

Potensi Isolat Bakteri Pendegradasi Plastik Jenis Polietilen Oxo-Degradable dari Tanah TPA Benowo Surabaya

Potential of Oxo-Degradable Polyethylene-Degrading Bacteria of Benowo Landfill Soil Surabaya

Firsta Tri Octavianda*, Mahanani Tri Asri, Lisa Lisdiana
Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Surabaya
* e-mail: and_find@yahoo.com

ABSTRAK

Biodegradasi plastik merupakan proses degradasi polimer yang dilakukan oleh mikroorganisme salah satunya adalah bakteri. Empat isolat bakteri *indigenous* dari tanah TPA Benowo Surabaya yang memiliki potensi sebagai pendegradasi plastik polietilen *oxo-degradable* yaitu isolat A221, A231, A232, dan C231. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan isolat bakteri yang memiliki kemampuan mengurangi berat plastik polietilen *oxo-degradable* paling tinggi. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan satu faktor, yaitu jenis isolat bakteri. Isolat bakteri yang digunakan adalah isolat A221, A231, A232, dan C231. Parameter yang diamati adalah persentase kehilangan berat plastik polietilen *oxo-degradable*. Uji potensi dilakukan dengan menginokulasikan bakteri dan memasukkan plastik polietilen *oxo-degradable* ke dalam media *enrichment* cair, kemudian diinkubasi selama 30 hari pada suhu 30oC. Data dianalisis dengan menggunakan ANAVA satu arah dan dilanjutkan dengan uji Duncan. Hasil penelitian menunjukkan isolat bakteri dengan potensi degradasi plastik polietilen *oxo-degradable* terbesar adalah isolat C231 sebesar 0,247±0,138%. Perlakuan terbaik pada uji biodegradasi adalah pada isolat C231.

Kata kunci: biodegradasi; plastik polietilen *oxo-degradable*

ABSTRACT

Biodegradation of plastic is a polymer degradation process carried out by microorganisms, one of which is bacteria. Four isolates of indigenous bacteria from Benowo landfill soil Surabaya that have potential as oxo-degradable polyethylene plastic-degrading bacteria namely A221, A231, A232 and C231. The purpose of this research was to determine bacteria isolates that have the highest capability to reduce the weight of oxo-degradable polyethylene plastic. This research used completely randomized design with one factor, there was the type of bacteria isolates. Bacterial isolates used were isolate A221, A231, A232 and C231. Parameters measured were percentage of weight loss of oxo-degradable plastics polyethylene. Potential test conducted by inoculating bacteria and inserting oxo-degradable polyethylene plastic into enrichment broth, then incubated for 30 days at temperature of 30oC. The data was analyzed with one-way ANOVA and followed by with Duncan test. The results showed that isolated bacteria with the highest potential degradation of oxo-degradable plastic polyethylene was isolate C231 with the percentage of 0,247±0,138%. The best treatment in this research was isolate C231.

Key words: biodegradation; oxo-degradable polyethylene plastic

PENDAHULUAN

Penggunaan plastik untuk kebutuhan sehari-hari semakin meningkat seiring dengan perkembangan zaman dan meningkatnya jumlah penduduk (Ainiyah dan Shovitri, 2014). Salah satu jenis plastik yang sering digunakan dalam kehidupan sehari-hari adalah plastik jenis polietilen. Polietilen merupakan polimer plastik yang tersusun atas beberapa monomer etilen (Arutchelvi *et al.*, 2008). Peningkatan penggunaan plastik yang terjadi tiap tahunnya mengakibatkan limbah yang dihasilkan juga semakin meningkat, sehingga menyebabkan permasalahan lingkungan (Ibiene *et al.*, 2013). Usaha untuk mengurangi

limbah plastik dengan daur ulang masih belum optimal, sehingga dibutuhkan alternatif lain untuk mengurangi limbah adalah dengan biodegradasi yang menggunakan mikroorganisme seperti bakteri (Lucas *et al.*, 2008; Leja dan Lewandowicz, 2009).

Banyak isolat bakteri *indigenous* yang telah dilaporkan mampu untuk mendegradasi plastik. Bakteri *indigenous* pendegradasi plastik merupakan bakteri pendegradasi polimer plastik yang berasal dari habitat asal seperti tanah atau tempat pembuangan akhir (Zusfahair dkk., 2007). Beberapa bakteri yang mampu mendegradasi plastik antara lain *Pseudomonas sp.*, *Staphylococcus*

sp. *Streptomyces* sp., dan *Bacillus* sp. (Usha *et al.*, 2011), serta *Mycobacterium* sp. (Kanaly dan Harayama, 2000). *Screening* awal yang dilakukan Mukamto *et al.* (2015) memperoleh empat isolat bakteri indigenous dari tanah TPA Benowo Surabaya yang memiliki diameter *clear zone* paling besar yaitu isolat A221 sebesar 0,7 cm; A231 sebesar 0,6 cm; A232 sebesar 1 cm; dan C231 sebesar 1,3 cm. Pembentukan *clear zone* oleh keempat isolat bakteri merupakan indikasi penggunaan serbuk polietilen *oxo-degradable* pada media *enrichment agar* sebagai sumber karbon dan energi untuk metabolisme sel bakteri (Lucas *et al.*, 2008). Potensi isolat bakteri yang ditemukan oleh Mukamto *et al.* (2015) tersebut perlu dilakukan sehingga diketahui isolat bakteri yang mampu mendegradasi plastik jenis polietilen *oxo-degradable* paling tinggi dan didapatkan persentase potensi setiap isolat dalam mengurangi berat plastik polietilen *oxo-degradable*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini bersifat eksperimental yang dilaksanakan mulai bulan Juli hingga September 2015. Peremajaan dan perhitungan sel bakteri pendegradasi plastik dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi C9, uji potensi isolat bakteri pendegradasi plastik polietilen *oxo-degradable* di Laboratorium Terpadu C12 FMIPA Universitas Negeri Surabaya.

Peremajaan bakteri pendegradasi plastik dilakukan dengan cara menumbuhkan bakteri pada media *Nutrient Agar* miring yang sudah ditambahkan serbuk polietilen (PE) dan Tween 80 untuk mengoptimalkan proses biodegradasi, serta diinkubasi selama 24-48 jam. Setiap kultur bakteri pada media NA diambil 1-2 ose dan diinokulasi ke media *Enrichment Broth* 2 ml, kemudian di *vortex*. Suspensi bakteri diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Satu ml suspensi bakteri berusia 24 jam dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditetesi *Methylene Blue* 0,01% untuk mewarnai sel bakteri dan di *vortex*, selanjutnya dihitung dengan menggunakan haemositometer. Sel bakteri yang dihitung adalah sel yang tidak terwarnai oleh *Methylene Blue*, karena sel yang tidak terwarnai merupakan sel hidup.

Uji potensi dilakukan dengan memotong plastik *biodegradable* dengan ukuran 1 cm x 1 cm kemudian ditimbang untuk mengetahui berat awal sebelum didegradasi. Plastik yang telah ditimbang kemudian disterilkan dengan alkohol 95%. Plastik *biodegradable* tersebut dimasukkan ke dalam masing-masing labu erlenmeyer yang berisi 50 ml media *Enrichment Broth*, kemudian

isolat bakteri pendegradasi plastik A221 diinokulasikan. Isolat bakteri yang diinokulasikan adalah sebanyak 10^6 sel/ml dengan volume 1 ml (Poonam *et al.*, 2013). Langkah yang sama dilakukan pada isolat A231, A232, dan C231. Kontrol negatif yang digunakan adalah plastik *biodegradable* yang dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer berisi 50 ml media *Enrichment Broth* tanpa penambahan isolat bakteri uji. Semua perlakuan diinkubasi dalam *shaker waterbath* pada kecepatan 100 rpm dengan suhu ruang (30°C) selama 30 hari. Proses selanjutnya adalah menghitung selisih berat plastik setelah degradasi selama 30 hari masa inkubasi. Plastik *biodegradable* dibersihkan dengan akuades mengalir, kemudian dikeringanginkan, dan dihitung berat akhir plastik. Berikut adalah rumus persentase kehilangan berat polimer plastik (Rohaeti, 2009):

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

Keterangan:

W_i = Berat kering awal sebelum degradasi (gram)

W_f = Berat kering akhir setelah degradasi (gram).

HASIL

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa isolat bakteri pendegradasi plastik jenis polietilen *oxo-degradable* dari tanah TPA Benowo Surabaya yaitu isolat A221, A231, A232, dan C231 memiliki kemampuan dalam mendegradasi plastik jenis polietilen *oxo-degradable* (plastik *biodegradable*). Hasil pengamatan menunjukkan bahwa masing-masing isolat memiliki kemampuan yang berbeda dalam mendegradasi plastik jenis polietilen *oxo-degradable*.

Hasil uji Anava pada penelitian ini menunjukkan nilai signifikansi kurang dari 0,05 ($0,02 < 0,05$) yang artinya bahwa keempat isolat bakteri pendegradasi plastik jenis polietilen *oxo-degradable* berpengaruh dalam degradasi plastik. Uji lanjutan menggunakan uji Duncan's dilakukan untuk mengetahui perbedaan pengaruh antar perlakuan. Hasil uji Duncan's menunjukkan bahwa keempat isolat bakteri pendegradasi plastik yaitu isolat A221, A231, A232, dan C231 memiliki potensi yang berbeda dalam mendegradasi plastik jenis polietilen *oxo-degradable* dengan masa inkubasi 30 hari (Tabel 1).

Hasil uji Duncan's menunjukkan bahwa perlakuan D yang diinokulasi dengan isolat C231 berbeda nyata dengan perlakuan A (isolat A221), C (isolat A232), dan kontrol. Perlakuan B yang diinokulasi dengan isolat A231 memiliki notasi "ab" yang berarti tidak berbeda nyata dengan

perlakuan A, C, D, dan kontrol. Hasil terbaik adalah pada perlakuan D yang diinokulasi dengan isolat bakteri C231 dengan nilai tertinggi sebesar $0,247\pm 0,138$. Perlakuan A dan C yang masing-masing diinokulasi dengan isolat bakteri A221 dan A232 dengan persentase selisih berat plastik uji sebesar $0,003\pm 0,051$ dan $0,043\pm 0,075$ tidak berbeda jauh dengan perlakuan kontrol.

Tabel 1. Persentase selisih berat plastik jenis polietilen *oxo-degradable* yang diberi perlakuan inokulasi dengan keempat isolat bakteri dan masa inkubasi 30 hari.

Perlakuan	Persentase Selisih Berat Plastik (%)
Kontrol	$0,000\pm 0,000^a$
A	$0,003\pm 0,051^a$
B	$0,143\pm 0,061^{ab}$
C	$0,043\pm 0,075^a$
D	$0,247\pm 0,138^b$

Keterangan: Notasi yang berbeda yaitu a dan b menunjukkan bahwa terdapat pengaruh yang berbeda nyata pada perlakuan dengan nilai signifikansi 0,05 menurut uji Duncan.

A: Isolat A221 C: Isolat A232
B: Isolat A231 D: Isolat C231

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil dan analisis data, keempat isolat bakteri pendegradasi plastik yaitu isolat A221, A231, A232, dan C231 memiliki potensi dalam mendegradasi plastik jenis polietilen *oxo-degradable* dengan masa inkubasi selama 30 hari. Uji potensi yang dilakukan pada penelitian ini adalah dengan menghitung persentase selisih berat awal dan berat akhir sampel plastik uji (*weight loss percentage*).

Persentase selisih berat plastik tertinggi sebesar $0,247\pm 0,138$ diperoleh pada sampel plastik perlakuan D. Hasil tersebut sesuai dengan *screening* awal yang menunjukkan bahwa isolat bakteri C231 memiliki kemampuan paling tinggi dalam mendegradasi plastik jenis polietilen *oxo-degradable* (Mukamto *et al.*, 2015). Sampel dengan perlakuan A dan C memiliki persentase selisih berat plastik sebesar $0,003\pm 0,051$ dan $0,043\pm 0,075$. Berdasarkan hasil uji Duncan's, hasil ini tidak berbeda dengan sampel plastik yang tidak diberi perlakuan/kontrol. Hasil yang diperoleh dari sampel yang diberi perlakuan A dan C sesuai dengan *screening* awal (Mukamto *et al.*, 2015). *Screening* awal juga menunjukkan bahwa isolat bakteri A221 dan A232 memiliki kemampuan paling rendah dalam mendegradasi plastik jenis polietilen *oxo-degradable*.

Mekanisme biodegradasi diawali dengan degradasi secara abiotik yaitu fotodegradasi yang mengubah gugus rantai utama dengan adanya

gugus karbonil (C=O), sehingga terjadi oksidasi karbon pada rantai polimer polietilen (Leja dan Lewandowicz, 2009; Yoon *et al.*, 2012). Oksidasi karbon ini menghasilkan gugus fungsional dengan berat molekul rendah seperti keton, asam karboksilat, dan hidrokarbon (Chiellini *et al.*, 2007). Gugus fungsional yang terbentuk akan menyebabkan sifat polimer hidrokarbon yang awalnya hidrofobik berubah menjadi hidrofilik, sehingga permukaan polimer dapat menyerap air dan memudahkan mikroorganisme (bakteri) untuk melakukan proses degradasi (Gilan *et al.*, 2004; Hadad *et al.*, 2005).

Proses selanjutnya adalah degradasi secara biotik atau biasa disebut sebagai biodegradasi. Biodegradasi dilakukan oleh mikroorganisme, salah satunya adalah bakteri. Permukaan plastik yang hidrofilik akan memudahkan bakteri menempel pada permukaan plastik dan akan melakukan kolonisasi (Usha *et al.*, 2011). Koloni bakteri yang menempel pada permukaan plastik akan membentuk biofilm (Das dan Kumar, 2013), kemudian bakteri memecah polimer kompleks plastik menjadi senyawa yang lebih sederhana (oligomer, dimer, dan monomer) dengan bantuan enzim intraseluler dan ekstraseluler depolimerase sehingga senyawa tersebut dengan mudah diangkut ke dalam sel bakteri sebagai sumber karbon dan energi (Mohan dan Srivastava, 2010).

Masaki *et al.* (2005) menjelaskan bahwa terdapat enzim lain yang diketahui membantu proses degradasi plastik. Enzim tersebut mampu mendegradasi plastik jenis PLA (*polylactic acid*) dan plastik *biodegradable* lainnya, termasuk PBS (*polybutylene succinate*), PHB (*poly (3-hydroxybutyrate)*), dan PCL (*poly (ε-caprolactone)*). Enzim yang diketahui dapat membantu proses degradasi ini digolongkan dalam kelompok *cutinase*, karena struktur proteinnya mirip dengan enzim *cutinase* (Masaki *et al.*, 2005) dan aktivitas dari enzim ini juga menggunakan *p*-nitrofenil butirat sebagai substrat (Sagt *et al.*, 2000; Van Gemeren *et al.*, 1998). Enzim ekstraseluler yang lainnya yaitu enzim *lignin peroksidase* dan *mangan peroksidase* yang dihasilkan oleh mikroba juga diketahui berhubungan dalam degradasi polietilen (Baral, 2014).

Faktor lain yang memengaruhi proses degradasi adalah faktor lingkungan diantaranya kelembaban, suhu, pH, struktur kimia plastik, ketersediaan oksigen, dan pasokan nutrisi yang berbeda memiliki efek penting terhadap populasi dan aktivitas mikroorganisme dalam mendegradasi polimer plastik (Sangale *et al.*, 2012). Suhu optimal untuk pertumbuhan bakteri pendegradasi plastik agar tumbuh secara optimal

adalah 20°C-40°C (Thiel, 1999). Kondisi pH juga memengaruhi pertumbuhan bakteri, karena beberapa bakteri dapat tumbuh pada kondisi pH rendah (asam) dan pH tinggi (basa) (Prescott *et al.*, 1999). Empat isolat bakteri pendegradasi plastik ini mampu tumbuh pada kondisi pH rendah (asam), karena habitat asal isolat bakteri tersebut berada di Tempat Pembuangan Akhir (TPA) (Mukamto *et al.*, 2015). Pasokan nutrisi berupa karbon, nitrogen, sulfur, fosfor sangat dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri agar metabolisme sel tetap berlangsung (Prescott *et al.*, 1999). Pada penelitian ini sumber nutrisi dan energi yang berpengaruh dalam pertumbuhan bakteri pendegradasi plastik adalah karbon yang didapat dari plastik jenis polietilen *oxo-degradable* (plastik *biodegradable*) (Lucas *et al.*, 2008).

SIMPULAN

Isolat bakteri dengan kemampuan degradasi plastik jenis polietilen *oxo-degradable* paling tinggi adalah isolat C231, karena memiliki persentase kehilangan berat plastik paling tinggi yaitu sebesar 0,247±0,138 setelah masa inkubasi selama 30 hari.

DAFTAR PUSTAKA

- Ainiyah DN, dan Shovitri M, 2014. Bakteri Tanah Sampah Pendegradasi Plastik dalam Kolom *Winogradsky*. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. 3(2): 63-66.
- Arutchelvi J, Sudhakar M, Arkatkar A, Doble M, Badhuri S, and Uppara V, 2008. Biodegradation of Polyethylene and Polypropylene. *Indian Journal of Biotechnology*. 7: 9-22.
- Baral SP, 2014. Microbial Effects and Approaches on Biodegradation of Polyethylene: a Review. *Asian Journal of Pharmaceutical Technology & Innovation*. 2 (7): 1-5.
- Chiellini E, Corti A, and D'Antone S, 2007. *Oxo-biodegradable Full Carbon Backbone Polymers-Biodegradation Behaviour of Thermally Oxidized Polyethylene in Aqueous Medium*. *Polymer Degradation and Stability*. 92: 1378-1383.
- Das MP and Kumar S, 2013. Influence of Cell Surface Hydrophobicity in Colonization and Biofilm Formation on LDPE Biodegradation. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 5 (4): 690-694.
- Gilan I, Hadar Y, and Sivan A, 2004. Colonization, Biofilm Formation and Biodegradation of Polyethylene by a Strain of *Rhodococcus ruber*. *J. Appl Microbiol Biotechnol*. 65: 97-104.
- Hadad D, Geresh S, and Sivan A, 2005. Biodegradation of Polyethylene by The Thermophilic Bacterium *Brevibacillus borstelensis*. *Journal of Applied Microbiology*. 98: 1093-1100.
- Ibiene AA, Stanley HO, and Immanuel OM, 2013. Biodegradation of Polyethylene by *Bacillus* Sp. Indigenous to The Niger Delta Mangrove Swamp. *Nigerian Journal of Biotechnology*. 26: 68-79.
- Kanaly RA, and Harayama S, 2000. Biodegradation of High-Molecular-Weight Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Bacteria. *J. Bacteriol*. 182 (8): 2059-2067.
- Leja K and Lewandowicz G, 2009. Polymer Biodegradation and Biodegradable Polymers-a Review. *Polish J. of Environ. Stud*. 19(2): 225-226.
- Lucas N, Bienaime C, Belloy C, Queneudec M, Silvestre F, and Nava-Saucedo JE, 2008. Polymer Biodegradation: Mechanisms and Estimation Techniques-A review. *Chemosphere*. 73 (4): 429-442.
- Masaki K, Kamini NR, Ikeda H, and Iefuji H, 2005. Cutinase-Like Enzyme from the Yeast *Cryptococcus* sp. Strain S-2 Hydrolyzes Poly(lactic Acid) and Other Biodegradable Plastics. *J. Applied And Environmental Microbiology*. 71(11): 7548-7550.
- Mohan SK, and Srivastava T, 2010. Microbial Deterioration and Degradation of Polymeric Materials. *J. Biochem Tech*. 2(4): 210-215.
- Mukamto, Rahayu YS, Lisdiana L, Pranamuda H, 2015. Isolation Of *Oxo-Degradable Polyethylene Degrading-Bacteria* of Benowo Landfill Soil Surabaya. *Microbiology Indonesia*. 9(1): 9-16.
- Poonam K, Rajababu V, and Patel H, 2013. Diversity of Plastic Degrading Microorganisms and Their Appraisal on Biodegradable Plastic. *Journal Ecology and Environmental Research*. 11(3): 441-449.
- Prescott LM, Harley JP, and Klein DA 1999. *Microbiology 4th Edition*. New York: McGraw-Hill Companies.
- Rohaeti E, 2009. Karakterisasi Biodegradasi Polimer. *Prosiding Seminar Nasional Penelitian, Pendidikan dan Penerapan MIPA*. Yogyakarta. 248-257.
- Sagt CMJ, Kleizen B, Verwaal R, De Jong MDM, Muller WH, Smits A, Visser C, Boonstra J, Verkleij AJ, and Verrips CT, 2000. Introduction of An N-Glycosylation Site Increases Secretion of Heterologous Proteins in Yeasts. *Appl. Environ. Microbiol*. 66 (11): 4940-4944.
- Sangale MK, Shahnawaz M, and Ade AB, 2012. A Review on Biodegradation of Polythene: The Microbial Approach. *J Bioremed Biodeg*. 3(10): 1-9.
- Thiel T, 1999. *Microbes in Action: Introduction to Bacteria*. Online. (www.umsl.edu diakses tanggal 7 Mei 2015).