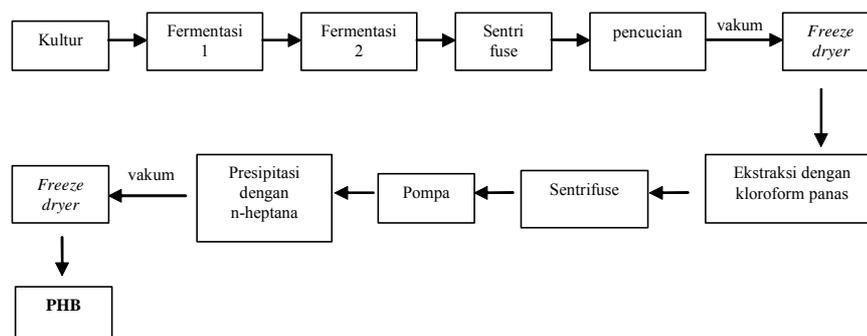
Bakteri (sel *freeze-dry*) yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari IFO (*The Institute for Fermentation Osaka*). Mikroorganisme ditanam dalam cairan 100 mL yang mengandung 0,2 g ekstrak ragi, 1 g polipepton dan 0,1 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  pada 30 °C. Sel-sel tersebut dipanen setelah 48 jam, kemudian ditambahkan gliserin ke media untuk pemeliharaan dan disimpan dalam pendingin suhu 7 °C.

### Biosintesis P(3HB-co-4HB)

Tahap biosintesis P(3HB-co-4HB) yang dilakukan yaitu seperti pada Gambar 1.

Sintesis P(3HB-co-4HB) dilakukan oleh *D. acidovorans* melalui fermentasi. Mikroorganisme ditanam pada 26 °C dalam medium kaya nutrisi (pH 7,0; 1L) yang mengandung 10 g polipepton, 10 g ekstrak ragi, 5 g ekstrak daging dan 5 g  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ . Selanjutnya sel diambil setelah 48 jam dan dicuci dengan air.

Untuk meningkatkan sintesis poliester, 2,5 g sel yang telah dicuci dipindahkan ke medium mineral (pH 7,0) yang mengandung substrat karbon berbeda. Sel ditanam dalam media ini pada 26 °C selama 72 jam, kemudian disentrifugasi (4000 rpm; 15 menit), dicuci dengan air, metanol dan selanjutnya dikeringkan menggunakan vakum pada suhu ruang. Komposisi medium yang digunakan terdapat pada Tabel 1.



Gambar 1. Bagan biosintesis P(3HB-co-4HB)

Tabel 1. Komposisi mineral dalam medium pada fermentasi.

Tahap 1		Tahap 2		Larutan mikroelemen	
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	5 g	$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	7,16 g	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	217 mg
Ekstrak daging	5 g	$\text{KH}_2\text{PO}_4$	2,65 g	$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	16,2 mg
Ekstrak ragi	10 g	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,2 g	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	7,8 mg
Polipepton	10 g	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0,1 g	$\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	118 mg
$\text{H}_2\text{O}$	1 L	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,0 g	$\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	135 mg
		Sitrat	5,0 g	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	156 mg
		Larutan mikroelemen	1 mL	HCl 0,1N	1 L
		$\text{H}_2\text{O}$	1 L		

### Ekstraksi P(3HB-co-4HB)

Poliester diekstraksi dari sel kering menggunakan kloroform panas dan dimurnikan dengan pengendapan menggunakan n-heptana. Polimer kemudian dikeringkan dengan vakum selama 48 jam. Polimer yang dihasilkan ditentukan dengan rumus berikut:

$$Y = \frac{W_a}{W_d} \times 100\% \dots\dots\dots (1)$$

dimana

Y adalah kandungan polimer (% berat)

W<sub>a</sub> adalah berat polimer (g)

W<sub>d</sub> adalah berat sel kering (g)

### Fraksionasi

Kopolimer P(3HB-co-4HB) difraksionasi dalam larutan campuran aseton-air atau kloroform-heptana untuk mendapatkan distribusi komposisi yang sempit [11-14]. 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.

### Prosedur Analisis

Komposisi P(3HB-co-4HB) ditentukan dengan spektrum NMR-<sup>1</sup>H 500 MHz yang direkam menggunakan spektrometer JEOL á-500. Spektrum NMR-<sup>1</sup>H direkam pada suhu ruang untuk larutan 10 mg/mL P(3HB-co-4HB) dalam CDCl<sub>3</sub>, lebar pulsa 4,7 is, pengulangan 5-s, lebar spektrum 5000 Hz, point data 16 K dan akumulasi 32.

Standar pergeseran kimia internal digunakan tetrametilsilan.

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.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Konsentrasi Sumber Karbon Dalam Biosintesis

Pengaruh konsentrasi sumber karbon pada biosintesis P(3HB-co-4HB) ditentukan dengan melakukan biosintesis melalui fermentasi pada 26 °C, pH 7,0 selama 72 jam. Hasil produksi kopolimer oleh *D. acidovorans* pada berbagai konsentrasi substrat karbon ditunjukkan pada Tabel 2.

*D. acidovorans* menghasilkan kopolimer P(3HB-co-4HB) dari substrat karbon campuran asam n-butirat dan 1,4-butanadiol. Fraksi 4HB dan kandungan polimer P(3HB-co-4HB) diamati dengan variasi konsentrasi substrat karbon 5 g/L, 10 g/L dan 15 g/L. Pada konsentrasi substrat karbon campuran 5 g/L, fraksi 4HB polimer yang dihasilkan sebesar 65% mol, dengan kandungan poliester dalam sel kering 9% berat. Pada konsentrasi substrat karbon campuran 10 g/L, fraksi 4HB polimer yang dihasilkan sebesar 65% mol, dengan kandungan poliester tertinggi yaitu 13% berat. Polimer 4HB yang dihasilkan dari substrat karbon campuran 15 g/L menunjukkan nilai fraksi dan kandungan poliester terendah yaitu 16% mol dan 4% berat. Kandungan 4HB polimer dalam percobaan ini lebih rendah dibandingkan yang dihasilkan oleh peneliti sebelumnya [15, 16].

Diperkirakan bahwa mikroorganisme mengekskresikan PHB depolimerasi ekstrasel untuk mendegradasi material dan dengan mudah menggunakannya untuk digabungkan dengan substrat karbon dalam bagian intrasel. Selain itu kemungkinan mikroorganisme tidak dapat mengekskresi PHB

Tabel 2. Variasi konsentrasi substrat karbon pada produksi kopolimer P(3HB-co-4HB) oleh *D. acidovorans* melalui fermentasi pada 26 °C selama 72 jam.

Konsentrasi substrat karbon (g/L)		Berat sel kering (g/L)	Kandungan poliester (%berat)	Komposisi PHA <sup>a</sup> (% mol)		Berat molekul <sup>b</sup>	
Asam n-butirat	1,4-butanadiol			3HB	4HB	M <sub>n</sub> ×10 <sup>-4</sup>	M <sub>w</sub> /M <sub>n</sub>
2	3	2,2	9	35	65	7,1	2,6
4	6	2,5	13	35	65	9,1	3,1
6	9	2,4	4	84	16	7,5	5,8

a. Ditentukan menggunakan NMR-<sup>1</sup>H

b. Ditentukan menggunakan GPC

depolimerasi ekstrasel yang cukup untuk mendegradasi material pada saat konsentrasi medium kultur sangat tinggi. Sebagai akibatnya fraksi 4HB dan kandungan polimer menurun, karena tidak dapat diubah menjadi material yang mudah diabsorpsi substrat karbon ke dalam bagian intrasel [5].

Berat molekul rata-rata jumlah ( $M_n$ ) tertinggi terdapat pada konsentrasi substrat karbon campuran 10 g/L yaitu sebesar  $9,1 \times 10^{-4}$ . Nilai  $M_n$  berkisar antara  $7,1 \times 10^{-4}$  hingga  $9,1 \times 10^{-4}$  yang bergantung pada bakteri dan sumber karbon. Distribusi berat molekul sampel lebar dan *polydispersity* ( $M_w/M_n$ ) berada dalam kisaran 2,6 hingga 5,8.

### pH Biosintesis

Pengaruh pH pada biosintesis P(3HB-co-4HB) ditentukan dengan melakukan biosintesis melalui fermentasi menggunakan substrat karbon tunggal 1,4-butanadiol dengan konsentrasi 10 g/L pada 26 °C selama 72 jam. Hasil produksi kopolimer oleh *D. acidovorans* dengan substrat karbon 1,4-butanadiol pada berbagai pH ditunjukkan pada Tabel 3. Kandungan kopolimer tertinggi dalam sel kering diperoleh pada larutan kultur pH 7,0.

**Tabel 3.** Variasi pH pada produksi kopolimer P(3HB-co-4HB) oleh *D. acidovorans* dari substrat karbon tunggal 1,4-butanadiol melalui fermentasi pada 26 °C selama 72 jam.

pH	Berat sel kering (g/L)	Kandungan poliester (%berat)	Komposisi PHA <sup>a</sup> (%mol)		Berat molekul <sup>b</sup>	
			3HB	4HB	$M_n \times 10^{-4}$	$M_w/M_n$
6,0	2,3	5	42	58	3,7	2,1
6,5	2,4	11	13	87	3,6	2,5
7,0	2,5	13	6	94	4,2	2,8
7,5	2,3	1	46	54	2,8	2,9

a. Ditentukan menggunakan NMR-<sup>1</sup>H  
 b. Ditentukan menggunakan GPC

Berat molekul rata-rata jumlah ( $M_n$ ) kopolimer berada pada kisaran  $2,8 \times 10^{-4}$  hingga  $4,2 \times 10^{-4}$ , bergantung pada kondisi fermentasi. Pada Tabel 3 dapat dilihat bahwa nilai  $M_n$  meningkat dengan kenaikan pH larutan kultur. Distribusi berat molekul kopolimer adalah unimodal dan nilai  $M_w/M_n$  berada pada kisaran 2,1 hingga 2,9.

Pada pH 6,0 fraksi polimer 4HB sebesar 58 % mol dan kandungan poliester sebesar 5% berat. Pada pH 6,5 terlihat adanya kenaikan fraksi 4HB menjadi 87 % mol dan kandungan poliester 11% berat. Fraksi 4HB dan kandungan kopolimer tertinggi dicapai pada larutan kultur pH 7,0 dengan fraksi 4HB sebesar 94 % mol dan kandungan poliester 13 % berat. Sedangkan pada saat pH larutan kultur lebih tinggi dari 7,0 fraksi 4HB dan kandungan poliester menurun secara signifikan menjadi 54% mol dan 1% berat. Berdasarkan data tersebut dapat dijelaskan bahwa pada kondisi asam biosintesis tidak

menghasilkan fraksi 4HB, dan kenaikan pH akan menambah produksi fraksi 4HB hingga optimum pada pH 7,0. Sedangkan pada kondisi basa bakteri mati, yang mengakibatkan produksi fraksi 4HB dan kandungan poliester menurun drastis.

### Waktu Inkubasi Biosintesis

Pengaruh waktu inkubasi pada biosintesis P(3HB-co-4HB) ditentukan dengan melakukan biosintesis melalui fermentasi menggunakan substrat karbon tunggal 1,4-butanadiol dengan konsentrasi 10 g/L pada 26 °C, pH 7,0. Hasil produksi kopolimer oleh *D. acidovorans* pada variasi waktu inkubasi ditunjukkan pada Tabel 4.

**Tabel 4.** Variasi waktu inkubasi pada produksi kopolimer P(3HB-co-4HB) oleh *D. acidovorans* dari substrat karbon tunggal 1,4-butanadiol melalui fermentasi pada 26 °C.

Waktu inkubasi (jam)	Berat sel kering (g/L)	Kandungan poliester (%berat)	Komposisi PHA <sup>a</sup> (%mol)	
			3HB	4HB
24	2,5	2	72	28
48	2,7	6	16	84
72	2,5	13	6	94
96	2,0	8	21	79

a. Ditentukan menggunakan NMR-<sup>1</sup>H

Kandungan poliester dalam sel kering meningkat hingga 13 % berat selama masa inkubasi 24 jam -72 jam dan fraksi 4HB kopolimer P(3HB-co-4HB) meningkat dari 28% mol ke 94% mol selama masa inkubasi. Pada waktu inkubasi 24 jam, kandungan poliester dan fraksi 4HB yang dihasilkan paling rendah yaitu 2 % berat dan 28 % mol. Diperkirakan pada saat ini waktu inkubasi tidak cukup bagi sel bakteri mengakumulasi poliester. Penambahan waktu inkubasi selanjutnya mengakibatkan peningkatan kandungan poliester dan fraksi 4HB, yang mencapai optimum pada waktu inkubasi 72 jam, dimana kandungan poliester sebesar 13% berat dan fraksi 4HB 94 % mol. Setelah kondisi optimum, penambahan waktu inkubasi lebih lanjut menjadi 96 jam menyebabkan penurunan kandungan poliester menjadi 8 % berat dan fraksi 4HB menjadi 79 % mol. Pada saat ini diperkirakan mikroorganisme memakan polimer yang terakumulasi dalam sel bakteri, karena kurangnya sumber karbon dalam larutan kultur.

Berdasarkan percobaan diatas diketahui bahwa kondisi optimum biosintesis kopolimer P(3HB-co-4HB) oleh *D. acidovorans* melalui fermentasi adalah pada konsentrasi sumber karbon 10 g/L, pH 7,0, waktu inkubasi 72 jam dan suhu inkubasi 26 °C. Selanjutnya kondisi optimum yang telah diperoleh digunakan untuk melakukan biosintesis kopolimer P(3HB-co-4HB).

## Penentuan Substrat Karbon Campuran

Produksi kopoliester oleh *D. acidovorans* dari beberapa substrat karbon pada 26 °C ditunjukkan pada Tabel 5.

**Tabel 5.** Variasi sumber karbon pada produksi kopolimer P(3HB-co-4HB) oleh *D. acidovorans* melalui fermentasi pada 26 °C selama 72 jam.

Substrat karbon (10 g/L)	Berat sel kering (g/L)	Kandungan poliester (%berat)	Komposisi PHA <sup>a</sup> (%mol)	
			3HB	4HB
Glukosa	1,8	6	100	0
Sakarosa	1,5	2	100	0
Fruktosa	1,5	1	100	0
Asam glutarat	2,1	3	100	0
Asam n-butirat	2,6	14	100	0
Asam 4-hidroksibutirat	2,1	2	5	95
1,4-butanadiol	2,5	13	6	94
$\gamma$ -butirolakton	2,2	5	88	12

a. Ditentukan menggunakan NMR-<sup>1</sup>H

Homopolimer P(3HB) dihasilkan *D. acidovorans* menggunakan glukosa, sakarosa, fruktosa, asam glutarat atau asam n-butirat sebagai substrat karbon tunggal. Kopolimer P(3HB-co-4HB) dihasilkan dari asam 4-hidroksibutirat, 1,4-butanadiol atau  $\alpha$ -butirolakton, dan kandungan poliester dalam sel kering tertinggi yaitu pada penggunaan 1,4-butanadiol sebagai substrat karbon. Karena itu untuk memperoleh kandungan polimer P(3HB-co-4HB) yang tinggi pada sintesis polimer oleh *D. acidovorans*, dipilih asam n-butirat dan 1,4-butanadiol sebagai substrat karbon campuran. Disamping itu sintesis P(3HB-co-4HB) oleh *D. acidovorans* menggunakan substrat karbon campuran asam n-butirat dan 1,4-butanadiol memerlukan biaya yang relatif lebih murah dibandingkan dengan substrat karbon lainnya.

## Biosintesis P(3HB-co-4HB) Menggunakan Substrat Karbon Campuran Asam n-Butirat dan 1,4-Butanadiol

Pada Tabel 6 ditunjukkan hasil produksi kopolimer P(3HB-co-4HB) oleh *D. acidovorans* dengan substrat karbon campuran asam n-butirat dan 1,4-butanadiol melalui fermentasi pada 26 °C selama 72 jam.

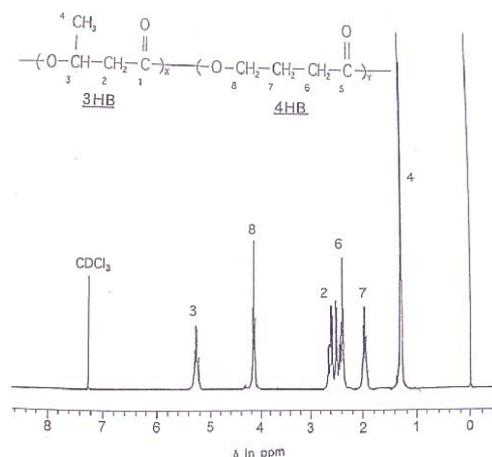
Kandungan 4HB meningkat secara linier dari 0 % mol hingga 94% mol dengan peningkatan kandungan substrat 1,4-butanadiol dan pengurangan kandungan substrat asam n-butirat. Dengan kata lain kandungan 4HB dalam kopolimer berkaitan erat dengan kandungan 1,4-butanadiol dalam substrat karbon. Hasil yang serupa juga diperoleh pada sintesis P(3HB-co-4HB) dari substrat karbon campuran 3-hidroksibutirat dan 4-hidroksibutirat oleh *A. latus* [4].

Pada Gambar 2 terlihat bahwa komposisi kedua komponen yaitu 3HB dan 4HB dapat ditentukan dari luas

**Tabel 6.** Produksi kopolimer P(3HB-co-4HB) dari asam n-butirat dan 1,4-butanadiol oleh *D. acidovorans* melalui fermentasi pada 26 °C selama 72 jam.

Substrat karbon (g/L)		Berat sel kering (g/L)	Kandungan poliester (%berat)	Komposisi PHA <sup>a</sup> (%mol)	
Asam n-butirat	1,4-butanadiol			3HB	4HB
10	0	2,6	14	100	0
8	2	2,4	8	81	19
6	4	2,7	15	62	38
4	6	2,5	13	35	65
2	8	2,8	11	26	74
0	10	2,5	13	6	94

a. Ditentukan menggunakan NMR-<sup>1</sup>H



**Gambar 2.** Spektrum NMR-<sup>1</sup>H kopolimer P(3HB-co-4HB) dalam CDCl<sub>3</sub>

area dibawah puncak 3 (CH dari 3HB) dan puncak 8 (CH<sub>2</sub> dari 4HB) dari spektrum NMR-<sup>1</sup>H. Fraksi 4HB dari kopolimer P(3HB-co-4HB) dihitung dari luas area dibawah puncak.

## KESIMPULAN

Untuk memperoleh kandungan polimer tertinggi pada biosintesis kopolimer P(3HB-co-4HB) dari *D. acidovorans* dilakukan dengan fermentasi 2 tahap, dimana kondisi fermentasi diatur dengan melakukan variasi konsentrasi substrat karbon, pH, waktu dan suhu inkubasi. Kondisi optimum adalah pada konsentrasi substrat karbon 10 g/L, pH 7,0, waktu inkubasi 72 jam dan suhu inkubasi 26 °C. Kandungan polimer tertinggi yang dihasilkan yaitu 15% per berat sel kering. Kandungan 4HB dalam P(3HB-co-4HB) meningkat dengan naiknya komposisi 1,4-butanadiol dalam substrat karbon campuran.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Prof. Dr. Hiroshi Mitomo dan Dr. Hsieh Wen –Chuan dari Universitas Gunma, Jepang. Atas bantuan,

bimbingan dan diskusinya sehingga penelitian ini dapat dilaksanakan.

## DAFTARACUAN

- [1]. M. KUNIOKA, Y. NAKAMURA and Y. DOI, *Polym. Commun.*, **29** (1988) 174
- [2]. M. HIRAMITSU, N. KOYAMA and Y. DOI, *Biotechnol. Lett.*, **15** (1993) 461
- [3]. M. KUNIOKA, Y. KAWAGUCHI and Y. DOI, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **30** (1989) 569
- [4]. C. K. KANG, S. KUSAKA and Y. DOI, *Biotechnol. Lett.*, **17** (1995) 583
- [5]. Y. SAITO and Y. DOI, *Int. J. Biol. Macromol.*, **16** (1994) 99
- [6]. Y. SAITO, S. NAKAMURA, M. HIRAMATSU and Y. DOI, *Polym. Int.*, **39** (1996) 169
- [7]. H. KIMURA, Y. YOSHIDA and Y. DOI, *Biotechnol. Lett.*, **14** (1992) 445
- [8]. K. HORI, K. SOGA and Y. DOI, *Biotechnol. Lett.*, **16** (1984) 709
- [9]. H. KIMURA, F. KNODO, M. TAKEISHI and Y. DOI, *Sen-I Gakkai Preprints*, **P-22** (1995)
- [10]. H. MOTOMO and T. TAKAHASHI, *Rept. Prog. Polymer Physics Japan* (1995)
- [11]. M. YOKOUCHI, Y. CHATANI, H. TADOKORO, K. TERANISHI and H. TANI, *Polymer*, **14** (1973) 267
- [12]. T. IWATA, Y. DOI, S. I. NAKAYAMA, H. SASATSUKI and S. TERAMACHI, *Int. J. Biol. Macromol.*, **25** (1999) 169
- [13]. N. KAMIYA, Y. YAMAMOTO, Y. INOUE, R. CHUJO and Y. DOI, *Macromolecules.*, **22** (1989) 1676
- [14]. H. MITOMO, N. MORISHITA and Y. DOI, *Polymer.*, **36** (1995) 2573
- [15]. M. KUNIOKA, Y. NAKAMURA and Y. DOI, *Polym. Commun.*, **29** (1988) 174
- [16]. M. HIRAMITSU, N. KOYAMA and Y. DOI, *Biotechnol. Lett.*, **15** (1993) 461