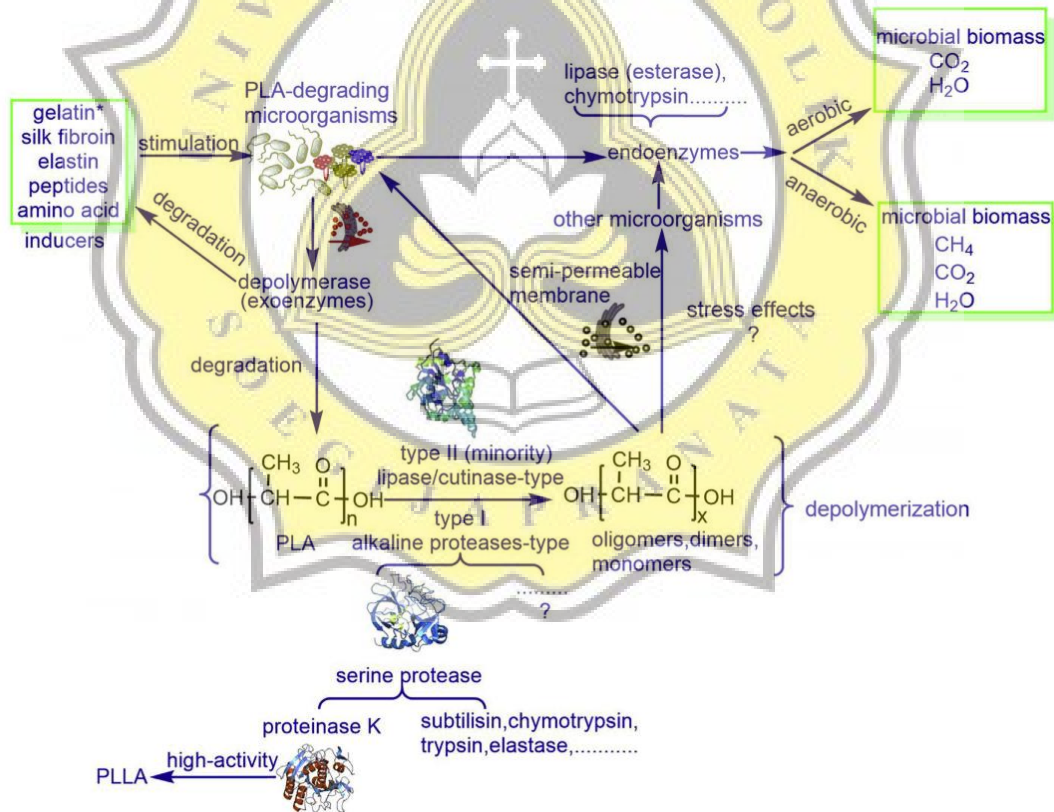


3. REVIEW

3.1. PLA Biodegradation

Penguraian PLA terjadi melewati 2 tahapan proses yakni abiotik dan biotik. Proses yang pertama terjadi adalah proses penguraian secara abiotik diikuti dengan proses penguraian secara biotik. Penguraian PLA secara abiotik terjadi melalui hidrolisis rantai PLA secara kimiawi, kemudian diikuti dengan penguraian PLA secara biotik melalui mikroorganisme dan enzim yang dihasilkan oleh mereka yang kemudian mengurai polimer yang telah dipecah menjadi biomassa, air, dan karbon dioksida dalam kondisi aerobik atau metana, hidrokarbon, dan biomassa dalam kondisi anaerobik (Karamanlioglu *et al.*, 2017). Proses penguraian PLA secara lebih jelas dapat dilihat pada Gambar 2.



*the most frequently-used inducer

Gambar 2. Skema Diagram Penguraian PLA (Qi *et al.*, 2017)

Berdasarkan Gambar 2, dapat dilihat bahwa terdapat *inducer* atau pemicu bagi mikroorganisme yang bekerja menghasilkan enzim untuk mengurai PLA (Jarerat *et al.*, 2004; Lomthong *et al.*, 2015; Qi *et al.*, 2017; Tokiwa & Calabia, 2006). *Inducer* atau pemicu yang sering digunakan berdasarkan Gambar 2. oleh Qi *et al* (2017) adalah gelatin, tetapi penggunaan *inducer* tidak terbatas pada gelatin saja. Terdapat *inducer* optimal yang berbeda bagi masing-masing mikroorganisme. Sebagai contoh. *inducer* yang terbaik bagi *A. orientalis* adalah *silk fibroin*, tetapi *silk fibroin* tidak meningkatkan aktivitas enzim dari *T. album* dan *L. waywayandensis* (Jarerat *et al.*, 2004).

Enzim depolimerase yang dihasilkan tersebut kemudian akan mengurai *inducer* dan PLA. Hasil dari proses depolimerisasi PLA seperti oligomer, dimer, dan monomer kemudian digunakan oleh mikroorganisme pengurai dan atau mikroorganisme lain yang ada untuk menjalankan proses metabolisme dengan endoenzim yang dihasilkan. Proses metabolisme tersebut akan menghasilkan karbondioksida dan air pada kondisi aerob dan metana, air, dan karbondioksida pada kondisi anaerob (Qi *et al.*, 2017).

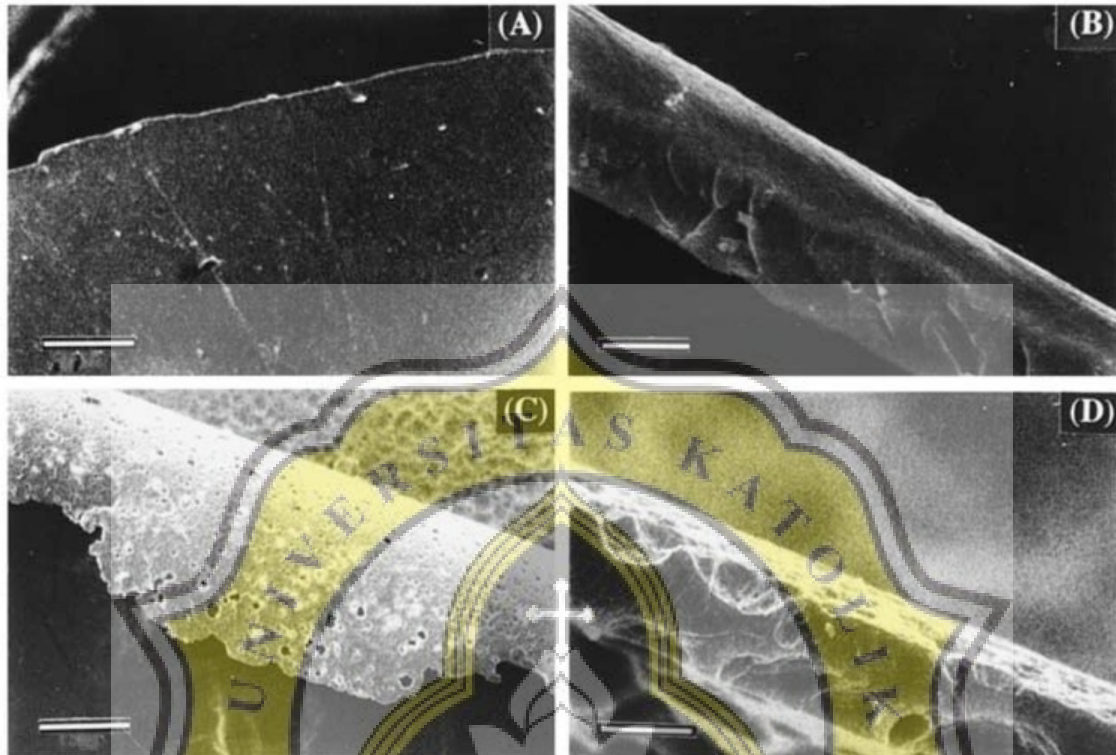
Endoenzymes adalah enzim yang bekerja di bagian dalam sel penghasil enzim, sedangkan *exoenzymes* adalah enzim yang disekresikan keluar oleh sel untuk bekerja diluar sel penghasil enzim. Hampir semua *exoenzymes* bersifat hidrolitik, dapat mengurai molekul yang besar menjadi kecil supaya dapat diserap oleh membran sel mikroorganisme dan dicerna dengan menggunakan *endoenzymes* (Goyal, 2003; Gaud *et al*, 2008). Enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme pengurai PLA antara lain adalah *protease* (*serine protease*), *lipase* (*esterase*) dan *cutinase* (Qi *et al.*, 2017).

Dalam rangkuman penelitian ini, dilakukan pengukuran umum seperti penurunan berat plastik, pengukuran TOC, pengukuran asam laktat melalui *thin layer chromatograph*, absorbansi media, semuanya digunakan untuk mengetahui jalannya proses dari percobaan penguraian PLA. Pada umumnya, mikroorganisme akan mengurai PLA dan mengasimilasi asam laktat yang dihasilkan dari penguraian PLA, sehingga pengukuran berat akan menunjukkan penurunan, tidak ada penumpukan asam laktat karena telah diasimilasi oleh mikroorganisme, kadar TOC tidak meningkat tajam, berat sel mikroorganisme bertambah, dan absorbansi media bertambah. Selain itu, digunakan

berbagai macam metode analisa seperti ATR-FTIR, GPC, SEM, TGA, dan lainnya. ATR-FTIR spektrofotometri adalah metode yang digunakan untuk menganalisa ikatan molekular bahan melalui pembacaan posisi dari pita absorpsi inframerah sebagai panjang gelombang (Mohamed *et al.*, 2017). Penggunaan FTIR bertujuan untuk mencari tahu apakah terdapat perbedaan komposisi molekul dari plastik sebelum dan sesudah percobaan. SEM adalah metode yang digunakan untuk mengamati struktur dan ikatan kimia dari suatu bahan pada skala mikroskopis (Singh, 2016). *Atomic force microscopy* (AFM) adalah metode lain yang dapat digunakan untuk menggambarkan permukaan dari suatu bahan termasuk polimer, keramik, komposit, dan kaca (Sinha Ray, 2013). Kedua metode tersebut digunakan untuk mengamati perubahan morfologis yang terjadi pada polimer. *Thermogravimetri* (TGA) adalah metode yang digunakan untuk mengukur stabilitas termal suatu bahan, termasuk polimer (Ebnesajjad, 2014).. Metode ini digunakan untuk mengetahui pengaruh penguraian terhadap stabilitas termal plastik. *Differential Scanning Calorimetries* (DSC) adalah alat yang digunakan untuk menganalisa temperatur yang menentukan suhu dan aliran panas dari perubahan bahan sebagai fungsi dari waktu dan suhu. DSC digunakan untuk menguji apakah penguraian berdampak terhadap plastik melalui ketahanan bahan dalam mengalirkan panas (Gilll *et al.*, 2010). Pengukuran TOC digunakan untuk mengetahui hasil dari penguraian PLA seperti asam laktat dan oligomer PLA (Tokiwa & Jarerat, 2004). Dari beberapa rangkuman penelitian, juga dilakukan pengujian enzimatis terhadap enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme. Pengujian enzimatis ini bertujuan untuk mengetahui kinerja enzim yang berguna untuk mengurai PLA dengan melihat stabilitas enzim terhadap pH, suhu, dan aktivitas enzimatisnya.

Contoh pengamatan morfologi menggunakan SEM dapat dilihat pada Gambar 3. Gambar 3 adalah hasil pengamatan menggunakan SEM dari *film* PLA yang diteliti oleh Jarerat & Tokiwa (2003). Gambar 3A adalah *film* kontrol tanpa inokulasi sel (bar = 100 μm), gambar 3B adalah bagian persilangan dari *film* kontrol tanpa inokulasi sel (bar= 10 μm), gambar 3C adalah *film* PLA setelah dikultivasi dengan *S. waywayandensis* di suhu 30°C selama 4 hari (bar = 100 μm) gambar 3D adalah bagian persilangan *film* setelah dikultivasi dengan *S. waywayandensis* di suhu 30°C selama 4 hari (bar = 100 μm). Dari

Gambar 3, dapat diketahui bahwa selama proses penguraian terjadi, PLA akan tampak berlubang akibat yang berlubang tersebut sudah terurai.



Gambar 3. Hasil pengamatan *film* PLA dengan *scanning electron microscope* (SEM) (Jarerat & Tokiwa, 2003)

Selama proses penguraian PLA terjadi, berbagai faktor dapat mempengaruhi berjalannya proses tersebut seperti karakteristik polimer yang terdiri dari berat molekular, kemurnian, kristalinitas, suhu *glass transition*, suhu *melting point*, kemudian faktor lingkungan seperti suhu, pH, kelembaban, dan enzim yang dihasilkan mikroorganisme, dapat memberi dampak terhadap proses penguraian PLA (Ahmed *et al.*, 2018).

3.2. Mikroorganisme dalam PLA *Biodegradation*

Proses penguraian PLA melibatkan mikroorganisme sebagai penghasil enzim depolimerase. Mikroorganisme yang telah teridentifikasi mampu mengurai PLA antara lain adalah *actinomycetes*, bakteri, dan jamur. Banyak mikroorganisme pengurai PLA yang telah teridentifikasi berasal dari filum *actinomycetes*. *Actinomycetes* adalah bakteri gram positif yang memiliki morfologi seperti filamen membentuk miselium. *Actinomycetes* yang telah teridentifikasi dapat mengurai PLA antara lain adalah

Amycolatopsis sp, *Pseudocardinia alni*, *Saccharothryx waywayandensis* (berganti nama menjadi *Lentzea waywayandensis*), dan *Kibdelosporangium aridum*. Bakteri lain yang bukan merupakan *actinomycetes* yang mampu mengurai PLA antara lain adalah *Stenotrophomonas maltophilia*, *Bacillus brevis* (berganti nama menjadi *Brevibacillus* sp.), dan *Bacillus licheniformis*. Kapang yang telah teridentifikasi mampu mengurai PLA antara lain adalah *Tritirachium album* dan *Trichoderma viride*.

3.2.1. Actinomycetes

Actinomycetes adalah mikroorganismenya pengurai PLA yang telah banyak diteliti dan dianggap sebagai pengurai utama dari PLA. Penelitian tentang *actinomycetes* sebagai pengurai PLA berawal dari *Amycolatopsis* sp. HT-32 yang diteliti oleh Pranamuda *et al* (1997). Rangkuman hasil penelitian biodegradasi PLA menggunakan *actinomycetes* dapat dilihat pada tabel 1. Ditemukan bahwa *actinomycetes* yang dapat mengurai PLA hanya terbatas pada famili *Pseudonocardiaceae* dan genera yang memiliki relasi dekat seperti *Amycolatopsis*, *Lentzea*, *Kibdelosporangium*, *Streptoalloteichus*, dan *Saccharothrix* (Jarerat *et al.*, 2002)

Komposisi media basal yang digunakan untuk penelitian penguraian PLA pada umumnya berisi mineral-mineral untuk menunjang kebutuhan hidup mikroorganismenya seperti besi, natrium, kalsium, magnesium, mangan, kalium, dan lain sebagainya (Jarerat *et al.*, 2003; Nair *et al.*, 2015). Sumber energi satu-satunya yang digunakan adalah PLA yang diteliti. Dalam penelitian yang dirangkum, terdapat pengukuran Total Organic Carbon (TOC). TOC adalah total dari karbon organik dari suatu sampel. Pengukuran TOC digunakan untuk mengetahui hasil dari penguraian PLA seperti asam laktat dan oligomer PLA (Tokiwa & Jarerat, 2004). *Actinomycetes* pengurai PLA yang diisolasi banyak berasal dari genus *Amycolatopsis*, sehingga banyak penelitian yang menguji *Amycolatopsis* dengan berbagai macam *Amycolatopsis* dan variannya. Berdasarkan Tabel 1, dapat dilihat bahwa terdapat *Amycolatopsis tolyphorus*, *Amycolatopsis mediterannei*, *Amycolatopsis orientalis* ssp. *Orientalism* dan *Amycolatopsis* sp dengan 3 strain berbeda. Selain itu, semua penelitian *Actinomycetes* yang dirangkum dalam Tabel 1 dilakukan secara aerobik, terlihat dari adanya perlakuan *shaking* ketika penelitian sedang berlangsung.

Tabel 1. Rangkuman Penelitian Biodegradasi PLA Menggunakan *Actinomycetes*

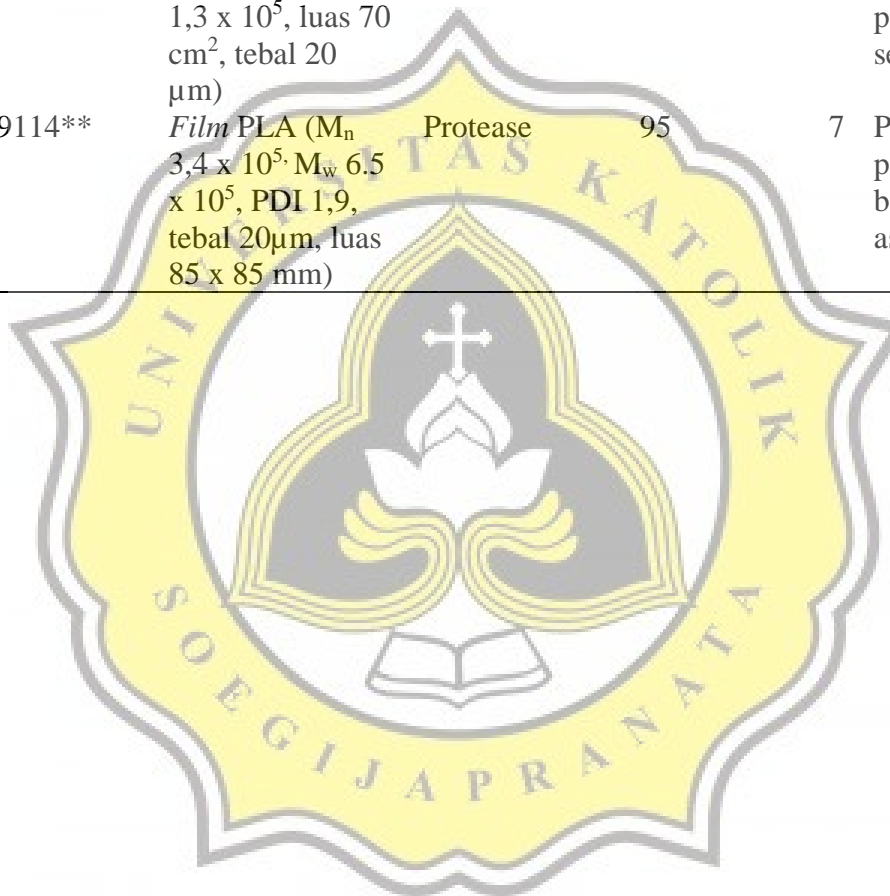
No	Mikroorganisme	Sumber Mikroorganisme	Sampel yang Diujikan	Enzim	Sampel Terurai (%)	Lama Penguraian (hari)	Metode Pengukuran	Sumber Referensi
1	<i>Amycolatopsis</i> sp. HT-32	Tanah	Film PLA (M_n $1,3 \times 10^5$, luas 70 cm^2 , tebal $20 \mu\text{m}$)	Protease	60	14	Penurunan berat plastik, TOC, pH	(Pranamuda <i>et al.</i> , 1997)
2	<i>Amycolatopsis</i> sp. K104-1	Tanah	Emulsi PLA (M_n 220.000)	Protease	90	8	Pengujian enzimatis, pengukuran konsentrasi PLA	(Nakamura <i>et al.</i> , 2001)
3	<i>Amycolatopsis</i> sp strain 3118	Tanah	Film PLA (M_w $2,3 \times 10^5$, tebal $20 \mu\text{m}$, 99,8% <i>L-lactic acid</i>)	Protease	85	11	Penurunan berat plastik, <i>thin layer chromatograph</i>	(Ikura & Kudo, 1999)
4	<i>Amycolatopsis azurea</i>	IFO 14573*	Film PLA (M_n $3,4 \times 10^5$, M_w $6,5 \times 10^5$, PDI 1,9, tebal $20 \mu\text{m}$, luas $85 \times 85 \text{ mm}$)	Protease	20	14	Berat plastik, berat kering sel, TOC	(Jarerat <i>et al.</i> , 2002)
5	<i>Amycolatopsis orientalis</i> ssp. <i>Orientalis</i>	-	Film PLA BM 200.000	Protease	80	8	Penurunan berat plastik, pengujian enzimatis	(F. Li <i>et al.</i> , 2008)
6	<i>Amycolatopsis orientalis</i> ssp. <i>orientalis</i>	IFO 12362*	Film PLA (M_n $3,4 \times 10^5$, M_w $6,5 \times 10^5$, PDI 1,9, tebal $20 \mu\text{m}$, luas $85 \times 85 \text{ mm}$)	Protease	53	14	Penurunan berat plastik, berat kering sel, TOC	(Jarerat <i>et al.</i> , 2002)

7	<i>Amycolatopsis orientalis</i> ssp. <i>orientalis</i>	JCM 4600**	Film PLA (M_n $3,4 \times 10^5$, M_w 6.5×10^5 , PDI 1,9, tebal $20\mu\text{m}$, luas $85 \times 85 \text{ mm}$)	Protease	22	14	Penurunan berat plastik, berat kering sel, TOC	(Jarerat <i>et al.</i> , 2002)
8	<i>Amycolatopsis mediterannei</i>	IFO 14843*	Film PLA (M_n $3,4 \times 10^5$, M_w 6.5×10^5 , PDI 1,9, tebal $20\mu\text{m}$, luas $85 \times 85 \text{ mm}$)	Protease	10	14	Penurunan berat plastik, berat kering sel, TOC	(Jarerat <i>et al.</i> , 2002)
9	<i>Amycolatopsis tolyphorus</i>	IFO 14664*	Film PLA (M_n $3,4 \times 10^5$, M_w 6.5×10^5 , PDI 1,9, tebal $20\mu\text{m}$, luas $85 \times 85 \text{ mm}$)	Protease	28	14	Penurunan berat plastik, berat kering sel, TOC	(Jarerat <i>et al.</i> , 2002)
10	<i>Kibdelosporangium aridum</i>	JCM 7912**	Film PLA (M_w $1,3 \times 10^5$, 70 cm^2 , tebal $20 \mu\text{m}$)	Protease	80	10	Penurunan berat plastik, TOC, pH, berat kering sel, sisa asam laktat	(Jarerat <i>et al.</i> , 2003)
11	<i>Pseudonocardia alni</i> AS4.1531 ^T	Reference strain	Film PLA (M_w 74.000)	Protease	71,5	8	Berat plastik, berat kering sel, asam laktat, SEM	(Konkit <i>et al.</i> , 2012)
12	<i>Saccharothryx espanaensis</i>	JCM 9112**	Film PLA (M_n $3,4 \times 10^5$, M_w 6.5×10^5 , PDI 1,9, tebal $20\mu\text{m}$, luas $85 \times 85 \text{ mm}$)	Protease	45	14	Penurunan berat plastik, berat kering sel, TOC	(Jarerat <i>et al.</i> , 2002)
13	<i>Saccharothryx mutabilis</i> ssp. <i>mutabilis</i>	JCM 3380**	Film PLA (M_n $3,4 \times 10^5$, M_w 6.5×10^5 , PDI 1,9,	Protease	24	14	Penurunan berat plastik, berat kering sel, TOC	(Jarerat <i>et al.</i> , 2002)

14	<i>Saccharothryx waywayandensis</i> (<i>Lentzea waywayandensis</i>)	JCM 9114**	tebal 20µm, luas 85 x 85 mm) Film PLA (M _n 1,3 x 10 ⁵ , luas 70 cm ² , tebal 20 µm)	Protease	55	14	Penurunan berat plastik, berat kering sel, TOC	(Jarerat <i>et al.</i> , 2002)
15	<i>Saccharothryx waywayandensis</i> (<i>Lentzea waywayandensis</i>)	JCM 9114**	tebal 20µm, luas 85 x 85 mm) Film PLA (M _n 3,4 x 10 ⁵ , M _w 6.5 x 10 ⁵ , PDI 1,9, tebal 20µm, luas 85 x 85 mm)	Protease	95	7	Penurunan berat plastik, TOC, pH, berat kering sel, sisa asam laktat	(Jarerat & Tokiwa, 2003)

*Institute for Fermentation Osaka

**Japan Collection of Microorganisms



Penelitian tentang mikroorganisme yang sama dapat memberikan hasil yang berbeda. Berdasarkan Tabel 1, pada penelitian tentang *Lentzea waywayandensis* dan *Amycolatopsis orientalis* ssp. *orientalis*. Melihat perbedaan antar penelitian yang dilakukan, hasil yang berbeda tersebut dapat disebabkan karena beberapa hal. Pertama, perbedaan dari karakteristik PLA yang digunakan dalam penelitian. PLA yang digunakan dalam satu penelitian dengan yang lainnya dapat memiliki berat molekul, tebal, dimensi, dan karakteristik yang berbeda-beda. Jika terdapat perbedaan dalam salah satu hal tersebut, hasil pengukuran laju penguraian yang didapatkan dapat berbeda antar satu dengan lainnya. Semakin besar berat molekul PLA yang diurai, semakin lama proses penguraiannya. Semakin tebal PLA yang ingin diurai, semakin lama juga prosesnya.

Kedua, adalah sampel mikroorganisme yang digunakan. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Jarerat *et al*, *Amycolatopsis orientalis* ssp. *orientalis* dari sumber yang berbeda, yakni Japan Collection of Microorganism (JCM) dan Institute for Fermentation Osaka (IFO) memberi hasil penguraian yang berbeda. Walau metode dan PLA yang digunakan sama, mikroorganisme yang diisolasi oleh JCM memberi hasil yang lebih baik daripada mikroorganisme yang berasal dari IFO.

Ketiga adalah perbedaan pada *strain* mikroorganisme yang digunakan. Pada Tabel 1, dapat dilihat bahwa penelitian terhadap *Amycolatopsis sp* dengan *strain* yang berbeda-beda memberikan hasil yang berbeda juga. Di antara *Amycolatopsis sp*. HT-32, *Amycolatopsis sp* strain 3118, dan *Amycolatopsis sp*. K104-1, *strain* yang lebih efisien dalam mengurai PLA adalah *strain Amycolatopsis sp*. K104-1 karena *strain* tersebut dapat mengurai PLA dengan berat molekul yang tinggi dalam waktu yang lebih singkat dan dengan efisiensi yang lebih baik dibanding kedua *strain* lainnya.

Pengujian enzimatik *Amycolatopsis sp*. K104-1 menunjukkan bahwa kerja enzim yang dihasilkan mencapai maksimal pada pH 9,5, suhu 55 °C, stabil pada pH diatas 5, inaktif di pH 5 kebawah dan suhu diatas 70 °C. Pengujian enzimatik pada penelitian F. Li *et al*. (2008) terhadap *Amycolatopsis orientalis* ssp. *Orientalis* menemukan 3 macam enzim protease yang berbeda lalu dinamai PLAase I, II, dan III dalam penelitiannya. Spesifikasi enzim dapat dilihat pada Tabel 6. Aktivitas pengurai PLA maksimal untuk PLAase I &

III tercapai pada pH 9,5 & suhu 60 °C, untuk PLAase II pada pH 10,5 & suhu 50 °C. PLAase I & III stabil pada pH 6-9, PLAase II tidak stabil pada pH dibawah 7 dan diatas 8. PLAase I & III tetap stabil pada suhu 60 °C selama 8 jam, sedangkan PLAase II pada suhu 50 °C.

Pada Tabel 1, dapat dilihat bahwa *Kibdelosporangium aridum* yang diteliti oleh Jarerat *et al* (2003) dan *Pseudonocardia alni* AS4.1531^T yang diteliti oleh Konkit *et al* (2012) adalah *actinomycetes* yang diteliti menggunakan PLA dengan berat yang lebih rendah dibanding penelitian lainnya, yakni M_w $1,3 \times 10^5$ untuk *K. aridum* dan M_w 74.000 untuk *P. alni* AS4.1531^T. Dari kedua *actinomycetes* tersebut, dapat dilihat bahwa laju penguraian dari keduanya hampir sama satu dengan lainnya, namun *P. alni* AS4.1531^T mengurai PLA dengan berat molekul yang lebih rendah dibanding *K. aridum*, sehingga dari Tabel 1, *P. alni* AS4.1531^T adalah mikroorganisme dengan potensi terendah dalam mengurai PLA.

Pengurai yang baik dapat mengasimilasi produk hasil penguraiannya. Dalam Tabel 1, hanya *Amycolatopsis* sp. HT-32 yang diteliti oleh Pranamuda *et al* (1997) yang terindikasi tidak dapat mengasimilasi hasil penguraian PLA. Hal yang menunjukkan bahwa PLA tidak terasimilasi adalah pada pengukuran TOC yang tidak menunjukkan penurunan dibanding pengukuran TOC pada kontrol penelitian.

Berdasarkan rangkuman penelitan terhadap *actinomycetes*, suhu yang digunakan dalam penelitian berkisar antara 30-37 °C dengan pengecualian penelitian *Amycolatopsis* sp strain 3118 yang dilakukan oleh Ikura & Kudo (1999). Pada penelitannya, *Amycolatopsis* sp strain 3118 diujikan terhadap suhu 30-48 °C. Dalam rentang suhu tersebut, *actinomycetes* teramati masih dapat hidup dan berkembang biak, tetapi pada suhu 30 dan 48 °C, *Amycolatopsis* sp strain 3118 mengalami penurunan drastis terhadap pertumbuhannya. Hal ini mengindikasikan bahwa suhu yang terlalu tinggi atau rendah dapat berdampak negatif terhadap *actinomycetes*. Tetapi, penelitian tersebut menunjukkan bahwa *Amycolatopsis* sp strain 3118 dapat bekerja secara optimal pada suhu 43°C (Ikura & Kudo, 1999). Hal ini dapat mengindikasikan bahwa rentang suhu dimana *actinomycetes* dapat bertahan hidup adalah pada 30-48 °C.

Berdasarkan Tabel 1, dapat dilihat bahwa *Lentzea waywayandensis* dan *Amycolatopsis sp.* K104-1 adalah mikroorganisme yang memiliki potensi besar dalam mengurai PLA. Penelitian terhadap *L. waywayandensis* oleh Jarerat *et al* (2002) menunjukkan bahwa *L. waywayandensis* dapat mengurai PLA dengan berat molekul tinggi sebanyak 55% dalam waktu 14 hari. Juga ketika diujikan terhadap PLA dengan berat molekul yang lebih rendah pada penelitian Jarerat & Tokiwa (2003), *L. waywayandensis* mampu mengurai 95% PLA dalam waktu yang lebih singkat, yakni 7 hari. Begitu juga dengan *Amycolatopsis sp.* K104-1 yang ketika diujikan terhadap emulsi PLA dengan berat molekul yang tinggi, dapat mengurai lebih dari 90% PLA yang ada.

Hasil penguraian yang berbeda dengan mikroorganisme yang sama dapat diakibatkan oleh karena perbedaan karakteristik enzim yang dihasilkan antar masing-masing mikroorganisme tersebut. Hal ini sesuai dengan penelitian terhadap enzim yang dilakukan oleh Barros *et al.* (2013) dan juga penelitian terhadap enzim amilase dan protease yang dihasilkan oleh *Aspergillus niger* dan *Penicillium frequestantis* oleh Oyewole *et al.* (2011) bahwa spesies mikroorganisme dan *strain* mikroorganisme dapat berpengaruh terhadap karakteristik enzim yang dihasilkan. Dari sini dapat diasumsikan bahwa mikroorganisme dengan enzim pengurai PLA yang lebih bagus berarti memiliki metabolisme yang lebih baik terhadap PLA karena mikroorganisme tersebut akan menghasilkan enzim yang baik untuk mengurai dan mengasimilasi PLA. Akan tetapi, belum ada penelitian lebih lanjut untuk memastikan hubungan antar PLA dengan proses metabolisme mikroorganisme.

3.2.2. Bakteri

Rangkuman penelitian biodegradasi PLA menggunakan bakteri dapat dilihat dalam Tabel 2. Pada salah satu penelitian yang dirangkum, terdapat penelitian yang menggunakan metode *composting* untuk meneliti penguraian PLA. *Composting* adalah metode penguraian dengan cara penguburan dalam kompos atau tanah. Tujuannya adalah untuk meneliti bakteri *thermophiles* yang ada dalam kompos. Selain itu, *thermophiles* juga adalah salah satu pemeran utama pada proses fermentasi dalam kompos (Tomita *et al.*,

2004). *Thermophiles* sendiri adalah bakteri yang berkembang biak pada suhu tinggi, umumnya lebih dari 45°C (Panda *et al.*, 2019).

Dalam metode pengkomposan pada rangkuman penelitian oleh Jeon & Kim (2013), mikroorganisme yang terlibat selama proses penguraian sebenarnya tidak terbatas hanya satu isolat saja, tetapi dalam penelitian yang telah dilakukan, mikroorganisme didapat melalui *screening* kompos yang telah digunakan untuk mengisolasi bakteri tersebut.



Tabel 2. Rangkuman Penelitian Biodegradasi PLA Menggunakan Bakteri

No	Mikroorganisme	Sumber Mikroorganisme.	Sampel yang Diujikan	Enzim	Sampel Terurai (%)	Lama Penguraian (hari)	Metode Pengukuran	Sumber Referensi
1	<i>Aneurinibacillus migulanus</i>	Tanah	Film PLA (3x3 cm ²)	-	69,62	20	Penurunan berat plastik	(Chaisu <i>et al.</i> , 2012)
2	<i>Bacillus brevis</i> (<i>Brevibacillus sp</i>)	Tanah	Film PLA (tebal 50µm, M _n 45.000)	-	25	20	Penurunan berat plastik, TOC, absorbansi media, viskositas PLA	(Tomita <i>et al.</i> , 1999)
3	<i>Bacillus licheniformis</i>	Kompos	Film PLA murni dan PLA dengan nanokomposit <i>montmorillonite</i> 5% (CLOISITE 30B & NANOFIL 804)	Alcalase	-	-	<i>Differential scanning calorimetry</i>	(Fukushima <i>et al.</i> , 2009)
4	<i>Bacillus licheniformis</i>	Penelitian terdahulu oleh Fukushima <i>et al.</i> , 2009	Film PLA (92% L, 8% D) murni dan PLA dengan nanokomposit berupa <i>montmorillonite</i> (C30B, 5% dan 10% w/w) dan <i>fluorohectorite</i> (SOMASIF MEE 10% w/w) (tebal 0,5 mm, luas 625 mm ²)	Alcalase	90	150	Penurunan berat plastik, SEM, pengujian enzimatis	(Arena <i>et al.</i> , 2011)
5	<i>Bacillus licheniformis</i>	-	PLA murni <i>nonwoven spunbond</i> (50 x 150 x 0,126 mm ³)	Alcalase	25	24	Pengukuran kristalinitas PLA, perubahan fisik, SEM	(Lee <i>et al.</i> , 2014)

6	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> LB 2-3	Kompos	PLA 2003D (tebal 0,3mm)	-	14	40	Penurunan berat molekul	(Jeon & Kim, 2013)
7	<i>Thermophile</i> Strain 41	Tanah	Film PLA (tebal 50 μ m, M_n 47.000)	-	25	20	Penurunan berat plastik, TOC, absorbansi media	(Tomita <i>et al.</i> , 2004)
8	<i>Pseudomonas</i> sp. strain DS04-T	Activated sludge	Film PLA (1x1 cm ² , M_n 400.000)	Lipase	55	15	Penurunan berat plastik, pengujian enzimatis	(Z. Wang <i>et al.</i> , 2011)
9	<i>Pseudomonas tamsuii</i> TKU015	Tanah	Emulsi PLA (M_n 1,25 x 10 ⁴), dengan campuran <i>Squid pen powder</i> (SPP) atau <i>shrimp shell powder</i> (SSP)	Lipase	-	-	Pengujian enzimatis	(Liang <i>et al.</i> , 2016)



Pada rangkuman penelitian bakteri sebagai pengurai PLA pada Tabel 2, metode yang digunakan untuk menguji penguraian PLA lebih bervariasi. Seperti pada penelitian yang dilakukan oleh Chaisu *et al* (2012), peneliti menggunakan metode RSM untuk menentukan penguraian *Aneurinibacillus migulanus* sehingga ditemukan suhu, pH, dan kecepatan *shaking* yang paling optimal. Selain itu, terdapat pula pengujian penguraian PLA dengan hanya menggunakan enzim yang diambil dari bakteri, sehingga pengukuran asimilasi bakteri terhadap produk penguraian tidak dilakukan. Berdasarkan pada Tabel 2, rata-rata waktu yang dibutuhkan bagi bakteri untuk mengurai PLA lebih lama daripada *actinomycetes*.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Fukushima *et al* (2009) dan Arena *et al* (2011) terhadap *Bacillus licheniformis*, digunakan PLA dengan campuran nanokomposit berupa CLOISITE 30B, NANOFIL 804, dan SOMASIF MEE. Hasil yang didapat menunjukkan bahwa PLA dengan campuran nanokomposit dapat diurai lebih baik daripada PLA murni. Selain itu, penelitian terhadap enzim alcalase yang dihasilkan *Bacillus licheniformis* oleh Lee *et al* (2014) menunjukkan bahwa 25% PLA murni *nonwoven* dapat terurai dalam waktu 21 hari. Berbeda dengan penelitian Arena *et al* (2011), 40% PLA murni dapat terurai dalam 5 bulan. Perbedaan ini dapat disebabkan karena perbedaan metode yang dilakukan. Penelitian Lee *et al* (2014) menggunakan enzim alcalase komersial yang berasal dari *Bacillus licheniformis* yang telah dimurnikan dan langsung diujikan terhadap PLA, sedangkan penelitian Arena *et al* (2011) menggunakan isolat murni bakteri *Bacillus licheniformis*.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Jeon & Kim (2013), *biodegradability* PLA diujikan terhadap isolat murni bakteri *Stenotrophomonas maltophilia* LB 2-3 dan kompos yang diinokulasi dengan bakteri *Stenotrophomonas maltophilia* LB 2-3. PLA yang diujikan diberi perlakuan pendahuluan berupa penyinaran dengan sinar UV dengan intensitas dan waktu yang berbeda-beda. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa penguraian berjalan lebih cepat pada kompos yang telah diinokulasi oleh bakteri daripada isolat murni bakteri. Selain itu, hasil juga menunjukkan bahwa penyinaran UV 254 nm selama 8 jam memberi hasil yang optimal bagi *biodegradability* PLA. Sebaliknya, penyinaran UV yang terlalu lama, yaitu 16 jam, memberikan hasil yang lebih buruk. Hal ini

mengindikasikan bahwa penyinaran UV sebagai perlakuan PLA tidak berarti bahwa semakin lama penyinaran maka hasil yang didapat semakin baik.

Pengujian enzimatik pada enzim yang dihasilkan *Pseudomonas* sp. strain DS04-T menunjukkan bahwa aktivitas enzim depolimerase optimal pada pH 8, stabil pada pH 8, inaktif dibawah pH 4,5. Suhu optimal pada 50 °C, stabil pada 20 °C, inaktif diatas 80 °C. Pengujian enzimatik *Bacillus licheniformis* oleh Arena *et al.* (2011) menunjukkan bahwa total aktivitas enzim 7.64 U/ml aktivitas spesifik enzim 25.45 U/ml.

Penelitian *Pseudomonas tamsuii* TKU015 oleh Liang *et al.* (2016) bertujuan untuk meneliti enzim depolimerase yang diproduksi oleh bakteri yang dibiakkan dalam media khusus. Media yang digunakan pada penelitiannya adalah media yang terdiri dari emulsi PLA, *Squid pen powder* (SPP), dan *shrimp shell powder* (SSP). Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa aktivitas PLA depolimerase tertinggi dapat ditemui pada media dengan campuran SPP dan PLA, yakni 0,054 U/ml. Kemudian, enzim depolimerase akan bekerja optimal di pH 10 dan suhu 37°C.

Berdasarkan Tabel 3, bakteri yang memiliki potensi terbaik dalam mengurai PLA adalah *Aneurinibacillus migulanus* dengan menggunakan metode RSM untuk mencapai penguraian yang optimal, yaitu 69,62% penguraian PLA pada suhu 40.5 °C, dan *shaking* 194 rpm dalam waktu 20 hari.

3.2.3. Kapang

Penelitian penguraian PLA dengan kapang sebagai mikroorganisme utama pada saat ini hanyalah sedikit. Rangkuman penelitian penguraian PLA dengan kapang sebagai mikroorganisme pengurai utama dapat dilihat pada Tabel 3. Pada Tabel 3, bagian dengan tanda (-) menandakan bahwa informasi mengenai bagian tersebut tidaklah dijelaskan

Tabel 3. Rangkuman Penelitian Biodegradasi PLA Menggunakan Kapang

No	Mikroorganisme	Sumber Mikroorganisme.	Sampel yang Diujikan	Enzim	Sampel Terurai (%)	Lama Penguraian (hari)	Metode Pengukuran	Sumber Referensi
1	<i>Candida cylindracea</i>	-	PLA murni <i>nonwoven spunbond</i> (50 x 150 x 0,126 mm ³)	Lipase	5	21	Pengukuran kristalinitas PLA, perubahan fisik, SEM	(Lee <i>et al.</i> , 2014)
2	<i>Cryptococcus sp.</i> Strain S-2	-	PLA (berat molekul 1,4 x 10 ⁵)	Cutinase	100	3	Pengurangan berat plastik	(Masaki <i>et al.</i> , 2005)
3	<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	Institute Scientifique de Sante Publique	<i>Film</i> PLA (tebal 0,3 mm, M _w 14,27 x 10 ⁵ , M _n 7,54 x 10 ⁵ , PDI 1.88) dengan komposit N ₂ , radiasi gamma, dan <i>highly viscous chitosan</i> (CHH)	Superoxide dismutase & catalase	-	-	Pengujian biokimia, ATR-FTIR, AFM, GPC, SEM	(Stoleru <i>et al.</i> , 2017)
4	<i>Trichoderma viride</i>	Scientific Institute of Health Belgium	PLA dan kompositnya (Tabel 7.)	-	18,24	21	Penurunan berat plastik, ATR-FTIR, GPC, SEM, TGA	(Lipsa <i>et al.</i> , 2016)
5	<i>Tritirachium album</i> ATCC 22563	-	<i>Film</i> PLA (M _n 2,8 x 10 ⁵ , tebal 46 µm)	Protease	76,4	14	Penurunan berat plastik, berat kering sel, TOC	(Jarerat & Tokiwa, 2001)

Berdasarkan rangkuman penelitian biodegradasi PLA menggunakan kapang yang dapat dilihat pada tabel 3, terdapat hasil yang menarik dari perbandingan enzim yang dihasilkan oleh kapang beserta efeknya terhadap PLA. Penelitian *Tritirachium album* ATCC 22563 oleh Jarerat & Tokiwa (2001) menunjukkan bahwa *T. album* ATCC 22563 dapat mengurai PLA, tetapi tidak dapat mengasimilasi produk akhir hasil penguraian, yaitu *l-lactic acid*. Kemudian pada penelitian oleh Masaki *et al* terhadap terdapat *Cutinase-like enzyme* (CLE) yang dihasilkan oleh *Cryptococcus sp.* Strain S-2, ditemukan bahwa enzim CLE yang dihasilkan dapat sepenuhnya mengurai PLA yang diujikan dengan berat molekular $1,4 \times 10^5$ dengan cepat, yakni dalam 60 jam. Enzim ini jauh lebih efisien dibanding dengan enzim serine protease K yang dihasilkan oleh *Tritirachium album*. Dalam penelitiannya, diteliti juga enzim lipase komersial yang diproduksi oleh *Rhizopus oryzae*, *Burkholderia sp.*, *Penicillium requeforti*, *Mucor javanicus*, *Aspergillus niger*, *Candida rugosa*, dan *Candida antarctica*. Walau begitu, dalam penelitian yang dilakukan oleh Lee *et al* (2012), enzim lipase yang dihasilkan oleh *Candida cylindracea* mampu mengurai PLA sebanyak 5% dalam 21 hari. Hal ini dapat mengindikasikan bahwa masing-masing enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme adalah unik dan tidak dapat disamakan oleh satu mikroorganisme dengan lainnya.

Pada penelitian *Trichoderma viride* oleh Lipsa *et al* (2016), mikroorganisme diujikan terhadap PLA murni dan PLA dengan campuran komposit. Komposit PLA tersebut terdiri dari PLA, *epoxidized soybean oil* (USE) sebagai *plasticizer*, *hidrolyzed collagen* (HC) sebagai makromolekul biologis, Pluronic F-127 (PL) sebagai *compatibilizer*, vitamin E (VE) sebagai antioksidan dan nanopartikel perak (AgNP). Dalam penelitian tersebut, sampel komposit PLA/USE adalah sampel yang paling banyak terurai setelah 21 hari dibanding sampel lainnya. Pada penelitian lain oleh Stoleru *et al* (2017), pengujian penguraian oleh *Phanerochaete chrysosporium* dilakukan terhadap PLA yang telah diberi perlakuan modifikasi aktivasi nitrogen plasma, diberi radiasi sinas gamma, dan dilapisi oleh CHH. Hasilnya menunjukkan bahwa PLA yang telah diberi perlakuan lebih mudah mengalami penguraian daripada PLA murni. Penelitian yang dilakukan oleh Lipsa *et al* (2016) dan Stoleru *et al* (2017) juga membuktikan bahwa komposit PLA dapat diurai lebih cepat daripada PLA murni.

3.2.4. Konsorsium dan *Composting*

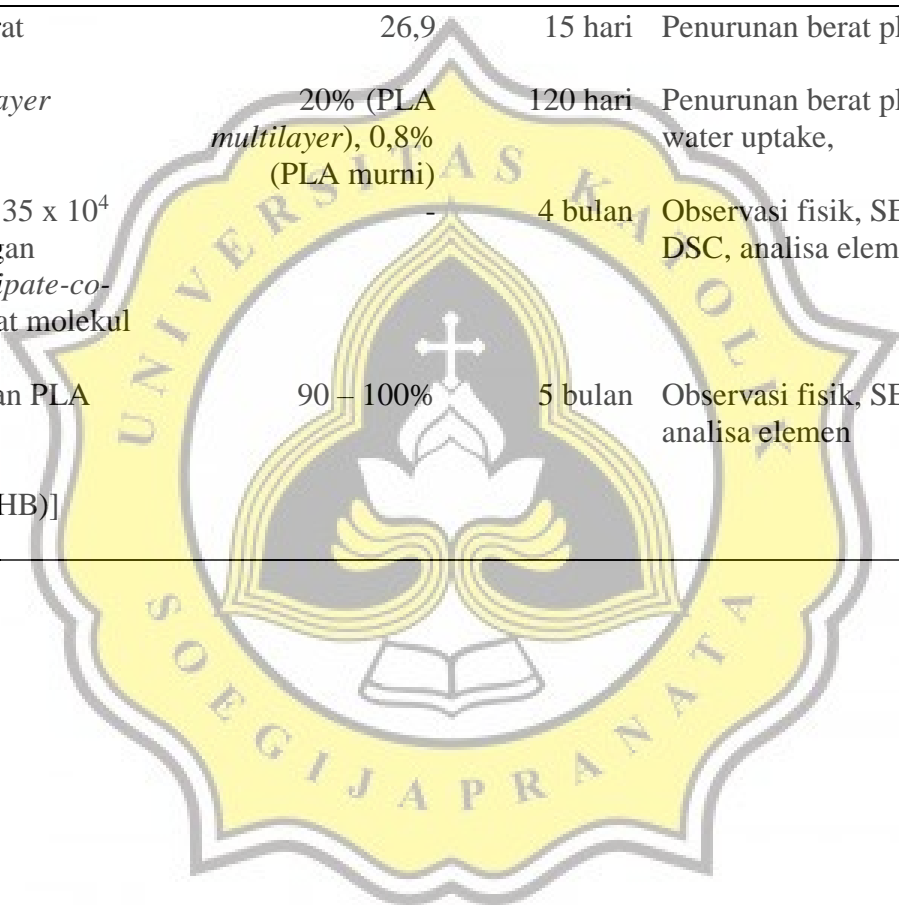
Penelitian penguraian PLA menggunakan mikroorganisme tidak hanya terbatas dalam menggunakan satu isolat murni saja. Di dalam kompos, banyak mikroorganisme yang hidup berdampingan satu dengan lainnya. Walau begitu, tidak jarang karena komposisi kompos dan tanah yang berbeda-beda menyebabkan komposisi mikroorganisme dalam tanah juga berbeda satu dengan lainnya, sehingga dalam metode pengkomposan PLA hasil yang didapat akan berbeda satu dengan lainnya. Akan tetapi, metode penguraian PLA menggunakan konsorsium mikroorganisme yang dilakukan oleh Nair *et al* (2015) membuktikan bahwa penguraian PLA menggunakan konsorsium mikroorganisme dapat mempercepat proses penguraian PLA.

Composting adalah metode penguraian dengan cara penguburan dalam kompos atau tanah. Dalam pengomposan, banyak mikroorganisme yang tidak diketahui seperti jamur, *actinomyces*, bakteri, dan protozoa alami yang hidup berdampingan dan mungkin dapat bersinergi satu dengan lainnya pada proses penguraian. Kondisi tersebut dianggap dapat mencerminkan situasi *biodegradation* dalam lingkungan alami seperti *aerobic landfilling* (Martucci & Ruseckaite, 2015). Rangkuman penelitian penguraian PLA dengan metode konsorsium dan pengomposan dapat dilihat pada Tabel 4.



Tabel 4. Rangkuman Penelitian Penguraian PLA dengan Konsorsium dan *Composting*

No	Sampel	Sampel terurai (%)	Lama terurai	Metode pengukuran	Sumber referensi
1	Film PLA (tebal 20 μm , berat molekul 85.000 – 160.000)	26,9	15 hari	Penurunan berat plastik	(Nair <i>et al.</i> , 2015)
2	PLA murni dan PLA <i>multilayer</i> (PLA, gelatin, dan gliserol)	20% (PLA <i>multilayer</i>), 0,8% (PLA murni)	120 hari	Penurunan berat plastik, water uptake,	(Martucci & Ruseckaite, 2015)
3	PLA 2003D (berat molekul 35×10^4 g/mol) murni dan PLA dengan campuran <i>Poly(butylene adipate-co-terephthalate)</i> (PBAT) (berat molekul $14,2 \times 10^4$ g/mol)	-	4 bulan	Observasi fisik, SEM, FTIR, DSC, analisa elemen	(Weng <i>et al.</i> , 2013a)
4	PLA murni (M_n 11×10^4) dan PLA dengan campuran <i>Poly(3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate)</i> [P(3HB,4HB)] dengan rasio berbeda	90 – 100%	5 bulan	Observasi fisik, SEM, FTIR, analisa elemen	(Weng <i>et al.</i> , 2013b)



Penelitian Nair *et al* (2015) secara lebih lengkap dapat dilihat pada Tabel 5 pada bagian Lampiran 1. Penelitian yang dilakukan oleh Nair *et al* (2015), digunakan mikroorganisme berupa *Rhodotorula mucilaginosa*, *Cladosporium sphaerospermum*, *Penicillium chrysogenum*, dan *Serratia marcescens*. Jenis mikroorganisme tersebut adalah 3 kapang dan 1 bakteri. Penelitian tersebut meneliti efek penguraian PLA menggunakan konsorsium yang terdiri atas 3 dan 4 bakteri. Pada Tabel 5. dapat dilihat bahwa penguraian menggunakan satu jenis mikroorganisme saja tidak menghasilkan efek yang signifikan, tetapi hasil dari penguraian menggunakan konsorsium bakteri menjadi lebih signifikan. Walau begitu, metode ini tidak dapat dilakukan dengan mudah karena sifat mikroorganisme yang berbeda antar satu dengan lainnya dapat membuat konsorsium mikroorganisme tidak bekerja dengan optimal. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Nair *et al.* (2015), *biocompatibility* dari *strain* mikroorganisme yang digunakan telah diuji terlebih dahulu menggunakan metode *cross streak* dan *parallel streak*, sehingga diketahui bahwa mikroorganisme yang digunakan memiliki sinergi yang baik antar satu dengan lainnya.

Persebaran mikroorganisme pengurai PLA secara alami bersifat terbatas dan jarang ditemui (Tokiwa & Jarerat, 2004). Pada Tabel 4 rangkuman penelitian menunjukkan bahwa PLA lebih sulit untuk diurai dalam proses *composting* dibandingkan P(3HB,4HB), tetapi lebih mudah diurai daripada PBAT. Pada penelitian Weng *et al.* (2013b), percobaan pengomposan dilakukan selama 5 bulan di kedalaman 20 cm dan 40 cm. Seperti yang dapat dilihat pada Gambar 4 dan Gambar 5, selama 5 bulan, PLA lebih sukar terurai daripada P(3HB,4HB) dan campuran PLA dengan P(3HB,4HB). Tetapi, pada penelitian Weng *et al.* (2013a), penguraian PLA lebih cepat dibanding PBAT murni dan campuran PLA/PBAT. Walau begitu, PBAT murni lebih cepat terurai daripada campuran PLA/PBAT.

Berdasarkan penelitian oleh Weng, Jin, *et al* (2013) dan Weng, Wang, *et al* (2013) dilakukan analisa elemen untuk mengetahui konsentrasi atom C, H, dan O dari plastik yang diujikan. Pengukuran konsentrasi atom menunjukkan hasil yang sama pada kedua penelitian tersebut. Konsentrasi atom C dan H pada plastik yang terukur menurun

sedangkan konsentrasi atom O meningkat. Hasil ini menandakan bahwa proses depolimerisasi PLA telah terjadi dan terdapat molekul pembentuk plastik yang terurai, mengakibatkan rantai polimer pada plastik terputus. Pada Gambar 2, dapat dilihat bahwa monomer pembentuk PLA terdiri sebagian besar atas atom C dan H, sedangkan atom O hanya sedikit. Terurainya PLA dapat ditandai dengan berubahnya konsentrasi atomik pada PLA, dimana atom C dan H yang sebagian besar membentuk PLA berkurang banyak, tetapi atom O hanya sedikit berkurang sehingga terjadi perubahan konsentrasi atom.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Martucci & Ruseckaite (2013), PLA murni dan PLA dengan lapisan gelatin dan gliserol diujikan dalam proses *composting*. Hasilnya menunjukkan bahwa penguraian PLA *multilayer* berlapis gelatin dan gliserol lebih cepat dibanding PLA murni. Hal ini dapat dikarenakan adanya gelatin yang merupakan *inducer* atau pemicu bagi mikroorganisme untuk memproduksi enzim depolimerase PLA (Qi *et al.*, 2017), sehingga dengan adanya gelatin, proses penguraian PLA menjadi lebih cepat.

Rangkuman penelitian tentang *composting* pada Tabel 4, dapat mengindikasikan bahwa bergantung pada campuran atau kemurnian PLA, laju penguraian PLA bisa menjadi lebih cepat ataupun lebih lambat. Sebagai contoh, campuran PLA/PBAT memperlambat laju penguraian plastik, tetapi campuran PLA dengan P(3HB,4HB) dapat mempercepat penguraian. Selain itu, dapat dilihat bahwa penelitian penguraian PLA menggunakan cara *composting* memakan waktu yang lebih lama. Hal ini dapat mengindikasikan bahwa penguraian dengan metode *composting* menghasilkan laju penguraian PLA yang lebih buruk daripada penelitian yang dilakukan di laboratorium. Walau begitu, penelitian tentang *composting* menunjukkan hasil yang lebih mendekati kenyataan di lapangan daripada penelitian yang dilakukan dalam laboratorium. Selain itu, metode penguraian yang pada umumnya digunakan dalam lapangan adalah metode *composting* dengan skala besar seperti *landfilling* karena biaya proses *biodegradation* dengan menggunakan peralatan lab dalam kondisi terkontrol akan memakan biaya yang jauh lebih besar daripada pengkomposan biasa.