

Biodegradasi Plastik Putih dalam Kolom Winogradsky

Laellatul Badriyah dan Maya Shovitri
 Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
 Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS)
 Jl. Arief Rahman Hakim, Surabaya 60111 Indonesia
e-mail: maya@bio.its.ac.id

Abstrak—Plastik merupakan polimer sintesis yang paling banyak digunakan di masyarakat. Sifat plastik yang sulit untuk didegradasi menyebabkan plastik menjadi sumber pencemaran di lingkungan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi mikroorganisme air sampah dan inokulum campur koleksi laboratorium, serta yeast M 2.3 dalam mendegradasi plastik putih. Metode biodegradasi plastik yang digunakan adalah kolom Winogradsky. Penelitian ini menggunakan botol berukuran 600 ml yang berisi 300 gram pasir steril, medium MSM, inokulum air sampah (S), inokulum campur (X) serta yeast M 2.3 (Y), dan plastik uji warna putih. Parameter yang diukur adalah persen degradasi, *Optical Density* (OD) biofilm dan kolom air selama 3 bulan masa inkubasi dengan waktu panen 3 minggu sekali. Hasil yang diperoleh dari penelitian ini adalah Inokulum X, S dan Y memiliki kemampuan yang sama dalam mendegradasi plastik putih. Degradasi plastik putih paling tinggi terjadi pada inokulum X setelah 9 minggu masa inkubasi dengan persentase degradasi 3,6%, dimana kerapatan sel pada masa inkubasi setelah 9 minggu untuk biofilm dengan λ 600nm adalah 0.036 dan λ 540nm adalah 0,039, serta kerapatan sel pada kolom air dengan λ 600nm adalah 0.034 dan λ 540nm adalah 0,055.

Kata Kunci— Air sampah, Biodegradasi, Mikroorganisme, dan Plastik Putih.

I. PENDAHULUAN

PLASTIK merupakan polimer sintesis yang sulit untuk terdegradasi, hal tersebut disebabkan karena plastik mempunyai kerapatan massa molekul yang tinggi, dimana polietilen memiliki kerapatan 0,91 hingga 0,97 gram/cm³, sehingga mengalami penumpukan di lingkungan rata-rata mencapai 25 miliar ton per tahun [1].

Banyaknya masalah yang ditimbulkan oleh keberadaan sampah plastik di lingkungan, membuat sampah plastik menjadi fokus utama dalam bidang penelitian. salah satunya yaitu biodegradasi plastik. Biodegradasi dapat dilakukan oleh mikroorganisme seperti bakteri, jamur, yeast dan alga. Biodegradasi bahan organik dapat terjadi secara aerob maupun anaerob. Proses biodegradasi terjadi melalui beberapa tahapan yaitu biodeteriorasi, biofragmentasi, asimilasi dan mineralisasi [2]. Proses biodegradasi akan lebih efektif dengan menggunakan jenis mikroorganisme yang memiliki karakter degradasi yang berbeda, dimana terdapat mikroorganisme yang berperan dalam pemecahan polimer dan ada yang berperan dalam pemanfaatan monomer [3].

Dari hasil penelitian tentang biodegradasi plastik yang telah dilakukan sebelumnya, didapatkan beberapa jenis bakteri yang

mampu mendegradasi polimer plastik dengan enzim yang diproduksinya, *Pseudomonas* spp. dapat mendegradasi plastik dengan enzim serin hydrolase dan esterase [4]. *Brevibacillus borstelensis* dapat mengurangi berat molekul polietilen 11-30% [5]. Selain bakteri, yeast juga mampu melakukan degradasi terhadap polimer plastik dengan enzim yang dimilikinya. Beberapa yeast mampu mendegradasi polimer plastik, contohnya yaitu *Candida rugosa* yang memiliki enzim esterase dan urease sehingga mampu mendegradasi poliuretan [4].

Ainiyah dan Shovitri [6] telah menunjukkan bahwa konsorsium bakteri tanah sampah dalam kolom Winogradsky dapat mendegradasi plastik berwarna hitam rata-rata lebih baik dari plastik berwarna lainnya. Kolom Winogradsky merupakan ekosistem mikrobial buatan yang berfungsi sebagai sumber kultur bakteri jangka panjang. Kolom ini selain berfungsi menyediakan sumber makanan untuk inokulum, kolom ini juga berfungsi untuk menguji proses degradasi. Dalam kolom Winogradsky lingkungan bakteri untuk proses degradasi dapat dikondisikan secara aerob dan anaerob untuk skala laboratorium [7]. Selain itu, pada penelitian ini juga digunakan air sampah TPA sebagai inokulum baru untuk mendegradasi plastik. Air sampah ini mengandung bahan-bahan kimia dan mikroorganisme [8]. Sehingga dalam penelitian ini akan dilakukan pengujian untuk mencari inokulum yang paling potensial dengan membandingkan inokulum air sampah, inokulum campur koleksi laboratorium dan yeast M 2.3 dalam mendegradasi plastik dengan metode kolom Winogradsky.

II. METODOLOGI

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari – Juni 2015 di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi, Jurusan Biologi FMIPA ITS Surabaya.

B. Pengambilan Air Sampah

Air sampah yang digunakan merupakan air pada tumpukan sampah di TPA Benowo Surabaya. Air sampah disaring dengan saringan kasar untuk memisahkan air dengan serpihan sampah. Filtrat hasil penyaringan disaring ulang menggunakan kertas saring Whatman grade 1 dengan ukuran pori-pori 11 μ m. Grade kertas saring dipilih berdasarkan pada ukuran bakteri yang memiliki diameter 0,2 – 2,0 μ m dan panjang 2 – 8 μ m [9].

C. Pembuatan Starter inokulum campur (Inokulum X) dan Inokulum Yeast M 2.3 (Inokulum Y)

Inokulum campur merupakan inokulum campur dari tanah sampah penelitian yang dilakukan oleh Ainayah dan Shovitri[6]. Pertama dilakukan pembuatan subkultur sebanyak 3 kali. Subkultur-1 adalah 1 ml inokulum kultur campuran tanah sampah dari kolom Winogradsky dimasukkan dalam 9 ml medium *Nutrient Broth* (NB) dan diinkubasi selama 24 jam. Subkultur-2 adalah 5 ml subkultur-1 diinokulasikan dalam medium NB 50 ml dan diinkubasi selama 24 jam. Subkultur-3 adalah 10 ml subkultur-2 diinokulasikan dalam medium NB 100 ml dan diinkubasi selama 24 jam. Subkultur-3 sebanyak 100 ml digunakan untuk membuat starter sebanyak 500ml. Starter dimasukkan dalam medium *Mineral Salt Medium* (MSM) dengan perbandingan 70% medium MSM : 30% starter. Starter dalam medium MSM dilihat kurva pertumbuhannya menggunakan Spektrofotometer dengan panjang gelombang 600nm, dengan pengamatan setiap 24 jam. Starter yang digunakan adalah 10% dari total medium dalam kolom Winogradsky.

Subkultur Inokulum yeast M2.3 sama halnya dengan inokulum campur, hanya saja medium untuk subkultur menggunakan YMB dan waktu inkubasi 24 - 48 jam, dimana pada subkultur 1 ose kultur murni inokulum Y diinokulasikan dengan cara digores di atas medium *Yeast Malt Extract Agar* (YMEA) miring dan diinkubasi selama 24 - 48 jam. Subkultur-2 adalah 1 ose subkultur-1 dimasukkan dalam 10 ml medium *Yeast Malt Broth* (YMB) dan diinkubasi selama 24 - 48 jam. Subkultur dilanjutkan hingga subkultur 4 dan perlakuan selanjutnya sama dengan pembuatan starter pada inokulum campur.

D. Persiapan Plastik Uji

Plastik uji yang digunakan adalah kantong plastik belanja (tas kresek) warna putih. Plastik uji dipotong dengan ukuran 10 x 3 cm, masing-masing plastik uji disterilkan dengan direndam alkohol 70% selama kurang lebih 30 menit dan dikering anginkan sekaligus dengan UV pada LAF (Bio 60-M) selama kurang lebih 30 menit. Selanjutnya plastik uji dioven pada suhu 80°C selama 24 jam. Plastik uji ditimbang menggunakan *Analytical balance* (Shimadzu) untuk mengetahui berat kering awal plastik. Plastik diberi tanda supaya mudah untuk dibedakan. Plastik di UV pada LAF kembali untuk menyeterilkan plastik uji.

E. Biodegradasi Plastik

Metode biodegradasi plastik yang digunakan adalah kolom *Winogradsky* sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Ainayah dan Shovitri[6]. Inokulum yang digunakan dalam tahap biodegradasi ini adalah inokulum air sampah yang selanjutnya disebut dengan inokulum S, inokulum campur koleksi laboratorium yang selanjutnya disebut dengan inokulum X, dan inokulum yeast M 2.3 disebut dengan inokulum Y. Kontrol negatif dibuat tanpa penambahan inokulum mikroorganisme pada kolom *Winogradsky* dengan kode K dan kontrol air sampah steril dengan kode KS. Proses biodegradasi ini menggunakan botol plastik berukuran 600 ml dan berisi 300 gram pasir steril. Inokulum X dan Y berisi 315

ml medium MSM dan 35 ml inokulum, inokulum S berisi 350ml air sampah, sedangkan untuk perlakuan kontrol K ditambahkan 350 ml medium MSM steril dan kontrol KS berisi 350ml air sampah steril. Untuk inokulum kode K. Botol *Winogradsky* untuk inokulum kode S berisi 300 gram pasir steril dan 350 ml filtrat air sampah. Kolom *Winogradsky* untuk masing-masing inokulum dibuat 3 kali ulangan.

Plastik dimasukkan ke dalam medium yang telah berisi inokulum mikroorganisme uji dengan menggunakan pinset steril hingga terendam dalam medium. Proses biodegradasi ini dilakukan selama 3 bulan dengan metode destruktif untuk setiap tiap 3 minggunya dengan pemanenan sebanyak 4 kali. Biodegradasi terjadi apabila terdapat selisih penurunan antara berat kering plastik setelah inkubasi dengan berat kering awal plastik.

F. Pengukuran Optical Density (OD) Mikroorganisme di Kolom Air dan Biofilm

Pengukuran OD dilakukan setiap 3 minggu sekali pada waktu pemanenan plastik selama masa inkubasi dengan masing-masing 3 kali ulangan untuk setiap kolom *Winogradsky*. Pengukuran OD biofilm dilakukan dengan cara memisahkan potongan plastik dari biofilm mikroorganisme sesuai dengan metode modifikasi yang digunakan oleh Ainayah dan Shovitri (2014). Potongan plastik hasil panen dimasukkan kedalam botol falcon berisi 30 ml akuades steril dan divortex dengan kecepatan 2000 rpm selama 30 detik. Proses ini diulangi sebanyak 5 kali untuk membersihkan biofilm. Biofilm yang telah terpisah dari plastik kemudian diukur densitasnya menggunakan spektrofotometer. Inokulum S, X, K dan KS diukur dengan Spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm dan 540 nm. Sedangkan inokulum Y diukur dengan Spektrofotometer dengan panjang gelombang 540 nm.

Pengukuran OD kolom air pada Inokulum S, X dan Y diambil menggunakan pipet steril sebanyak 2 ml dari kolom *Winogradsky* dan dimasukkan dalam kuvet, pengambilan dilakukan secara steril. Inokulum S dan X diukur menggunakan Spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm. Sedangkan inokulum Y diukur dengan Spektrofotometer dengan panjang gelombang 540 nm.

G. Presentasi Kehilangan Berat Plastik

Pengukuran kehilangan berat plastik dilakukan setiap 3 minggu, dimana 3 potongan plastik uji diambil dari kolom *Winogradsky* dengan menggunakan pinset secara aseptis. Plastik dipisahkan dari biofilm seperti pada metode pengukuran OD biofilm. Plastik uji kemudian disterilisasi dengan alkohol 70% dan dikering anginkan. Setelah kering, plastik uji dimasukkan kedalam oven pada suhu 80°C selama 24 jam dan ditimbang berat keringnya. Berikut rumus perhitungan persentase kehilangan berat plastik[10]:

$$\text{Persentase Kehilangan Berat} = \frac{W_i - W_f}{W_i} \times 100\% \quad (1)$$

Keterangan:

W_i = berat kering awal sebelum degradasi (gram);

W_f = berat kering akhir setelah proses degradasi (gram).

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji biodegradasi plastik dalam penelitian ini menggunakan metode kolom Winogradsky (Gambar 1) dengan menggunakan inokulum berupa mikroorganisme yang berasal dari air sampah TPA Benowo (Inokulum S), inokulum campur koleksi laboratorium (Inokulum X) yang sebelumnya sudah terdeteksi mampu mendegradasi plastik, serta inokulum yeast M 2.3 (Inokulum Y) yang juga merupakan koleksi laboratorium. Inokulum Y kedekatannya cenderung terhadap genus *Candida* [11] dengan nilai indeks lipolitik 1,73. Kolom Winogradsky merupakan ekosistem buatan yang memungkinkan beragam mikroorganisme dapat berkembang dan membentuk stratifikasi sesuai dengan kebutuhan elektron donor dan aseptornya [7]. Pada penelitian ini kolom Winogradsky diisi dengan pasir dan medium mineral untuk inokulum X dan inokulum Y, sedangkan untuk inokulum S diisi dengan pasir dan substrat alami berupa air sampah sebagai sumber inokulum mikroorganisme. Potongan plastik yang ditanam pada substrat pasir diukur persentase degradasi plastiknya, kerapatan sel pada biofilm dan kolom air selama 12 minggu masa inkubasi, dengan interval pengukuran 3 minggu sekali.

Biodegradasi plastik adalah proses dimana polimer plastik akan dipecah oleh mikroorganisme menjadi oligomer dan monomer penyusunnya dengan mengeluarkan enzim ekstraseluler dan intraseluler pada proses biodegradasi ini [12]. Monomer plastik ditransfer ke dalam sel mikroorganisme melalui membran khusus. Molekul yang diserap oleh mikroorganisme dapat digunakan sebagai sumber karbon dan sumber energi. Produk akhir dari metabolisme mikroorganisme akan menghasilkan biomassa, CO₂, H₂O dan CH₄ [2].



Gambar 1. Kolom Winogradsky Biodegradasi Plastik Putih dengan Inokulum S.

Keterangan: a. Air sampah (350 ml), b. Potongan plastik putih ukuran 3×10 cm (3 lembar/ botol), c. Pasir steril (300gram).

Berdasarkan rata-rata persentase degradasi plastik (Tabel 1), inokulum X memiliki kemampuan paling tinggi dalam mendegradasi plastik putih. Setelah 3 minggu masa inkubasi persentase degradasi inokulum X mencapai 2,3% sedangkan degradasi optimum terjadi setelah 9 minggu masa inkubasi atau panen 3 sebesar 3,6%. Hal tersebut menunjukkan bahwa inokulum X sudah teradaptasi dengan baik dalam mendegradasi plastik, sehingga hasil degradasinya menunjukkan pola yang stabil. Kerapatan sel semua inokulum uji cenderung stabil dari setelah 3 minggu masa inkubasi hingga setelah 12 minggu masa inkubasi (Gambar 2), hal tersebut menunjukkan bahwa dengan kerapatan sel yang sama, masing-masing inokulum memiliki kemampuan yang berbeda

dalam mendegradasi plastik. Namun berdasarkan analisa statistika ANOVA-One way (Tabel 1) jenis inokulum X, S, dan Y menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata secara signifikan pada semua jenis inokulum uji dari setelah 3 minggu masa inkubasi hingga setelah 12 minggu masa inkubasi.

Tabel 1.
Persentase Kehilangan Berat Plastik Putih

Inokulum	Persen Kehilangan Berat Plastik (%) setiap Masa Inkubasi			
	3 minggu	6 Minggu	9 Minggu	12 Minggu
Inokulum X	2.3 a	2.2 a	3.6 a	2.6 a
Inokulum S	1.9 a	1.7 ab	2.5 a	1.2 ab
Inokulum Y	2.0 a	1.7 ab	-1.2 b	1.2 ab
K	0 b	0 c	0 b	0 b
KS	0.1 b	0.8 bc	0 b	0 b

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada analisa Tukey ANOVA dengan tingkat kepercayaan 0,05.

X : Inokulum kultur campur koleksi laboratorium;

S : Inokulum air sampah;

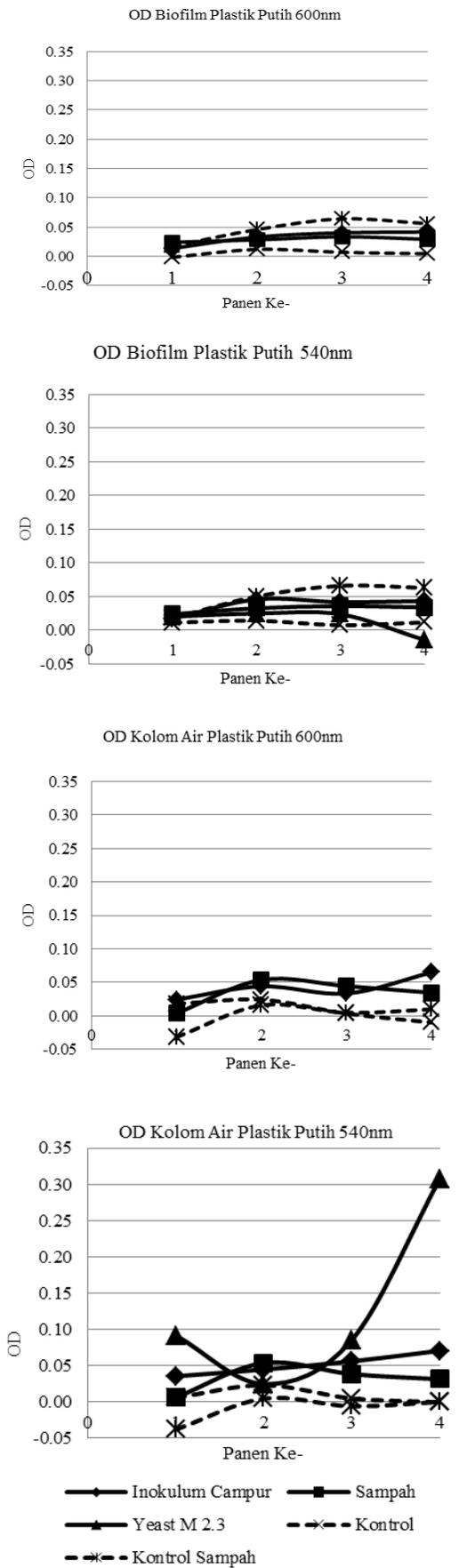
Y : Inokulum yeast M 2.3;

K : Kontrol MSM steril;

KS : Kontrol sampah steril.

Berdasarkan presentase degradasi plastik putih, inokulum X dan S memiliki kemampuan degradasi lebih tinggi. Hal ini mungkin karena inokulum X sudah teradaptasi metabolismenya untuk mendegradasi plastik pada penelitian sebelumnya, dan inokulum S yang diambil dari tumpukan sampah juga teradaptasi untuk mendekomposisi tumpukan sampah dimana inokulum tersebut berasal. Konsorsium adalah kumpulan 2 atau lebih mikroorganisme baik bakteri maupun yeast, yang saling menguntungkan dalam sinergi proses metabolismenya [13]. Inokulum konsorsium akan lebih optimal dalam melakukan suatu proses degradasi karena adanya perbedaan proses metabolisme yang bisa saja merupakan proses metabolisme bertingkat, ada satu mikroorganisme yang bertugas memecah polimer plastik menjadi monomer dan mikroorganisme yang memanfaatkan monomer dan produk samping hasil degradasi sebagai sumber karbon dan energinya [12]. Hal ini diduga juga terjadi pada inokulum X dan S dalam proses degradasi plastik uji.

Inokulum Y merupakan inokulum tunggal yeast genus *Candida*. Yeast merupakan mikroorganisme eukariotik. Yeast dapat mensekresikan enzim ekstraseluler ke lingkungan dan memperoleh nutrien dengan cara absorpsi [14]. Menurut [4], genus *Candida* memiliki enzim esterase yang dapat memecah gugus ester pada polimer plastik. Pada uji biodegradasi (Tabel 1) terlihat bahwa kemampuan inokulum Y berfluktuasi. Kemampuan degradasi plastik turun setelah 9 minggu masa inkubasi, dan naik kembali setelah 12 minggu masa inkubasi. Ketidakstabilan ini mungkin karena inokulum merupakan inokulum tunggal. Sedangkan degradasi plastik memerlukan kompleks enzim yang mungkin dihasilkan oleh lebih dari satu mikroorganisme [3].



Gambar 2. Optical Density Biofilm dan Kolom Air Selama Masa Inkubasi

Pada grafik kerapatan sel (Gambar 2) pertumbuhan inokulum Y sangat tinggi pada kolom air setelah 12 minggu masa inkubasi. Ini menunjukkan bahwa inokulum Y lebih banyak hidup pada kolom air daripada di permukaan plastik membentuk biofilm. Kondisi ini mungkin merupakan salah satu penyebab rendahnya persentase degradasi plastik oleh inokulum Y dibandingkan dengan inokulum X dan inokulum S.

IV. KESIMPULAN

Inokulum X, S dan Y memiliki kemampuan yang sama dalam mendegradasi plastik putih. Degradasi plastik putih paling tinggi terjadi pada inokulum X setelah 9 minggu masa inkubasi dengan persentase degradasi 3,6%, dimana kerapatan sel pada masa inkubasi setelah 9 minggu untuk biofilm dengan λ 600nm adalah 0.036 dan λ 540nm adalah 0,039, serta kerapatan sel pada kolom air dengan λ 600nm adalah 0.034 dan λ 540nm adalah 0,055.

UCAPAN TERIMA KASIH

L. Badriyah mengucapkan terima kasih kepada dosen pembimbing Ibu Dr.rer.nat. Ir. Maya Shovitri, M.Si, para dosen penguji Bapak Dr.techn. Endry Nugroho P., S.Si, M.T. dan Ibu Kristanti Indah Purwani, S.Si, M.Si, atas kritik, saran dan masukannya demi kesempurnaan tugas akhir ini, serta terima kasih kepada LPPM ITS atas Hibah Penelitian Unggulan PT dengan nomor kontrak 003246.96/IT2.11/PN.08/2015. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada ayah, ibu serta adek-adek atas doa dan kasih sayangnya. Penelitian ini juga tidak lepas dari bantuan dan dukungan teman-teman seperjuangan dan seluruh pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] J. Arutchelvi, M. Sudhakar, A. Arkatkar, M. Doble, S. Bhaduri, and P. V. Uppara . "Biodegradation of Polyethylene and Polypropylene". *Indian Journal of Biotechnology* Vol. &, January. (2008).
- [2] A. Guzman, N. Gnutek and H. Janik. "Biodegradable Polymers For Food Packaging – Factors Influencing Their Degradation And Certification Types – A Comprehensive Review". *Chemical Technology*. Vol. 5, No. 1. (2011).
- [3] M. K. Sangale, M. Shahnawaz, and A. B. Ade. "A Review on Biodegradation of Polythene: The Microbial Approach". *J Bioremed Biodeg* 3:164 (2012).
- [4] H. Bhardwaj, R. Gupta, and A. Tiwari. "Microbial Population Associated With Plastic Degradation. Open Access Scientific Reports". Volume 1 . Issue 5.(2012).
- [5] D. Hadad, S. Geresh, and A. Sivan. "Biodegradation of Polyethylene by The Thermophilic Bacterium *Brevibacillus borstelensis*" *J Appl Microbiol* 98: 1093-1100.(2005).
- [6] D. N. Ainiyah dan M. Shovitri. "Bakteri Tanah Sampah Pendegradasi Plastik dalam Kolom Winogradsky". *Jurnal Sains Dan Seni POMITS* Vol. 3, No.2, (2014) 2337-3520 (2301-928X Print).
- [7] M. T. Madigan, J. M. Martinko, D. A. Stahl and D. P. Clark. "*Brock. Biology of Microorganisms*" 12th Edition. San Fransisco: Benjamin Cummings. (2012).
- [8] D. Rilawati. "Kajian Penggunaan Boisca untuk Pemanfaatan Air Lindi (*Leachate*) Menjadi Pupuk Cair". *Tesis*. Program Studi Ilmu Lingkungan Minat Utama Pengelolaan Sumber Daya Air. Program Pasca Sarjana Universitas Sebelas Maret Surakarta. (2009)

- [9] G. J. Tortora, B. R. Funke and C. L. Case. "*Microbiology An Introduction 10th Edition. USA: Benjamin Cummings*". (2010).
- [10] E. Rohaeti. "Karakterisasi Biodegradasi Polimer. Prosiding Seminar Nasional Penelitian". Pendidikan dan Penerapan MIPA, Fakultas MIPA, Universitas Negeri Yogyakarta (2009).
- [11] S. Zunaidah dan N. H. Alami, "Isolasi dan Karakterisasi *Yeast* dari Rhizosphere *Avicennia Marina* Wonorejo". *JURNAL SAINS DAN SENI POMITS* Vol. 3, No.1, (2014) 2337-3520 (2301-928X Print).
- [12] A. A. Shah, F. Hasan, A. Hameed and S. Ahmed. "Biological Degradation Of Plastics: A Comprehensive Review". *Biotechnology Advances* 26 (2008) 246–265.
- [13] J. M. Willey, L. M. Sherwood, and C. J. Woolverton. "*Prescott, Harley, and Klein's Microbiology Seventh Edition*". New York: The McGraw-Hill Companies. (2008).
- [14] I. Gandjar, W. Sjamsuridzal, dan A. Oetari. "*Mikologi Dasar dan Terapan*". Jakarta: Yayasan Obor Indonesia. (2006).