

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENGHASIL *Polyhydroxyalkanoate*
(PHA) ASAL LIMBAH PABRIK KELAPA SAWIT KABUPATEN
MOROWALI UTARA**

**DONNY SUHERMAN
H041 17 1512**



**DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENGHASIL *Polyhydroxyalkanoate*
(PHA) ASAL LIMBAH PABRIK KELAPA SAWIT KABUPATEN
MOROWALI UTARA**

SKRIPSI

*Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Hasanuddim*



**DONNY SUHERMAN
H041 17 1512**

**DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENGHASIL *Polyhydroxyalkanoate*
(PHA) ASAL LIMBAH PABRIK KELAPA SAWIT KABUPATEN
MOROWALI UTARA

Disusun dan diajukan oleh

DONNY SUHERMAN

H041 17 1512

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Program Sarjana Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu
Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin
pada tanggal...
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama

Pembimbing Pertama

Dr. Nur Haedar, M.Si
NIP.196801291997022001

Dr. Zaraswati Dwyana, M.Si
NIP. 196512091990082001



Ketua Program Studi,

Dr. Nur Haedar, M.Si
NIP.196801291997022001

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini;

Nama : Donny Suherman
NIM : H041171512
Program Studi : Biologi
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul:

Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Penghasil *Polyhydroxyalkanoate* (PHA) Asal Limbah Pabrik Kelapa Sawit Kabupaten Morowali Utara

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilalihan tulisan orang lain bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut

Makassar, 08 Maret 2021

Yang menyatakan




Donny Suherman

KATA PENGANTAR

Shalom dan Salam Sejahtera bagi kita semua

Segala puji dan syukur penulis panjatkan atas kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, karena hanya dengan kasih dan karunia-Nya yang selalu diberikan kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Penghasil *Polyhydroxyalkanoate* (PHA) Asal Limbah Pabrik Kelapa Sawit Kabupaten Morowali Utara”**. Skripsi ini merupakan salah satu syarat dalam menyelesaikan program pendidikan sarjana (S1) di Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin, Makassar.

Tanpa bantuan, motivasi, dan doa dari berbagai pihak penulis tidak dapat menyelesaikan skripsi ini dengan sebaik-baiknya. Terima kasih tidak terhingga kepada orang tua atas pengorbanannya dalam membimbing dan membesarkan penulis, terima kasih kepada orang tua yang tercinta Bapak Agus Suherman S Paidjo, Ibu Silvia Vegi Samuda dan Mama Margaretha Pamasi semoga jerih payahmu dapat penulis teruskan dengan kesuksesan. Terima kasih juga kepada saudara penulis Alvanya Yostha Paramita, Adelline Putri Meredith dan Glorya Stevi Malisani yang tidak henti-hentinya mendukung dan menyemangati penulis, doa terbaik untuk kalian. Terkhusus kepada Almarhum Kakek dan Nenek penulis yaitu Malisani Samuda, Sulaiman Paidjo dan Mariance Paliomo yang memberikan motivasi, bimbingan dari kecil sehingga penulis dapat tumbuh besar sampai sekarang ini. Penulis yakin beliau telah berada di tempat terbaik di sisi Tuhan Yesus.

Terima kasih sedalam-dalamnya kepada Dr. Nur Haedar, M.Si. selaku pembimbing utama atas bimbingan, arahan, waktu, dan kesabaran yang telah diberikan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini, terima kasih atas segala motivasinya sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan S-1 Biologi dengan baik dan lancar. Terima kasih kepada pembimbing pertama Dr. Zaraswati Dwyana, M.Si atas segala bantuan yang ibu berikan, baik berupa saram, kritik, waktu, pikiran, maupun motivasi yang membantu penulis selama proses penulisan skripsi ini hingga selesai.

Penulis juga mengucapkan banyak terima kasih kepada :

1. Prof. Dr. Dwia Aries Tina P., M.A. selaku Rektor Universitas Hasanuddin (Unhas) beserta Seluruh Staf.
2. Bapak Dr. Eng Amiruddin, M.Sc selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin beserta seluruh staf yang telah membantu penulis dalam hal akademik dan administrasi.
3. Ibu Dr. Nur Haedar, M,Si selaku Ketua Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin terima kasih atas ilmu, motivasi, serta saran kepada penulis.
4. Tim penguji skripsi Ibu Dr. Zohrah Hasim, M.Si. sekaligus merupakan pembimbing akademik penulis dan Bapak Dody Priosambodo, S.Si., M.Si. terima kasih atas bimbingan dan arahan yang telah diberikan kepada penulis dari penulis memulai studi hingga penyusunan skripsi saat ini.
5. Kepada seluruh Dosen Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin yang telah membimbing

dan memberikan ilmunya dengan tulus dan sabar kepada penulis selama proses perkuliahan. Kepada staf dan Pegawai Departemen Biologi yang telah banyak membantu penulis baik dalam menyelesaikan administrasi maupun memberikan dukungan kepada penulis selama ini.

6. Kak Fuad Gani, S.Si, Kak Nenis Sardiani, S.Si dan Kak Heriadi, S.Si., M.Si. yang telah banyak memberi bantuan terhadap penelitian ini, baik ilmu, bimbingan, kritik dan saran yang sangat berharga bagi penulis.
7. Teman penelitian Muhammad Rhofli Nur I dan Masykur yang telah menemani, mendukung dan bekerja sama dalam menyelesaikan penelitian ini.
8. Teman-teman Biologi Angkatan 2017, terima kasih atas kerja sama dan motivasinya selama ini, semoga kesuksesan menghampiri kita semua.
9. Kakak-kakak di Laboratorium Mikrobiologi yaitu kak Syafrian Nur Muhammad, kak Shafira Chairunnisa Erfan Noor, kak Ifka Widya Sari, kak Rihuh Wardhani, kak Muh. Syahdan Aska, Kak Aida Amejiah Annisa Amran, Kak Alma Amalia S dan kak Muhammad Ichsan yang telah banyak membantu penulis dan memberikan semangat selama penelitian ini.
10. Teman-teman ku Hana Meisaria Retno P dan Prasesty yang telah setia memberikan semangat dan menghibur penulis selama penelitian ini.
11. Teman Sepelayanan di GMKI Cabang Makassar Komisariat FMIPA UNHAS selalu menemani dan memberikan semangat serta Doa selama penelitian ini.

Pada akhirnya saya berterima kasih kepada semua pihak yang telah berkontribusi hingga karya tulis ini terselesaikan. Terima Kasih sebesar-besarnya. Semoga Tuhan memberi rahmat dan melindungi kita semua, Aamiin.

Makassar, 08 Maret 2021

Penulis

ABSTRAK

Polyhydroxyalkanoate (PHA) merupakan polimer penyusun plastik *biodegradable* yang disintesis oleh mikroorganisme dari bermacam substrat termasuk asam lemak dan gula. Keberadaan bakteri penghasil PHA di alam, dipengaruhi oleh substrat tempat hidupnya yang banyak mengandung sumber karbon. Salah satu substrat yang banyak mengandung sumber karbon adalah limbah yang berasal dari pabrik pengolahan kelapa sawit. Bakteri penghasil PHA memanfaatkan sumber karbon berlebih di dalam limbah kelapa sawit berupa asam-asam lemak untuk diubah menjadi PHA. Penelitian ini bertujuan mengetahui jenis bakteri yang mampu menghasilkan PHA dari limbah pabrik kelapa sawit serta mengetahui waktu optimum fermentasi yang diperlukan oleh bakteri dalam menghasilkan PHA. Identifikasi bakteri dilakukan menggunakan marka molekuler gen 16S rRNA. Waktu optimum fermentasi dilakukan pada 24, 48 dan 72 jam menggunakan media minimal Ramsay yang di tambahkan minyak sawit 1% dan glukosa 1%. Hasil dari penelitian ini diperoleh dua isolat yang mampu menghasilkan PHA yaitu isolat CPS 3 yang termasuk jenis *Bacillus sp.* strain CL33 dan isolat LPS 2 yang termasuk jenis *Bacillus flexus* strain S5a. Waktu optimum isolat bakteri dalam menghasilkan PHA pada inkubasi 72 jam dengan nilai persentasi PHA sebesar 71,36% untuk isolat CPS 3 dan 2,61% untuk isolat LPS 2.

Kata Kunci: *Polyhydroxyalkanoate*, Plastik *biodegradable*, Minyak Sawit, *Bacillus sp*, *Bacillus flexus*.

ABSTRACT

Polyhydroxyalkanoate (PHA) is a biodegradable plastic constituent polymer that is synthesized by microorganisms from various substrates including fatty acids and sugars. The existence of PHA producing bacteria in nature is built up by the substrate of life which contains a lot of carbon sources. One of the substrate that contains a lot of carbon sources is waste originating from oil palm processing factories. PHA producing bacteria utilize excess carbon sources in palm oil waste in the form of fatty acids to be converted into PHA. This study aims to determine the types of bacteria that are able to produce PHA from palm oil mills and to see the fermentation time required by bacteria to produce PHA. The identification of bacteria was carried out using the 16S rRNA gene molecular marker. The optimal fermentation time was carried out at 24, 48 and 72 hours using Ramsay as a minimum medium added with 1% palm oil and 1% glucose. The results of this study obtained two isolates that were able to produce PHA, namely CPS 3 isolates which belong to the type of *Bacillus sp.* strain CL33 and isolate LPS 2, including the type of *Bacillus flexus* strain S5a. The optimum time for bacterial isolates to produce PHA was at 72 hours incubation with a percentage value of 71.36% PHA for CPS 3 isolates and 2.61% for LPS 2 isolates.

Keywords: Polyhydroxyalkanoate, biodegradable plastic, Palm Oil, *Bacillus sp.*, *Bacillus flexus*.

DAFTAR ISI

SAMPUL	i
HALAMAN SAMPUL	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN	iv
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Manfaat Penelitian	3
I.4 Tujuan Penelitian	3
I.5 Waktu dan Tempat.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
II.1 Tinjauan Umum Plastik.....	5
II.1.1 Plastik <i>Nondegradable</i>	6
II.1.2 Plastik <i>Biodegradable</i>	6
II.2 <i>Polyhydroxyalkanoate</i> (PHA)	9
II.2.1 Karakteristik <i>Polyhydroxyalkanoate</i> (PHA).....	10
II.2.2 Bakteri Penghasil <i>Polyhydroxyalkanoate</i> (PHA)	12
II.2.3 Mekanisme Pembentukan <i>Polyhydroxyalkanoate</i> (PHA) ...	13
II.2.4 Aplikasi <i>Polyhydroxyalkanoate</i> (PHA) sebagai Bioplastik.	14
II.3 Limbah Sawit Sebagai Sumber Inokulum Bakteri Penghasil <i>Polyhydroxyalkanoate</i> (PHA)	15

BAB III METODE PENELITIAN

III.1 Alat	18
III.2 Bahan.....	18
III.3 Metode Kerja.....	18
III.3.1 Tahapan pengambilan sampel	18
III.3.2 Sterilisasi Alat Dan Bahan	19
III.3.3 Pembuatan Medium.....	19
III.3.4 Isolasi Bakteri Penghasil <i>Polyhydroxyalkanoate</i> (PHA) ...	19
III.3.5 Seleksi Bakteri Penghasil <i>Polyhydroxyalkanoate</i> (PHA) ..	20
III.3.6 Pembuatan <i>Stock</i> Bakteri.....	21
III.3.7 Uji Kemampuan Isolat Bakteri Dalam Menghasilkan PHA	21
III.3.8 Ekstraksi <i>Polyhydroxyalkanoate</i> (PHA)	22
III.3.9 Identifikasi Jenis Bakteri Menggunakan Marka Molekuler	23
III.3.10 Analisis Data	26

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

VI.1 Isolasi Bakteri Dari Limbah Pabrik Kelapa Sawit.....	27
VI.2 Seleksi Bakteri Penghasil PHA.....	29
VI.3 Uji Kemampuan Isolat Bakteri dalam menghasilkan PHA	32
VI.3.1 Berat Kering Sel.....	33
VI.3.1 Analisis <i>Polyhydroxyalkanoate</i> (PHA) Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis	35
VI.4 Ekstraksi <i>Polyhydroxyalkanoate</i> (PHA).....	36
VI.5 Identifikasi Jenis Bakteri Penghasil PHA Menggunakan Marka Molekuler	38

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan	43
5.2 Saran.....	43

DAFTAR PUSTAKA	44
-----------------------------	----

LAMPIRAN	51
-----------------------	----

DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
1	Rumus struktur rantai monomer <i>Polyhydroxyalkanoate</i> (PHA)	11
2	Substrat dan mikroorganisme yang dapat mensintesis PHA.....	12
3	Hasil Isolasi Bakteri dari Beberapa Jenis Limbah Pabrik Kelapa Sawit.....	28
4	Hasil Seleksi Isolat Bakteri Penghasil <i>Polyhydroxyalkanoate</i> (PHA) dengan Pewarna <i>Sudan Black</i>	29
5	Hasil BLAST Isolat Bakteri CPS 3 dan LPS 2.....	40

DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
1	Struktur umum <i>Polyhydroxyalkanoate</i>	10
2	Jalur metabolisme sintesis PHA	14
3	Kandungan senyawa utama PHA pada produk dan limbah industri kelapa sawit	16
4	Hasil Pewarnaan Koloni Beberapa Isolat Bakteri Menggunakan Pewarna <i>Sudan black</i>	31
5	Hasil Pengamatan Pewarnaan Sel Bakteri Isolat CPS 3 Menggunakan Mikroskop Cahaya.....	32
6	Histogram Perbandingan Berat Kering Sel (g/mL) pada Tiap Interval Waktu Inkubasi (24, 48, dan 72 jam)	33
7	Histogram Perbandingan Nilai Absorban Asam Krotonoat yang Terbentuk pada Tiap Interval Waktu Inkubasi (24, 48, dan 72 jam)	35
8	Histogram Nilai Konsentrasi <i>Polyhydroxyalkanoate</i> Pada Waktu Inkubasi 72 Jam.....	37
9	Hasil Amplifikasi Gen 15S rRNA dengan Primer 63F dan 1387R dari Isolat Bakteri CPS 3 dan LPS 2 pada 1300 bp.....	39
10	Filogeni Dengan Metode UPGMA Terhadap Isolat CPS 3 dan LPS 2.....	41

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
1	Skema Penelitian.....	51
2	Skema Kerja Isolasi bakteri penghasil PHA.....	52
3	Skema Kerja Seleksi bakteri penghasil PHA.....	53
4	Skema Kerja Kemampuan Isolat Bakteri dalam menghasilkan PHA.....	54
5	Skema Kerja Analisis Berat Kering Sel.....	55
6	Skema Kerja Analisis <i>Polyhydroxyalkanoate</i> (PHA) Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis.....	56
7	Skema Kerja Ekstraksi <i>Polyhydroxyalkanoate</i> (PHA).....	57
8	Skema Kerja Ekstraksi DNA Bakteri	58
9	Skema Kerja Amplifikasi DNA.....	60
10	Skema Kerja Deteksi Produk PCR dengan Elektroforesis..	61
11	Perbandingan Berat Kering Sel (g/mL) pada Interval Waktu Inkubasi 24, 48, dan 72 jam.....	62
12	Perbandingan Nilai Absorbansi (<i>Optical Density</i>) pada Interval Waktu Inkubasi 24, 48, dan 72 jam.....	62
13	Hasil perhitungan ekstraksi <i>Polyhydroxyalkanoate</i> (PHA).....	63
14	Hasil Perhitungan Konsentrasi <i>Polyhydroxyalkanoate</i> (PHA).....	63
15	Tempat Pengambilan Sampel Limbah Pabrik Kelapa Sawit Kabupaten Morowali Utara.....	64
16	Hasil Isolasi bakteri penghasil <i>Polyhydroxyalkanoate</i> (PHA).....	65
17	Pemurnian Bakteri Penghasil <i>Polyhydroxyalkanoate</i>	

	(PHA).....	66
18	Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri Penghasil <i>Polyhydroxyalkanoate</i> (PHA).....	68
19	Pewarnaan <i>Sudan Black</i> pada Koloni Bakteri.....	70
20	Pewarnaan granula PHA pada Sel Bakteri.....	71
21	Stok Bakteri Penghasil PHA.....	72
22	Kemampuan Isolat Bakteri Dalam Menghasilkan PHA.....	72
23	Ekstraksi <i>Polyhydroxyalkanoate</i> (PHA).....	75
24	Identifikasi Jenis Bakteri Menggunakan Marka Molekuler	77
25	Foto Prosedur Prosedur Penelitian.....	85

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Di era modern saat ini, kehidupan manusia tidak lepas dari penggunaan plastik dalam aktivitas sehari-hari. Plastik *nondegradable* yang banyak digunakan oleh manusia, dapat menimbulkan masalah terhadap lingkungan. Plastik jenis ini, banyak terakumulasi di alam dan membutuhkan waktu bertahun-tahun untuk terurai sehingga menjadi sumber pencemaran terbesar di lingkungan. (Haedar *et al.*, 2014; Mozejko-Ciesielska and Kiewisz, 2016; Hopewell *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2019). Salah satu penyebab sulit terurainya plastik *nondegradable* di alam yaitu strukturnya yang terdiri atas polimer sintetik dari beberapa jenis bahan kimia yang berbeda (Klein, 2011).

Bahan baku pembuatan plastik berasal dari minyak bumi dan gas alam. Minyak bumi dan gas alam merupakan sumber daya alam yang tidak terbarukan, sehingga pada proses pembuatan plastik *nondegradable* membutuhkan sumber daya alam yang besar (Hopewell *et al.*, 2008; Yustinah *et al.*, 2019). Polyetilena dan polypropilena merupakan senyawa penyusun plastik *nondegradable*. Kedua senyawa ini berasal dari polimerisasi senyawa etena dan propana yang merupakan turunan dari minyak bumi. Polyetilena dan polypropilena merupakan polimer berantai panjang yang sulit terurai secara alami di alam (Klein, 2011). Berdasarkan hal tersebut, penggunaan plastik *nondegradable* tidak dapat dipertahankan sehingga diperlukan bahan baku plastik yang dapat terdegradasi di alam (Liu *et al.*, 2019; Albuquerque and Malafaia, 2017; Haedar *et al.*, 2014).

Plastik *biodegradable* terus dikembangkan untuk menggantikan penggunaan plastik *nondegradable*. Plastik *biodegradable* pada umumnya diproduksi dari bahan alami dan ramah lingkungan contohnya berasal dari pati sagu dan pati ubi kayu. Plastik *biodegradable* yang berasal dari pati relatif lebih mudah diproduksi dan bahan bakunya lebih mudah diperoleh karena keberadaannya di alam melimpah (Kasmiati *et al.*, 2017). Selain penggunaan bahan alam berupa pati, pembuatan plastik *biodegradable* dapat juga diproduksi secara biologis secara khusus oleh bakteri (Ivanov *et al.*, 2014). Salah satu bahan bioplastik yang dapat digunakan adalah *polyhydroxyalkanoate* (PHA). PHA merupakan produk plastik yang dapat didegradasi oleh mikroorganisme dan ramah lingkungan (Kresnawaty *et al.*, 2014; Ivanov *et al.*, 2014; Castilho *et al.*, 2009).

Polyhydroxyalkanoate (PHA) adalah polimer penyusun plastik *biodegradable* yang dapat terurai dalam yang disintesis oleh mikroorganisme dari bermacam substrat termasuk asam lemak dan gula (Urtuvia *et al.*, 2014). *Polyhydroxyalkanoate* (PHA) merupakan cadangan makanan yang digunakan oleh bakteri ketika kekurangan sumber karbon (Mozejko-Ciesielska and Kiewisz, 2016). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Kumar and Thakur (2017) jenis bakteri yang dapat memproduksi PHA yaitu *Alcaligenes latus*, *Burkholderia sp.*, *Comamonas testosterone*, *Cupriavidus necator*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Thermus thermophilus*.

Tufail *et al* (2017) berhasil menemukan enam jenis isolat bakteri yaitu *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus subtilis*, *Brevibacterium halotolerance*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Stenotrophomonas rhizoposid* yang

mampu menghasilkan PHA yang diisolasi dari minyak goreng bekas. Kemampuan isolat bakteri tersebut dalam menghasilkan *Polyhydroxyalkanoate* (PHA) disebabkan oleh jumlah sumber karbon berlebih berupa asam lemak triasilgliserol yang terdapat dalam minyak goreng bekas (Jiang *et al.*, 2016). Tufail *et al* (2017) menyatakan bahwa isolat *Pseudomonas aeruginosa* mampu menghasilkan PHA sebesar 52,3% dan *Bacillus subtilis* sebesar 38,4% selama pertumbuhannya pada substrat minyak goreng bekas.

Keberadaan bakteri penghasil *Polyhydroxyalkanoate* (PHA) di alam, dipengaruhi oleh substrat tempat hidupnya. Substrat yang mengandung sumber karbon berlebih utamanya mengandung asam-asam lemak menjadi indikator keberadaan bakteri tersebut. Limbah hasil pengolahan minyak sawit dilaporkan mengandung sekitar 0,5-1 % minyak teremulsi (Nursanti, 2013).

Berdasarkan uraian diatas, maka dilakukan penelitian untuk mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri yang berpotensi dalam menghasilkan *Polyhydroxyalkanoate* (PHA) yang berasal dari limbah pabrik kelapa sawit di Kabupaten Morowali Utara.

1.2 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah dapat menjadi sumber informasi ilmiah mengenai jenis bakteri yang mampu menghasilkan *Polyhydroxyalkanoate* (PHA) yang diisolasi dari limbah pabrik kelapa sawit.

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengetahui jenis bakteri yang mampu menghasilkan *Polyhydroxyalkanoate* (PHA) dari limbah pabrik kelapa sawit.

2. Mengetahui waktu optimum fermentasi yang diperlukan oleh bakteri dalam menghasilkan *Polyhydroxyalkanoate* (PHA) dari limbah pabrik kelapa sawit.

1.4 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2020 – Januari 2021 di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar.

Pengambilan sampel limbah kelapa sawit dilakukan di Pabrik Pengolahan Kelapa Sawit yang berada di Daerah Kabupaten Morowali Utara.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II. 1 Tinjauan Umum Plastik

Plastik merupakan produk yang banyak digunakan dari waktu ke waktu karena kebutuhan manusia saat ini. Plastik pertama kali berkembang pada skala industri pada tahun 1940, berkembangnya industri plastik di era saat ini tidak terlepas dari semakin meningkatnya kebutuhan manusia terhadap plastik *nondegradable* sehingga membuat industri plastik terus meningkatkan produktivitas plastik (Hassanpour and Unnisa, 2017). Plastik adalah salah satu bahan kemasan yang telah banyak digunakan namun sulit terdegradasi di alam. Plastik terdiri atas rantai panjang monomer yang saling mengikat satu sama lain dan dicampurkan dengan beberapa bahan kimia lainnya sehingga menghasilkan sifat yang ringan, fleksibel, ringan dan tahan lama. Struktur dasar plastik ditentukan oleh rantai monomernya melalui reaksi kimia, komponen utama yang ada pada plastik terbuat dari 58% bahan pelentur, 3% bahan penguat struktur, 8% FRs, 9% bahan pengering, 12% pewarna, dan 7% bahan lainnya (Hassanpour and Unnisa, 2017; Kamsiati *et al.*, 2017; Klein, 2011).

Industri plastik terus berkembang dan inovasi, hal ini menyebabkan peningkatan produksi plastik secara global mencapai 230 dan 299 MT masing – masing pada tahun 2009 dan 2013, mengalami kenaikan hingga 3,9% dari tahun 2012. 90% plastik yang dihasilkan oleh perindustrian plastik yaitu produk LDPE (*Low density polyethylene*), HDPE (*High density polyethylene*), PP

(*Polypropylene*), PVC (*Polyvinylchloride*), PS (*Polystyrene*) dan PET (*Polyethylene terephthalate*). Penggunaan plastik pada umumnya digunakan untuk peralatan rumah tangga, pengemasan, mainan, dan lain-lain (Hassanpour and Unnisa, 2017).

Berdasarkan bahan bakunya, plastik dapat dikelompokkan menjadi dua, yaitu plastik dari bahan yang tidak dapat diperbaharui dan dapat diperbaharui. Dari segi kemudahan terdegradasi oleh alam, plastik dibedakan menjadi dua, yaitu mudah terdegradasi (*biodegradable*) atau bioplastik dan sulit terdegradasi (*non degradable*) atau plastik *nondegradable* (Kasmiati *et al.*, 2017).

II.1.1 Plastik *Nondegradable*

Kebanyakan jenis plastik yang banyak digunakan saat ini berbahan dasar senyawa turunan minyak bumi sehingga bersifat sulit terdegradasi oleh mikroorganisme pengurai di alam. Akibatnya, sampah plastik terakumulasi semakin banyak dengan makin tingginya tingkat penggunaan plastik dalam kehidupan sehari-hari. Untuk mengurangi timbunan sampah plastik, diperlukan bahan plastik pengganti yang ramah lingkungan, yaitu plastik yang dapat diuraikan mikroorganisme pengurai dalam waktu yang relatif singkat (*biodegradable plastic*) (Borghei *et al.*, 2010; Nurhayati *et al.*, 2017). Sehingga plastik *nondegradable* menjadi salah satu sumber yang berpotensi dalam mengancam kelangsungan makhluk hidup kedepannya (Haedar, 2014).

II.1.2 Plastik *Biodegradable* (Bioplastik)

Plastik *biodegradable* merupakan plastik yang dapat diuraikan oleh mikroorganisme secara alami menjadi senyawa yang bersifat ramah lingkungan

dan terbuat dari bahan baku yang terbarui (*renewable resources*) dan berkelanjutan (Hasibuan, 2020).

Plastik *biodegradable* saat ini berkembang sangat pesat, berbagai riset telah dilakukan di negara maju seperti Jerman, Jepang, Prancis, Korea, Amerika Serikat, Inggris dan Swiss untuk mencari berbagai bahan baku yang berpotensi dalam pembuatan bioplastik atau plastik *biodegradable*. Penelitian lainnya yang sedang dilakukan adalah bagaimana mendapatkan kemasan termoplastik yang dapat terurai dan memiliki masa pakai yang relatif lebih lama dengan harga yang lebih murah (Sanjaya dan Puspita, 2010).

Bioplastik atau plastik *biodegradable* adalah plastik yang dihasilkan dari sumber biologi atau bahan alam yang dapat diperbaharui, memiliki sifat kedap udara dan kedap air serta mudah diuraikan oleh mikroorganisme ketika dibuang ke lingkungan (Stephen and Temitope, 2018). Plastik *biodegradable* terbuat dari bahan polimer alami seperti pati, selulosa, dan lemak. Bahan utama yang sering digunakan dalam pembuatan plastik *biodegradable* adalah pati dan *Poly Lactic Acid* (PLA) (Coniwanti *et al.*, 2014; Yuniarti *et al.*, 2014; Susanti *et al.*, 2015). Selain pati dan PLA bioplastik juga dapat dihasilkan dari metabolisme beberapa bakteri disaat terjadi pembatasan nutrisi di lingkungan dengan jumlah sumber karbon yang mencukupi dengan hasil samping berupa senyawa poliester, diantaranya *Polyhydroxyalkanoate* (PHA) (Kustarianingsih and Nawfa, 2015).

Berdasarkan bahan baku pembuatannya, plastik *biodegradable* dapat dikelompokkan menjadi 2 kelompok yaitu kelompok dengan bahan baku petrokimia (*non-renewable resources*) dengan bahan aditif dari senyawa bioaktif

yang bersifat *biodegradable*, dan kelompok kedua adalah dengan keseluruhan bahan baku dari sumber daya alam terbarukan (*renewable resources*) seperti dari bahan tanaman pati dan selulosa serta dari mikroorganisme yang dimanfaatkan untuk mengakumulasi plastik yang berasal dari sumber tertentu seperti limbah cair yang kaya akan bahan-bahan organik sebagai sumber makan bagi mikroorganisme (Adam and Clark, 2009).

Averous (2008) mengelompokkan polimer *biodegradable* ke dalam dua kelompok dan empat keluarga berbeda. Kelompok utama adalah agro-polymer yang terdiri dari polisakarida, protein, dan sebagainya. Kelompok kedua yaitu biopoliester (*biodegradable polyesters*) seperti *Poly Lactic Acid* (PLA), *Polyhydroxyalkanoate* (PHA), aromatik dan alifatik kopoliester. Biopolimer yang tergolong agro-polymer adalah produk-produk biomassa yang diperoleh dari bahan-bahan pertanian, seperti polisakarida, protein dan lemak. Biopoliester dibagi lagi berdasarkan sumbernya. Kelompok *Polyhydroxyalkanoate* (PHA) didapatkan dari aktivitas mikroorganisme yang didapatkan dengan cara ekstraksi. Contoh kelompok *Polyhydroxyalkanoate* (PHA) diantaranya poly (*hydroxybutyrate*) (PHB) dan poly (*hydroxybutyrate co-hydroxy valerate*) (PHBV). Kelompok lainnya adalah biopoliester yang diperoleh dari aplikasi bioteknologi, yaitu dengan sintesis secara konvensional monomer-monomer yang diperoleh secara biologis yang dikenal dengan sebutan kelompok polilaktida. Contoh dari polilaktida adalah *Poly Lactic Acid* (PLA). Kelompok terakhir diperoleh dari produk-produk petrokimia yang disintesis secara konvensional dari monomer – monomer sintesis. Kelompok ini terdiri dari *poly capro lactones* (PCL), *polyester amides*, *aliphatic co-polyesters* dan *aromatic co-polyesters*.

II. 2 *Polyhydroxyalkanoate* (PHA)

Produksi dan konsumsi bioplastik akan terus meningkat pada masa depan (Arikan and Ozsoy, 2015) diperkirakan tingkat pertumbuhan 10-20% per tahun dan diperkirakan meningkat dengan rata-rata 12,6% pada 2020 (Kumar and Thakur, 2017). Menurut Shen *et al.* (2010) bahwa pada tahun 2020, bioplastik menyumbang sekitar 3,45 juta ton per tahun dari total produksi plastik dunia. Total produksi plastik di dunia pada tahun 2018 sebesar 359 juta metrik ton (Garside, 2019). Bioplastik adalah plastik yang dibuat dari bahan alami, yang mudah terdegradasi (*biodegradable*) dan terdekomposisi (Coles *et al.*, 2011). Bioplastik terdekomposisi menjadi CO₂, H₂O, dan senyawa anorganik atau biomassa melalui aksi enzimatik mikroorganisme (Kumar and Thakur, 2017). Salah satu jenis bioplastik (Plastik *biodegradable*) adalah *Polyhydroxyalkanoate* (PHA), yang memiliki sifat *biodegradable*, fleksibel dan termoplastik (Hasibuan, 2020).

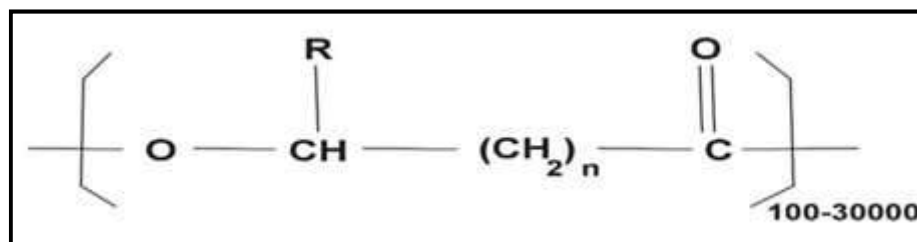
Polyhydroxyalkanoate (PHA) adalah plastik yang dapat terurai secara hayati yang disintesis oleh beragam bakteri dari berbagai substrat termasuk gula dan asam lemak (Urtuvia *et al.*, 2014). *Polyhydroxyalkanoate* berfungsi sebagai cadangan makanan yaitu saat defisiensi makanan dapat sebagai sumber karbon. Di samping itu, PHA bersifat tidak larut air dan disintesis atau diproduksi oleh mikroorganisme (Możejko-Ciesielska and Kiewisz, 2016). *Polyhydroxyalkanoate* biasanya berada di dalam sel (produk metabolisme sekunder intraseluler), yang diproduksi oleh mikroorganisme dengan karbon berlebih dan membatasi nutrisi untuk pertumbuhannya seperti nitrogen, fosfor, sulfur, magnesium dan oksigen

(Wong *et al.*, 2012; Yustinah *et al.*, 2019). Keanekaragaman komposisi monomer PHA berpotensi menghasilkan bahan polimer dengan berat molekul tinggi (Gumel *et al.*, 2012).

Sekitar 150 struktur monomer dari kelompok PHA yang telah ditemukan dan yang paling umum diantaranya yaitu *polyhydroxybutyrate* (PHB) dan *poly-(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)* (PHBV). Polimer berbasis biologis ini memiliki karakteristik fisikokimia yang serupa dengan plastik *nondegradable* seperti polipropilen (PP) dan *low-density polyethylene* (LDPE) (Kourmentza and Kornaros, 2016).

II.2.1 Karakteristik *Polyhydroxyalkanoate* (PHA)

Polyhydroxyalkanoate (PHA) diklasifikasikan ke dalam tiga jenis sesuai panjang rantainya meliputi pendek (*short chain length*, scl), menengah (*medium chain length*, mcl) atau panjang (*long chain length*, lcl), sesuai dengan jumlah karbon pada rantai samping. Scl-PHA memiliki kurang dari 5 atom karbon, sementara, mcl-PHA memiliki 5-14 atom karbon dan lcl-PHA memiliki lebih dari 14 atom karbon tetapi senyawa ini jarang terjadi. Senyawa *3-hydroxyvalerate* dan *3-hydroxybutyrate* adalah contoh dari scl-PHA, sedangkan *3-hydroxydecanoate*, *3-octanoate* dan *3-hydroxyhexanoate* adalah contoh dari mcl-PHA. Gambar 1 menunjukkan struktur umum PHA dengan klasifikasinya (Rai *et al.*, 2011).



Gambar 1. Struktur umum *Polyhydroxyalkanoate* (Raza *et al.*, 2018)

Tabel. 1 Rumus struktur rantai monomer *Polyhydroxyalkanoate* (PHA)

R	n	PHA _{scl}
H	1	3-hydroxypropionate (3HP)
CH ₃	1	3-hydroxybutyrate (3HB)
CH ₂ CH ₃	1	3-hydroxyvalerate (3HV)
H	2	4-hydroxybutyrate (4HB)
H	3	5-hydroxyvalerate (5HV)

Sumber : Urtuvia *et al* (2014)

Sifat *Polyhydroxyalkanoate* (PHA) memiliki kesamaan dengan polimer petrokimia seperti polipropilen atau polistiren. Sifat *Polyhydroxyalkanoate* (PHA) menunjukkan ketahanan yang baik terhadap kelembaban dan memiliki *barrier* yang baik terhadap gas (Raza *et al.*, 2018). Sifat *Polyhydroxyalkanoate* (PHA) ini sangat tergantung pada bakteri inang penghasil biopolimer dan kondisi fermentasinya. *Polyhydroxyalkanoate* (PHA) sangat kristalin (55-80%) menjadi poliester yang stereoregular, titik lebur berkisar 175-180 °C sedangkan suhu transisi gelas (Tg) antara 5 dan 9⁰C dan sifat drop yang baik. Kopolimer panjang rantai yang pendek seperti P (3HB-co-3HV) lebih dikenal dari homopolimer scl karena titik leburnya lebih rendah dan titik kristalannya juga lebih rendah, kristalnya lebih sedikit dan lebih keras. Sifat termomekanik ini sangat bervariasi dengan persentase komposisi P (3HB-co-3HV). Mcl-PHA bertindak sebagai elastomer dalam rentang suhu yang sempit karena titik lelehnya rendah (39 hingga 61°C), suhu transisi gelas di bawah suhu kamar (-43 hingga -25 °C), dan sekitar 25% berbentuk kristal. Karakteristik ini membuat mcl-PHA lebih fleksibel dan elastis daripada scl-PHA (Mozejko-Ciesielska and Kiewisz, 2016).

II.2.2 Bakteri Penghasil *Polyhydroxyalkanoate* (PHA)

Pada umumnya bakteri yang mengakumulasi *Polyhydroxyalkanoate* (PHA) adalah mikroba gram negatif sedangkan gram positif sedikit (Akinmulewo and Nwinyi, 2019). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Kumar and Thakur (2017) jenis bakteri yang dapat memproduksi PHA yaitu *Alcaligenes latus*, *Burkholderia sp.*, *Comamonas testosterone*, *Cupriavidus necator*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Thermus thermophilus*.

Enam jenis isolat bakteri yang mampu menghasilkan PHA yang diisolasi dari minyak goreng bekas yaitu *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus flexu*, *Brevibacterium halotolerance*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Stenotrophomonas rhizoposid* (Tufail *et al.*, 2017). Kemampuan isolat bakteri tersebut dalam menghasilkan *Polyhydroxyalkanoate* (PHA) disebabkan oleh jumlah sumber karbon berlebih berupa asam lemak triasilgliserol yang terdapat dalam minyak goreng bekas (Jiang *et al.*, 2016).

Tabel 2. Substrat dan mikroorganisme yang dapat mensintesis PHA

Substrat utama	Mikroorganisme	Substrat lainnya	Produk PHA
Gula sederhana	<i>Alcaligenes latus</i> , <i>Ralstonia eutropha</i> , <i>Haloferax mediterranei</i> , <i>Azotobacter vinelandii</i>		P3HB
	<i>Alcaligenes latus</i> , <i>Ralstonia eutropha</i> , <i>Haloferax mediterranei</i> , <i>Azotobacter vinelandii</i>	Asam-asam organik	P(3HB-3HV), P(3HB-4HB)
	<i>Pseudomonas putida</i> , <i>Pseudomonas citronellalis</i>		P3HHx, P3HO, dan mcl-PHA
	<i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Rhodospirillum rubrum</i> , <i>Sinorhizobium fredii</i> , <i>Rhodocyclus gelatinosus</i>	Asam-asam organik atau alkohol	P(3HB-co-3HHx), P(3HB-co-3HO) dan kopolimer scl-mcl lainnya
Triasilgliserol	<i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Aeromonas caviae</i> , <i>Pseudomonas oleovorans</i> , <i>Pseudomonas stutzeri</i> , <i>Pseudomonas citronellolis</i>		P3HB-3HHx P3HHx, P3HO, dan mcl-PHA lainnya
	<i>Ralstonia eutropha</i>		P3HB, P(3HB-3HV)
Hidrokarbon	<i>Pseudomonas oleovorans</i> , <i>Pseudomonas citronellolis</i>		P3HHx, P3HO, P3HD dan mcl-PHA lainnya

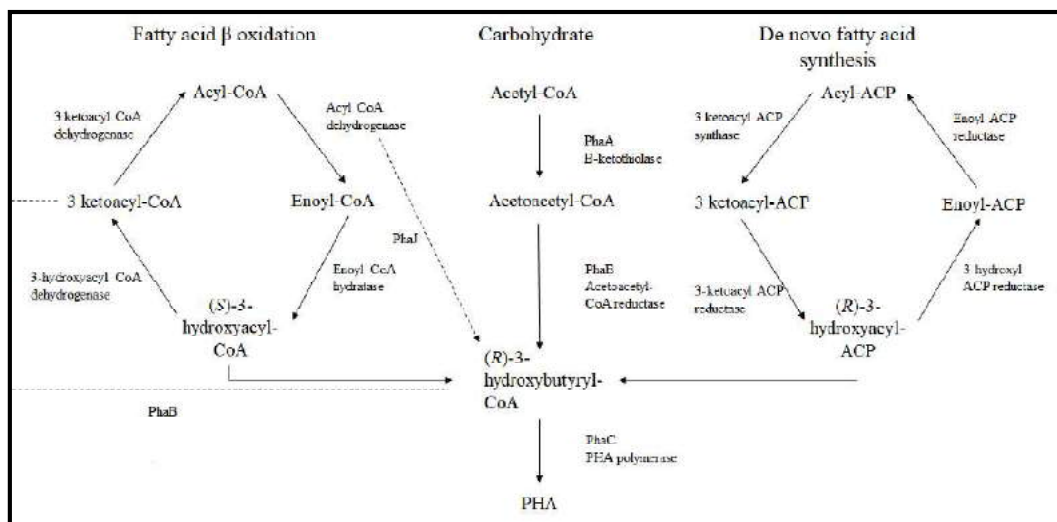
Sumber: Jiang *et al.* (2016)

II.2.3 Mekanisme Pembentukan *Polyhydroxyalkanoate* (PHA)

Senyawa *Polyhydroxyalkanoate* (PHA) dihasilkan oleh mikroorganisme ketika jumlah sumber karbonnya berlebih (Jiang *et al.*, 2016). Akumulasi *Polyhydroxyalkanoate* (PHA) terjadi pada fase diam yang dapat di *recovery* dengan mudah menggunakan metode adsorpsi karbon aktif atau ekstraksi pelarut (Varsha and Savita, 2011). Subtrat yang digunakan untuk produksi *Polyhydroxyalkanoate* (PHA) dapat dibagi menjadi tiga kelompok meliputi gula sederhana (monosakarida), triasilgliserol dan hidrokarbon. Sebagian besar mikroorganisme penghasil *Polyhydroxyalkanoate* (PHA) dapat menggunakan gula sederhana, sementara triasilgliserol hanya dilaporkan untuk beberapa mikroorganisme (Jiang *et al.*, 2016).

Sebagian besar bakteri, PHA dibentuk dari asetil CoA, yang disintesis dari metabolisme karbohidrat kemudian diubah menjadi R-3-hidroksiasil (substrat PHA). Konversi dilakukan oleh enzim *β -ketothiolase* dan *acetoacetyl CoA* reduktase, masing-masing dikode oleh PhaA dan PhaB membentuk intermediate *acetoacetyl CoA*. Kemudian, 3 hidroksil CoA diubah menjadi PHA oleh PHA polimerase yang dikode oleh PhaC. Selain jalur Asetil CoA, pembentukan PHA dapat juga melalui jalur β oksidasi asam lemak dan sintesis asam lemak *denovo*. Komponen individu dari jalur ini dapat dikonversi menjadi *3 hidroxybutyryte*, yang kemudian dikonversi menjadi PHA (Pakalapati *et al.*, 2018). Enzim yang terlibat adalah β -Ketothiolase (gen *phbA*), Acetoacetyl-CoA reductase (gen *phbB*) dan PHB-polimerase (gen *phbC*). Sementara itu, *medium chain length* (mcl)-PHA sebagian besar disintesis melalui jalur asam lemak *de novo* atau siklus oksidasi β

asam lemak dengan mengubah zat antara metabolisme asam lemak menjadi (R)-3-hydroxyacyl-CoA. Zat antara seperti 3-Keto-asil-CoA digunakan sebagai substrat oleh enzim PHA sintase untuk polimerisasi lebih lanjut menjadi mcl-PHA (Akinmulewo and Nwinyi, 2019). Menurut Pakalapati *et al.* (2018) Komposisi polimer saling berhubungan dengan komposisi substrat yang digunakan untuk kultur mikroba. Asam lemak volatil dengan rantai pendek merupakan substrat yang lebih disukai untuk menghasilkan PHA oleh bakteri.



Gambar 2. Jalur metabolisme sintesis PHA (Pakalapati *et al.*, 2018)

II.2.4 Aplikasi *Polyhydroxyalkanoate* (PHA) sebagai Bioplastik

Polyhydroxyalkanoate (PHA) memiliki sifat yang berguna seperti biodegradabilitas, termoplastisitas, biokompatibilitas, non-toksik sehingga dapat digunakan sebagai pengganti polimer petrokimia. PHA telah digunakan dalam bidang kimia, pertanian, perikanan, dan biomedis. Di bidang kimia, PHA telah digunakan untuk pembuatan wadah kosmetik, penghalang kelembaban dalam produk sanitasi, bahan kimia murni sebagai bahan baku untuk produksi cat lateks. Di bidang pertanian digunakan sebagai pembawa untuk pelepasan herbisida atau

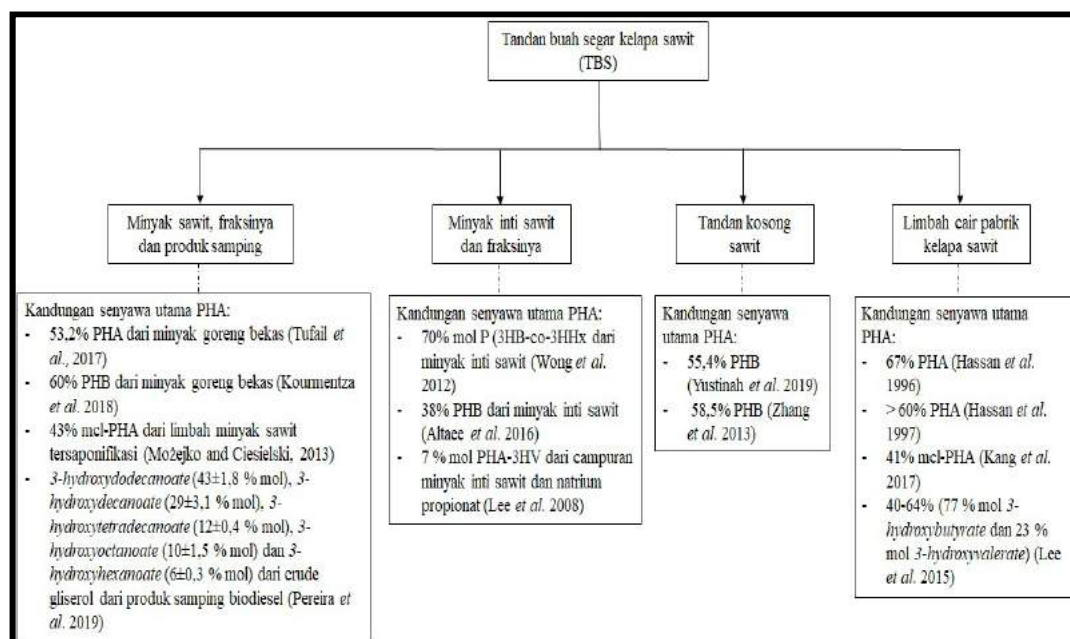
insektisida jangka panjang (*slow release*). Di bidang perikanan, PHA juga dapat menghasilkan serat ultra strong untuk alat penangkap ikan (Możejko-Ciesielska and Kiewisz, 2016). Di bidang biomedis, PHA digunakan untuk pembuatan produk kardiovaskuler (katup jantung, stent, cangkok vaskular), dalam sistem pengiriman obat (tablet, mikrokontroler untuk terapi kanker asing), dalam perawatan luka (jahitan, manset saraf, penyeka, tali pengikat), dalam ortopedi (lempeng tulang, tulang belakang) (Możejko-Ciesielska and Kiewisz, 2016). Monomer utama PHA adalah *R-3-hydroxybutyric*, yang merupakan konstituen alami, aman dan tepat digunakan untuk aplikasi di bidang medis. Kopolimer PHA menunjukkan pertumbuhan sel yang lebih baik dibandingkan dengan *poly lactic acid* (PLA) sehingga PHA menjadi bahan yang efisien dalam rekayasa jaringan (sebagai bahan pembuatan material tulang) karena memiliki sifat biokompatibel dengan sel tulang, sel epitel dan kondrosit, dan pengiriman obat (Pakalapati *et al.*, 2018).

Aplikasi bioplastik berbasis PHA sebagai bahan kemasan sangat sesuai untuk menggantikan plastik sintesis di masa mendatang. Penggunaan PHA sebagai bahan kemasan dapat mencegah kerusakan oksidatif produk karena bahan tersebut memiliki sifat penghalang yang baik. Kualitas bahan makanan yang dikemas menggunakan PHA relatif sama dengan yang dikemas menggunakan HDPE (Keskin *et al.*, 2017).

II.3 Limbah Sawit Sebagai Sumber Inokulum Bakteri Penghasil *Polyhydroxyalkanoate* (PHA)

Perkebunan kelapa sawit menghasilkan minyak sawit dan produk samping berupa biomassa padat (tandan kosong kelapa sawit) dan limbah cair pabrik kelapa sawit. Bahan-bahan tersebut berpeluang untuk digunakan untuk produksi

PHA. Agroindustri minyak kelapa sawit tidak hanya menghasilkan minyak nabati yang paling banyak dikonsumsi di dunia, tetapi juga sejumlah besar biomassa yang berpotensi digunakan untuk berbagai produk (Garcia-Nunez *et al.*, 2016). Bahan baku yang dapat digunakan sebagai sumber PHA dari industri kelapa sawit meliputi minyak sawit, minyak inti sawit dan produknya, tandan kosong kelapa sawit, dan limbah cair pabrik kelapa sawit (Mumtaz *et al.*, 2010).



Gambar 3. Kandungan senyawa utama PHA pada produk dan limbah industri kelapa sawit (Hasibuan, 2020).

Bakteri penghasil *Polyhydroxyalkanoate* (PHA), dipengaruhi oleh substrat tempat hidupnya. Substrat yang mengandung sumber karbon berlebih utamanya mengandung asam-asam lemak menjadi indikator keberadaan bakteri tersebut. Limbah hasil pengolahan minyak sawit dilaporkan mengandung sekitar 0,5-1 % minyak teremulsi (Nursanti, 2013).

Minyak nabati dapat menghasilkan PHA lebih tinggi karena kandungan karbon pergram minyak lebih tinggi dibandingkan dengan gula. Penggunaan

minyak nabati seperti minyak kedelai dan minyak sawit merupakan bahan baku potensial untuk produksi berbagai PHA. Minyak sawit telah dikaji secara ekstensif untuk produksi berbagai polimer PHA dengan sifat yang unik dengan hasil tinggi. Fraksi minyak sawit seperti minyak inti sawit mentah (*crude palm kernel oil*, CPKO) atau produk samping seperti *palm kernel acid oil* (PKAO) dan *palm acid oil* (PAO) serta minyak goreng bekas merupakan bahan baku yang secara kontinu dapat digunakan untuk produksi PHA (Sudesh *et al.*, 2011).

Limbah cair dan padat dari pabrik kelapa sawit merupakan bahan baku yang potensial untuk produksi PHA karena limbah cair mengandung asam-asam lemak sementara itu, limbah padat berupa tandan kosong sawit mengandung selulosa yang dapat dikonversi menjadi gula pereduksi. Jenis PHA yang dihasilkan dari limbah cair dan padat dari industri kelapa sawit sangat tergantung dari substrat dan bakteri yang digunakan. Jumlah PHA yang dapat dihasilkan dari limbah cair dan padat masing-masing mencapai 67% dan 58,5% (Hasibuan, 2020).