

SKRIPSI

AKTIVITAS GEN *PETase* REKOMBINAN PADA *Escherichia coli* DALAM MENDEGRADASI SAMPAH PLASTIK

Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mendapatkan Gelar Sarjana Sains pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya



OLEH :

**ERSA YUNIARTI
08041381823065**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
INDRALAYA
2021**

LEMBAR PENGESAHAN

AKTIVITAS GEN *PETase* REKOMBINAN PADA *Escherichia coli* DALAM MENDEGRADASI SAMPAH PLASTIK

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Sains pada
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya

OLEH

ERSA YUNIARTI
08041381823065


Indralaya, 2021

Pembimbing,



Dra. Muharni, M. Si.
NIP. 196306031992032001

Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi



Dr. Arum Setiawan, M.Si.
NIP. 197211221998021001

HALAMAN PERSETUJUAN

Karya ilmiah berupa Skripsi dengan judul “Aktivitas Gen *PETase* Rekombinan Pada *Escherichia coli* Dalam Mendegradasi Sampah Plastik” telah dipertahankan dihadapan Tim Juri Pekan Ilmiah Mahasiswa Nasional Ke-33 tahun 2020 di Universitas Gadjah Mada pada tanggal 26 November 2020.

Mengetahui,

Dekan FMIPA



Hermansyah, S.Si., M.Si., Ph.D.
NIP. 197111191997021001

Ketua Jurusan Biologi



Dr. Arum Setiawan, S.Si., M.Si.
NIP. 197211221998031001

HALAMAN PERSEMBAHAN

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

فَإِذَا قَرَعْتَ فَانصَبْ ۝ وَإِلَىٰ رَبِّكَ فَارْغَبْ ۝

Wahai orang yang
menakutkan

Wahai orang yang
berharap

﴿٧٥﴾

مَنْ يَزْرَعْ يَحْصُدْ

“

Teruntuk :

1. Allah SWT atas segala nikmat, cinta kasih, dan penjagaan di siang dalam malam
2. Kedua orang tua tercinta, Alm. Nur Hasuayani dan Nuryadi
3. Agus Adriansyah, Ari Septi Ikwandani, Oktaviarin andani. Semoga keberkahan, kesehatan, dan kebahagiaan senantiasa Allah SWT limpahkan untuk abang
4. Semua Dosen Biologi FMIPA
5. Sahabatku
6. Almamaterku

HALAMAN PERNYATAAN INTEGRITAS

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ersu Yuniarti

NIM : 08041381823065

Judul : Aktivitas Gen *PETase* Rekombinan Pada *Escherichia coli* Dalam Mengradasi Sampah Plastik (*Polyethylene Terephthalate*)

Menyatakan bahwa skripsi saya merupakan hasil karya sendiri didampingi Pembimbing dan bukan hasil penjiplakan atau plagiat. Apabila ditemukan unsur-unsur penjiplakan atau plagiat dalam skripsi ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik dari Universitas Sriwijaya sesuai aturan yang berlaku.

Demikian pernyataan ini saya buat dalam keadaan sadar dan tanpa ada paksaan dari siapapun.

Indralaya, 2021



ERSA YUNIARTI
NIM. 08041381823065

KATA PENGANTAR

Puji syukur atas kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat serta bimbingan-Nya kepada penulis sehingga penulisan Skripsi yang berjudul “Aktivitas Gen *PETase* Rekombinan Pada *Escherichia coli* Dalam Mendegradasi Sampah Plastik (*Polyethylene Terephthalate*)” ini dapat diselesaikan. Penulisan Skripsi ini bertujuan untuk diajukan sebagai syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Sriwijaya (UNSRI).

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penulisan Skripsi. Oleh sebab itu, saran yang membangun sangat diperlukan guna perbaikan Skripsi ini. Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada Ibu Dra. Muharni, M.Si. selaku dosen pembimbing yang telah memberikan arahan, bimbingan, saran, serta waktu, pikiran, dan dukungan moril maupun materil selama menyelesaikan penulisan skripsi ini. Penulis juga ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Allah SWT yang telah memberikan nikmat kesehatan dan kelancaran selama menyelesaikan tugas akhir.
2. Orang tua tercinta, Alm. Nurhasuayani dan Nuryadi, serta saudara saya Kak Ari, Yuk Okta, Kak Dian, Yuk Desi dan Kak Albert yang selalu memberikan nasehat dan mendukung cita-cita saya.
3. Prof. Dr. Ir. Anis Sagaf, M.S.C.E. selaku Rektor Universitas Sriwijaya.
4. Hermansyah, Ph. D. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Inderalaya.
5. Dr. Arum Setiawan, M.Si. selaku Ketua Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Inderalaya.
6. Dr. Salni, M.Si. selaku Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan dan nasehatnya selama proses perkuliahan.
7. Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan yang telah memberikan bantuan hibah Program Kreativitas Mahasiswa (PKM) sehingga proyek ini dapat dilaksanakan dan diselesaikan dengan baik.

8. Pusat Prestasi Nasional (PUSPRESNAS), Tim Juri, Tim *Reviewer* dan pihak-pihak yang telah berkontribusi dalam memberikan arahan dan dukungan sehingga tim dapat menyelesaikan serangkaian agenda PKM dengan baik serta mendapatkan medali setara perak pada PIMNAS 33.
9. Dra. Muharni, M. Si. selaku Pembimbing Tugas Akhir, yang telah memberikan bimbingan dan nasehat selama penyelesaian tugas akhir.
10. Xylia Annisa Abelia dan Linda Wahyuni Putri sebagai *partner* tim yang telah memberikan semangat dan dukungan serta membantu dalam proses kegiatan PKM ini.
11. Seluruh Staf Dosen Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang banyak memberikan ilmu dan pengetahuan yang bermanfaat.
12. Karyawan Jurusan Biologi, FMIPA UNSRI, yang telah membantu proses teknis dan administrasi selama perkuliahan dan penelitian.
13. Yuni, Hilya, Wahid, Adinda, Septra, Selamat, Thania, Wike, Putri, Regina, Mitra, Ramli, Remy dan Haris teman yang memberikan dukungan dan motivasi selama penulisan skripsi.
14. Dinda, Ayu, Nadia dan Mona yang telah memberikan semangat sekaligus *support system* dalam menyelesaikan tugas akhir.
15. Teman-teman Biologi Angkatan 2018 yang tidak bisa disebutkan satu per satu.
16. Kepada semua pihak yang telah membantu dan tidak dapat disebutkan namanya satu persatu, penulis mengucapkan terima kasih.

Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan karunia-Nya dan membalas segala amal budi serta kebaikan pihak-pihak yang telah membantu penulis dalam penyusunan Skripsi ini dan semoga dapat memberikan manfaat bagi kita semua.

Indralaya, 2021

Ersa Yuniarti

RINGKASAN

AKTIVITAS GEN *PETase* REKOMBINAN PADA *Escherichia coli* DALAM MENDEGRADASI SAMPAH PLASTIK

Ersa Yuniarti; Dibimbing oleh Dra. Muharni, M. Si.

Masyarakat secara umum bergantung terhadap penggunaan plastik sebagai *packaging* material. Material yang paling umum digunakan sebagai penyusun plastik berasal dari *PET* (*Polyethylene terephthalate*). Ketergantungan terhadap plastik berbahan *PET* menyebabkan tingginya peningkatan *landfill* akibat bahan *non-degradability*. *PET* dapat di degradasi dengan cara fisik dan kimia, namun metode ini menimbulkan masalah pencemaran lingkungan sekunder dan konsumsi energi yang tinggi. Dibutuhkan proses yang lebih ramah lingkungan dalam mengolah *PET* melalui biodegradasi yang melibatkan mikroorganisme. *IsPETase* dari bakteri *Ideonella sakaiensis* membawa dampak signifikan bagi perkembangan pengolahan biodegradasi *PET*. Penelaahan studi lebih lanjut mengenai pengekspresian *PETase* pada bakteri *Escherichia coli* sebagai agen *biodegradable* diharapkan mampu menjawab solusi bagi permasalahan sampah plastik. Karya tulis ini ditulis menggunakan metode studi pustaka dengan mengadakan studi penelaahan menggunakan jurnal penelitian, buku, laporan, dan literatur ilmiah yang berkaitan dengan masalah yang diangkat, serta berdiskusi dengan dosen pendamping. Gagasan ditulis dengan analisis dari beberapa permasalahan sampah plastik di Indonesia yang dikombinasi dengan solusi logis berdasarkan tinjauan pustaka yang ada. Teknologi rekayasa genetika, diaplikasikan untuk mengoptimalkan potensi dari enzim *IsPETase*. Enzim *IsPETase* berhasil diekspresikan oleh bakteri *Escherichia coli* strain Rosetta Gami-B dengan vektor *PET22b-SPLamB: IsPETase* dimana aktivitas *E. coli* dapat mengekspresikan *PETase* secara heterologis dengan proses translasi terdiri dari 25 asam amino pertama dari urutan protein, dengan probabilitas lokasi pembelahan 0,9316. Hal ini menjadikan *IsPETase* lebih unggul jika dibandingkan dengan enzim homolog kutinase lainnya.

Kata kunci: *Escherichia coli*, Aktivitas Gen *PETase*, *Ideonella sakaiensis*, *PET*, Rekayasa Genetika

SUMMARY

Ersa Yuniarti; Supervised by Dra. Muharni, M. Si.

Most of society depends on the use of plastic as packaging material. The material most commonly used as a constituent of plastics comes from *PET* (*Polyethylene terephthalate*). Dependence on *PET*-based plastics causes a high increase in landfills due to non-degradability materials. *PET* can be degraded by physicals and chemicals method, but those methods raise the problem of secondary environmental pollution and high energy consumption. A more environmentally friendly process is needed to process *PET* through biodegradation involving microorganisms. Is*PET*ase enzyme from *Ideonella sakaiensis* has a significant impact on the development of *PET* biodegradation processing. This paper is written using the literature study method by conducting research studies using research journals, books, reports, and scientific literature related to the issues raised, as well as discussing with accompanying lecturers. The idea is written with an analysis of several plastic waste problems in Indonesia combined with logical solutions based on existing literature reviews. Genetic engineering technology, is applied to optimize the potency of the Is*PET*ase enzyme. The Is*PET*ase enzyme was successfully expressed by the *Escherichia coli* strain Rosetta Gami-B with the *PET22b-SPLamB: IsPETase* vector where the activity of *E. coli* can express *PETase* heterologally by the translation process consisting of the first 25 amino acids from the protein sequence, with a probability of cleavage location of 0.9316 . This makes Is*PET*ase superior when compared to other homologous cutinase enzymes.

Keywords: *Escherichia coli*, *PETase* gene activity, *Ideonella sakaiensis*, *PET*, Genetic Engineering

DAFTAR ISI

Halaman Sampul.....	i
Lembar Pengesahan.....	ii
Halaman Persetujuan	iii
Halaman Persembahan.....	iv
Halaman Pernyataan Integritas	v
Kata Pengantar.....	vi
Ringkasan	viii
Summary	ix
Daftar Isi	x
Daftar Gambar	xii
Daftar Lampiran	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penulisan	4
1.4 Urgensi Penulisan.....	4
1.5 Manfaat Penulisan	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 <i>Polyethylene Terephthalate (PET)</i>	5
2.2 Vektor <i>PET21b (+)-Is-PETase</i>	7
2.3 Kloning Gen <i>PETase Ideonella sakaiensis</i>	7
2.4 Bakteri <i>Ideonella sakaiensis</i> Pendegradasi <i>Polyethlyne Terephthalate</i>	8
2.5 Karakteristik Morfologi <i>Ideonella sakaiensis</i> 201-F6.....	10
BAB 3 METODE PENULISAN.....	12
3.1. Sifat Penulisan	12
3.2. Prosedur Pengumpulan Data	12
3.3. Metode Pengolahan dan Analisis Data.....	12

BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN	14
4.1. Aktivitas <i>IsPetase</i>	14
4.2. Bakteri <i>Escherichia coli</i> sebagai <i>host</i> sel	16
4.3. Kloning dan Rekayasa Gen <i>PETase</i> dari <i>Ideonella sakaiensis</i> 201-f6.....	17
4.4. Ligasi Gen Donor pada Plasmid <i>E. coli</i>	21
4.5. Transformasi Fragmen DNA ke <i>host</i> sel	22
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN	24
5.1. Kesimpulan.....	24
5.2. Saran	24
Daftar Pustaka	25
Lampiran.....	30

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Struktur <i>PET</i> ase dan MHETase pada <i>I. sakaiensis</i>	5
Gambar 2.2. Peta urutan gen untuk <i>PET</i> 21b (+)-Is- <i>PET</i> ase.....	7
Gambar 2.3. Struktur 3D enzim <i>PET</i> ase	9
Gambar 2.4. Prediksi jalur degradasi <i>PET</i> oleh <i>I. sakaiensis</i>	9
Gambar 2.5. Pertumbuhan <i>Ideonella sakaiensis</i> pada film <i>PET</i>	10
Gambar 3.1. Bagan Alir Sistem Penapisan Pustaka	13
Gambar 4.1. Pengaruh suhu terhadap aktivitas Is <i>PET</i> ase	15
Gambar 4.2. Pengaruh pH terhadap aktivitas Is <i>PET</i> ase	15
Gambar 4.3. Gambar SEM diambil setelah 96 jam inkubasi pada <i>PET</i> ase.....	16
Gambar 4.4. Konstruksi Plasmid berbasis <i>PET</i> -21b	18
Gambar 4.5. Hidrolisis enzimatis polietilen tereftalat (<i>PET</i>)	20
Gambar 4.6. Struktur sisi aktif <i>PET</i> ase	20
Gambar 4.7. Mekanisme pemrosesan <i>PET</i> di <i>Ideonella sakaiensis</i>	21
Gambar 4.8. Konstruksi gen MHETase dalam pUCIDT plasmid	22
Gambar 4.9. Hasil visualisasi gen PCR MHETase.....	23

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Kegiatan PKM	30
Lampiran 2. Kegiatan PIMNAS-33	34
Lampiran 3. Poster PKM.....	36
Lampiran 4. Surat Keputusan Kegiatan PKM dan PIMNAS.....	37

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Secara umum masyarakat memiliki ketergantungan terhadap penggunaan plastik yang menjadi bahan kemasan baik dalam industri minuman ataupun makanan dan kosmetik. *PET* (*Polyethylene terephthalate*) menjadi material yang sering dipakai sebagai bahan plastik yang mudah terdegradasi pada suhu yang tinggi (Buragohain *et al.*, 2020; Widyastuti, 2018). Ciri dari plastik *PET* yang praktis pada proses, ringan, harga yang cukup reandah dan tahan air sehingga plastik menarik bagi plastik tekstik dan pasar kemasan (Fecker *et al.*, 2018; Liu *et al.*, 2019; Seo *et al.*, 2019; Shen *et al.*, 2019).

Keterikatan dalam menggunakan plastik berbahan *PET* mengakibatkan peningkatan *landfill* akibat bahan yang tidak terurai, keberlangsungan hidup pada biota perairan serta tanah dapat terancam sebab akumulasi dari sampah plastik (Son *et al.*, 2019; Kawai *et al.*, 2020). Bertambahnya jumlah penduduk membuat kondisi ini semakin buruk serta hubungan positif terhadap meningkatnya penggunaan produk plastik berbahan *PET*, dengan meningkatnya pertambahan penduduk maka penggunaan plastik semakin meningkat (Kawai *et al.*, 2020). Hal ini yang mengakibatkan Indonesia menjadi negara penyokong sampah plastik terbesar ke 2 di dunia setelah Cina. Pada tahun 2050 diprediksi akan ada kenaikan jumlah limbah plastik yang mencapai angka kurang lebih 12 miliar metrik ton di seluruh dunia, keadaan ini bersamaan dengan pertambahan penduduk, perkembangan teknologi dan plastik (Widyastuti, 2018).

Plastik dapat terurai di lingkungan sekitar 200-1000 tahun dalam penguraian plastik di lingkungan, sebab serat yang dimiliki plastik yang sukar terdegradasi. Fenomena pada lingkungan menandakan bahwa sampah plastik terus mengalami kenaikan setiap tahunnya. Hal ini mengakibatkan terakumulasinya sampah plastik tanpa adanya pemecahan masalah dalam penguraian komponen penyusun plastik tersebut. Berdasarkan survey yang dilakukan *US National Park Service*, dibutuhkan hingga 450 tahun dalam mendegradasi botol-botol plastik berbahan *PET*.

Penanganan sampah plastik *PET* sudah dilakukan baik secara kimia maupun secara fisika sebagai tindakan solusi. Cara yang dapat dilakukan seperti hidrolisis, aminolisis, glikosis, metanolisis serta amonolisis yang sebelumnya telah dikembangkan., tetapi hasil yang didapat belum maksimal (Geyer *et al.*, 2016). *PET* memiliki komponen seperti polimer linier polar dari unit berulang dari *terephthalate acid* (TPA) dan *ethylene glycol* (EG), yang dipolimerisasi melalui hubungan ester (Bombelli *et al.*, 2017; Joo *et al.*, 2018; Son *et al.*, 2019; Kawai *et al.*, 2020).

Metode penghancuran *PET* dengan metode pemanasan mengakibatkan dioksin dan karbon monoksida dibebaskan ke atmosfer dan mengakibatkan keracunan kadmium dan timbal dalam tanah (Fitriyano dan Rahim, 2019). Diperlukan proses yang lebih aman untuk lingkungan dalam pengolahan *PET* melalui biodegradasi yang dapat melibatkan mikroorganisme. Menurut Yoshida *et al.* (2016), dalam biodegradasi terdapat empat proses : 1) erosi dan biopsi matriks plastik; 2) rantai panjang dapat diuraikan membentuk rantai pendek melalui hidrolisis enzimatis atau oksidasi biologis; 3) rantai pendek diuraikan menjadi asam lemak; dan 4) mikroorganisme menghabiskan asam lemak dan pada akhirnya produk tersebut akan diubah menjadi H₂O dan CO₂ (atau CH₄)

Penelitian tentang bakteri *Ideonella sakaiensis* menghasilkan dampak yang signifikan pada kemampuan biodegradasi *PET*. Yoshida *et al.*, (2016), berhasil mengisolasi bakteri jenis baru, *I. sakaiensis* 201-F6, kemampuan yang dimiliki mampu memanfaatkan *PET* menjadi sumber karbon dengan dimanfaatkannya enzim *PET* hidrolase dalam merombak polyester dengan temperatur yang berkisar antara 20 dan 40° C (Fecker *et al.*, 2018; Joo *et al.*, 2018; Ma *et al.*, 2018). Etilena glikol dan asam tereftalat menjadi dua monomer yang sangat ramah lingkungan menjadi enzim yang efisien mengkonversi *PET* (Barth *et al.*, 2016; Joo *et al.*, 2018). Namun, rawa-rawa menjadi tempat yang jarang ditemukan sampah plastik menjadi habitat dari bakteri *Ideonella*.

Dalam aplikasi rekayasa genetika bakteri *Eschericia coli* menjadi salah satu bakteri yang umum digunakan. Bakteri *Eschericia coli* merupakan bakteri yang mempunyai siklus hidup yang pendek, memiliki strain genetik yang mudah dimanipulasi serta karakteristik yang dimiliki mudah dibudidayakan (Gopal dan

Kumar, 2013; Jia dan Jeon, 2016; Zhou *et al.*, 2018). Fokus penelitian yang dilakukan yaitu teknologi rekayasa rekombinan terus dicanangkan yang berpatokan pada pemahaman jika suatu organisme keadaan alami tidak dapat menghasilkan suatu organisme menghasilkan protein, spesies yang berbeda dapat menghasilkan protein dan sering kali tidak mempunyai kekerabatan yang dekat (Waegeman dan Soetaert, 2011).

IsPETase dimanfaatkan dalam diklon pada *host cell* kemampuan IsPETase dipertimbangkan agar beroperasi dengan baik pada keadaan suhu sedang, sedangkan enzim lain pada suhu tinggi yaitu LC –kutinase (LCC) dan Tfh, *F. solani* fungal cutinase karena termofolisitasnya (Carr *et al.*, 2020). Strategi yang menjanjikan biodegradasi plastik berbahan *Polyethylene terephthalate* untuk spesifisitas dan efisiensi IsPETase menjadikannya sebagai kandidat dengan hidrolisis *PET* (Taniguchi *et al.*, 2019).

Bakteri *Ideonella sakaiensis* telah diperhitungkan memiliki pilihan untuk berkembang pada PET sebagai satu-satunya sumber karbon karena emisi PET hidrolase. Ketika dicoba secara *in vitro* dan dalam kondisi mesofilik, bahan kimia ini menunjukkan tingkat kerusakan PET yang sangat rendah (Salvador *et al.*, 2019; Joo *et al.*, 2018). Oleh karena itu, kloning kualitas dari *Ideonella sakaiensis* 201-F6 dilakukan pada *Escherichia coli* untuk meningkatkan kemampuan kualitas debasing sampah plastik PET. Kerusakan PET yang menggunakan PETase yang dikomunikasikan secara heterolog telah terbukti bermanfaat dalam berbagai mikroorganisme, termasuk *E. coli* (Peningkatan desain situs web *et al.*, 2019). Penyelidikan lebih lanjut dari kloning kualitas rekombinan PETase pada mikroorganisme *Escherichia coli* sebagai spesialis biodegradable diandalkan untuk menjawab jawaban atas masalah pencemaran alam karena limbah plastik, terutama yang diproduksi menggunakan PET (*Polyethylene terephthalate*).

1.2. Rumusan Masalah

Degradasi sampah plastik secara fisika dan kimia berdampak menimbulkan pencemaran lingkungan sekunder maka dari itu dibutuhkan proses yang lebih ramah lingkungan yang melibatkan mikroorganisme. Bakteri memberikan dampak yang signifikan terhadap perkembangan biodegradasi *PET*, namun habitat

hidupnya terbatas. Maka dari itu, enzim *PETase* dari *Ideonella sakaiensis* perlu dioptimalkan dengan transformasi gen *PETase* ke dalam sel *Escherichia coli* dan diketahui bagaimana aktivitas gen *PETase* Rekombinan pada *Escherichia coli* rekombinan dalam mendegradasi sampah plastik.

1.3. Tujuan Penulisan

Penulisan ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas gen *PETase* rekombinan pada *Escherichia coli* rekombinan sebagai agen *biodegradable* diharapkan agar dapat meningkatkan aktivitas gen *PETase* sehingga mampu menjawab solusi bagi permasalahan pencemaran lingkungan akibat sampah plastik khususnya berbahan *PET (Polyethylene terephthalate)* di Indonesia.

1.4. Urgensi Penulisan

Penulisan karya tulis ini diperlukan untuk meningkatkan potensi enzim *PETase* dari bakteri *Ideonella sakaiensis* dalam mendegradasi plastik menjadi monomer yang ramah dan aman bagi lingkungan, sehingga dapat meminimalisir masalah lingkungan yang ditimbulkan oleh sampah plastik.

1.5. Manfaat Penulisan

1. Karya tulis ini dapat dijadikan referensi untuk dijadikan solusi dalam menyelesaikan permasalahan lingkungan yang ditimbulkan dari sampah plastik.
2. Penelitian ini dapat dijadikan referensi bagi para peneliti lainnya untuk memberikan inovasi dan menciptakan penelitian lainnya.
3. Karya tulis ini dapat dijadikan referensi bagi peneliti lainnya untuk memberikan inovasi dan menciptakan penelitian lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Aizawa, S.-I. 2014. *Escherichia coli* The Representative of the Gram-Negative Bacteria. Elsevier: In The Flagellar World. Hal. 36–39. Doi: org/ 10.1016/b978012-417234-0. 00010-4
- Austin, H. P., Allen, M. D., Donohoe, B. S., ... Beckham, G. T. 2018. Characterization and Engineering of a Plastic-Degrading Aromatic Polyesterase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 115(19): 1–8. Doi. Org/10. 1073/pnas.1718804115
- Barth, M., Honak, A., Oeser, T., Wei, R., Belisário-Ferrari, M. R., Then, J., Schmidt, J., dan Zimmermann, W. 2016. A Dual Enzyme System Composed of a Polyester Hydrolase and a Carboxylesterase Enhances The Biocatalytic Degradation of Polyethylene Terephthalate Films. *Biotechnology Journal*. 11(8): 1082–1087. Doi. Org/10. 1002/biot.201600008
- Bombelli, P., Howe, C. J., dan Bertocchini, F. 2017. Polyethylene Biodegradation by Caterpillars of The Wax Moth *Galleria Mellonella*. *Current Biology*27(8): 292–293. Doi.org/ 10.1016/j.cub.2017.02.060
- Carr, C. M., Clarke, D. J. dan Dobson, A. D. W. 2020. Microbial Polyethylene Terephthalate Hydrolases: Current and Future Perspectives. *Front Microbiol*, 11, 571265.
- Chen, Y. 2020. Rhizosecretion of *PETase*: New Phytoremediation. *Researchgate*. 6: 1–15. Doi.org/ 10.13140/ RG.2. 2.31146.03521
- Chen, Z., Wang, Y., Cheng, Y., Wang, X., Tong, S., Yang, H., dan Wang, Z. 2020. Efficient Biodegradation of Highly Crystallized Polyethylene Terephthalate Through Cell Surface Display of Bacterial *PETase*. *Science of the Total Environment*. 709(12): 1–9. Doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136138
- Danso, D., Chow, J., dan Streita, W. R. 2019. Plastics: Environmental and Biotechnological Perspectives on Microbial Degradation. *Applied and Environmental Microbiology*. 85(19): 1–14. Doi.org/ 10.1128/ AEM.01095-19
- Duarte, L. S., Barsé, L. Q., Dalberto, P. F., da Silva, W. T. S., Rodrigues, R. C., Machado, P., Basso, L. A., Bizarro, C. V., dan Ayub, M. A. Z. 2020. Cloning and Expression of the *Bacillus Amyloliquefaciens* Transglutaminase Gene In *E. Coli* Using a Bicistronic Vector Construction. *Enzyme and Microbial Technology*. 134(11): 1–34. Doi.org/10.1016/j.enzmictec.2019.109468

- Fecker, T., Galaz-Davison, P., Engelberger, F., Narui, Y., Sotomayor, M., Farra, L. P., dan Ramírez-Sarmiento, C. A. 2018. Active Site Flexibility as a Hallmark for Efficient *PET* Degradation by *I. sakaiensis* *PETase*. *Biophysical Journal*, 114(6): 1302–1312. Doi.org/10.1016/j.bpj.2018.02.005
- Fitriyano, G., dan Rahim, D. 2019. Tinjauan Singkat Potensi Pemanfaatan Botol Bekas Berbahan Polyethylene Terephthalate (*PET*) di Indonesia. *Eksergi*. 16(1): 18–24.
- Geyer, B., Lorenz, G., dan Kandelbauer, A. 2016. Recycling of Poly(ethylene terephthalate) – A review Focusing on Chemical Methods. *Express Polymer Letters*. 10(7): 559–586. Doi.org/10.3144/expresspolymlett.2016.
- Han, X., Liu, W., Huang, J. W., Ma, J., Zheng, Y., Ko, T. P., Xu, L., Cheng, Y. S., Chen, C. C., dan Guo, R. T. 2017. Structural Insight Into Catalytic Mechanism of *PET* Hydrolase. *Nature Communications*. 8(1): 1–6. Doi.org/10.1038/s41467-017
- Hegazy, W. K., Abdel-Salam, M. S., Hussain, A. A., Abo-Ghalia, H. H., dan Hafez, S. S. 2018. Improvement of Cellulose Degradation by Cloning of Endo-B-1, 3-1, 4 Glucanase (Bgls) Gene From *Bacillus subtilis* BTN7A Strain. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 16(2): 281–285. Doi.org/10.1016/j.jgeb.2018.06.0
- Jahnke, A. 2020. A Discussion of Single-use Plastics in Medical Settings. *Reinforced Plastics*. 64(4): 190–192. Doi.org/10.1016/j.repl.2019.12.002
- Janatunaim, R. Z. dan Fibriani, A. 2020. Construction and Cloning of Plastic-degrading Recombinant Enzymes (MHETase). *Recent Pat Biotechnol*, 14, 229-234.
- Jenkins, S., Fonseca, C., Cannella, D., dan Varrone, C. 2019. Characterising *PET* Degrading Ideonella Sakaiensis and Engineering Of *PETase* Through Mutagenesis Grail Project. *Conference: 5th Edition of The International Conferences Green Chemistry*. 7-8 Mei, Denmark: Aalborg University. Doi.org/10.13140/RG.2.2.14822.47684
- Jia, B., dan Jeon, C. O. 2016. High-Throughput Recombinant Protein Expression in *Escherichia coli*: Current Status and Future Perspectives. *Open Biology*. Doi.org/10.1098/rsob.160196
- Joo, S., Cho, I. J., Seo, H., Son, H. F., Sagong, H., Shin, T. J., Choi, S. Y., Lee, S. Y., dan Kim, K. 2018. Structural Insight Into Molecular Mechanism of Poly(ethylene terephthalate) Degradation. *Nature Communications*. 9(382): 1–12. Doi.org/10.1038/s41467-018-02881-1
- Kaur, J., Kumar, A., dan Kaur, J. 2018. Strategies For Optimization of

- Heterologous Protein Expression in *E. coli*: Roadblocks and Reinforcements. *International Journal of Bplastikal Macromolecules*. 106: 803–822. doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.08.080
- Kawai, F., Kawabata, T., dan Oda, M. 2020. Current State and Perspectives Related to the Polyethylene Terephthalate Hydrolases Available for Biorecycling. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*. 8(24): 8894–8908. Doi.org/10.1021/acssuschemeng.0c01638
- Kim, K. J. 2020. Recombinant *PET*ase Producing Strain , Recombinant Mhetase Producing Strain , And Composition For Degrading *PET* Containing The Same. *United States Patent Application Publication*. 9(7): 1–20. Doi.org/10-2018-0154759
- Kumar, V., Maitra, S. S., Singh, R., dan Burnwal, D. K. 2020. Acclimatization of a Newly Isolated Bacteria in Monomer Terephthalic Acid (TPA) May Enable it to Attack The Polymer Polyethylene terephthalate (*PET*). *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 8(4): 1–7. Doi.org/10.1016/j.jece.2020.1039
- Liu, C., Shi, C., Zhu, S., Wei, R., dan Yin, C. C. 2019. Structural and Functional Characterization of Polyethylene Terephthalate Hydrolase From *Ideonella sakaiensis*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 508(1): 289–294. Doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.11.148
- Liu, Q., Liao, Y., Wu, Y., Xu, M., Sun, Z., dan Ye, C. 2020. Cloning and Characterization of Carnitine Palmitoyltransferase I α (CPT1 α) From Obscure Puffer (Takifugu Obscurus), and its Gene Expression in Response to Different Lipid sources. *Aquaculture Reports*. 18(100424): 1-9. Doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100424
- Ma, Y., Yao, M., Li, B., Ding, M., He, B., Chen, S., Zhou, X., dan Yuan, Y. 2018. Enhanced Poly(ethylene terephthalate) Hydrolase Activity by Protein Engineering. *Engineering*. 4(6): 888–893. Doi.org/10.1016/j.eng.2018.09.0
- Nisticò, R. 2020. Polyethylene terephthalate (*PET*) in the packaging industry. *Polymer Testing*. 6: 1–38. Doi.org/10.1016/j.polymertesting.2020.106707
- Okasha, H., dan Samir, S. 2020. Synthesis and Molecular Cloning of Antimicrobial Peptide Chromogranin A N-46 Gene Using Conventional PCR. *Gene Reports*. 18(100571): 1–6. Doi.org/10.1016/j.genrep.2019.100571
- Palm, G. J., Reisky, L., Böttcher, D., Müller, H., Michels, E. A. P., Walczak, M. C., Berndt, L., Weiss, M. S., Bornscheuer, U. T., dan Weber, G. 2019. Structure of the Plastic-Degrading *Ideonella sakaiensis* MHETase Bound to a Substrate. *Nature Communications*. 10(1): 1–10. Doi.org/10.1038/s41467-019-09326-3

- Prejit, Pratheesh, P. T., Nimisha, S., Jess, V., Asha, K., dan Agarwal, R. K. 2019. Expression and Purification of an Immunogenic SUMO-OmpC Fusion Protein of *Salmonella typhimurium* in *Escherichia coli*. *Bplastikals*. 62(10): 22–26. Doi.org/10.1016/j.bplastikals.2019.10.010
- Qi, R., Jones, D. L., Li, Z., Liu, Q., dan Yan, C. 2020. Behavior of Microplastics and Plastic Film Residues in The Soil Environment: A critical review. *Science of the Total Environment*. 703(134722): 1–48. Doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134722
- Qiu, J., Jiang, Z., Ju, Z., Zhao, X., Yang, J., Guo, H., dan Sun, S. 2019. Molecular and Phenotypic Characteristics of *Escherichia coli* Isolates from Farmed Minks in Zhucheng, China. *BioMed Research International*, 2019(6): 1–13. Doi.org/10.1155/2019/3917841
- Salvador, M., Abdulmutalib, U., Gonzalez, J., Kim, J., Smith, A. A., Faulon, J. L., Wei, R., Zimmermann, W., Jimenez, J. I. 2019. *Microbial Genes for a Circular and Sustainable Bio-PET Economy*. 10(5): 1-15. Doi.org/10.3390/genes10050373
- Seo, H., Kim, S., Son, H. F., Sagong, H. Y., Joo, S., dan Kim, K. J. 2019. Production of extracellular *PET*ase from *Ideonella sakaiensis* using sec-dependent signal peptides in *E. coli*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 508(1): 250–255. Doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.11.087
- Shinde, S. A., S. A. Chavhan, S. B. Sapkal, V. N. Shrikhande. 2018. Recombinant DNA Technology and Its Application: A Review. *International Journal of MediPharm Research*. 4(2): 79-88.
- Shen, M., Zeng, G., Zhang, Y., Wen, X., Song, B., dan Tang, W. 2019. Can biotechnology Strategies Effectively Manage Environmental (micro)plastics? *Science of the Total Environment*. 697(134200): 1-5. Doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134200
- Son, H. F., Cho, I. J., Joo, S., Seo, H., Sagong, H. Y., Choi, S. Y., Lee, S. Y., dan Kim, K. J. 2019. Rational Protein Engineering of Thermo-Stable *PET*ase from *Ideonella sakaiensis* for Highly Efficient *PET* Degradation. *ACS Catalysis*. 9(4): 3519–3526. Doi. Org/10.1021/acscatal.9b00568
- Tanasupawat, S., Takehana, T., Yoshida, S., Hiraga, K., dan Oda, K. 2016. *Ideonella sakaiensis* sp. Nov., Isolated from a Microbial Consortium that Degrades Poly(ethylene terephthalate). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 66(8): 2813–2818. Doi.org/10.1099/ijsem.0.001058
- Taniguchi, I., Yoshida, S., Hiraga, K., Miyamoto, K., Kimura, Y., dan Oda, K. 2019. Biodegradation of *PET*: Current Status and Application Aspects. *ACS*

Catalysis. 9(5): 4089–4105. Doi. Org/10.1021/acscatal.8b05171

- Tiwari, N., Santhiya, D., dan Sharma, J. G. 2020. Microbial remediation of Micro-nano Plastics: Current Knowledge and Future Trends. *Environmental Pollution*, 265(115044): 1–33. Doi.org/10. 1016/j.envpol.2020.115044
- Torres, R., Marinho, L., dan Vasconcelos, P. 2020. Dataset on Recombinant Expression of an Ancient Chitinase Gene From Different Species of *Leishmania* Parasites in bacteria and in *Spodoptera frugiperda* cells using *baculovirus*. *Data in Brief*, 20(106259): 1–16. Doi.org/10. 1016/j.dib.2020.106259
- Tozakidis, I. E. P., Sichert, S., dan Jose, J. 2015. Going beyond E. coli: Autotransporter Based Surface Display on Alternative Host Organisms. *New Biotechnology*. 32(6): 644–650. Doi.org/10.1016/j.nbt.2014.12.00
- Waegeman, H., & Soetaert, W. 2011. Increasing recombinant protein production in *Escherichia coli* through metabolic and genetic engineering. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 38(12): 1891–1910. Doi.org/10.1007/s10295-011-1034-4
- Widyastuti, G. 2018. Genetic Engineered *Ideonella Sakaiensis* Bacteria: A Solution of the Legendary Plastic Waste Problem. *The 3rd International Conference of Integrated Intellectual Community*. 28-29 April, Hanover, German. Pp 1–5. Doi.org/10.2139/ssrn.3194556
- Yoshida, S., Hiraga, K., Takehana, T., Taniguchi, I., Yamaji, H., Maeda, Y., Toyohara, K., Miyamoto, K., Kimura, Y., dan Oda, K. 2016. A Bacterium that Degrades and Assimilates Poly(ethylene terephthalate). *Sciencemag*, 351(6278): 1–5.
- Yuan, J., Ma, J., Sun, Y., Zhou, T., Zhao, Y., dan Yu, F. (2020). Microbial degradation and other environmental aspects of microplastics/plastics. *Science of the Total Environment*. 715(136968): 1–9. Doi.org/10. 1016/j.scitotenv.2020.136968
- Zhou, Y., Lu, Z., Wang, X., Selvaraj, J. N., dan Zhang, G. 2018. Genetic engineering modification and Fermentation Optimization For Extracellular Production of Recombinant Proteins Using *Escherichia coli*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 102(4): 1545–1556. Doi.org/10. 1007/s00253-017-8700-z