

Potensi Bakteri *Bacillus* sp. dalam Mendegradasi Plastik

Lisa Marjayandari dan Maya Shovitri

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—Sifat plastik yang tidak mudah didegradasi akibatnya akan terakumulasi di tempat pembuangan sampah dan tertimbun di dalam tanah. Salah satu cara yang dapat digunakan untuk menanggulangi pencemaran lingkungan ini yaitu dengan biodegradasi. Penelitian ini dilakukan untuk meningkatkan kemampuan bakteri *Bacillus* sp. koleksi Laboratorium Mikrobiologi Biologi ITS dalam mendegradasi plastik kantong belanja berwarna hitam, putih dan transparan. Biodegradasi diukur berdasarkan persentase kehilangan berat plastik uji yang ditanam ke dalam botol 660 ml berisi pasir steril 300 gram : *Mineral Salt Medium* (MSM) sebanyak 315 ml. Plastik uji yang digunakan berukuran 10 x 3 cm. Botol diisi 3 potongan plastik. Proses biodegradasi dilakukan selama 3 bulan, dengan parameter pengukuran kehilangan berat kering plastik, dan pengukuran *Optical Density* bakteri uji pada λ 600 nm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat bakteri *Bacillus* sp. memiliki potensi dalam mendegradasi plastik uji hitam, putih dan transparan. Persentase degradasi plasti hitam, putih dan transparan berturut-turut adalah 8%, 5% dan 7%. Pertumbuhan bakteri *Bacillus* sp. yang terlihat dari pada biofilm pada plastik hitam, putih dan transparan adalah sebesar 0,050, 0,025, 0,022 dan pada kolom air sebesar 0,023, 0,110, dan 0,070.

Kata Kunci—*Bacillus* sp., berat, plastik.

I. PENDAHULUAN

Plastik merupakan salah satu produk yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat. Penggunaan plastik dilakukan secara besar-besaran sebagai bahan kemasan, produk rumah tangga hingga peralatan kantor dan fasilitas umum. Menurut Indonesia Plastic Industries, kebutuhan plastik dari 220 juta penduduk Indonesia pada tahun 2003 mencapai sekitar 1,35 juta ton sedangkan kemampuan pengolahan sampah oleh pemerintah hanya sekitar 20-30% saja [1]. Proses pengolahan yang dilakukan pemerintah pun hanya sebatas penimbunan di area landfill. Sifat plastik yang tidak mudah didegradasi secara alami akibatnya akan terakumulasi di tempat pembuangan sampah dan tertimbun di dalam tanah [2]. Salah satu solusi yang sedang ramai dibicarakan adalah biodegradasi plastik menggunakan mikroorganisme yang murah dan sangat ramah lingkungan.

Biodegradasi adalah proses dimana mikroorganisme mampu mendegradasi atau memecah polimer alam (seperti lignin, selulosa) dan polimer sintetik (seperti polietilen, polistiren) [3]. Setiap mikroorganisme memiliki karakteristik.

Menurut [4], mikroorganisme seperti fungi dan bakteri termasuk komponen utama dari biosfer yang berperan dalam memecah senyawa organik. Mikroorganisme mengeluarkan

endoenzim dan eksoenzim yang mendegradasi substrat menjadi komponen yang lebih sederhana [3]. Komponen tersebut dimanfaatkan sebagai sumber karbon dan energi oleh mikroorganisme. Untuk megradasi polimer tersebut mikroorganisme akan membentuk formasi biofilm pada permukaan polimer [5]

Beberapa penelitian membuktikan bahwa jenis *Bacillus* dapat mendegradasi atau memutus ikatan rantai polimer plastik. Penelitian [6] melaporkan bahwa *Bacillus subtilis* memecah polyurethane dengan bantuan enzim yang dihasilkannya sendiri, yaitu enzim polyurethanase-lipase. Terjadi perubahan warna pada medium cair Impranil DLN yang semula berwarna putih susu menjadi kuning setelah 7 hari masa inkubasi bakteri pada 370C. Selain itu, juga ditemukan akumulasi polyurethane pada permukaan sel *Bacillus subtilis* yang menunjukkan bakteri tersebut mampu hidup pada medium Impranil DLN yang digunakan. Gugus ester C(O)-O pada polyurethane yang terputus didapatkan sebagai hasil pengujian infrared spectroscopy; setelah 7 hari masa inkubasi didapatkan nilai 1730/cm gugus yang terpotong. Terpotongnya gugus ini merupakan hasil dari aktivitas sinergi enzim endopolyurethanase dan exopolyurethanase [6]. Endoenzim menghidrolisis molekul polyurethane pada rantai pertama dengan mengurangi kekuatan ikatan antar rantai sedangkan exoenzim menghilangkan unit monomer pada rantai terakhir secara terus-menerus [7].

[8] melaporkan bahwa isolat *Bacillus* sp. koleksi Laboratorium Mikrobiologi Biologi ITS mampu mendegradasi plastik. Penelitian tersebut menggunakan metode Winogradsky dengan nilai persentasi kehilangan berat plastik sebesar 4-9% (putih) dan 3-6% (hitam). Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan yang bertujuan untuk mengoptimalkan kemampuan bakteri *Bacillus* sp. dengan menggunakan metode non Winogradsky yaitu pasir steril berfungsi sebagai media tanam plastik dengan kedalaman plastik uji yang ditanam sebesar 20% dari panjang total plastik, adanya penambahan yeast sebagai isolat uji dan penambahan plastik bungkus makanan sebagai plastik uji.

II. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama 4 bulan dari Maret-Juni 2015. Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Jurusan Biologi Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya.

B. Metode yang Digunakan

Persiapan Kantong Plastik

Plastik yang digunakan berupa produk kantong plastik dengan berbagai warna yaitu putih dan hitam. Kedua jenis kantong plastik tersebut dipotong dengan ukuran 15x4 cm sebanyak 3x ulangan tiap jenis plastik kemudian disterilisasi dengan menggunakan alkohol 70% selama kurang lebih 30 menit dan dikeringkan anginkan sekaligus di UV pada LAF (Bio 60-M) selama kurang lebih 15 menit dan di oven pada suhu 80 °C selama 24 jam. Plastik tersebut kemudian ditimbang menggunakan analitical balance (Shimadzu) untuk mengetahui berat kering awal plastik.

Peremajaan Isolat Bakteri Uji dan Pembuatan Stater

Isolat bakteri uji yang digunakan adalah *Bacillus*. Pertama dilakukan peremajaan isolat bakteri uji. Peremajaan isolat dilakukan melalui beberapa tahap. Tahap pertama yaitu subkultur pada medium padat *Nutrient Agar*. Subkultur ini dilakukan sebanyak 2-3 kali sehingga didapat isolat murni. Selanjutnya hasil koloni tunggal diidentifikasi secara makroskopis dan biokimia berdasarkan *Bergey's Manual of Determinative Bacteria*. Uji konfirmasi ini dilakukan sesudah proses biodegradasi.

Subkultur tahap kedua dilakukan pada medium cair NB sebanyak 3 kali pada medium *Nutrient Broth*. Dari proses subkultur terakhir dilanjutkan dengan proses pembuatan starter sebanyak 35 ml untuk satu kolom Winogradsky (10% dari total medium).

Biodegradasi Plastik

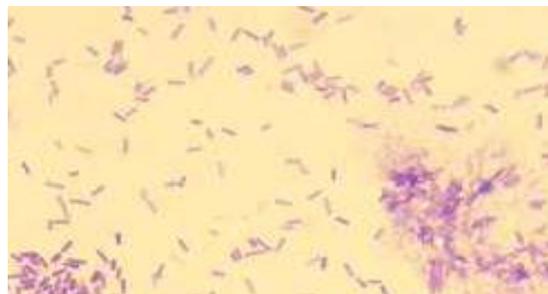
Metode yang digunakan adalah Kolom Winogradsky dengan botol ukuran 660 ml, berisi pasir steril : *Mineral Salt Medium* (MSM) 300 gram : 315 ml. Plastik uji yang digunakan adalah kantong plastik hitam, putih dan transparan ukuran 10 x 3 cm. Botol diisi 3 potongan plastik. Proses biodegradasi dilakukan selama 4 bulan, dengan parameter berat plastik, dan pengukuran densitas bakteri uji pada λ 600 nm dengan spektrofotometer. Pengukuran kehilangan berat plastik dilakukan dengan cara menghitung selisih berat potongan plastik sebelum didegradasi dan setelah proses degradasi. Berikut rumus perhitungan prosentase kehilangan berat plastik, dengan W_i adalah berat kering awal sebelum degradasi (gram) dan W_f adalah berat kering akhir setelah degradasi (gram) [10] :

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

III. HASIL DAN DISKUSI

A. Rekonfirmasi Isolat Bakteri Uji

Inokulum uji yang digunakan adalah isolat *Bacillus* sp. koleksi Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi ITS. Rekonfirmasi isolat bakteri uji dilakukan pada pasca masa inkubasi.



Gambar 1. Penampang Mikroskopis Isolat *Bacillus* sp. perbesaran 1000x

Pada proses konfirmasi didapatkan bahwa bakteri *Bacillus* sp. memiliki Gram positif, sel berbentuk batang, positif endospora, fakultatif anaerob. Karakter bakteri tersebut sesuai dengan yang dijelaskan pada [9].

B. Proses Biodegradasi

Menurut [4] proses biodegradasi polimer terdiri dari beberapa langkah : pertama tahap biodeterioration terjadinya perpaduan aktivitas dari sekumpulan mikroorganisme, dekomposer lain dan faktor abiotik yang memecah komponen polimer menjadi lebih sederhana. Kemudian mikroorganisme mensekresikan senyawa katalitik (berupa enzim dan radikal bebas) membentuk biofilm yang mampu memutus rantai polimer secara progresif menjadi lebih sederhana : oligomer, dimer, dan monomer. Langkah ini disebut dengan depolimerisasi. Hasil dari pemecahan molekul polimer tersebut beberapa ada dikenali oleh sel reseptor mikroorganisme dan mampu masuk melewati membran sel mikroorganisme sisanya akan tetap berada dilingkungan. Selanjutnya terjadi proses asimilasi di dalam sitoplasma mikroorganisme yaitu terjadinya proses metabolisme untuk menghasilkan produk berupa energi, biomassa, cadangan makanan serta metabolit primer maupun sekunder. Beberapa metabolit sederhana dan kompleks kemungkinan dieksresikan menuju bagian ekstraseluler (misalnya asam organik, aldehyd, terpen, antibiotic, dan lain-lain). Molekul sederhana seperti CO₂, N₂, CH₄, H₂O dan garam mineral yang termasuk hasil metabolisme intraseluler teroksidasi ke lingkungan. Tahap ini disebut mineralisasi.

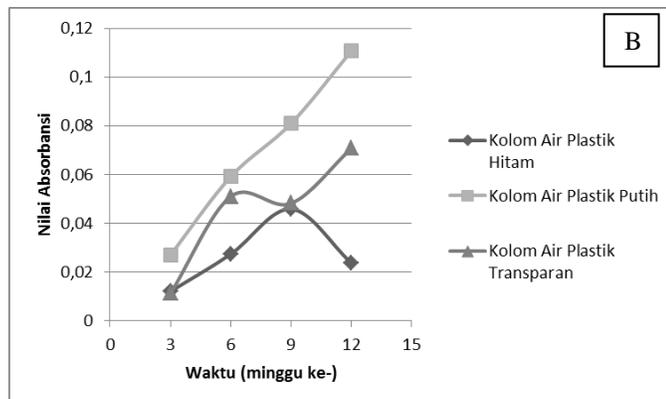
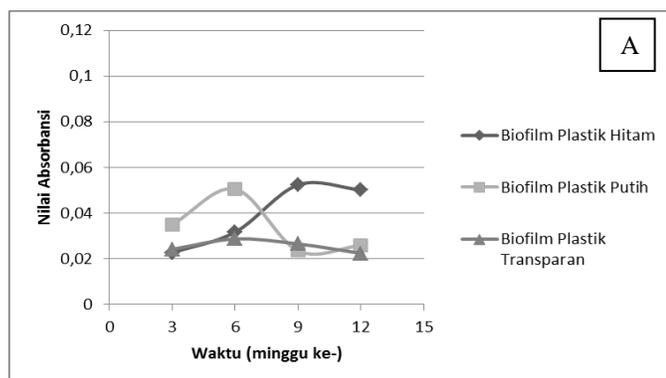
Proses biodegradasi ini dilakukan dengan menggunakan medium *Mineral Salt Medium* (MSM) tanpa sumber karbon selama 3 bulan masa inkubasi, sehingga mikroorganisme distimulus untuk menggunakan plastik sebagai sumber karbon. Pada keadaan tercekam nutrisi (seperti kekurangan sumber karbon) mikroorganisme akan cenderung membentuk lapisan biofilm. Formasi biofilm ini membantu bakteri yang ada di dalamnya untuk efisiensi energi selama tercekam nutrisi Menurut penelitian [11], pembentukan biofilm pada permukaan plastik merupakan salah satu pertumbuhan yang sering terjadi pada bakteri pendegradasi plastik. Pertumbuhan biofilm diukur dengan λ 600 nm.

Metode kuantitatif yang paling sederhana untuk mengukur terjadinya biodegradasi suatu polimer adalah dengan menentukan kehilangan berat dan degradabilitas polimer. Kehilangan berat ditentukan dengan menghitung selisih berat potongan plastik setelah 3 bulan masa inkubasi (Tabel 1.). Pengukuran ini dilakukan setiap 3 minggu sekali.

Tabel 1.
Persentase Kehilangan Berat Plastik oleh *Bacillus* sp.

Inokulum	Plastik	Persen Kehilangan Berat Plastik			
		Minggu 3	Minggu 6	Minggu 9	Minggu 12
<i>Bacillus</i>	Hitam	6% a	7% a	4% a	8% a
	Putih	3% a	4% a	3% ab	5% a
	Trans	4% a	5% a	4% a	7% a
Kontrol		0% b	0% b	0% b	0% b

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



Gambar 2. Grafik Nilai Absorbansi *Bacillus* sp. λ 600 nm pada (A) Biofilm dan (B) Kolom Air.

Persentase kehilangan berat kering plastik mengalami peningkatan setiap minggu (Tabel 1.). Hal ini memperkuat asumsi bahwa agen biodegradasi yang berperan adalah inokulum *Bacillus* dimana pada minggu 6 dan 12 diasumsikan merupakan fase adaptasi inokulum uji untuk melakukan proses degradasi dari total 4 bulan masa inkubasi yang dilakukan. Pada plastik hitam, isolat *Bacillus* mampu mendegradasi plastik lebih tinggi dibandingkan dengan plastik putih dan transparan, yaitu pada minggu 12 setelah masa inkubasi biodegradasi mencapai 8%.

Plastik hitam memiliki tingkat persentase kehilangan berat plastik lebih tinggi jika dibandingkan dengan plastik putih dan transparan. Hal ini diasumsikan bahwa inokulum uji

mendegradasi molekul yang bukan merupakan molekul asli dari plastik uji dikarenakan tertutupnya molekul asli plastik oleh molekul polimer zat-zat tambahan yang adanya pada plastik hitam. Menurut BPOM (2013), kantong kresek yang beredar di pasaran adalah tergolong plastik daur ulang yang berbahaya karena ditambahkan zat pewarna berlebihan contohnya kantong plastik hitam. Penambahan adanya bahan aditif dan proses daur ulang meningkatkan tingkat kejenuhan molekul sehingga bakteri susah untuk melakukan degradasi [12].

Dari proses pengukuran selama masa inkubasi selama 3 bulan menunjukkan adanya peningkatan pertumbuhan bakteri uji berdasarkan kekeruhan (Gambar 2.). Hal ini juga menunjukkan bahwa bakteri *Bacillus* sp. mampu menggunakan polimer plastik sebagai sumber karbon, sehingga bakteri mampu membelah diri. Jumlah absorbansi bakteri pada biofilm memiliki nilai yang cenderung lebih rendah dari pada nilai absorbansi pada kolom air. Berarti sebagian besar inokulum uji memanfaatkan sumber karbon yaitu yang terdapat di dalam kolom air dan plastik untuk pertumbuhannya. Sumber karbon yang ada dikolom air diduga berasal dari hasil sampingan atau eksudat dari degradasi plastik hitam [13]. Peningkatan nilai absorbansi biofilm bakteri *Bacillus* sp. pada plastik hitam bahwa cenderung lebih tinggi dibanding dua plastik uji lainnya. Sedangkan pada nilai absorbansi kolom air plastik hitam cenderung lebih rendah dibandingkan dua plastik uji lainnya. Hal ini diasumsikan berkaitan dengan kecenderungan tingkat kejenuhan molekul polimer pada plastik hitam yang menyebabkan lebih susah untuk didegradasi. Berdasarkan [14] adanya penambahan bahan aditif dan proses daur ulang meningkatkan tingkat kejenuhan molekul sehingga bakteri susah melakukan degradasi.

IV. KESIMPULAN

Bakteri *Bacillus* sp. memiliki potensi dalam mendegradasi plastik uji, karena mampu tumbuh dalam medium yang digunakan. Inokulum *Bacillus* sp. memiliki nilai persentase kehilangan berat plastik hitam sebesar 8%, plastik putih sebesar 5% dan plastik transparan sebesar 7%. Pertumbuhan bakteri *Bacillus* sp. yang terlihat dari pada biofilm pada plastik hitam, putih dan transparan adalah sebesar 0,050, 0,025, 0,022 dan pada kolom air sebesar 0,023, 0,110, dan 0,070.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis L.Marjayandari mengucapkan terimakasih kepada Tuhan Yang Maha Esa atas rahmat dan karunia-Nya, Ibu, Bapak, adik-adik, keluarga atas doa dan segala perhatiannya, dan teman-teman Biologi ITS 2011 yang senantiasa memberikan semangat dan motivasi. Ucapan terimakasih penulis sampaikan pula kepada Ibu Dr. rer. nat. Ir. Maya Shovitri M, Si selaku dosen pembimbing penelitian ini, Bapak Dr. Techn. Endry N. Prasetyo, M.T, Ibu Dra. Nurlita Abdulgani, M.Si. atas saran, masukan dan kritik terhadap penelitian ini. Trimakasi kepada LPPM Institut Teknologi Sepuluh November Surabaya atas Hibah Penelitian Unggulan PT dengan nomor kontrak 003246.96/IT2.11/PN.08/2015.

Dan semua pihak yang telah membantu untuk penyelesaian penelitian ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Akyuni, D. "Pemanfaatan Pati Sagu (*Metroxylon* sp.) Untuk Pembuatan Sirup Glukosa Menggunakan α -Amilase dan Amiloglukosidase". *Skripsi*. Bogor : Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor. (2003).
- [2] Barnes, D.K., Galgani, F, Thompson, R.C., dan Barlaz, M.. "Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments". *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 364: 1985-1998 (2009).
- [3] Gu, J.D., Ford, T.E., Mitton, D.B., dan Mitchell, R. "Microbial degradation and deterioration of polymeric materials". *Revue RW (eds) In: Uhlig Corrosion Handbook (2nd edn)*. New York : John Wiley & Sons. (2000).
- [4] Lucas, N., Bienaime, Ch., Belloy, Ch., Queneudec, M., Silvestre, F., dan Nava-Saucedo, J.E.."Polymer biodegradation: mechanisms and estimation techniques : review", *Chemosphere* 73: 429-442. (2008).
- [5] Artham, T., dan Doble, M. "Biodegradation of Aliphatic and Aromatic Polycarbonates". *Macromol Biosci* 8: 14- 24. (2008).
- [6] Rowe, L., dan Gary, T. "Growth of *Bacillus subtilis* on polyurethane and the purification and characterization of a polyurethanase-lipase enzyme". *International Biodeterioration & Biodegradation* 50 33-40. USA : Department of Biological Sciences, Southeastern Louisiana University. (2002).
- [7] Nakkabi, A., Sadiki, M., Fahim, M., Ittobane, N., Ibsouda, K.S., Barkai, H., dan El abed S. *Biodegradation of Poly(ester urethane)s by Bacillus subtilis*. *Int. J. Environ. Res.*, 9(1):157-162. Morocco. (2014).
- [8] Fadlilah, F.R., dan Shovitri, M. "Potensi Isolat Bakteri *Bacillus* dalam Mendegradasi Plastik dengan Metode Kolom Winogradsky". *Jurnal Teknik POMITS Vol.3, No.2*. Surabaya : Institut Teknologi Sepuluh November. (2014).
- [9] Madigan, M.T., Martinko, J.M., Stahl, D.A., dan Clark, D.P. "*Brock Biology of Microorganisms*". San Francisco : Pearson Education, Inc. (2012).
- [10] E. Rohaeti. "Karakterisasi Biodegradasi Polimer". *Prosiding Seminar Nasional Penelitian, Pendidikan dan Penerapan MIPA*. Yogyakarta : Fakultas MIPA, Universitas Negeri Yogyakarta. (2005).
- [11] S. Alex. "New perspectives in plastic biodegradation". *Journal of Current Opinion in Biotechnology (2011) Vol 22:422 – 426*FAO. Social and economic dimensions of carrageenan seaweed farming. Roma: FAO. (2013).
- [12] N. Mimi. "Penelitian Sifat Berbagai Bahan Kemasan Plastik dan Kertas Serta Pengaruhnya Terhadap Bahan yang dikemas". *Skripsi*. Sumatera Utara: Fakultas Pertanian. Jurusan Teknologi Pertanian, Universitas Sumatera Utara. (2005).
- [13] Milasari, Nurita I., Ariani, da Sukma B. "Pengolahan Limbah Cair Kadar COD dan Fenol Tinggi dengan Proses Anaerob dan pengaruh Mikronutrien Cu : Kasus Limbah Industri Janu Tradisional". *Tugas Akhir*. Semarang : Universitas Diponegoro. (2010).
- [14] AA, Shah, Hasan F, Hameed A, Ahmed S. "Biological degradation of plastics: A comprehensive review". *Journal of Biotechnology (2008) Vol 26: 246-265*.