

## DAFTAR ISI

Halaman Judul.....	i
Lembar Pengesahan.....	ii
Panitia Ujian Disertasi Tahap 1 (Ujian Tertutup) .....	iii
Daftar Isi.....	iv
Prakata.....	vi
Ucapan Terima Kasih .....	vii
Daftar Gambar.....	viii
Daftar Tabel .....	x
Daftar Lampiran .....	xi
Abstrak .....	xii
Abstract .....	xiii
BAB I PENDAHULUAN .....	1
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	5
1.3. Tujuan Penelitian.....	6
1.4. Manfaat Penelitian .....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	8
2.1. Plastik Polietilen dan Permasalahannya.....	8
2.2. Degradasi Polietilen .....	9
2.3. Peranan Biofilm dan Hidrofobin dalam Degradasi Polietilen .....	14
2.4. Enzim yang Berperan dalam Degradasi Polietilen .....	16
2.5. Analisis Degradasi Polietilen .....	18
2.6. Fungi Pendegradasi Polietilen .....	19
2.7. Karakterisasi Fungi .....	21
2.8. Analisis Data Bioinformatika.....	24
BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS .....	26
3.1. Kerangka Konsep.....	26
3.2. Hipotesis Penelitian.....	27
BAB IV METODE PENELITIAN.....	29
4.1. Penelitian Tahap Pertama: Uji Potensi dan Identifikasi.....	29
4.1.1. Uji kemampuan mendegradasi alkana.....	29
4.1.2. Karakterisasi fenotipik.....	29
4.1.3. Karakterisasi genotipik.....	30
4.1.4. Uji produksi hidrofobin .....	32
4.2. Penelitian Tahap Kedua : Optimasi Degradasi HDPE .....	33
4.2.1. Penentuan usia starter .....	33
4.2.2. Preparasi substrat .....	33
4.2.3. Optimasi media.....	33
4.2.4. Optimasi pH dan suhu .....	34
4.2.5. Optimasi konsentrasi substrat.....	34
4.2.6. Pengukuran nilai degradasi .....	34
4.3. Penelitian Tahap Ketiga: Karakterisasi Enzim .....	35
4.3.1. Produksi enzim .....	35
4.3.2. Ekstraksi enzim .....	35
4.3.3. Analisis gas kromatografi (GC-MS) .....	35
4.3.4. Berat molekul enzim .....	36
4.3.5. Substrat spesifik enzim.....	36

	4.3.6. Karakterisasi enzim terhadap pH dan suhu .....	36
	4.3.7. Pengukuran aktivitas enzim alkana hidroksilase.....	37
	4.4. Analisis Data .....	38
	4.5. Bagan Alir Penelitian .....	39
BAB V	HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN .....	40
	5.1. Tahap 1: Uji Potensi dan Identifikasi .....	40
	5.1.1. Potensi isolat fungi mangrove dalam mendegradasi alkana .....	40
	5.1.2. Karakterisasi fenotipik .....	43
	5.1.3. Karakterisasi genotipik .....	46
	5.1.4. Potensi menghasilkan hidrofobin .....	50
	5.2. Tahap 2: Optimasi Degradasi Plastik Sintetis HDPE .....	55
	5.2.1. Potensi isolat dalam mendegradasi HDPE .....	55
	5.2.2. Optimasi medium untuk degradasi plastik sintetis HDPE ....	59
	5.2.3. Optimasi pH untuk degradasi plastik sintetis HDPE .....	64
	5.2.4. Optimasi suhu pada degradasi plastik sintetis HDPE .....	68
	5.2.5. Optimasi konsentrasi substrat pada degradasi plastik sintetis HDPE .....	72
	5.3. Tahap 3: Karakterisasi Alkana Hidroksilase .....	80
	5.3.1. Karakterisasi berat molekul alkana hidroksilase .....	81
	5.3.2. Aktivitas enzim pada substrat spesifik .....	82
	5.3.3. Karakterisasi suhu .....	83
	5.3.4. Karakterisasi pH .....	85
	5.4. Mekanisme biodegradasi HDPE .....	88
	5.5. Ringkasan Pembahasan .....	92
BAB VI	KESIMPULAN DAN SARAN .....	98
	6.1. Kesimpulan .....	98
	6.2. Saran .....	99
	DAFTAR PUSTAKA .....	100
	LAMPIRAN	

## PRAKATA

Segala puji penulis sampaikan kehadiran Allah Subhanahu wa ta'ala, karena dengan rahmatNya, penulisan disertasi dengan judul “BIODEGRADASI *HIGH DENSITY POLYETHYLENE* (HDPE) OLEH FUNGI MANGROVE WONOREJO” dapat diselesaikan sebagai prasyarat dalam menempuh program studi Doktor Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Fakultas Sains dan Teknologi, di Universitas Airlangga. Penyusunan disertasi ini di bawah bimbingan Dr. Ni'matuzahroh sebagai promotor (Universitas Airlangga), dan Prof. Dr. Ni Nyoman Tri Puspaningsih, M.Si. sebagai ko-promotor (Universitas Airlangga).

Besar harapan penulis bahwa hasil penelitian ini dapat memberikan kontribusi dalam mengatasi masalah limbah plastik dengan mendapatkan jenis fungi dari daerah mangrove Wonorejo - Surabaya, yang mampu mendegradasi plastik HDPE. Serta mengetahui kondisi optimum proses biodegradasi dan mekanismenya, sebagai kebaruan dalam disertasi ini.

Penelitian disertasi ini, sebagian dibiayai oleh Dana Bantuan Penelitian Disertasi LPDP tahun 2018, dan sebagian hasil penelitian telah diterbitkan pada Jurnal *Biodiversitas* volume 20 no 3 bulan Maret 2019 serta pada *Asian Journal of Water, Environment and Pollution* volume 17 no 3 bulan Juni 2020. Sekuen dari ketiga isolat fungi terpilih, yaitu *Trametes polyzona* LM 1020, *Aspergillus terreus* LM 1021 dan *Aspergillus tamarii* LM 3010, juga telah didaftarkan pada repositori sekuen GenBank dengan nomor akses berturut-turut adalah MN341223, MN386226 dan MN341224.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan yang terdapat dalam disertasi ini. Masukan dan saran yang membangun, sangat kami harapkan untuk perbaikannya.

Surabaya, 6 Desember 2020

Penulis

## UCAPAN TERIMA KASIH

Sehubungan dengan selesainya disertasi yang berjudul *Biodegradasi High Density Polyethylene (HDPE) oleh Fungi Mangrove Wonorejo*, kami ucapkan terimakasih kepada:

1. Dr. Ni'matuzahroh, dan Prof. Dr. Ni Nyoman Tri Puspaningsih, M.Si. sebagai promotor dan ko-promotor yang telah meluangkan waktunya dengan kesabaran untuk membimbing dan memberikan saran-saran yang berharga dalam penulisan disertasi ini.
  2. Tim penguji semua tahap disertasi, mulai dari ujian Kualifikasi, Proposal, Kelayakan, hingga ujian Tertutup.
  3. Rektor Universitas Airlangga dan Dekan Fakultas Sains dan Teknologi, yang memfasilitasi kami menempuh jenjang S3 di program studi S3-MIPA.
  4. Lembaga Pengelola Dana Pendidikan (LPDP) Departemen Keuangan dan RISTEKDIKTI melalui Beasiswa BUDI-DN, yang telah mengalokasikan bantuan dana pendidikan dan penelitian selama kami studi S3 di Universitas Airlangga, Surabaya.
  5. Ketua Departemen Biologi, Dr. Dewi Hidayati, S.Si., M.Si., Dekan Fakultas Sains dan Analitika Data, Prof. Hamzah Fansuri, S.Si., M.Si., Ph.D. serta Rektor Institut Teknologi Sepuluh Nopember Prof. Ir. Joni Hermana, M.Sc.Es. Ph.D. (Periode 2015-2019) dan Prof. Dr. Ir. Mochamad Ashari, M.Eng. (periode 2019-2024) yang telah memberikan kesempatan kepada kami untuk menempuh program doktor di Universitas Airlangga.
  6. Semua dosen pengajar Program Studi S3 MIPA di Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga yang telah berbagi ilmu sehingga memperluas wawasan peneliti.
  7. Dr. rer.nat. Maya Shovitri, M.Si., sebagai satu tim riset Biodidegra bersama Prof. Dr. Dra. Enny Zulaika, MP. dan Nur Hidayatul Alami, S.Si., M.Si, yang banyak memberi saran serta menjadi rekan diskusi selama penelitian dan penulisan disertasi ini, selain sebagai penguji proposal dan sidang tertutup.
  8. Dr.Ali Rohman, M.Si., Ph.D dan Dr. Drs. Handoko Darmokoesoemo, DEA dari Departemen Kimia FST Unair, atas kursus singkatnya mengenai cara mengolah data sekuen DNA dan analisis GCMS.
  9. Dr.rer.nat. Edwin Setiawan, S.Si., M.Sc. dan Dr. techn. Endry Nugroho Prasetyo, S.Si., MT. atas pengajarannya mengenai sistematik organisme dan analisis enzim.
  10. Mantan mahasiswa kami: Alfia R Rahmawati, S.Si., M.Si., Ulin Maulida, S.Si., Nurul Syamsi, S.Si., Syeila Rahmasuha, S.Si., Riva Ariny Elhaque, S.Si., Sally Kurnia Sugianto, S.Si., dan Ainul Mahbubilla, S.Si., M.Si., atas bantuan dan inovasi-inovasi di laboratorium selama penelitian.
  11. Bu Isna, pak Arif, bu Anita, pak Amin, bu Tutik, bu Lita dan semua rekan-rekan sejawat dari Program Studi S3-MIPA angkatan 2016 dan 2015 yang telah memberikan semangat, dorongan dan inspirasi selama menempuh studi.
  12. Kedua orang tua yang telah berpulang, yang membuat kami memiliki semangat untuk menempuh program pendidikan lebih lanjut.
  13. Suami, mas Aunurohim, S.Si., DEA. atas suport lahir dan batin serta keridhoannya sehingga kami dapat menjalankan dan menyelesaikan program doktor ini.
  14. Bapak Ir. Sutrisno dan anak-anakku: Auditya Maulana Adnan dan Annisaa Aulia Maharani, terima kasih telah menjadi penguat niat selama menempuh studi.
  15. Semua pihak yang tidak dapat kami sebut satu persatu atas semua bantuannya.
- Semoga semua amal baiknya tercatat sebagai amal sholih dan mendapat balasan dari Allah subhanahu wa ta'ala.

Surabaya, 6 Desember 2020  
Peneliti

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Mekanisme biodegradasi polietilen .....	12
Gambar 2.2.	Kemungkinan mekanisme biodegradasi setelah terjadinya degradasi abiotik pada polimer .....	14
Gambar 2.3.	Skema pembentukan biofilm di permukaan polimer .....	15
Gambar 2.4.	Strategi pertumbuhan fungi pada polimer .....	17
Gambar 2.5.	Pengamatan biodegradasi polimer .....	19
Gambar 2.6.	Teknik yang digunakan untuk karakterisasi produk degradasi.....	19
Gambar 2.7.	Diagram lokasi primer pada ribosomal yang terdiri dari SSU, ITS1, 5.8 S, ITS2, and LSU rDNA .....	23
Gambar 3.1.	Kerangka konsep penelitian .....	28
Gambar 4.1.	Alur Penelitian yang dilakukan.....	39
Gambar 5.1.	Rasio pertumbuhan koloni fungi dari daerah mangrove pada medium MSM/MSM-HXD hari ke 7 yang menggambarkan potensi isolat fungi dalam mendegradasi heksadekana.....	41
Gambar 5.2.	Pertumbuhan isolat LM 1020 (A), LM 1021 (B) dan LM 3010 (C) pada medium MSM dan medium MSM + HXD selama inkubasi tujuh hari pada suhu ruang.....	42
Gambar 5.3.	Karakter fenotipik dari tiga isolat fungi yang terpilih pada medium <i>Potato Dextrose Agar</i> (PDA) usia 7 hari, secara makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan mikroskopis dengan perbesaran 100 x....	43
Gambar 5.4.	Hasil amplifikasi area <i>Internal Transcribes Spacer</i> (ITS) rDNA dengan menggunakan primer ITS1 /ITS4.....	47
Gambar 5.5.	Analisis Filogenetik dari Isolat fungi mangrove Wonorejo.....	49
Gambar 5.6.	Hasil <i>Oil Displacement Test</i> (ODT).....	51
Gambar 5.7.	Zona bening yang terbentuk antar lapisan minyak dan air pada uji potensi isolat fungi dalam menghasilkan hidrofobin dengan metode <i>Oil Displacement Test</i> (ODT) .....	52
Gambar 5.8.	Hasil uji potensi isolat dalam menghasilkan hidrofobin menggunakan metode Aktivitas Tegangan Permukaan (ATP).....	52
Gambar 5.9.	Uji Emulsi pada tiga isolat terpilih.....	54
Gambar 5.10.	Hasil uji potensi isolat dalam menghasilkan hidrofobin menggunakan metode Kapasitas Emulsifikasi.....	54
Gambar 5.11.	Potensi tiga isolat fungi terpilih (LM 1020, LM 1021 dan LM 3010) dalam mendegradasi plastik HDPE selama 14 hari.....	56
Gambar 5.12.	Biomassa fungi LM 1020, LM 1021 dan LM 3010 yang dihasilkan setelah 30 hari inkubasi pada suhu 30 °C dengan variasi jenis medium yang mengandung HDPE.....	60
Gambar 5.13.	Aktivitas enzim alkana hidroksilase dari tiga isolat fungi LM 1020, LM 1021 dan LM 3010 setelah inkubasi 30 hari pada suhu kamar, dengan variasi jenis medium yang mengandung HDPE.....	62
Gambar 5.14.	Efisiensi degradasi HDPE dari tiga isolat fungi LM 1020, LM 1021 dan LM 3010 pada hari inkubasi ke-30, dengan variasi jenis medium.....	63

Gambar 5.15.	Biomassa tiga isolat fungi terpilih, LM 1020, LM 2021 dan LM 3010 pada medium BM, temperatur 30 °C, setelah inkubasi 30 hari dengan variasi pH.....	65
Gambar 5.16.	Aktivitas enzim alkana hidroksilase tiga isolat fungi LM 1020, LM 1021, dan LM 3010 dengan variasi pH pada medium BM ( <i>Basal Medium</i> ), suhu 30 °C setelah 30 hari inkubasi.....	67
Gambar 5.17.	Efisiensi degradasi HDPE tiga isolat fungi LM 1020, LM 1021, dan LM 3010 dengan variasi pH pada medium BM ( <i>Basal Medium</i> ), suhu 30 °C setelah 30 hari inkubasi.....	67
Gambar 5.18.	Biomassa tiga isolat fungi LM 1020, LM 1021, dan LM 3010 pada medium BM ( <i>Basal Medium</i> ), pH 7, setelah 30 hari inkubasi dengan variasi suhu inkubasi.....	69
Gambar 5.19.	Aktivitas enzim alkana hidroksilase tiga isolat fungi LM 1020, LM 1021, dan LM 3010 pada medium BM ( <i>Basal Medium</i> ), pH 7, setelah 30 hari dengan variasi suhu inkubasi.....	70
Gambar 5.20.	Efisiensi degradasi plastik HDPE tiga isolat fungi LM 1020, LM 1021, dan LM 3010 pada medium BM ( <i>Basal Medium</i> ), pH 7, setelah 30 hari inkubasi dengan variasi suhu inkubasi .....	71
Gambar 5.21.	Biomassa tiga isolat fungi LM 1020, LM 1021 dan LM 3010 pada medium MSM, suhu 30 °C, pH 7 setelah 30 hari inkubasi dengan variasi konsentrasi substrat.....	73
Gambar 5.22.	Aktivitas enzim alkana hidroksilase dari isolat fungi LM 1020, LM 1021 dan LM 3010 pada medium MSM, suhu 30 °C, pH 7 setelah inkubasi 30 hari dengan variasi konsentrasi substrat.....	74
Gambar 5.23.	Efisiensi degradasi plastik HDPE tiga isolat fungi LM 1020, LM 1021 dan LM 3010 pada medium MSM, suhu 30 °C, pH 7 setelah inkubasi 30 hari, dengan variasi konsentrasi substrat.....	75
Gambar 5.24.	Spektrum FTIR untuk plastik HDPE kontrol dan perlakuan dengan isolat LM 3010 pada skala bilangan gelombang 400-4000 cm <sup>-1</sup> .....	78
Gambar 5.25.	Hasil Scanning Electron Microscope (SEM).....	80
Gambar 5.26.	Hasil karakterisasi protein dengan menggunakan SDS PAGE dari ekstrak kasar, kultur <i>Aspergillus terreus</i> LM 1021.....	81
Gambar 5.27.	Aktivitas Alkana hidroksilase dari kultur isolat <i>Aspergillus terreus</i> LM 1021 pada medium BM pH 7 yang ditambah substrat alkana rantai panjang: heksadekana, eicosan dan parafin. Inkubasi dilakukan 30 hari pada 30 °C.....	82
Gambar 5.28.	Aktivitas enzim alkana hidroksilase dari ekstrak kasar kultur <i>Aspergillus terreus</i> LM 1021 pada rentang suhu 25- 50 °C (A) dan kestabilan enzim pada rentang waktu 5 jam (B) .....	84
Gambar 5.29.	Aktivitas enzim (A) dan aktivitas residu (B) alkana hidroksilase dari ekstrak kasar kultur <i>Aspergillus terreus</i> LM 1021 pada rentang pH 4-10 .....	86
Gambar 5.30.	Profil Kromatografi Gas (A) dan Spektrometri Masa (B-F) (GC-MS) dari proses degradasi HDPE pada medium BM, pH 7, yang diinokulasi dengan isolat fungi <i>A. terreus</i> LM 1021 pada suhu 30 °C selama 30 hari.....	89
Gambar 5.31.	Mekanisme degradasi plastik sintesis <i>High Density Polyethylene</i> (HDPE) oleh fungi yang menghasilkan alkana hidroksilase secara ekstraseluler.....	93

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1.	Faktor-faktor yang mempengaruhi biodegradabilitas polietilen.....	11
Tabel 2.2.	Beberapa jenis fungi yang telah dianalisa kemampuannya dalam mendegradasi HDPE ( <i>High Density Polyethylene</i> ) .....	20
Tabel 4.1.	Komposisi uji aktivitas enzim alkana hidroksilase .....	37
Tabel 5.1.	Karakter morfologi isolat LM 1020, LM 1021 dan LM 3010 .....	44
Tabel 5.2.	Identifikasi isolat LM 1021 dan LM 3010 dengan membandingkan isolat berdasarkan karakter kunci genus <i>Aspergillus</i> .....	45
Tabel 5.3.	Identifikasi fungi isolat LM 1021 dengan metode perbandingan isolat berdasarkan karakter kunci <i>Aspergillus terreus</i> .....	45
Tabel 5.4.	Identifikasi fungi isolat LM 3010 dengan metode perbandingan isolat berdasarkan karakter kunci <i>Aspergillus tamarii</i> .....	46
Tabel 5.5.	Identifikasi isolat fungi secara genotipik.....	48
Tabel 5.6.	Senyawa intermediat dari biodegradasi plastik HDPE oleh fungi <i>Aspergillus terreus</i> LM 1021, hasil identifikasi GC-MS.....	90

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran I	Sekuen nukleotida daerah ITS rDNA dari tiga isolat terpilih.....	110
Lampiran II	Rasio Pertumbuhan Koloni Fungi pada Medium HXD-MSM.....	111
Lampiran III	Anova ODT (Oil Displacement Test).....	113
Lampiran IV	Anova Aktivitas Tegangan Permukaan (ATP) Hidrofobin.....	114
Lampiran V	Anova Uji Kapasitas Emulsifikasi.....	115
Lampiran VI	Anova Pengaruh Medium .....	116
Lampiran VII	Anova Pengaruh pH dan Suhu .....	117
Lampiran VIII	Anova Pengaruh Konsentrasi Substrat .....	122
Lampiran IX	Halaman Daftar Riwayat Hidup .....	125
Lampiran X	Daftar Publikasi.....	127
Lampiran XI	Hasil Publikasi .....	129