

	<p><b>ISOLASI BAKTERI DARI TANAH TEMPAT PEMBANGUN AKHIR (TPA) AIR SEBAKUL SEBAGAI AGEN BIODEGRADASI LIMBAH PLASTIK POLYETHYLENE</b></p> <p><b>Desy Purnama Sari*<sup>1</sup> Hermansyah Amir**<sup>2</sup>, Rina Elvia***<sup>3</sup></b> <b>*<sup>1,2,3</sup> Pendidikan Kimia, Jurusan PMIPA, Universitas Bengkulu</b> <b>*<sup>1</sup>Email: desypurnama2712@gmail.com</b></p>					
						

### ABSTRACT

*This study aims to obtain the bacteria of Pseudomonas from the land of TPA Air Sebakul Bengkulu City as a plastic degrading agent and measure the ability of bacteria to degrade Low Density Polyethylene (LDPE) and Oxium plastic. The research was conducted from February to August 2019, at the Laboratory of Biology and Chemistry Learning, Faculty of Teacher Training and Education, University of Bengkulu. Air Sebakul landfill samples were taken at the coordinate point 3°49'27.8"S 102°20'48.4"E. Isolation of plastic degrading bacteria using selective media King's B Agar added with 2% Polyethylen Glycol (PEG) to test the ability to develop bacterial isolates in plastic-based media. The steps of this research are bacterial isolation, bacterial purification and bacterial selection, macroscopic and microscopic identification of bacteria (Gram staining) and plastic biodegradation test with Mineral Salt Agar (MSM) media. Determination of the % weight loss of LDPE and oxium plastics in the biodegradation process was carried out for 30 days with time variations of 10, 20 and 30 days. The results of bacterial isolation based on morphological characteristics and gram staining test of P-1 bacterial isolate have similarities with Pseudomonas aeruginosa. So that the P-1 bacterial isolate is thought to be a Pseudomonas aeruginosa bacterium. The biodegradation of LDPE and oxium plastics with isolates of P-1 bacteria for 10, 20 and 30 days respectively was able to degrade oxium plastics by 2.43, 5.17 and 9.86% while LDPE plastics by 1.13, 2 and 1, 17%.*

**Keywords:** *Pseudomonas aeruginosa*., Biodegradation, LDPE, Oxium.

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan bakteri *Pseudomonas* dari tanah TPA Air Sebakul Kota Bengkulu sebagai agen pendegradasi plastik serta mengukur kemampuan bakteri dalam mendegradasi plastik *Low Density Polyethylene* (LDPE) dan plastik Oxium. Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari sampai Agustus 2019, di Laboratorium Pembelajaran Biologi dan Kimia Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Bengkulu. Sampel tanah TPA Air Sebakul diambil pada titik kordinat 3°49'27.8"S 102°20'48.4"E. Isolasi bakteri pendegradasi plastik menggunakan media selektif *King's B Agar* yang ditambah *Polyethylen Glycol* (PEG) 2% untuk menguji kemampuan tumbuh isolat bakteri dalam media berbahan dasar plastik. Langkah- langkah dari penelitian ini isolasi bakteri, pemurnian bakteri dan seleksi bakteri, identifikasi bakteri secara makroskopik dan mikroskopik (pewarnaan Gram) serta uji biodegradasi plastik dengan media *Mineral Salt Agar* (MSM). Penentuan % kehilangan berat plastik LDPE dan oxium pada proses biodegradasi dilakukan selama 30 hari dengan variasi waktu 10, 20 dan 30 hari. Hasil isolasi bakteri berdasarkan karakteritik morfologi dan uji pewarnaan gram isolat bakteri P-1 memilkii kemiripan dengan *Pseudomonas aeruginosa*. Sehingga isolat bakteri P-1 diduga merupakan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil bidoegradasi plastik LDPE dan oxium dengan isolat bakteri P-1 selama 10, 20 dan 30 hari berturut-turut mampu mendegradasi plastik oxium sebesar 2,43, 5,17 dan 9,86 % sedangkan plastik LDPE sebesar 1,13, 2 dan 1,17 %.

**Kata Kunci:** *Pseudomonas aeruginosa*., Biodegradasi, LDPE, Oxium

### PENDAHULUAN

Plastik tergolong polimer kompleks yang memiliki waktu degradasi sangat lama dikarenakan struktur polimer plastik yang memiliki rantai panjang berulang, sehingga memerlukan waktu yang lama untuk memotong rantai tersebut menjadi molekul yang lebih pendek [1]. Polimer Polyethylene (PE) adalah salah satu polimer sintetik yang paling banyak

digunakan di dunia. *Low Density Polyethylene* (LDPE) merupakan salah satu polietilen yang paling umum digunakan dengan total produksi 17,5% dari produksi plastik Eropa [2]. Pada tahun 2014 sekitar 311 juta ton plastik diproduksi diseluruh dunia dan diperkirakan produksi akan berlipat ganda selama 20 tahun kedepan [3].

Plastik menjadi penyumbang terbesar limbah padat di lingkungan terrestrial [4]. Pada tahun 2015 lebih dari 75% sampah plastik masih dibuang ke Tempat Pembuangan Sampah [2]. Diperkirakan sampah plastik yang tidak terdegradasi memiliki laju penumpukan secara global 25 juta ton pertahun [5]. Peningkatan akumulasi plastik dilingkungan merupakan ancaman bagi permukaan bumi. Peningkatan sampah plastik tersebut dikarenakan sifat plastik yang ringan, murah, fleksibel dan tidak mudah pecah [6] dan banyak diaplikasikan dalam bidang industry, pertanian maupun untuk kebutuhan rumah tangga.

Berdasarkan interview dengan Kepala Dinas (Kadis) Kebersihan Kota Bengkulu, sampah yang masuk ke Tempat Pembuangan Akhir (TPA) Air seabakul sekitar 260-280 ton perhari, baik sampah organik ataupun sampah plastik). TPA Air Sebakul mulai dioperasikan sejak tahun 1997. Sistem pengolahan sampah yang digunakan yaitu *open dumping*, sampah plastik dan non plastik ditempatkan di suatu lahan terbuka kemudian ditimbun begitu saja tanpa pengolahan lebih lanjut sehingga memberikan dampak yang buruk bagi masyarakat sekitar [7]. Hasil dari banyak penelitian menunjukkan bahwa kontaminan lingkungan dari bahan plastik memiliki dampak yang tahan lama [8]. Secara signifikan dapat mempengaruhi kesehatan manusia dan organisme lainnya yang berada disekitar TPA Air Sebakul.

Penanganan sampah plastik yang populer selama ini adalah menggunakan 3R (*Reuse, Reduce, Recycle*) [9]. Untuk menanggulangi pencemaran lingkungan akibat limbah plastik diperlukan metode penanganan dan pengolahan yang tepat. Metode penanganan sampah plastik yang sedang dikembangkan saat ini yaitu menggunakan metode biologis. Metode biologis yang sedang dikembangkan adalah menggunakan mikroorganisme alami yang memiliki kemampuan mendegradasi polimer plastik [10]. Beberapa penelitian menyebutkan bahwa mikroorganisme seperti fungi dan bakteri mampu untuk mendegradasi sampah plastik [11]. Mikroorganisme tersebut dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Mikroba Pendegradasi Plastik

Nama Mikroba	% Kehilangan Berat Plastik
Bakteri :	
<i>Pseudomonas sp.</i>	3,97
<i>Staphylococcus sp.</i>	0,56
<i>Moraxella sp.</i>	8,16
<i>Micrococcus sp.</i>	1,02
<i>Streptococcus sp.</i>	1,07
Jamur :	
<i>Aspergillus niger</i>	5,54
<i>Aspergillus glaucus</i>	7,26

Berdasarkan tabel 1 terdapat bakteri yang memiliki aktivitas yang menonjol dalam mendegradasi plastik yaitu *Moraxella sp.* tetapi bakteri tersebut sulit didapatkan dan memiliki sifat *toxic* yang cukup tinggi. Sedangkan bakteri *Pseudomonas sp.* tergolong kedalam bakteri yang memiliki aktivitas cukup aktif dalam mendegradasi plastik serta tidak bersifat *toxic*. Oleh karena itu perlu mengidentifikasi bakteri *Pseudomonas* yang terdapat di TPA Air Sebakul yang dapat digunakan dalam pengendalian sampah plastik secara aspek biologis.

Berdasarkan latar belakang diatas, penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan isolat bakteri *Pseudomonas* dari isolasi tanah TPA Air Sebakul sebagai agen pendegradasi limbah plastik *Low Density Polyethylene* (LDPE) dan oxium

## METODE PENELITIAN

### Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakanakan pada bulan Februari sampai Agustus 2019, di Laboratorium Pembelajaran Biologi dan Kimia Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Bengkulu.

### Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : Sekop, plastik, erlenmeyer, oven, shaker, *analytic balance*, kamera digital, mikroskop, petridish, gelas kimia, kertas label, plastik pembungkus, *autoclave*, pinset, pipet tetes, pipet volume, gunting, penggaris, *magnetic stirrer*, tabung reaksi, pembakar bunsen, *hot plate*, kawat ose, preparat, botol kaca, kuvet, spektrofotometer dan plastik *wrap*.

### Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah plastik oxium, plastik LDPE, tanah TPA, aquades, NaCl 0,9%, alkohol 70%, *polyethylene glycol* (PEG), *King's B Agar*, lugol, kristal violet, safranin, *mineral salt medium* (MSM) dan *King's B Borth*.

### Pengambilan Sampel Tanah

Sampel tanah yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanah TPA Air Sebakul dibagian Blok D dengan titik koordinat 3°49'27.8"S 102°20'48.4"E menggunakan metode eksplorasi. Metode eksplorasi adalah kegiatan pelacakan, penjelajahan, mencari dan mengumpulkan jenis sumberdaya genetik [12]. Metode ini diawali dengan pra eksplorasi yaitu mencari informasi kelimpahan bakteri pendegradasi plastik pada satu titik tanah TPA Air Sebakul. Sampel tanah diambil pada lapisan atas tanah yang digali sedalam 10-15 cm sebanyak 100 gram dengan menggunakan sekop dan dimasukkan

kedalam plastik steril yang telah diberi label. Kemudian sampel tanah dibawa ke laboratorium untuk analisis lebih lanjut [10].

### Persiapan Sampel Tanah

Sampel tanah yang telah didapat diaduk secara merata dan dibersihkan dari kotoran. Kemudian sampel tanah diayak agar didapatkan tanah yang homogen dan dilanjutkan ke tahap isolasi.

### Isolasi dan Seleksi Bakteri Potensial

Proses isolasi awal dilakukan dengan metode *plating method* dengan cara sampel tanah diambil sebanyak 10 gram dan disuspensikan kedalam erlenmeyer ukuran 250 mL yang telah diisi 90 mL larutan NaCl 0,9 %, kemudian di vortex dengan kecepatan 150 rpm selama 15 menit. Setelah itu didiamkan selama 10 menit agar terbentuk sedimentasi [10]. Sehingga terjadi pemisahan antara bakteri dan tanah. Suspensi tanah yang telah didiamkan diambil sebanyak 0,5 mL dimasukkan kedalam tabung reaksi yang telah mengandung 4,5 mL larutan NaCl 0,9 %, sehingga didapatkan suspensi dengan tingkat pengenceran  $10^{-1}$ . Seterusnya dilakukan pengenceran yang sama sampai tingkat pengenceran  $10^{-6}$  [10].

Suspensi pada masing-masing pengenceran dipipet sebanyak 0,1 mL ditetaskan kedalam cawan petri yang sudah terdapat media *King's B Agar* (KB). Kemudian cawan petri yang mengandung suspensi diinkubasi dengan suhu 37°C selama 48 jam. Isolat yang memiliki kromofor hijau dan berumur 48 jam kemudian diambil dan dimurnikan dengan metode *Streak Single Colonies*. Hasil dari pemurnian tersebut diambil untuk menguji kemampuan tumbuh isolat dalam lingkungan berbahan dasar plastik menggunakan media agar KB yang telah ditambah 2% *Polyethylene Glycol* (PEG). Kemudian cawan petri diinkubasi dengan suhu 37°C selama 48 jam. Isolat yang tumbuh dalam media agar KB + PEG dimurnikan lagi, dengan media yang sama. Kemudian dilakukan pembuatan stok bakteri dari isolat murni pada media *King's B Borth*.

### Perhitungan Jumlah Bakteri Isolat Murni

Sampel bakteri yang telah dibiakkan selama 48 jam dalam larutan *King's B Borth*, kemudian diencerkan kembali. Sebanyak 0,5 mL sampel dimasukkan kedalam 4,5 mL *King's B Borth* steril dan diberi label pengenceran  $10^{-1}$  (faktor pengenceran). Kemudian dikocok dan diambil 0,5 mL untuk dimasukkan kedalam cawan petri yang berisi *King's B Agar*. selanjutnya dipipet 1 mL dari tabung  $10^{-1}$ , kemudian dimasukkan ke tabung reaksi yang telah berisi 4,5 mL *King's B Borth* diberi label pengenceran

$10^{-2}$  dan 0,5 mL dimasukkan kedalam cawan petri kedua. Diulangi proses ini sampai pengenceran  $10^{-5}$ . Sampel pada cawan petri diinkubasi selama 24 jam. Sedangkan sampel pengenceran pada tabung reaksi dilakukan pengukuran *Optical Density* (OD) menggunakan spektrofotometer.

Sampel pengenceran yang berada pada tabung reaksi akan dianalisis OD (*Optical Density*) menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm [13]. Kemudian dicatat jumlah masing-masing koloni dengan rumus hitung sebagai berikut :

$$\text{Koloni per mL} = \frac{\text{jumlah koloni percawan} \times 1}{/(\text{faktor pengenceran})}$$

### Uji Morfologi (Pewarnaan Gram) Bakteri Isolat Murni

Kaca objek yang telah dibersihkan dan disterilkan dilewatkan 3-4 kali pada nyala api bunsen, kemudian diambil isolat bakteri dengan jarum ose secara aseptik dan dioleskan pada kaca objek. Isolat bakteri kemudian ditetesi kristal violet dan dibiarkan selama 1 menit, selanjutnya dicuci dengan air mengalir dan dianginkan hingga kering. Isolat bakteri kemudian ditetesi lagi dengan larutan iodine dan dibiarkan selama 1 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir dan dianginkan hingga kering. Selanjutnya isolat bakteri ditetesi alkohol 95% selama 30 detik, kemudian dialiri air dan dianginkan hingga kering. Isolat bakteri kemudian ditetesi safranin selama 30 detik dan dicuci dengan air mengalir, dikeringkan dengan kertas penghisap dan dikering anginkan, kemudian dilakukan pengamatan dengan menggunakan mikroskop perbesaran 1000 kali [14].

### Bentuk Sel

Bakteri yang tumbuh kemudian diamati bentuk selnya secara makroskopik dan mikroskopik dengan perbesaran 1000 kali pada kaca preparat sehingga dapat diketahui bentuknya (kokus, batang atau spiral) [14].

### Persiapan Plastik LDPE dan Oxium

Plastik yang digunakan adalah plastik oxium dan plastik LDPE yang diperoleh dari supermarket. Plastik dipotong dengan ukuran 1 x 1 cm<sup>2</sup> kemudian disterilisasi dengan alkohol 70% selama kurang lebih 15 menit [10]. Selanjutnya dilakukan pengeringan menggunakan oven dengan suhu 37 °C selama 24 jam. Potongan plastik selanjutnya ditimbang di *analytical balance* dalam kondisi steril sebagai berat awal.

### Biodegradasi plastik LDPE dan Oxium

Metode ini diawali dengan memipet *mineral salt medium* (MSM) cair sebanyak 10 ml pada erlenmeyer 1, 2, 3, 4, 5 dan 6. Kemudian disterilisasi menggunakan autoclave. Selanjutnya masing-masing botol diisi 3 potongan plastik steril dengan ukuran 1 x 1 cm<sup>2</sup> yang telah diukur berat kering awalnya. Erlenmeyer 1, 2 dan 3 untuk plastik LDPE, Erlenmeyer 4, 5 dan 6 untuk plastik oxium. Lalu diinokulasi sebanyak 0,5 mL suspensi bakteri pada masing-masing botol. Semua erlenmeyer diinkubasi pada suhu ruang dengan variasi waktu 10, 20 dan 30 hari, lalu dilihat tingkat kekeruhan media dan diukur pula berat kering akhirnya. Potongan plastik hasil degradasi kemudian disterilkan dengan alkohol 70% dan dioven selama 24 jam pada suhu 37 °C. Kemudian potongan plastik hasil degradasi ditimbang berat keringnya.

### Teknik Analisis Data

Analisis data menggunakan analisa deskriptif hasil isolasi bakteri dan identifikasi bakteri pendegradasi plastik. Analisis hasil degradasi plastik LDPE dan oxium dilakukan dengan melihat hasil persentase kehilangan berat plastik LDPE dan oxium. Berikut rumus perhitungan persentase kehilangan berat plastik.

$$\text{Kehilangan berat plastik} = \frac{W_i - W_f}{W_i} \times 100\%$$

Keterangan :

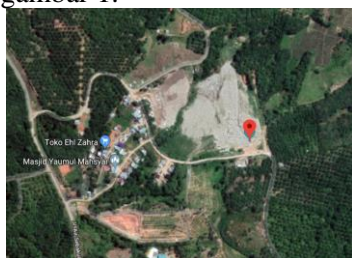
W<sub>i</sub> = berat kering plastik awal sebelum degradasi (gram)

W<sub>f</sub> = berat kering plastik akhir setelah degradasi (gram)

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pengambilan Sampel Tanah

Pada penelitian ini sampel tanah yang diambil merupakan tanah yang berasal dari Tempat Pembuangan Akhir (TPA) Air Sebakul blok D pada titik koordinat 3°49'27.8"S 102°20'48.4"E. Pengambilan sampel dilakukan di Blok D karena memiliki akses jalan yang mudah dilalui seperti yang terlihat pada gambar 1.



**Gambar 1.** Lokasi TPA Air Sebakul Kota Bengkulu

Pengambilan sampel tanah dilakukan secara eksplorasi yaitu mengambil tanah pada tumpukan plastik yang telah lama dan sudah terurai. Pengambilan tanah seperti ini agar memudahkan mendapatkan mikroorganisme yang berperan dalam proses biodegradasi plastik. Sampel tanah diambil sebanyak 100 gram pada lapisan atas tanah yang telah digali sedalam 10-15 cm [10].

### Isolasi Bakteri

Sampel tanah dari TPA Air Sebakul yang telah dihomogenkan diambil 10 gram disuspensikan kedalam 90 mL NaCl 0,9 % dan dilakukan pengenceran bertingkat dari pengenceran 10<sup>-1</sup> sampai dengan pengenceran 10<sup>-6</sup>. Pengenceran bertujuan untuk mengurangi kepadatan koloni bakteri pada media isolasi serta dapat mewakili semua jenis bakteri yang terdapat pada sampel. Selanjutnya suspensi hasil pengenceran dituangkan kedalam cawan petri yang telah berisi media *King's B Agar* (KB) untuk dilakukan isolasi. Hasil isolasi sampel tanah dari Tempat Pembuangan Akhir (TPA) Air Sebakul dapat dilihat pada tabel 1.

**Tabel 2.** Hasil Isolasi Mikroba dari tanah TPA Air Sebakul

Seri Pengenceran	Jumlah Koloni Bakteri	Jumlah Koloni Jamur	Keterangan
10 <sup>-1</sup>	4	1	(-) : tidak terdapat koloni
10 <sup>-2</sup>	6	-	
10 <sup>-3</sup>	1	1	
10 <sup>-4</sup>	-	1	
10 <sup>-5</sup>	-	1	
10 <sup>-6</sup>	1	1	
Jumlah	12	5	

Berdasarkan tabel 2 total mikroorganisme yang didapat dari semua seri pengenceran diperoleh 12 koloni bakteri dan 5 koloni jamur. Pada seri pengenceran 10<sup>-1</sup> terdapat satu koloni bakteri yang memiliki warna pigmen hijau kekuningan. Pigmen hijau kekuningan tersebut menandakan bahwa koloni bakteri isolat P-1 termasuk ke dalam bakteri hirokarbonoklastik. Bakteri hidrokarbonoklastik adalah bakteri yang mampu mendegradasi senyawa hidrokarbon [15][16]. Bakteri isolat P-1 diduga berkompeten dalam mendegradasi plastik *Polyethylene* (-[CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>]-n). Koloni bakteri isolat P-1 yang memiliki warna hijau kekuningan kemudian diambil untuk dimurnikan. Koloni bakteri dengan pigmen hijau kekuningan dapat dilihat pada gambar 2.

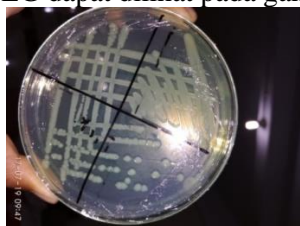


**Gambar 2.** Koloni bakteri dengan pigmen hijau kekuningan pada seri pengenceran  $10^{-1}$

Berdasarkan gambar 2 terbentuknya pigmen hijau kekuningan disebabkan oleh enzim dari bakteri yang bereaksi dengan substrat dalam media KB agar sehingga membentuk gugus kromofor (pigmen kehijauan) [17]. Pigmen hijau kekuningan pada media KB agar disebut *pyoverdine* atau *pseudobactins*, yang berfungsi sebagai *siderophore* (zat pengkelat besi) terdiri dari turunan *dihydroxyquinoline* yang bergabung dengan ikatan peptida tipe spesifik biasanya asam karboksilat atau amida [18].

### Pemurnian Bakteri dan Seleksi Bakteri Potensial

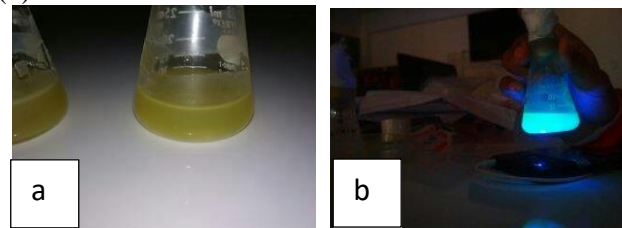
Pemurnian bakteri dilakukan pada koloni yang memiliki warna hijau kekuningan. Tujuan dilakukan pemurnian bakteri bakteri yaitu untuk mendapatkan isolat murni bakteri P-1. Pemurnian bakteri P-1 dilakukan pada media KB agar menggunakan metode goresan kuadran. Isolat murni kemudian ditumbuhkan dalam media KB agar yang telah ditambahkan 2% *Polyethylene Glycol* (PEG). Penambahan PEG bertujuan untuk menguji kemampuan tumbuh isolat dalam lingkungan yang mengandung bahan dasar plastik *Polyethylene*. Pertumbuhan bakteri secara normal pada media yang mengandung bahan bahan dasar plastik (polimer) dan beberapa unsur nitrogen dapat mengindikasikan bahwa bakteri mampu mempergunakan unsur karbon dari polimer untuk memenuhi kebutuhan karbon dalam nutrisinya [19]. Hasil pemurnian bakteri dengan penambahan PEG dapat dilihat pada gambar 3.



**Gambar 3.** Hasil Pemurnian Bakteri P-1 pada media KB + PEG

Berdasarkan gambar 3 menunjukkan bahwa isolat bakteri P-1 mampu tumbuh pada media KB + 2% PEG, kemudian bakteri dibiakkan lagi dalam media *King's B Borth* untuk membuat suspensi yang siap dipakai dalam proses biodegradasi seperti terlihat pada gambar 4.4 (a). Media *King's B Borth* ini

merupakan referensi untuk melihat pertumbuhan bakteri dari genus *Pseudomonas* dan mendukung pembentukan pigmen fluoresensi. Pigmen berwarna kuning kehijauan dan akan berfluoresensi jika dipapari sinar ultraviolet (UV) seperti terlihat pada gambar 4.4 (b).



**Gambar 4.** Pigmen Fluoresensi *Pseudomonas*

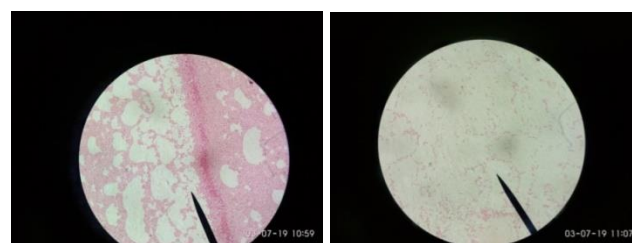
(a) Tidak Dipapari UV

(b) Dipapari UV

Mayoritas isolat bakteri menunjukkan fluoresensi di bawah sinar UV pada media *King's B Borth* [20]. Karakteristik ini dianggap sebagai karakteristik taksonomi yang berguna untuk *Pseudomonas*. Pigmen fluoresensi yang terbentuk dianggap sebagai indikasi produksi siderofor dan merupakan metabolit sekunder dari *Pseudomonas* [21][22].

### Uji Morfologi (Pewarnaan Gram Isolat P-1)

Pewarnaan Gram dilakukan untuk mengetahui jenis Gram isolat bakteri P-1. Penentuan karakter isolate ini didasarkan pada perbedaan struktur dinding sel bakteri. Hasil uji yang dilakukan didapat bahwa isolat bakteri P-1 termasuk kedalam kelompok bakteri Gram negatif ditandai dengan terbentuknya warna merah pada sel bakteri seperti terlihat pada gambar 5.



**Gambar 5.** Hasil Pewarnaan Bakteri Gram Negatif P-1

Berdasarkan gambar 5 warna merah pada sel bakteri berkaitan dengan ketebalan lapisan peptidoglikan pada dinding sel bakteri. Bakteri gram negatif memiliki kandungan senyawa peptidoglikan pada dinding sel lebih sedikit dibandingkan dinding sel bakteri gram positif [23]. Pemberian alkohol pada sel bakteri gram negatif dapat meningkatkan porositas dinding sel dalam melarutkan lipid pada lapisan luar [24]. Jadi kompleks kristal violet yang tidak terikat pada dinding sel mudah dilepaskan pada saat pencucian dengan alkohol. Oleh karena itu sel bakteri



P-1 kehilangan zat warna utama (kristal violet) sehingga sel bakteri P-1 menyerap warna dari safranin sebagai pewarna tandingan dari kristal violet. Penyerapan safranin oleh sel bakteri mengakibatkan warna sel bakteri P-1 menjadi warna merah.

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi isolat bakteri P-1 memiliki karakteristik yang hampir sama dengan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dari hasil penelitian. Bakteri P-1 diduga merupakan varian spesies dari *P.aeruginosa* seperti yang terlihat pada tabel 3.

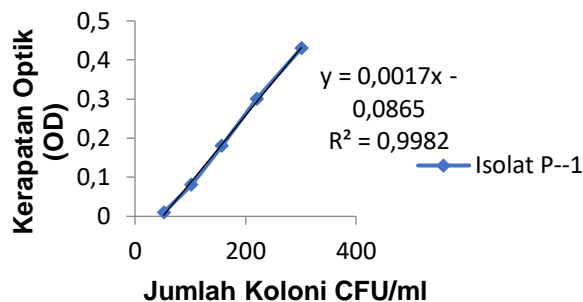
**Tabel 3.** Perbandingan antara isolat P-1 dengan

	<i>P.aeruginosa</i>	
Karakter morfologi	Isolat P-1	<i>P.aeruginosa</i> [25]
Bentuk	Circular	Circular
Elevasi	Convex	Convex
Warna	Kuning	Kuning
Tepian	kehijauan	kehijauan
Gram	entire	Entire
Bentuk sel	Negatif Basil	Negatif Basil

### Perhitungan Jumlah Isolat Bakteri P-1

Metode perhitungan jumlah sel yang digunakan dalam pembuatan kurva standar pada penelitian ini yaitu dengan menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC) dan menggunakan spektrofotometer untuk melihat tingkat kekeruhan (*Optical Density*) yang terbaca melalui nilai absorbansi yang dihasilkan. Metode TPC dilakukan untuk menghitung jumlah bakteri dalam biakan yang kekeruhannya telah dihitung dan diketahui terlebih dahulu menggunakan spektrofotometer. Pengukuran *Optical Density* (OD) bertujuan untuk mengetahui jumlah isolat bakteri P-1 yang terdapat dalam suspensi biakan isolat bakteri P-1, yang akan digunakan pada proses biodegradasi plastik LDPE dan oxium. Pengukuran OD isolat bakteri P-1 dilakukan menggunakan spektrofotometer.

Metode pengukuran spektrofotometer didasarkan pada pengukuran absorbansi dengan panjang gelombang 600 nm. Panjang gelombang 600 nm digunakan untuk memaksimalkan akurasi sinyal karena bakteri menghasilkan produk sampingan dan memiliki pertumbuhan yang tidak seragam pada media tumbuh yang dapat menyebabkan peningkatan penyerapan sinyal [13]. Kurva standar isolat bakteri P-1 yang dihasilkan dapat dilihat pada gambar 6.



**Gambar 6.** Kurva Standar Isolat Bakteri P-1

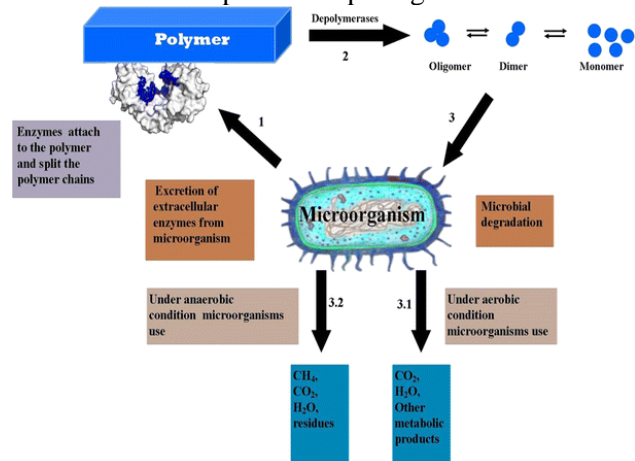
Dari gambar 6 dapat diketahui bahwa grafik hubungan antara jumlah koloni dengan kerapatan optik membentuk sebuah kurva dengan persamaan linier  $y = 0,0017x - 0,0865$  dan nilai koefisien korelasi pearson ( $r$ ) sebesar 0.9982. dari kurva ini diketahui antara jumlah koloni bakteri dengan kerapatan optik berbanding lurus dengan nilai kerapatan optik. Semakin banyak jumlah koloni isolate bakteri P-1 maka semakin besar pula nilai kerapatan optiknya. Kurva standar ini digunakan untuk menentukan jumlah isolate bakteri P-1 untuk proses biodegradasi plastik LDPE dan oxium. Persamaan garis lurus yang diperoleh dari kurva standar yaitu  $y = 0,0017x - 0,0865$  dengan nilai  $x$  untuk jumlah isolat bakteri P-1 dan  $y$  untuk kerapatan optik.

### Mekanisme biodegradasi Plastik LDPE dan Oxium

Proses biodegradasi plastik LDPE dan oxium oleh isolat bakteri P-1 dilakukan selama 30 hari dengan variasi waktu inkubasi 10, 20 dan 30 hari menggunakan *Mineral Salt Medium* (MSM). Media MSM merupakan media minim sumber karbon. Penggunaan media MSM bertujuan untuk menstimulus isolat bakteri P-1 menggunakan plastik sebagai sumber karbon. Pada keadaan kekurangan sumber karbon bakteri akan cenderung membentuk lapisan biofilm yang akan membantu bakteri dalam efisiensi energi selama kekurangan sumber. Bakteri akan mengalami kekurangan sumber karbon (glukosa) setelah 10 jam masa inkubasi dan biofilm akan terlepas dalam 30 menit setelah bakteri mengalami kekurangan sumber karbon.

Beberapa faktor lingkungan yang dapat mempengaruhi proses degradasi polimer (plastik) yaitu pH, suhu, kelembaban, kandungan oksigen, nutrien, mineral dan jenis mikroorganisme. Faktor penting lainnya yang mempengaruhi degradasi polimer yaitu karakteristik polimer itu sendiri seperti, kristalinitas, berat molekul, jenis gugus fungsional, substituen yang ada seperti plastisator dan aditif. Karakteristik polimer tersebut mengakibatkan polimer sulit untuk melewati membran seluler bakteri, jadi polimer harus didepolimerisasi oleh enzim mikroba (depolymerase) terlebih dahulu menjadi monomer yang lebih kecil

sebelum dapat diserap dan dibiodegradasi dalam sel mikroba. Adapun mekanisme biodegradasi plastik oleh bakteri P-1 dapat dilihat pada gambar 7.

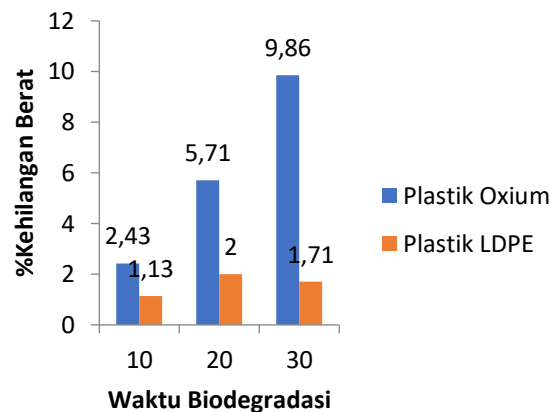


**Gambar 7.** Mekanisme biodegradasi plastik oleh bakteri [8].

Berdasarkan gambar 7 dapat dilihat bahwa mekanisme utama dalam biodegradasi polimer (plastik LDPE dan oxium) oleh enzim bakteri P-1 dibagi menjadi tiga. Pertama, pelekatan isolat bakteri P-1 dengan substrat yaitu enzim ekstraseluler dari isolat bakteri P-1 menempel pada polimer, kemudian enzim ekstraseluler mengkatalis pembelahan hidrolitik. Kedua, enzim ekstraseluler akan memecah rantai polimer kompleks menjadi rantai polimer lebih pendek seperti oligomer, dimer dan monomer. Rantai polimer yang lebih pendek (oligomer, dimer dan monomer) akan melewati membran semi permeabel dari bakteri untuk kemudian didegradasi lebih lanjut oleh enzim intraseluler dari isolat bakteri P-1. Ketiga, tahap termineralisasi yaitu oligomer, dimer dan monomer yang telah masuk kedalam sel bakteri akan didegradasi oleh enzim intraseluler dari isolat bakteri P-1 menjadi  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CH}_4$  dan senyawa-senyawa lainnya yang akan digunakan sebagai sumber karbon dan energi bagi bakteri untuk keberlangsungan hidup isolat bakteri P-1.

### Hasil biodegradasi Plastik LDPE dan Oxium

Proses biodegradasi plastik LDPE dan oxium dilihat dari penurunan kehilangan berat plastik. Berat plastik LDPE dan oxium yang terdegradasi akan berkurang dibandingkan dengan berat plastik LDPE dan oxium sebelum proses biodegradasi. Hasil biodegradasi plastik LDPE dan oxium oleh isolat bakteri P-1 menunjukkan bahwa isolat bakteri P-1 terbukti mampu mendegradasi plastik LDPE dan oxium, seperti yang terlihat pada data persen kehilangan berat plastik LDPE dan oxium pada gambar 8 dibawah ini.



**Gambar 8.** Persen Kehilangan Berat Plastik LDPE dan Oxium

Berdasarkan gambar 8 dapat diketahui bahwa isolat bakteri P-1 pada suhu ruangan ( $\pm 25^\circ\text{C}$ ) mampu mendegradasi plastik oxium sebesar 2,43%, 5,71% dan 9,86% dan plastik (LDPE) sebesar 1,13%, 2% dan 1,17% dengan rentang waktu secara berturut-turut selama 10, 20 dan 30 hari. Kemampuan isolat P-1 dalam mendegradasi kedua sampel plastik berkaitan dengan dugaan awal bahwa isolat P-1 merupakan bakteri *P.aeruginosa*. Bakteri *P.aeruginosa* tergolong kedalam bakteri hidrokarbonoklastik, yang efektif dalam mendegradasi senyawa hidrokarbon dengan cara memproduksi biosurfaktan untuk mengonsumsi hidrokarbon sebagai sumber energy [16]. Biosurfaktan adalah senyawa aktif permukaan yang disintesis oleh sel hidup dan memiliki sifat mengurangi tegangan permukaan dan tidak beracun. Sifat amfifilik dari biosurfaktan yang diproduksi oleh bakteri *P.aeruginosa* mampu mengubah permukaan plastik dari bentuk hidrofobik menjadi hidrofilik, sehingga dapat mempercepat enzim isolat bakteri P-1 dalam mengkatalis pembelahan hidrolitik dan pembentukan biofilm pada permukaan plastik sebagai tahap awal dalam proses biodegradasi plastik LDPE dan oxium. Berdasarkan penelitian [10] juga menunjukkan bahwa bakteri *P.aeruginosa* merupakan bakteri yang memiliki kemampuan dalam mendegradasi plastik *polyethylene* baik *polyethylene* berdensitas rendah ataupun tinggi.

Pada gambar 8 terlihat bahwa isolat P-1 lebih aktif dalam mendegradasi plastik oxium. Hal ini disebabkan karena adanya pengaruh kofaktor berupa garam kobalt (Co) yang membantu enzim ekstraseluler dari isolat bakteri P-1 dalam menghidrolisis substrat. Zat aditif yang ditambahkan dalam plastik oxium berupa garam kobalt (Co). Garam Co juga lebih aman dibandingkan aditif lain (Kadmium) jika terpapar pada organisme karena secara substansial organisme hanya akan menyerap apa yang dibutuhkannya ketika terpapar garam kobalt (biasanya melalui pencernaan). Garam Co secara signifikan dapat meningkatkan

aktivitas enzim dibandingkan garam-garam lainnya ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ , dll) , hal itu menyebabkan plastik oxium lebih cepat didegradasi oleh isolat bakteri P-1.

Sedangkan untuk plastik LDPE bakteri isolat P-1 kurang aktif dalam mendegradasi plastik dikarenakan struktur plastik LDPE itu sendiri. Pada plastik LDPE tidak terdapat tambahan zat aditif yang berguna sebagai kofaktor untuk mempercepat proses pendegradasian plastik LDPE. Selain itu juga melaporkan bahwa bakteri *Pseudomonas aeruginosa* memiliki laju pembentukan mikrokoloni yang lebih lambat pada plastik LDPE selama waktu tertentu dibandingkan dengan mikroorganisme lainnya. Senyawa kimia yang dihasilkan dari proses biodegradasi plastik LDPE dengan bakteri *P. aeruginosa* menggunakan GC-MS menunjukkan bahwa terdapat berbagai senyawa volatil dan semi volatil berupa alkana, hidrokarbon aromatik, klorokarbon, asam lemak jenuh serta asam lemak tak jenuh dan senyawa tak dikenal lainnya . Pada penelitian ini diduga bahwa senyawa yang dihasilkan dari proses biodegradasi plastik LDPE secara anaerob merubah pH media tumbuh isolat bakteri P-1 dari pH optimum (pH7), sehingga dapat mempengaruhi aktivitas isolat bakteri P-1 dalam mendegradasi plastik LDPE.

## Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, hasil penelitian secara umum menunjukkan bahwa:

1. Berdasarkan karakter morfologi dan uji pewarnaan gram bakteri dari tanah TPA Air Sebakul terbukti bahwa bakteri yang didapat adalah bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang berperan sebagai agen biodegradasi plastik LDPE dan oxium.
2. Hasil uji degradasi terhadap plastik oxium dan LDPE selama 30 hari dengan selang waktu pengukuran 10 hari menunjukkan bahwa isolat P-1 mampu mendegradasi plastik oxium sebesar 2,43% (10 hari), 5,17% (20 hari) 9,86% (30 hari) dan plastik LDPE sebesar 1,13% (10 hari), 2%(20 hari) 1,71% (30 hari).

## 5.1 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, perlu adanya perbaikan untuk penelitian selanjutnya yaitu sebagai berikut :

1. Melakukan penelitian lanjut untuk memastikan spesies dari isolat bakteri P-1 dengan mengambil data-data melalui metode PCR.

2. Melakukan karakterisasi dan pengembangan lebih lanjut untuk mengetahui enzim dari isolat bakteri P-1 yang berperan dalam proses biodegradasi plastik.
3. Melakukan karakteristik lebih lanjut menggunakan FTIR terhadap senyawa yang dihasilkan dari ke-enam sampel hasil degradasi plastik oxium dan LDPE.
4. Melakukan uji aktifitas terhadap isolat bakteri P-1 dalam mendegradasi plastik oxium dan LDPE.
5. Melakukan identifikasi dan uji lebih lanjut terhadap 11 koloni yang telah didapat.

## DAFTAR PUSTAKA

- [1] Asmita, K., Tanwar. S., dan Shanbhag T. 2015. Isolation of Plastic Degrading Micro-organism from Soil Samples Collected at Various Location in Mumbai, India. *International Research Journal of Environment Sciences*. 4(3): 77-85.
- [2] Steensgaard, Ida M., Krystian S., Sinjay. R., Nanna B. H., Alessio. B., Steffen. F. H. 2017. From Macro To Microplastic Analysis Of UE Regulation Along The Life Cicle Of Plastics Bags. *Environmental Pollution*. 224 : 289-299.
- [3] Wilkes, R.A., L. Aristilde., 2017. Degradation And Metabolism Of Syntehtic Plastics and Associated Product By *Pseudomonas* sp : Capabilites and Challenges. *Jurnal Of Applied Microbiology*. 123: 582-593
- [4] Al-Saleem, S.M., A.Y Al-Naseer., M. H Behbehani., H. H Sultan., H. J Karam., M.H Al-Wadi., A. T Al-Dhafeeri., M. Al-Foudaree. 2019. Thermal Response and Degressive Reaction Study of Oxo-Biodegradabel plastic Product Exposed to Various Degradation Media. *Int. Journal Polymer Science*. (2): 1-15
- [5] Nourollahi. Asieh., Samaneh. S. K., Mehdi. M., Gilda. E., Mahbubeh Shiranian. 2018. Isolation and Identification Of Low Density Polyethylene (Biodegrading Bacteria From Weste Landfill in Yazd. *International Jurnal Of Environment Studies*. 76 (2): 1-14.
- [6] Ahmed. T., Muhammad S., Farrukh A., Ijaz R., Asad A.S., Muhammad N., Amir H., Natasha M., Irfan M., Sher M. 2018. Biodegradation of Plastics : Current Scenario and Future Prospect For Environmental Safety. *Environmtmental Science and Pollutin Research*. 25 : 7287-7298.
- [7] Surono, U.B., dan Ismanto. 2016. Pengolahan Sampah Plastik PP, PET dan PE



- Menjadi Bahan Bakar Minyak dan Karakteristiknya. *Jurnal Mekanika dan Sistem Terma (JMST)*. 1(1) : 32-37.
- [8] Riandi, M. I., R. Kawuri., S. K, Sudirga. 2017. Potensi Bakteri *Pseudomonas sp.* dan *Orchobactrum sp.* Yang Diisolasi Dari Berbagai Sampel Tanah Dalam Mendegradasi Limbah Polimer Plastik Berbahan Dasar High Density Polyethylene (HDPE) dan Low Density Polyethylene (LDPE). *Jurnal Simbiosis*. 5 (2) : 58-63
- [9] McBirney, Samanta. E., Kristy Trinh., Annie. W. Bringer., Andrea. M. Armani. 2016. Wavelength-Normalized Spectroscopic Analysis of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* Growth Rates. *Biomedical Optic Express*. 7 (10) : 4034-4042.
- [10] Yulvizar, Cut. 2013. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik pada *Rastrelliger sp.* *Biospecies*. 6(2): 1-7.
- [11] Viana, A. A.G., B. T. M de Oliveira., T. G. Cavalcanti., K. A. de Sausa., E. A. de Moura Mendocana., I. P. G. do Amaeral., U. Vasconcelos. 2018. Corellation between Pyocyanin Production and Hydrocarbonoclastic Activity In Nine Strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *IJAERS*. 5 (7) : 212-223.
- [12] Charkoudian, L. K., J. T. Fitzgerald., Chaitan K., Andrea. C. 2010. In Living Color: Bacterial Pigments as an Untapped Resource in the Classroom and Beyond. *PLOS Biology*. 8(10): 1 – 6.
- [13] Agustien, A., Mifthahul J., Akmal D. 2016. Screening Polyethylene Synthetic Plastic Degrading-Bacteria from Soil. *Der Pharmacia Lettre*. 8 (7): 183 – 187
- [14] Singh, Shivangi., Upma.D., AK. B., Sachin. G., Vikas. G., Sonika Jamwal. 2017. Morpho-Cultural and Biochemical Identification Of *Pseudomonas sp.* Isolated From The Rizhosphere Of Different Vegetable Crops and Study Its Efficacy On *Solanum Melongena* (Brinjal). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 6 (2) : 22-28.
- [15] Kumar, Vijay., Simranjeet Singh., Joginder Singh., Niraj Upadhyay. 2015. Potential of Plant Growth Promoting Traits by Bacteria Isolated from Heavy Metal Contaminated Soil. *Bull Environ Contam Toxicol*. 94 (6) : 807-814
- [16] Mona, Sadasivam., Priya. T., Krishna. K., Subramanian. C.S., Karuppan. P. 2016. Production and Biologycal Activity Of Fluoroscent Secondary Metabolitme From Selected *Pseudomonas spp.* *Indian Jurnal Of Applied Microbiology*. 19 (2) : 1-10
- [17] Rahayu, Susi Afrianti dan Muhammad Hidayat Gumilar. 2017. Uji Cemaran Air Minum Masyarakat Sekitar Margahayu Raya Bandung Dengan Identifikasi Bakteri *Escherichia coli*. *IJPST*. 4 (2) : 50-56
- [18] Manasa. K., R.Subhash Reddy., S. Triveni. 2017. Isolation and Characterisation of *Pseudomonas fluorescen* Isolates From Different Rhizopere Soil of Telanga. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 6 (3) : 224-229.
- [19] Marjayandari, L., Maya Shovitri. 2015. Potensi Bakteri *Bacillus sp.* Dalam Mendegradasi Plastik. *Jurnal Sains dan Seni ITS*. 4 (2) : 59-62
- [20] Emadian, S. Mehdi., T. T. Onay., B. Demirel. 2017. Biodegradation of Bioplastics in Natural Environments. *Waste Management*. 59 : 526-236
- [21] Vimala, P.P., L. Mathew. 2016. Biodegradation of Polyethylene Using *Bacillus subtilis*. *Procedia Technology*. 24 : 232-239
- [22] Kyaw, B. M., Ravi. C., Meena. K. S., Chu. S. L., Kishore. R., Sakharkar. 2012. Biodegradation of Low Density Polyethylen (LDPE) By *Pseudomonas* species. *India Jurnal Microbiol*. 52 (3): 411-419
- [23] Tandio, Sugianto., E. Suryana., J. Mogck., D. Melander. 2017. *Plastics Reagent and Process*. Google Patents. Paten AS : 9.617.397
- [24] Sachan, S.,Iqbal M.S., Singh A. 2018. Extacellular Lipase From *Pseudomonas aeuginosa* JCM5962(T) : Isolation, Identification and Characterization. *International Microbiology*. 21 (4) : 197-205