

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Aktivitas sehari – hari manusia tidak terlepas dari penggunaan plastik yang banyak digunakan sebagai bahan utama berbagai produk seperti botol minum, alat makan, kantong pembungkus, sikat gigi, mainan anak – anak, dan masih banyak lagi (Dewi dkk, 2019). Penggunaan plastik dalam jumlah besar tanpa disertai dengan pengolahan yang tepat akan berakibat pada dihasilkannya sampah plastik dalam jumlah yang berlebihan. Berdasarkan data yang diperoleh dari Asosiasi Industri Plastik Indonesia (INAPLAS) dan Badan Pusat Statistik (BPS), Indonesia menghasilkan sampah plastik sebanyak 64 juta ton per tahun dengan sekitar 3,2 juta ton diantaranya dibuang ke laut (Priliantini dkk., 2020). Akumulasi sampah plastik global berjumlah sekitar 9 hingga 23 juta metrik ton dibuang ke sungai, danau, dan lautan serta sekitar 13 hingga 25 juta metrik ton dibuang ke lingkungan darat pada tahun 2016 (Macleod dkk., 2021).

Pencemaran sampah plastik baik di daratan maupun di perairan berdampak negatif terhadap lingkungan dan makhluk hidup di sekitarnya. Sampah plastik membutuhkan waktu sekitar 80 – 100 tahun untuk dapat terurai sehingga cenderung membentuk timbunan di tanah. Timbunan sampah plastik dapat merusak struktur permukaan tanah dan menimbulkan bau tidak sedap yang mengganggu kesehatan dan aktivitas masyarakat (Astriani dkk., 2020). Sebagian besar plastik tidak terurai secara sempurna melainkan terpecah

menjadi bagian kecil berupa mikroplastik (1 mm – 5 mm) dan nanoplastik (<1 mm) yang tersebar di berbagai lingkungan. Mikroplastik dan nanoplastik ditemukan pada zooplankton dan fitoplankton yang kemudian dikonsumsi oleh organisme pada tingkatan atas sehingga terakumulasi dalam rantai makanan. Berdasarkan penelitian *in vitro*, mikroplastik yang terdapat dalam jumlah besar di tubuh manusia dapat menginduksi stres oksidatif, sitotoksitas, perubahan integritas membran, dan variasi dalam ekspresi gen (Urbanek dkk., 2021).

Salah satu jenis sampah plastik yang paling banyak ditemukan mencemari lingkungan yaitu sampah plastik *polyethylene terephthalate* (PET). Plastik PET memiliki sifat transparan, tidak beracun, dan tidak memengaruhi rasa produk. Plastik PET juga memiliki kekuatan mekanik yang tinggi dan ketahanan kimia serta stabilitas termal yang sangat baik (Okatama, 2016). Karakteristik yang dimiliki plastik PET menyebabkan plastik PET banyak digunakan untuk pembuatan botol minuman, serat tekstil, wadah makanan, dan beragam produk lain yang mengarah pada tingginya angka produksi dimana diperkirakan bahwa pada tahun 2022 produksi plastik PET mencapai 87,16 ton (Urbanek dkk., 2021). Tingginya angka produksi menyebabkan banyaknya limbah PET yang dihasilkan dimana plastik PET menyumbang sekitar 12% limbah dari total limbah padat secara global (Benyathiar dkk., 2022).

Beberapa permasalahan mengenai pencemaran sampah plastik PET telah dicoba diselesaikan melalui proses daur ulang. Daur ulang plastik PET umumnya dilakukan dengan metode kimia melalui proses glikolisis dan metode mekanik melalui proses ekstrusi. Metode mekanik dan kimia memiliki

beberapa keterbatasan seperti terjadinya degradasi spontan pada PET baru yang diperoleh dari proses ekstrusi ulang dan dibutuhkan suhu tinggi (150 – 300°C) serta katalis (cairan berbahan dasar logam, organik, atau ionik) dalam proses glikolisis yang cenderung mahal dan berdampak negatif terhadap lingkungan (Urbanek dkk., 2021). Keterbatasan metode mekanik dan kimia mendorong penggunaan metode lain, salah satunya yaitu metode biologis yang memanfaatkan mikroorganisme untuk mendegradasi plastik.

Pengembangan metode biologis dengan memanfaatkan mikroorganisme pendegradasi plastik diawali dari penemuan bakteri *Ideonella sakaiensis* (*I. sakaiensis*) 201-F6 oleh Yoshida, dkk. pada tahun 2016. Bakteri *I. sakaiensis* diketahui mampu mendegradasi plastik PET dengan menggunakan enzim pendegradasi plastik berupa PET hidrolase (PETase) dan mono-(2-hidroksietil) tereftalat hidrolase (MHETase) (Urbanek dkk., 2021). Enzim PETase dan MHETase akan bekerja secara sinergis untuk mengurai PET menjadi senyawa yang lebih sederhana melalui dua tahap. Enzim PETase akan mengubah PET menjadi mono(2-hidroksietil) tereftalat (MHET) dengan mengeluarkan sejumlah kecil asam tereftalat (TPA) dan bis(2-hidroksietil) tereftalat (BHET) sebagai produk sekunder. Enzim MHETase selanjutnya akan mengubah MHET menjadi dua monomernya berupa TPA dan etilen glikol (EG) (Austin dkk., 2018).

Pengembangan enzim pendegradasi plastik terutama MHETase telah banyak dilakukan dimana sebagian besar penelitian berfokus pada modifikasi asam amino yang menghasilkan MHETase varian mutan (Urbanek dkk., 2021).

Kemajuan teknologi di bidang biologi mendorong adanya inovasi baru, salah satunya yaitu penambangan data metagenomik. Metagenomik didefinisikan sebagai ilmu yang mempelajari dan menganalisis genom dari komunitas mikroba di lingkungan tanpa dikulturkan terlebih dahulu (Prayogo dkk., 2020). Informasi yang diperoleh dari berbagai sumber ekologi dapat disusun untuk membuat perpustakaan metagenomik. Perpustakaan metagenomik yang terbentuk dapat digunakan untuk memperoleh informasi mengenai gugus gen pengkode enzim yang bekerja secara sinergis pada substrat alami yang sama. Penggunaan perpustakaan metagenomik juga memungkinkan penemuan gugus gen kompleks pengkode produk alami yang memiliki aktivitas enzimatik (Berini dkk., 2017). Penambangan data yang dilakukan melalui perpustakaan metagenomik mampu memperoleh sekuens gen tertentu yang berpotensi untuk mengekspresikan enzim yang diinginkan, salah satunya gen putatif MHETase yang diduga mampu mengekspresikan enzim MHETase yang fungsional.

Penelitian mengenai kemampuan gen putatif MHETase dalam memproduksi MHETase yang mampu mendegradasi MHET telah dilakukan oleh Meyer-Cifuentes, dkk. (2021) menggunakan enzim MHETase-like 046 (Mle046). Enzim Mle046 diidentifikasi dari konsorsium mikroba laut dimana susunan proteinnya memiliki kemiripan dengan susunan protein *Ideonella sakaiensis* MHETase (IsMHetase) dengan tingkat kemiripan sebesar 46.9%. Enzim Mle046 mampu mengekspresikan MHETase dan mendegradasi MHET menjadi TPA dan EG pada suhu antara 20 – 40°C dengan kisaran pH 6.5 hingga

9. Keberhasilan penelitian enzim Mle046 membuka jalan untuk melakukan penelitian terhadap gen putatif MHETase lain.

Pusat Riset Rekayasa Genetika, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) berhasil memperoleh gen putatif MHETase melalui penambangan data metagenomik. Penelitian yang dilakukan dalam penyusunan skripsi menggunakan gen putatif MHETase yang diperoleh oleh Pusat Riset Rekayasa Genetika dengan tujuan untuk mengamati ekspresi gen putatif MHETase dan kemampuannya dalam mendegradasi senyawa MHET menjadi monomernya berupa TPA dan EG melalui uji Bradford, uji Esterase, uji Sodium Dodesil Sulfat – Poliakrilamid Gel Elektroforesis (SDS PAGE), dan uji *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC).

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang diatas, rumusan masalah yang perlu dikaji meliputi:

- 1.2.1 Apakah gen putatif MHETase dapat mengekspresikan MHETase?
- 1.2.2 Bagaimana kemampuan MHETase yang dihasilkan oleh gen putatif MHETase dalam mendegradasi MHET?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang disebutkan sebelumnya, penelitian yang dilakukan bertujuan untuk:

- 1.3.1 Mengetahui apakah gen putatif MHETase dapat mengekspresikan MHETase.

1.3.2 Mengetahui kemampuan MHETase yang dihasilkan oleh gen putatif MHETase dalam mendegradasi MHET.

1.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat penelitian yang diperoleh dari penulisan karya ilmiah skripsi meliputi:

1.4.1 Manfaat Teoritis

Penelitian mengenai enzim MHET dari gen putatif MHETase diharapkan dapat menambah informasi mengenai enzim pendegradasi plastik, khususnya gen putatif MHETase dan kemampuannya dalam mendegradasi MHETase. Penelitian mengenai enzim MHET dari gen putatif MHETase juga diharapkan dapat menjadi referensi atau acuan bagi penelitian selanjutnya.

1.4.2 Manfaat Praktis

Penelitian mengenai enzim MHET dari gen putatif MHETase diharapkan mampu memberikan pengetahuan mengenai enzim pendegradasi plastik yang digunakan sebagai pertimbangan dalam memecahkan permasalahan lingkungan terutama mengenai pencemaran sampah plastik.