

DETEKSI, KARAKTERISASI, DAN IDENTIFIKASI MIKROALGA KONTAMINAN PADA POLIMER EMULSI BERBASIS POLIVINIL ASETAT (PVA)

Muhammad Mawardi Abdullah, Langkah Sembiring

Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada

Abstrak

Produk polimer emulsi polivinil asetat (PVA) dilaporkan telah mengalami kontaminasi oleh mikroalga. Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi isolat mikroalga kontaminan setidaknya-tidaknya hingga aras genus, menguji kemampuan biodegradasi isolat mikroalga terhadap senyawa polivinil asetat, dan menguji algisida yang dapat mengatasi masalah kontaminasi pada polimer emulsi PVA. Isolasi dan purifikasi mikroalga dilakukan dengan teknik sentrifugasi bertingkat yang dimodifikasi menggunakan pelarut akuades steril dan Tween-80 4%. Isolat dikarakterisasi secara morfologis dengan metode *matching profile*. Uji biodegradasi dilakukan secara fisikawi dengan mengukur berat kering dan uji penggerusan, dan secara kimiawi dengan metode FTIR. Efektivitas algisida diuji berdasarkan pada metode *In-Can Challenge Test* yang dimodifikasi. Isolat mikroalga kontaminan diidentifikasi sebagai anggota genus *Chlorobotrys*. Mikroalga tidak mampu mendegradasi senyawa polivinil asetat, namun pertumbuhan massa sel dianggap mengganggu warna dasar polimer. Larutan $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ maupun Nipacide BK yang digunakan sebagai algisida mampu mengatasi mikroalga kontaminan pada polimer emulsi PVA.

Kata Kunci: Polivinil Asetat, *Chlorobotrys*, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, Nipacide BK

PENDAHULUAN

Polivinil asetat (PVA) salah merupakan salah satu polimer sintetik yang telah banyak dimanfaatkan. Dalam industri, polivinil asetat lazim diproduksi dengan teknik polimerisasi emulsi—yakni dengan mendispersikan monomer ke dalam air sebagai medium pendispersi—dan digunakan bahan pengemulsi yang umumnya bersifat organik. Karena merupakan produk yang berbahan dasar air dan mengandung senyawa organik, produk polimer emulsi cenderung rentan terhadap kontaminasi mikrobia.

Polimer emulsi polivinil asetat yang berasal dari beberapa klien PT. Clariant Indonesia dilaporkan telah mengalami kontaminasi oleh mikroalga yang produk dianggap tidak memenuhi kualifikasi sehingga menimbulkan kerugian karena produk dikembalikan dan atau ditolak oleh para pembelinya (Nugrahani, 2007). Walaupun polimer tersebut disimpan dalam kemasan yang tertutup rapat, sehingga faktor cahaya dan oksigen dapat diminimalkan, mikroalga tersebut tetap mampu tumbuh dengan baik.

Informasi mengenai identitas mikroalga, kemampuan biodegradasi mikroalga pada komponen polimer emulsi berbasis poli vinil asetat, dan algisida pengendalinya diharapkan dapat menjadi referensi untuk pencegahan dan penanggulangan kontaminasi yang lebih efektif.

METODE PENELITIAN

Deteksi Mikroalga Kontaminan.

Mikrobia kontaminan diambil dari sampel polimer emulsi berbasis PVA dan dibuat preparat basah. Preparat tersebut diamati dengan mikroskop cahaya Leica CME dengan perbesaran 400x.

Isolasi dan Purifikasi Mikroalga Kontaminan

Tahap awal isolasi mikroalga dilakukan dengan mengencerkan 200 µl mikroalga dari sampel polimer emulsi PVA dengan 30 ml akuades steril. Pada campuran tersebut dilakukan pengadukan dengan *loop* dan vortex IKA MS-2 dengan kecepatan 1800 rpm. Selanjutnya tabung didiamkan selama ± 3 jam sehingga terbentuk dua lapisan. Bagian *supernatant* dibuang, sedangkan bagian pelet dilanjutkan ke tahap sentrifugasi bertingkat.

Teknik sentrifugasi bertingkat mengacu pada Warren *et al. cit.* Hurst *et al.* (2002) yang dimodifikasi. Selain itu, berdasarkan Chantanachat & Bold (1962) perlu juga digunakan Tween-80 4% sebagai larutan pembilas tambahan. Ke dalam tabung dituangkan 8 ml larutan Tween-80 4%, kemudian disentrifugasi pada kecepatan 1700 rpm selama 1 menit 17 detik. Bagian pelet diambil dan dibilas dengan 30 ml akuades steril. Selanjutnya disentrifugasi kembali pada 1400 rpm selama 1 menit 17 detik. Pembilasan diulangi sebanyak lima kali. Akuades steril dibuang sehingga diperoleh isolat mikroalga yang murni.

Karakterisasi dan Identifikasi Mikroalga Kontaminan

Isolat mikroalga alga dikarakterisasi secara fenotipik morfologis dengan mikroskop cahaya Leica CME. Karakter-karakter tersebut dijadikan sebagai dasar identifikasi dengan mengacu pada *The Freshwater Algal Flora of the British Isles* (John *cit.* John *et al.*, 2002). Unit karakter yang digunakan adalah morfologi yang meliputi bentuk sel, ukuran sel, bentuk kloroplas, tipe reproduksi, dan struktur khusus (bintik mata).

Uji Biodegradasi Polimer Emulsi Berbasis Polivinil Asetat

Uji berat kering didasarkan pada *Environmental Protection Agency* 160.3: *Total Residue*. Sebanyak 1 g sampel polimer emulsi PVA ditempatkan ke dalam wadah *aluminium foil* dan ditimbang dengan neraca analitik Mettler Toledo AB 204. Khusus untuk sampel yang terkontaminasi mikroalga, dilakukan penyaringan terlebih dahulu dengan filter 100 mesh. Dicatat berat bersih *aluminium foil* dan berat *aluminium foil* yang telah berisi sampel. Sampel kemudian dimasukkan ke dalam Oven Memmert pada suhu 150°C selama 1 jam. Selanjutnya sampel disimpan dalam eksikator selama 5-15 menit dan ditimbang beratnya kembali dengan neraca analitik. Nilai berat kering ditentukan dengan rumus berikut:

$$\text{BeratKering} = \frac{A - B}{C - B} \times 100\%$$

NB: A = Berat total sebelum dioven 105°C; berat wadah + berat sampel (1 g)
B = Berat wadah
C = Berat total setelah dioven 105°C

Uji penggerusan didasarkan pada *Deutsches Institut for Normung* 53778 Part 2: *Scrub Resistance and Cleanability*. Dibuat campuran 268,5 g pasta bahan dasar cat (*millbase*) dan masing-masing 31,5 g polimer emulsi PVA yang tidak terkontaminasi maupun yang sudah terkontaminasi oleh mikroalga. Campuran pasta dan polimer emulsi PVA tersebut selanjutnya dihomogenkan dengan *homogenizer*. Dengan aplikator, homogenat selanjutnya diaplikasikan di atas kertas Laneta dengan ketebalan 200 µm dan disimpan ditempat yang sejuk selama 1 minggu. Pola aplikasi dibuat selang-seling antara polimer emulsi PVA yang tidak terkontaminasi (A) dan yang terkontaminasi (B).

Setelah satu minggu, hasil aplikasi diuji dengan mesin *abrasion tester* BYK Gardner yang diatur untuk beroperasi hingga 1000 siklus. Pencatatan dilakukan untuk nilai siklus yang mengakibatkan kerusakan pada sampel. Kriteria sampel dianggap rusak adalah apabila sampel (diukur dari bidang vertikal) telah tergerus ± 2 cm.

Metode analisis FTIR dimodifikasi dari *American Society for Testing and Materials* D5594-98: *Standard Method for Determination of the Vinyl Acetate Content of Ethylene Vinyl Copolymers by Fourier Transform Infrared Spectroscopy*. Mesin FTIR yang digunakan untuk menganalisis struktur kimia polimer emulsi PVA adalah Shimadzu IR Prestige-21 dengan pengaturan absorbansi 400-4000 nm. Analisis sampel dengan mesin FTIR terdiri dari 3 (tiga) bagian, yakni: (i) perbandingan sampel polimer emulsi yang tidak terkontaminasi (*blank*) dengan

basis data yang tersedia di basis data mesin FITR, (ii) penentuan gugus fungsional pada bagian puncak hasil analisis, dan (iii) perbandingan sampel polimer emulsi yang tidak terkontaminasi, yang terkontaminasi mikroalga, dan yang telah dilakukan pelakuan dengan algisida.

Penanggulangan Mikroalga Kontaminan

Penanggulangan mikroalga kontaminan didasarkan pada *Wet State Polymer/Paint Challenge Test* yang dikembangkan oleh *International Biodeterioration Research Group* (Draft 5, March 1997) dan (Draft 7/P98/011) yang dimodifikasi. Sampel dituangkan pada wadah steril dan ditimbang sebanyak $50 \pm 0,5$ g dengan menggunakan neraca kasar Sartorius LA 2200S. Sampel yang terkontaminasi tersebut selanjutnya ditambahkan agen biosida dengan dosis 0,5% (w/w) dan 1% (w/w). Inokulum mikroalga, algisida, dan sampel dihomogenkan dengan stik kayu steril sekali pakai. Selanjutnya diinkubasikan dalam inkubator alga pada suhu 20°C selama lima minggu. Setiap satu minggu, dilakukan pengamatan terhadap pertumbuhan mikroalga yang telah didedahkan dengan algisida. Pada minggu terakhir, hasil pengujian didokumentasikan dengan cara difoto dengan kamera Panasonic Lumix DMC-F7.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Mikroalga yang mengkontaminasi polimer emulsi berbasis PVA hanya terdiri dari satu macam (monokultur). Oleh karena itu isolasi yang akan dilakukan pada tahap selanjutnya hanya dimaksudkan untuk memisahkan mikroalga tersebut dengan polimer emulsi berbasis PVA, sehingga sel mikroalga dapat diamati dengan lebih jelas. Dengan teknik pengenceran dan sentrifugasi bertingkat, diperoleh isolat mikrolaga yang murni.

Karakter mikroalga kontaminan tersebut dapat dideskripsikan sebagai berikut: berupa sel tunggal berbentuk bulat atau agak bulat dengan membran ganda (Gambar 1.), diameter sel 12-20 μm , sel hidup soliter, kloroplas berwarna hijau kekuningan; terletak di daerah pinggir sel (parietal) berbentuk mangkuk; jumlah kloroplas semakin bertambah seiring dengan pertambahan usia sel, tidak memiliki flagela, reproduksi dengan membentuk autospora (Gambar 2.) ataupun membelah diri (Gambar 3.), sel dewasa memiliki bintik mata yang besar berwarna merah-oranye yang memiliki *flagellar swelling* dan terletak di luar kloroplas.

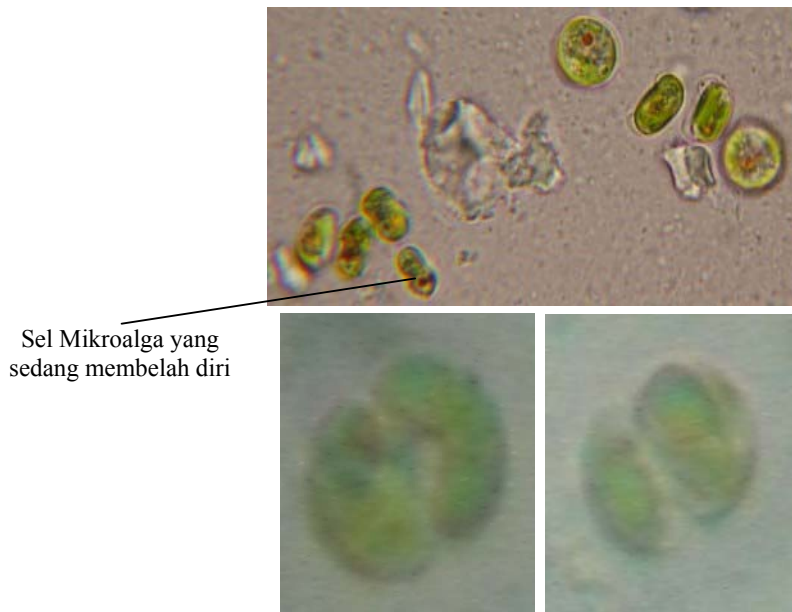
Warna hijau disebabkan oleh pigmen utama berupa klorofil a, sedangkan warna kuning disebabkan oleh pigmen asesoris dari golongan karotenoid berupa violaxantin (Lee, 1989). *Chlorobotrys* merupakan satu-satunya anggota kelas *Eustigmatophyceae* yang tidak memiliki flagela sehingga tidak mampu membentuk zoospora (Lee, 1989). Adapun struktur yang diduga sebagai nukleus ternyata merupakan bintik mata—yang berfungsi sebagai fotoreseptor—terletak di luar kloroplas. Ini merupakan ciri khas mikroalga kelas *Eustigmatophyceae* sekaligus sebagai pembeda dari kelas *Xantophyceae* (Hibberd & Leddal, 1971). Warna merah-oranye pada struktur ini disebabkan oleh adanya pigmen asesoris karotenoid dan juga butir-butir lipid (Lee, 1989).



Gambar 1. Struktur sel Mikroalga isolat TG 2334 (2), perbesaran 1000x



Gambar 2. Sel Mikroalga isolat TG 2334 (2) yang membentuk autospora, perbesaran 400 x (kiri); perbesaran 1000x (kanan)



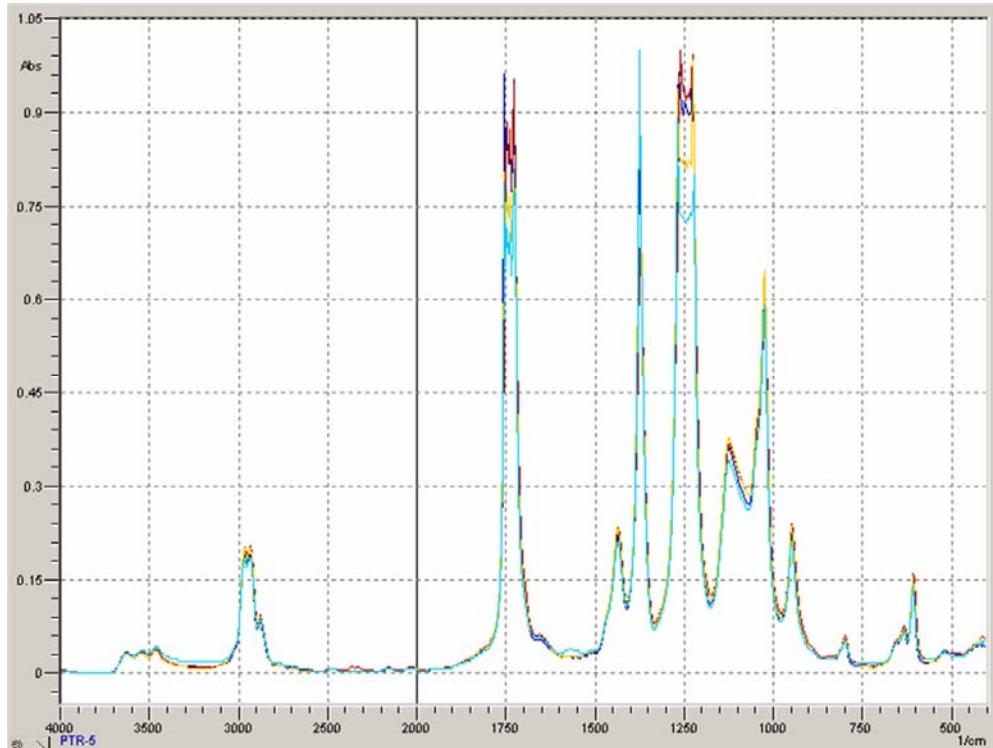
Sel Mikroalga yang sedang membelah diri

Gambar 3. Sel Mikroalga isolat TG 2334 (2) yang membelah diri, perbesaran 400x (atas); perbesaran 1000x (bawah)

Berdasarkan metode *matching profile*, perbandingan karakter yang diperoleh dengan karakter kunci deskripsi genus yang dianggap paling mendekati, maka isolat mikroalga kontaminan yang tumbuh pada polimer emulsi PVA diidentifikasi sebagai anggota genus *Chlorobotrys*.

Untuk berat kering polimer emulsi PVA yang tidak terkontaminasi diperoleh nilai rerata 58,03% dan untuk polimer emulsi PVA yang terkontaminasi adalah 57,09%. Nilai rerata uji penggerusan untuk polimer emulsi PVA yang tidak terkontaminasi adalah 992,5 siklus gerusan. Sedangkan untuk polimer emulsi yang terkontaminasi mikroalga adalah 842 siklus gerusan. Hasil uji berat kering dan uji menunjukkan bahwa polivinil asetat yang merupakan komponen utama juga tidak mengalami degradasi.

Gambar 4. memperlihatkan hasil perbandingan sampel polimer emulsi yang tidak terkontaminasi (*blank*) dengan basis data yang terdapat pada mesin FTIR. Pola basis data FTIR dan pola dari sample *blank* relatif mirip. Dari gambar tersebut juga dapat diketahui jenis gugus fungsional puncak yang relatif berhimpitan, yaitu surfaktan (2993,7 nm), ester (1741,7 nm), fosfor (1433,1 nm), nitrogen (1370,2 nm), alkana (1224,8 nm), alkana (1122,6 nm), eter (1022,3 nm), fosfor (947,0 nm), dan urea (605,6 nm). Gugus fungsional yang mengindikasikan polivinil asetat yang diwakili oleh gugus fungsi ester terdapat pada panjang gelombang 1741,7 nm.



Keterangan: — = Polimer emulsi pva tidak terkontaminasi (*blank*)
 — = Polimer emulsi pva terkontaminasi mikroalga
 — = Polimer emulsi pva di-*post treatment* dengan $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0.5%)
 — = Polimer emulsi pva di-*post treatment* dengan Nipacide BK (0.5%)

Gambar 5. Hasil pembacaan FTIR terhadap berbagai film sampel polimer emulsi PVA

Tabel 1. Hasil Penanggulangan Berbagai Jenis dan Dosis Algisida

Jenis Algisida	Dosis (%)*	Masa Inkubasi 20°C		Keterangan tambahan
		1 bulan	2 bulan	
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 20%	0,5	0	0	warna polimer menjadi biru
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 20%	1,0	0	0	warna polimer menjadi lebih biru
Nipacide BK	0,5	0	0	warna polimer menjadi kuning
Nipacide BK	1,0	0	0	warna polimer menjadi lebih kuning
Kontrol (+)	---	++	++	mikroalga menjadi hijau kekuningan

* Penambahan dosis algisida didasarkan pada perbandingan berat terhadap berat (w/w)

Skor Intensitas Pertumbuhan:

0 = Tidak ada pertumbuhan
 + = Kontaminasi mikroalga ringan
 ++ = Kontaminasi mikroalga menengah
 +++ = Kontaminasi mikroalga berat

SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat diperoleh beberapa simpulan, yaitu (i) mikroalga yang mengkontaminasi polimer emulsi PVA adalah anggota genus *Chlorobotrys*, (ii) mikroalga tidak mampu mendegradasi komponen polivinil asetat, tetapi masih dapat tumbuh mengakibatkan warna

polimer emulsi PVA tidak sesuai spesifikasi yang diharapkan, dan (iii) kedua jenis algisida yang digunakan mampu menanggulangi kontaminasi mikroalga pada polimer emulsi PVA.

Saran yang dapat diberikan berdasarkan penelitian ini adalah: (i) perlu dilakukan karakterisasi lebih lanjut seperti karakterisasi fisiologis, sitologis dengan menggunakan SEM dan atau TEM, maupun molekular untuk identifikasi sampai aras spesies, (ii) perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui komponen aditif polimer emulsi yang didegradasi oleh mikroalga.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim_a. 2009. *Total Residue*. Environmental Protection Agency (EPA 160.3). http://www.caslab.com/EPA-Method-160_3/ (diakses 21 April 2009)
- Anonim_b. 2009. *Scrub Resistance and Cleanability*. Deutsches Institut for Normung (DIN 53778, Part 2). <http://www.pra.org.uk/technical/testingphysicalscrub.htm> (diakses 21 April 2009)
- Anonim_c. 2009. *Standard Method for Determination of the Vinyl Acetate Content of Ethylene Vinyl Copolymers by Fourier Transform Infrared Spectroscopy*. American Society for Testing and Materials (D5594-98). <http://www.astm.org/Standards/D5594.htm> (diakses 21 April 2009)
- Anonim_d. 1998. *Wet State Polymer/Paint Challenge Test*. International Biodeterioration Research Group (Draft 7/P98/011)
- Chantanachat, S. & H.C.Bold. 1962. *Phycological Studies II: Some Algae from Arid Soils*. No.6218. 15 September 1962. The University of Texas Pub.
- Hurst, C., J.Ronald, L.C.Guy, R.K.Michael, J.Mc Inerney, & L.D.Stetzenbach. 2002. *Manual of Environmental Microbiology*. 2nded. ASM Press.
- John, D.M. 2002. *The Freshwater Alga Flora Of the British Isles: An Identification Guide to Freshwater & Terrestrial Algae* (John, D.M., B.A. Whitton & J. Brook (Eds.)). Cambridge University Press.
- Lee, R.E. 1989. *Phycology*. 2nded. Cambridge University Press. New York. USA.
- Nugrahani, R.D. 2007_a. *Microbiologist of Biocides Laboratory FUN Division*. PT. Clariant Indonesia. Komunikasi Personal. 6 November 2007