

MODEL REGULASI PADA PROSES BIODEGRADASI *POLYETHYLENE TEREPHTHALATE (PET)*

Taufan Talib

Program Studi Matematika, Universitas Halmahera
Jl. Wari Raya, Tobelo, Indonesia
e-mail:taufan.talib@gmail.com

Abstrak

Tim *International Genetically Engineered Machine (IGEM)* Indonesia merancang sebuah sistem biodegradasi limbah *Polyethylene Terephthalate (PET)* menggunakan *LC-Cutinase* yang diproduksi oleh bakteri *Escherchia Coli (E-Coli)* dalam sistem *whole cell biocatalys*. Paper ini menghasilkan model matematika kontinu menggunakan Persamaan Diferensial Biasa (PDB) dan Fungsi Hill dari modul regulasi. Kemudian model tersebut diuji dengan melakukan analisis titik tetap dan nilai eigen. Hasil menunjukkan model sudah dapat merepresentasikan fenomena biologi yang terjadi pada modul regulasi.

Kata Kunci: Biodegradasi, modul regulasi, PET.

REGULATION MODEL ON BIODEGRAGATION PROCESS OF *POLYETHYLENE TEREPHTHALATE (PET)*

Abstract

International Genetically Engineered Machine (IGEM) Team – Indonesia designed a biodegradation system of *Polyethylene Terephthalate (PET)* residue using *LC-Cutinase* which were produced by *Escherchia Coli (E-Coli)* in *whole cell biocatalyst* system. The result presented in this paper is a continue mathematical model using Ordinary Differential Equation and Hill function from regulation model. The model then tested using fixed point analysis and eigen value. The result shows that model is able to represent biological phenomen which happened on regulation model.

Keywords: Biodegradation, PET, regulation modul.

1. Pendahuluan

Selama lebih dari 50 tahun produksi dan konsumsi plastik di dunia terus meningkat, sehingga mengakibatkan pencemaran lingkungan juga ikut meningkat, serta menciptakan risiko serius bagi alam dan manusia. Pada tahun 2013, 290 juta ton plastik diproduksi di dunia dan digunakan sebagai wadah atau kemasan dalam kehidupan sehari-hari. Sifatnya yang ringan dan awet menjadi bahan serbaguna yang dipakai untuk membuat berbagai peralatan dalam kehidupan kita. Namun demikian, plastik adalah salah satu bahan yang tidak ramah lingkungan karena membutuhkan waktu yang sangat lama untuk terurai [1].

Jenis plastik yang dipakai sebagai bahan baku botol plastik adalah jenis *Polyethylene Terephthalate (PET)*. Meskipun tingkat daur ulang PET telah meningkat dari 7% menjadi 30% dalam beberapa tahun terakhir, namun sebagian besar botol plastik masih dibuang di tempat pembuangan sampah dan terus mencemari lingkungan [2].

Tim IGEM ITB 2014 merancang sebuah sistem degradasi limbah PET menggunakan bakteri *Escherchia Coli (E-Coli)*. Bakteri akan menghasilkan enzim *LC-Cutinase* pada modul regulasi. Model matematika yang dibangun dapat merepresentasikan proses regulasi, sehingga dinamika yang terjadi mudah dipahami untuk mendesain sistem yang lebih efektif dan efisien.

2. Modul Regulasi pada Sistem Biodegradasi PET

Pada modul regulasi, *LC-Cutinase* diproduksi terus menerus hingga bakteri mengalami stres. Saat kondisi stres, akan terjadi salah pelipatan protein sehingga menghasilkan *Inclusion Body*. *Inclusion Body* tidak dapat mendegradasi PET dan akan menumpuk di dalam sel, sehingga modul regulasi dirancang untuk memperbaiki atau memulihkan inefisiensi sistem biodegradasi. Ketika *Inclusion Body* muncul, promotor *inducible* dari *Inclusion body (PibpAB)* akan mengaktifasi produksi mRNA TetR dan menghasilkan TetR. Kemudian TetR akan menghentikan ekspresi *LC-Cutinase* dengan cara menekan produksi mRNA.

Produksi mRNA yang ditekan akan berkurang, sehingga mengakibatkan banyaknya konsentrasi mRNA yang ditranskripsi ikut berkurang. Hal ini berujung pada produksi *LC-Cutinase* dan penumpukan *Inclusion Body* turut berkurang. Proses ini akan terus berlangsung selama bakteri masih dalam kondisi stres. Setelah pulih, bakteri dapat kembali memproduksi *LC-Cutinase* [3].

3. Modul Regulasi

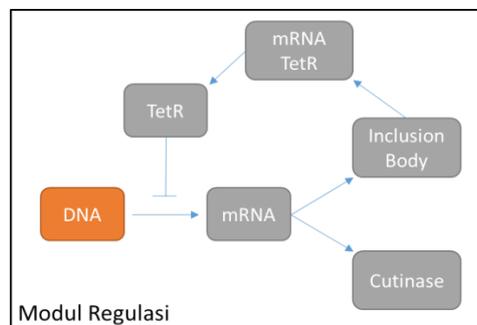
3.1. Asumsi

Asumsi yang digunakan dalam model regulasi, yaitu:

- Pengamatan untuk satu unit sel
- Tidak ada perubahan suhu, pH, dan tekanan selama proses berlangsung
- Tidak melibatkan faktor pembelahan sel
- Bakteri sudah mulai mengekspresikan *LC-Cutinase* dan *Inclusion Body* (dalam jumlah yang sangat kecil) sebelum direaksikan dengan PET

3.2. Model Matematika

Berikut interaksi antar komponen biokimia dalam mendesain bakteri tersebut pada model regulasi



Gambar 1. Proses Modul Regulasi

Gambar 1 menjelaskan bahwa mRNA dihasilkan dari proses transkripsi DNA, setelah ditranslasikan menjadi enzim *LC-Cutinase* atau *Inclusion Body*. Misalkan sebanyak x mRNA ditranslasi menjadi *LC-Cutinase*, sedangkan sisanya $(1-x)$ mRNA ditranslasi menjadi *Inclusion Body*, dengan $0 < x < 1$. Model matematika untuk laju konsentrasi *LC-Cutinase* dan *Inclusion Body* sebagai berikut.

$$\frac{dC}{dt} = \alpha_c x M - \gamma_c C \quad (1)$$

$$\frac{dI}{dt} = \alpha_i (1-x) M - \gamma_i I \quad (2)$$

Dalam hal ini, semakin banyak *Inclusion Body* akan menyebabkan semakin sedikit *LC-Cutinase*. Dengan demikian dipilih

$$x = \frac{1}{1+I}$$

Substitusikan x ke persamaan (1)-(2), sehingga diperoleh model laju konsentrasi *LC-Cutinase* dan *Inclusion Body*.

$$\frac{dC}{dt} = \frac{\alpha_c M}{1+I} - \gamma_c C \quad (3)$$

$$\frac{dI}{dt} = \frac{\alpha_i MI}{1+I} - \gamma_i I \quad (4)$$

Berikutnya produksi mRNA TetR diaktivasi oleh *Inclusion Body* yang selanjutnya ditranslasikan menjadi TetR. Enzim TetR ini akan menekan atau menghentikan proses transkripsi DNA. Sel akan berhenti memproduksi enzim *LC-Cutinase* maupun *Inclusion Body*, sehingga konsentrasi *Inclusion Body* akan berkurang demikian pula dengan konsentrasi mRNA TetR dan TetR. Akibatnya proses transkripsi MRNA yang menghasilkan LC-Cutinase akan meningkat hingga pada suatu waktu tertentu mulai muncul *Inclusion Body* dan siklus diatas berulang kembali.

Model matematika untuk laju konsentrasi mRNA dan mRNA TetR mengikuti persamaan Hill. Sementara itu konsentrasi TetR mengikuti model penambahan (produksi) dan pengurangan (degradasi), sehingga dapat dibuat model matematika untuk laju konsentrasi mRNA, mRNA TetR, dan TetR.

$$\frac{dM}{dt} = \frac{\alpha_m}{1+\left(\frac{R}{K}\right)^n} - \gamma_m M \quad (5)$$

$$\frac{dMr}{dt} = \frac{\alpha_{mr} I}{K_{mr}^n + I^n} - \gamma_{mr} Mr \quad (6)$$

$$\frac{dR}{dt} = \alpha_r Mr - \gamma_r R \quad (7)$$

Selanjutnya variabel dan parameter yang digunakan dalam persamaan diatas, dengan nilai parameter yang dipilih untuk memperoleh hasil simulasi yang beresilasi.

Tabel 1. Variabel Model Regulasi

Variabel	Deskripsi	Satuan
M	Konsentrasi mRNA	μM
C	Konsentrasi <i>LC-Cutinase</i>	μM
I	Konsentrasi <i>Inclusion Body</i>	μM
Mr	Konsentrasi mRNA TetR	μM
R	Konsentrasi mRNA TetR	μM

Tabel 2. Parameter Model Regulasi

Parameter	Deskripsi	Nilai
K	Koefisien aktivasi untuk mRNA	1
K_{mr}	Koefisien aktivasi untuk mRNA TetR	0.7
n	Koefisien nilai Hill	3
α_m	Laju produksi mRNA	0.08
α_c	Laju produksi <i>LC-Cutinase</i>	0.001
α_i	Laju produksi <i>Inclusion Body</i>	0.005
α_{mr}	Laju produksi mRNA TetR	0.073
α_r	Laju produksi TetR	0.1
γ_m	Laju degradasi mRNA	0.005
γ_c	Laju degradasi <i>LC-Cutinase</i>	0.5
γ_i	Laju degradasi <i>Inclusion Body</i>	0.009
γ_{mr}	Laju degradasi mRNA TetR	0.03
γ_r	Laju degradasi mRNA TetR	0.03

4. Analisis dan Simulasi Model

4.1. Analisis

Analisis kestabilan model regulasi dilakukan untuk mRNA, *Inclusion Body*, mRNA TetR dan TetR. Sedangkan *LC-Cutinase* tidak dilibatkan dalam analisis ini, dikarenakan tidak mempengaruhi hasil analisis tersebut. Berikutnya agar sistem biodegradasi yang dibangun lebih efisien dalam mencegah munculnya *Inclusion Body*, maka sistem tersebut harus memperlihatkan perilaku osilasi. Oleh karena itu dengan pemodelan ingin melihat, apakah perilaku tersebut dapat muncul atau tidak?

i. Titik Tetap

Dari model matematika yang telah dibentuk pada di persamaan (4)-(7) didapat dua buah titik tetap berikut.

$$\left(I = 0, M = \frac{\alpha_m}{\gamma_m}, Mr = 0, R = 0 \right) \tag{8}$$

$$\left(I = \frac{\alpha_i M - \gamma_i}{\gamma_i}, M = \frac{\alpha_m}{\left(1 + \left(\frac{R}{K}\right)^n\right) \gamma_m}, Mr = \frac{\alpha_m I}{\left(K_{mr}^n + I^n\right) \gamma_{mr}}, R = \frac{\alpha_r Mr}{\gamma_r} \right) \tag{9}$$

Analisis titik tetap pertama (8) mudah dilakukan, tetapi tidak demikian dengan titik tetap yang kedua (9). Oleh karena itu agar lebih mudah menganalisis perilaku titik tetap yang kedua, nilai parameter pada Tabel 2 disubstitusikan pada model. Selanjutnya titik tetap yang dianalisis lebih lanjut adalah titik tetap yang **eksis**, yaitu berupa bilangan *real* dan non-negatif. Titik tetap yang diperoleh sebagai berikut.

- (a) $\{I = 0, M = 16, Mr = 0, R = 0\}$
- (b) $\{I = 0.081849, M = 1.947328, Mr = 0.579733, R = 1.932442\}$
- (c) $\{I = 2.659325, M = 6.586785, Mr = 0.3379165, R = 1.126388\}$
- (d) $\{I = 7.868997, M = 15.96419, Mr = 0.039270, R = 0.130898\}$

ii. Analisis Kestabilan

Uji kestabilan dari titik tetap yang eksis, dilakukan dengan menggunakan matriks *Jacobian* berikut

$$J = \begin{pmatrix} -\gamma_m & 0 & 0 & -\frac{\alpha_m \left(\frac{R}{K}\right)^n n}{\left(1 + \left(\frac{R}{K}\right)^n\right)^2 R} \\ \frac{\alpha_i I}{1+I} & \frac{\alpha_i M}{1+I} - \frac{\alpha_i IM}{(1+I)^2} - \gamma_i & 0 & 0 \\ 0 & 0 & -\gamma_{mr} & 0 \\ 0 & 0 & \alpha_r & -\gamma_r \end{pmatrix} \tag{10}$$

Untuk mendapatkan nilai eigen pada titik tetap pertama (8), substitusikan titik tetap pertama (8) ke matriks *J* (10), sehingga diperoleh:

$$\lambda_1 = -\gamma_m, \lambda_2 = \frac{\alpha_i \alpha_m - \gamma_i \gamma_m}{\gamma_m}, \lambda_3 = -\gamma_{mr}, \lambda_4 = -\gamma_r$$

Nilai eigen pertama, ketiga dan keempat sudah bernilai negatif, sedangkan untuk nilai eigen kedua belum diketahui. Akibatnya didapat syarat pada titik tetap pertama ini, yaitu

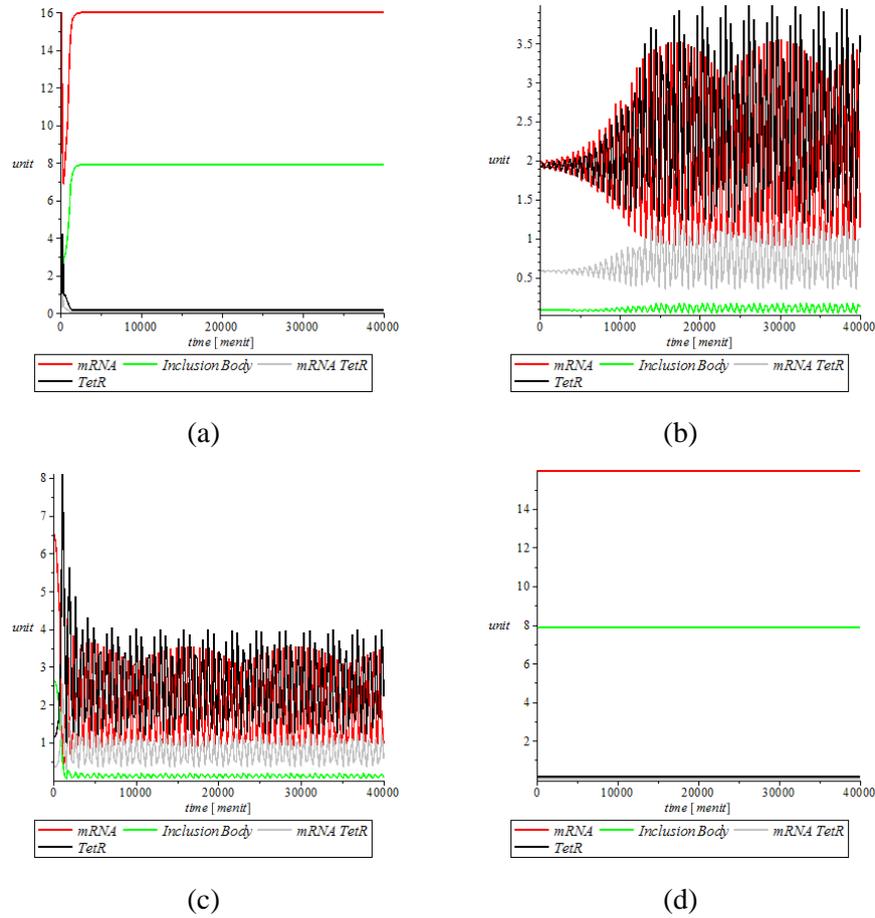
- a) $\alpha_i \alpha_m \leq \gamma_i \gamma_m$, mengakibatkan model stabil
- b) $\alpha_i \alpha_m > \gamma_i \gamma_m$, mengakibatkan model tidak stabil

Untuk titik tetap yang bernilai real dan **eksis** diatas, diperoleh nilai eigen seperti pada Tabel 3 :

No	Titik Tetap	Nilai Eigen	Kestabilan
1	$I = 0, M = 16$	$-0.005, -0.03$	Tidak stabil
	$Mr = 0, R = 0$	$-0.03, 0.071$	
2	$\{I = 0.081849, M = 1.947328,$	0.000314 ± 0.009561	Tidak stabil
	$Mr = 0.579733, R = 1.932442\}$	-0.033154 ± 0.0097561	
3	$\{I = 2.659325, M = 6.586785,$	$0.004934, -0.040685$	Tidak stabil
	$Mr = 0.3379165, R = 1.126388\}$	-0.017895 ± 0.0150391	
4	$\{I = 7.868997, M = 15.96419,$	$-0.004738, -0.008332$	Stabil
	$Mr = 0.039270, R = 0.130898\}$	$-0.02896, -0.030955$	

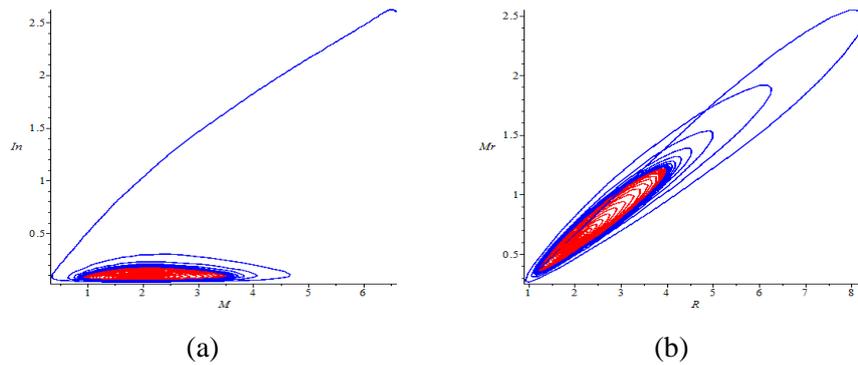
iii. Perilaku Dinamik

Perilaku dinamik dari model regulasi dengan nilai awal disekitar titik tetapnya.



Gambar 2. Perilaku dinamik nilai awal (a) disekitar titik tetap 1, (b) disekitar titik tetap 2, (c) di sekitar titik tetap 3, (d) di sekitar titik tetap 4

Pada Gambar 2(a), nilai awal yang diambil adalah disekitar titik tetap 1. Dari Gambar tersebut terlihat bahwa sistem regulasi menuju titik tetap 4. Sedangkan pada Gambar 2(b), nilai awal yang diambil adalah disekitar titik tetap 2. Dari gambar tersebut terlihat bahwa sistem regulasi menghasilkan perilaku osilasi dengan amplitudo dan periode tetap. Pada Gambar 2(c), nilai awal yang diambil adalah disekitar titik tetap 3. Dari gambar tersebut terlihat bahwa sistem regulasi menghasilkan perilaku osilasi dengan amplitudo dan periode tetap. Pada Gambar 2(d), nilai awal yang diambil adalah disekitar titik tetap 4. Dari Gambar tersebut terlihat bahwa sistem regulasi stabil. Berikut diperlihatkan trajektori pada bidang fasa untuk nilai awal di sekitar titik tetap 2.



Gambar 3. Bidang Fasa (a) antara *Inclusion Body* dengan mRNA, (b) antara mRNA TetR dengan TetR

Gambar 3(a) memperlihatkan perilaku antara *Inclusion Body* dengan mRNA, dimana simulasi dengan nilai awal disekitar titik tetap 3 menghasilkan solusi periodic berbentuk spiral yang bergerak ke dalam. Akan tetapi jika nilai awal yang dipakai adalah disekitar titik tetap 2, diperoleh trajektori yang beresilasi dengan bentuk spiral yang bergerak keluar, tetapi tidak pernah melewati daerah trajektori biru. Demikian juga gambar 3(b) untuk perilaku antara mRNA TetR dan TetR memperlihatkan keadaan yang sama. Hal ini menunjukkan perilaku dinamik sistem beresilasi dengan amplitudo dan periode yang menuju nilai yang sama. Ini menunjukkan eksistensi dari *limit cycle*.

iv. Analisis Parameter dan Perilaku Nilai Awal

Analisis parameter dilakukan untuk melihat seberapa jauh parameter dapat divariasikan sehingga model masih beresilasi. Analisis parameter dilakukan dengan cara menentukan kapan sistem mengalami bifurkasi hopf, dengan melihat perilaku nilai eigen dari matriks *Jacobian* untuk tiap titik tetap yang ada pada Tabel 3. Analisis dilakukan dengan memvariasikan satu parameter, tetapi menjaga parameter lainnya tetap sama seperti di Tabel 2. Selanjutnya dilihat seberapa jauh parameter dapat divariasikan.

Untuk analisis parameter yang dilakukan pada titik tetap pertama tidak mempengaruhi nilai parameter yang ada. Hal ini disebabkan oleh syarat $\alpha_i \alpha_m \leq \gamma_i \gamma_m$ mengakibatkan sistem menjadi stabil. Sedangkan apabila dipakai syarat $\alpha_i \alpha_m > \gamma_i \gamma_m$ sistem menjadi tidak stabil.

Selanjutnya analisis parameter yang dilakukan pada titik tetap kedua, diperoleh pada tabel dibawah ini.

Tabel 4. Selang parameter untuk titik tetap 2 yang masih beresilasi

Parameter	Nilai	Parameter	Nilai
α_m	[0.04, 0.56]	γ_m	[0.0025, 0.0088]
α_i	[0.0025, 0.035]	γ_i	[0.0079, 0.067]
α_{mr}	[0.05, ∞]	γ_{mr}	[0.001, 0.035]
α_r	[0.05, ∞]	γ_r	[0.001, 0.035]

Tabel 4 memperlihatkan sistem masih beresilasi pada selang tiap parameter. Apabila digunakan nilai parameter diluar dari selang tersebut, maka model akan menjadi stabil dengan menghasilkan nilai eigen negatif. Selanjutnya selang nilai parameter pada titik tetap 2 dan 3, tapi model masih dapat beresilasi.

Tabel 5. Selang parameter untuk titik tetap 3 dan 4 yang masih beresilasi

Parameter	Nilai	Parameter	Nilai
α_m	[0.046, 4]	γ_m	[0.0008, 0.0088]
α_i	[0.0029, 0.25]	γ_i	[0.0016, 0.015]
α_{mr}	[0.019, 0.28]	γ_{mr}	[0.008, 0.11]
α_r	[0.02, 0.029]	γ_r	[0.008, 0.11]

Tabel 5 menjelaskan tentang nilai parameter pada selang diatas masih menghasilkan nilai titik tetap yang *real*, sedangkan diluar dari selang tersebut nilai titik tetap menjadi kompleks. Jadi nilai parameter yang dapat dipakai berada pada Tabel 4 -5, sehingga memperoleh hasil simulasi yang beresilasi untuk model regulasi. Selanjutnya perilaku nilai awal yang dapat merepresentasikan fenomena biologi pada model regulasi.

Untuk melihat perilaku tersebut, berikan nilai awal di salah satu variabel dengan nilai awal variabel lainnya sama dengan nol (kecuali *Inclusion Body* dalam jumlah yang sangat sedikit). berikut nilai awal yang dapat diberikan:

Tabel 6. Nilai Awal yang Dapat Diberikan

	mRNA	<i>Inclusion Body</i>	mRNA TetR	TetR
Nilai awal 1	[0, 7.3]	0.00001	0	0
Nilai awal 2	0	[0.00001, 3.158]	0	0
Nilai awal 3	0	0.00001	[0, 13.4]	0
Nilai awal 4	0	0.00001	0	[0, 119,76]

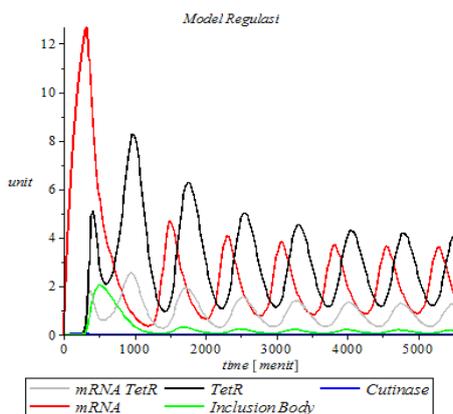
Perilaku nilai awal pada Tabel 6, menunjukkan bahwa model regulasi masih dapat beresilasi, apabila diberikan nilai awal yang berbeda dari tabel diatas maka model akan stabil.

4.2. Simulasi Model

Hasil simulasi numerik pada model regulasi dengan nilai parameter pada Tabel 2 dan nilai awal yang diberikan sesuai keadaan biologi dimana konsentrasi awal dari model regulasi bernilai nol (kecuali *Inclusion Body* dalam jumlah yang sedikit), dikarenakan DNA belum mentranskripsi mRNA. Hasil simulasi diperoleh dengan nilai awal ($I = 0.00001, C = 0, M = 0, Mr = 0, R = 0$) ditunjukkan dari gambar berikut.

Terlihat dari Gambar 3, model regulasi, ketika konsentrasi *LC-Cutinase* meningkat maka mulai muncul *Inclusion Body*. Ketika konsentrasi *Inclusion Body* mulai mengalami peningkatan, maka muncul mRNA TetR yang diikuti pula oleh TetR. Saat TetR mulai muncul, mRNA mengalami penurunan dikarenakan TetR menghentikan proses transkripsi dari DNA menjadi mRNA.

Jika mRNA turun, maka hal serupa terjadi pada *LC-Cutinase*. Saat mRNA terhenti maka *Inclusion Body* akan ikut berkurang dan begitupun dengan mRNA TetR. Penurunan TetR akan mengakibatkan mRNA kembali naik, dan keadaan ini berulang seterusnya. Hal ini sudah dapat merepresentasikan fenomena biologi dimana menghasilkan simulasi yang beresilasi.



Gambar 4. Hasil simulasi model regulasi

5. Kesimpulan

Model regulasi pada sistem biodegradasi PET, serta analisis dan simulasi modelnya telah dijelaskan. dapat disimpulkan bahwa fenomena pada modul regulasi sudah dapat merepresentasikan hasil eksperimen, Hal ini terlihat dari model regulasi menghasilkan simulasi yang beresilasi.

Daftar Pustaka

1. IGEM, ITB. *2014.igem.org*. [Online] 2014. http://2014.igem.org/Team:ITB_Indonesia.
2. Gourmelon, Gaelle. *www.worldwatch.org*. [Online] 2015. <http://www.worldwatch.org/global-plastic-production-rises-recycling-lags-0>.
3. IGEM, UC Davis,. *2012.igem.org*. [Online] 2012. http://2012.igem.org/Team:UC_Davis/Project/Catalyst.
4. Anton, H. dan Rorres, C. *Elementary Linear Algebra*. 10th. s.l. : Wiley, 2010.
5. Brauer, Fred dan Castillo-Chaves, Carlos. *Mathematical Model in Population Biology and Epidemiology*. 2nd. s.l. : Springer, 2010.