

MODEL DEGRADASI *POLYETHYLENE TEREPHTHALATE* OLEH BAKTERI *ESCHERCHIA COLI*

Taufan Talib^{1*}

¹Departemen Matematika, Fakultas Ilmu Alam dan Teknologi Rekayasa, Universitas Halmahera
Jalan Wari Raya, Tobelo, Indonesia

e-mail: ^{1*}taufan.talib@gmail.com

Corresponding Author *

Abstrak

Degradasi *Polyethylene Terephthalate* (PET) menggunakan bakteri *Escherchia Coli* (E-Coli) dalam sistem *whole cell biocatalys*. Bakteri E-Coli akan menghasilkan enzim *LC-Cutinase* dipermukaan sel dan digabungkan dengan PET, sehingga PET dapat terurai. Reaksi *LC-Cutinase* dan PET berlangsung selama tiga hari. Model yang terbentuk sudah dapat menjelaskan fenomena degradasi PET.

Kata Kunci: bakteri *e-coli*, degradasi, pet

DEGRADATION MODEL OF *POLYETHYLENE* *TEREPHTHALATE* BY *ESCHERCHIA COLI* BACTERIA

Abstract

Degradation of *Polyethylene Terephthalate* (PET) using *Escherchia Coli* (E-Coli) bacteria in a *whole cell biocatalys* system. E-Coli bacteria will produce *LC-Cutinase* enzyme surface of the cell and coupled with PET, so PET can decompose. *LC-Cutinase* reaction and PET lasts for three days. Models that are formed already can explain the phenomenon of PET degradation.

Keywords: *e-coli* bacteria, degradation, pet

1. PENDAHULUAN

Polyethylene terephthalate (PET) banyak digunakan terutama untuk memproduksi botol minuman (juga pakaian, karpet, dan produk lainnya), tetapi PET memiliki kelemahan resistensi terhadap degradasi. Botol dan benda lain yang terbuat dari PET membutuhkan setidaknya 800 tahun untuk terurai di tempat pembuangan sampah atau laut. Antara 4,8 miliar hingga 12,7 miliar kilogram plastik dibuang di lautan setiap tahun [1].

Dalam penelitian tim IGEM Indonesia, dirancang sebuah sistem degradasi limbah PET menggunakan bakteri *Escherchia Coli* (E-Coli) dalam sistem *whole cell biocatalys*. Bakteri akan menghasilkan enzim *LC-Cutinase* dipermukaan sel sehingga PET dapat terurai [2]. Adapun tujuan penulisan, yaitu mengetahui proses degradasi PET dan dinamika *LC-Cutinase* terhadap PET.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Bakteri E-Coli

Bakteri E-Coli yang dipakai adalah bakteri E-Coli BL21 DE3. Tipe mikroba rekombinan BL21 yang diciptakan dari bakteri E-Coli tipe B dan secara khusus dibangun untuk ekspresi tingkat tinggi protein rekombinan. Tipe ini memiliki dua karakteristik penting yang membuat ideal untuk ekspresi protein, penanda genetik dan kemampuan ekspresi protein secara *inducible*. Penanda genetik yang paling penting membantu RNA rekombinan dan/atau protein menumpuk ke tingkat tinggi tanpa degradasi. *Inducibility* membantu untuk meminimalkan efek racun dari beberapa protein rekombinan. Pilihan bakteri E-Coli tipe ini karena sistem bakteri E-Coli didesain agar dapat memproduksi enzim terus menerus tanpa membutuhkan aktifator secara konstitutif [2].

2.2. Proses Degradasi PET

LC-Cutinase yang digabungkan dengan *outer membrane protein A* (*ompA*) untuk mendegradasi PET. *LC-Cutinase* sendiri adalah biokatalis yang mampu memecah ikatan ester pada struktur PET melalui enzim esterase. Enzim ini berada pada permukaan membran bakteri, sehingga enzim tidak bergerak dan lebih stabil terhadap panas. Di sisi lain, PET yang memiliki massa molekul tinggi dapat terdegradasi secara langsung tanpa perlu masuk ke dalam sel bakteri [3].

LC-Cutinase akan 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 regulasi dirancang untuk memperbaiki atau memulihkan inefisiensi sistem biodegradasi. Ketika *Inclusion Body* muncul, *PibpAB* akan mengaktifasi produksi mRNA TetR dan menghasilkan TetR. Kemudian TetR akan menempel pada TetO dan menghentikan ekspresi *LC-Cutinase* dengan cara menekan produksi mRNA [3].

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. HASIL DAN PEMBAHASAN

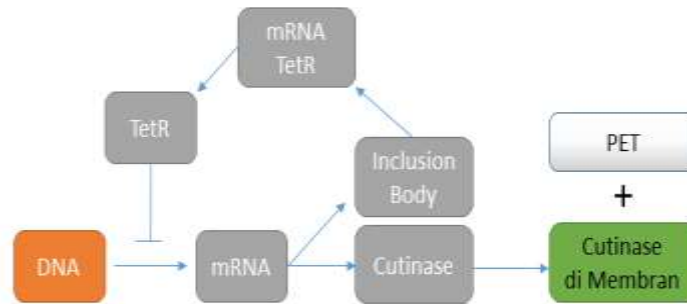
3.1. Model Matematika Degradasi PET

Asumsi yang digunakan dalam model degradasi, yaitu:

- Tidak ada perubahan suhu, pH, dan tekanan selama proses berlangsung
- Bakteri sudah mulai mengekspresikan *LC-Cutinase* dan *Inclusion Body* (dalam jumlah yang sangat kecil) sebelum direaksikan dengan PET
- Mekanisme *LC-Cutinase* dianggap sama untuk semua bakteri
- LC-Cutinase* di membran sel tidak mempengaruhi *LC-Cutinase* didalam sel

3.2. Model Matematika

Berikut interaksi antar komponen biokimia dalam mendesain bakteri tersebut pada proses degradasi PET.



Gambar 1. Proses degradasi PET

Gambar 1, menjelaskan bahwa mRNA (M) dihasilkan dari proses transkripsi DNA, setelah ditranslasikan menjadi enzim LC -Cutinase (C) atau *Inclusion Body* (I). Misalkan sebanyak x mRNA (xM) 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.

$$\frac{dC}{dt} = \alpha_c xM - \gamma_c C \tag{1}$$

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

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*.

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

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

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 mengikuti persamaan Hill dengan repressor (dalam hal ini yang berperan sebagai repressornya adalah TetR) dan laju konsentrasi mRNA TetR mengikuti persamaan Hill, sedangkan laju konsentrasi TetR menunjukkan produksi dan kematian secara alami (degradasi). Sehingga model matematika untuk laju konsentrasi mRNA, mRNA TetR, dan TetR sebagai berikut.

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

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

$$\frac{dR}{dt} = \alpha_r Mr - \gamma_r R \tag{7}$$

Pada *LC-Cutinase* di membran sel diperoleh dari transpor *LC-Cutinase* di dalam sel. Sementara itu terdapat *carrying capacity LC-Cutinase* di membran, sehingga terjadi persaingan *LC-Cutinase* di dalam sel terhadap produksi *LC-Cutinase* yang berada di membran sel. Model *LC-Cutinase* di membran mengikuti model logistik karena terdapat *carrying capacity*. Model PET mengikuti model Michaelis-Menten, karena Reaksi enzimatik adalah reaksi kimia yang melibatkan enzim. Reaksi tersebut membuat enzim mengikat substrat dan mengubahnya menjadi produk. Setiap reaksi enzimatik memiliki laju reaksi, yakni laju perubahan substrat menjadi produk [4], Lebih lanjut didapat model sebagai berikut:

$$\frac{dCmb}{dt} = \alpha_{mb}C\left(1 - \frac{Cmb}{L}\right) - \gamma_{mb}Cmb \tag{8}$$

$$\frac{dP}{dt} = \frac{k_2[Cmt][P]}{k_p + [P]}, Cmt = Cmb * tb \tag{9}$$

Selanjutnya variabel dan parameter yang digunakan dalam persamaan diatas, dengan nilai parameter yang telah di analisis [3].

Tabel 1. Variabel

Variabel	Deskripsi	Satuan
<i>M</i>	Konsentrasi mRNA	μM
<i>C</i>	Konsentrasi <i>LC-Cutinase</i>	μM
<i>I</i>	Konsentrasi <i>Inclusion Body</i>	μM
<i>Mr</i>	Konsentrasi mRNA TetR	μM
<i>R</i>	Konsentrasi mRNA TetR	μM
<i>Cmb</i>	Konsentrasi <i>LC-Cutinase</i> di membran	μM
<i>P</i>	Konsentrasi PET	<i>mg</i>

Tabel 2. Parameter

Parameter	Deskripsi	Nilai
<i>K</i>	Koefisien aktifasi untuk mRNA	1
<i>K_{mr}</i>	Koefisien aktifasi untuk mRNA TetR	0.7
<i>n</i>	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
α_{mb}	Laju produksi <i>LC-Cutinase</i> di membrane	$0.0001 m^{-1}$
γ_{mb}	Laju degradasi <i>LC-Cutinase</i> di membrane	$0.5 m^{-1}$

L	Carrying capacity <i>LC-Cutinase</i> di membrane	$0.08 \mu M$
k_2	Laju konstan konversi	$30.9 m^{-1}$
k_p	Konsentrasi untuk reaksi PET	$2100 \mu M$
tb	Total Bakteri tiap sel	$\frac{18000sel}{koloni} B(koloni)$

3.3. Analisis dan Simulasi Model

Analisis Model

Hasil Analisis dilakukan untuk mRNA, *Inclusion Body*, mRNA TetR dan TetR. Berikutnya untuk memperlihatkan perilaku osilasi. Sedangkan *LC-Cutinase* dan PET tidak dilibatkan dalam analisis karena tidak mempengaruhi hasil analisis tersebut.

Titik Tetap

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

$$\left(I = 0, M = \frac{\alpha_m}{\gamma_m}, Mr = 0, R = 0 \right) \tag{10}$$

$$\left(I = \frac{\alpha_i M - \gamma_i}{\gamma_i}, M = \frac{\alpha_m}{\left(1 + \left(\frac{R}{K}\right)^n\right) \gamma_m}, Mr = \frac{\alpha_m I}{(K_{mr}^n + I^n) \gamma_{mr}}, R = \frac{\alpha_r Mr}{\gamma_r} \right) \tag{11}$$

Analisis titik tetap pertama (10) mudah dilakukan, tetapi tidak demikian dengan titik tetap yang kedua (11). 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. $\{I = 7.868997, M = 15.96419, Mr = 0.039270, R = 0.130898\}$

Analisis Kestabilan

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

$$J = \begin{vmatrix} -\gamma_m & 0 & 0 & -\frac{\alpha_m \left(\frac{R}{K}\right)^n n}{\left(1 + \left(\frac{R}{K}\right)^n\right)^2} R \\ \frac{\alpha_i I}{1+I} & \frac{\alpha_i M}{1+I} - \frac{\alpha_i I M}{(1+I)^2} - \gamma_i & 0 & 0 \\ 0 & 0 & -\gamma_{mr} & 0 \\ 0 & 0 & \alpha_r & -\gamma_r \end{vmatrix} \tag{12}$$

Untuk mendapatkan nilai eigen pada titik tetap pertama (10), substitusikan titik tetap pertama (10) ke matriks J (12), 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 titik tetap tersebut stabil
- b. $\alpha_i \alpha_m > \gamma_i \gamma_m$, mengakibatkan titik tetap tersebut tidak stabil

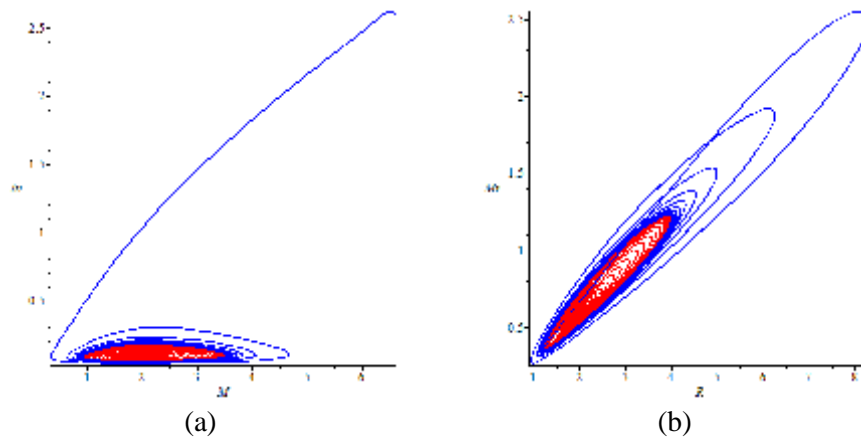
Untuk titik tetap yang bernilai real dan **eksis** diatas, diperoleh nilai eigen seperti pada Tabel 3:

Tabel 3. Kestabilan titik tetap

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

Perilaku Dinamik

Berikut diperlihatkan trajektori pada bidang fase untuk nilai awal di sekitar titik tetap 2.



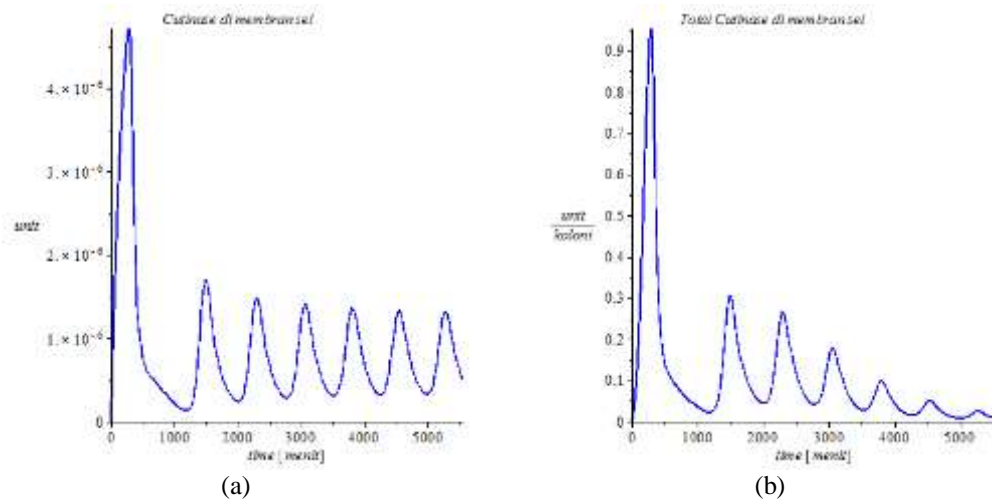
Gambar 2. Bidang Fase (a) antara *Inclusion Body* dengan mRNA, (b) antara mRNA TetR dengan TetR

Gambar 2(a), memperlihatkan perilaku antara *Inclusion Body* dengan mRNA, dimana simulasi dengan nilai awal disekitar titik tetap 3 menghasilkan solusi periodik 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 2(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*.

Simulasi Model

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

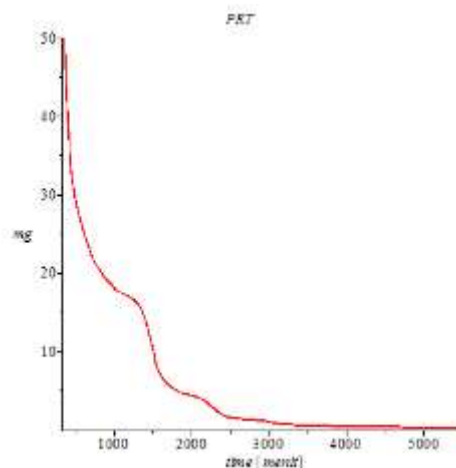
Bakteri memproduksi *LC-Cutinase* didalam sel, yang selanjutnya di transport ke membran sel. *LC-Cutinase* yang berada di membran sel nantinya akan bereaksi dengan PET. Berikut hasil simulasi untuk *LC-Cutinase* dan *LC-Cutinase* total di membran sel.



Gambar 3. Hasil simulasi (a) *LC-Cutinase* di membran, dan (b) total *LC-Cutinase* di membran

Gambar 3 menunjukkan bahwa hasil simulasi *LC-Cutinase* di membran mengikuti pola hasil simulasi *LC-Cutinase* di dalam sel yang berhasil. Namun banyaknya konsentrasi *LC-Cutinase* di membran tidak sebanyak *LC-Cutinase* di dalam sel, dikarenakan *LC-Cutinase* di membran dibatasi oleh *carrying capacity*-nya. Sedangkan asumsi *LC-Cutinase* di membran itu sama untuk tiap sel bakteri, didapat hasil simulasi total *LC-Cutinase* di membran yang dipengaruhi oleh banyaknya pertumbuhan bakteri.

Selanjutnya pada menit ke 360 PET dimasukkan sebanyak 50 mg. Saat PET dimasukkan langsung terjadi proses degradasi, yang mengakibatkan PET terurai. PET yang terurai ini melibatkan total *LC-Cutinase* di membran. Hasil degradasi PET oleh total *LC-Cutinase* di membran bisa dilihat pada gambar dibawah ini.



Gambar 4. Hasil simulasi degradasi PET

Gambar 4 terlihat bahwa proses degradasi PET terjadi dengan cepat, hal ini disebabkan karena konsentrasi total *LC-Cutinase* di membran mencapai puncak di menit ke 360. Pada menit tersebut juga PET dimasukkan, sehingga proses degradasi langsung terjadi dan menguraikan PET dengan cepat. Namun di menit ke 2000 proses degradasi menjadi lambat, dikarenakan konsentrasi total *LC-Cutinase* di membran mengalami penurunan konsentrasi. Terjadinya proses degradasi PET berlangsung selama 3 hari

4. KESIMPULAN

Degradasi PET terjadi begitu cepat pada saat bereaksi dengan *LC-Cutinase*. Proses terurainya PET selama tiga hari, model yang telah dibentuk sudah merepresentasikan fenomena biologi yang terjadi.

Daftar Pustaka

- [1] S. Paulo, "Research Enhances Enzyme That Degrades Plastic," www.eurekalert.org. [Online] 2018. Available: https://www.eurekalert.org/pub_release/2018-05/fda-ree052818.php
- [2] IGEM,ITB, "ColiPlaster," 2014.igem.org [Online] 2018. Available: http://2014.igem.org/Team:ITB_Indonesia.
- [3] T. Talib, "Model Regulasi Pada Biodegradasi Polyethylene Terephthalate (PET)," *Jurnal Berekeng FMIPA Unpatti*, vol. 10, no. 2, 107-115, 2016.
- [4] E.Klipp, R.Herwig,A.Kowald,C.Wierling,H.Lehrach. System Biology in Practice Part II: Standar Model and Approaches in System biology, Michaelis-Menten kinetics, 144-148. Wiley-vch, 2013.
- [5] F. Brauer, C. Castillo-Chaves, *Mathematical Model in Population Biology and Epidemiology*, 2nd s.l : Springer, 2010.