

Pengaruh *Pseudomonas* PL01 dan Monosodium Glutamat Terhadap Bakteri *Indigenous* Pasir dalam Mendegradasi Plastik

Intan Prima Sari dan Maya Shovitri

Departemen Biologi, Fakultas Ilmu Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS)

e-mail: maya@bio.its.ac.id

Abstrak—Kantong plastik sering digunakan karena sifatnya yang kuat, ringan, tahan lama, dan inert. Peningkatan jumlah penggunaan plastik dapat menjadi polutan bagi lingkungan. Salah satu alternatif penanganannya adalah melalui proses biodegradasi oleh bakteri. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh *Pseudomonas* PL01 dan monosodium glutamat (MSG) terhadap bakteri *indigenous* pasir dalam mendegradasi plastik pada skala lapangan dengan metode penimbunan. Plastik berukuran 6 x 10 cm ditimbun pada tanah pasir dengan kedalaman 10 cm lalu ditambahkan *Pseudomonas* PL01 dan/atau 1 g/L MSG dalam *polybag* yang diletakkan di ruang terbuka, lalu diinkubasi selama 12 minggu. Setiap 3 minggu dilakukan pengukuran kepadatan sel biofilm pada permukaan plastik, visualisasi biofilm menggunakan *methylene blue* dan velositas. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan *Pseudomonas* PL01 dan/atau 1 g/L MSG dapat berpengaruh pada bakteri *indigenous* pasir dalam mendegradasi plastik. Kepadatan sel pada bakteri *indigenous* pasir tanpa penambahan *Pseudomonas* PL01 dan/atau 1 g/L MSG pada plastik hitam mencapai 1,16 AU. Pengukuran velositas juga menunjukkan adanya perubahan waktu apung plastik dari minggu ke-3 yaitu 18,45 detik menjadi 40,34 detik pada minggu ke-12.

Kata Kunci—Biodegradasi, Bakteri *Indigenous* Pasir, MSG, *Pseudomonas* PL01, Hidrofilik.

I. PENDAHULUAN

PLASTIK merupakan polimer sintetik yang memiliki berat molekul tinggi dan dibentuk melalui proses polimerisasi [1]. Penggunaan plastik dalam kehidupan sehari-hari semakin meningkat, seiring dengan perkembangan jaman dan peningkatan jumlah penduduk [2]. Salah satu jenis plastik yang sering digunakan adalah kantong plastik, karena sifatnya yang kuat, ringan, tahan lama, tahan korosi, tahan panas, murah dan inert [3]. Kantong plastik merupakan plastik jenis polietilena dengan polimer LDPE (*Low Density Polyethylene*). Polietilena merupakan polimer sintetik yang terbentuk dari rantai panjang monomer etilena [4].

Penggunaan plastik di seluruh dunia terus berkembang, yaitu sekitar 140 juta ton polimer sintetik diproduksi setiap tahunnya dengan penggunaan plastik jenis polietilena rata-rata 12% per tahun [5]. Peningkatan jumlah penggunaan plastik tersebut dapat menyebabkan berbagai masalah lingkungan, karena plastik termasuk salah satu jenis polutan yang tidak dapat berubah bentuk dalam waktu singkat di lingkungan [3]. Oleh karena itu, perlu adanya penanganan terkait masalah sampah plastik tersebut, salah satunya melalui proses biodegradasi. Biodegradasi merupakan proses dimana mikroorganisme seperti jamur dan bakteri mampu

mendegradasi polimer alami (lignin, selulosa) dan polimer sintetik (polietilena, polistirena) [1]. Proses biodegradasi plastik di dalam tanah dapat dibantu oleh populasi mikroba *indigenous* tanah. Monosodium Glutamat (MSG) merupakan garam natrium yang berikatan dengan asam amino berupa asam glutamat dan berbentuk kristal putih yang stabil dan diketahui mampu meningkatkan pertumbuhan mikroorganisme [6]. Tanah jenis pasir merupakan salah satu sumber daya alam yang paling mudah diakses dan merupakan bahan granular alami yang terdiri dari batuan halus dan partikel mineral. Dari segi kimia, tanah pasir cukup mengandung unsur fosfor (P) dan kalium (K), tetapi lahan pasir kekurangan unsur nitrogen (N), sehingga kandungan nutrisi bagi tanaman maupun mikroorganisme pada pasir kurang terpenuhi [7]. Rendahnya nutrisi pada pasir tersebut, dapat dimanfaatkan sebagai media untuk proses biodegradasi plastik, dimana mikroorganisme *indigenous* distimulus untuk menggunakan plastik sebagai sumber karbon.

Dengan metode penimbunan (*soil burial*) pada skala laboratorium, bakteri *Pseudomonas* PL01 dan bakteri *indigenous* pasir dengan penambahan 1g/L MSG mampu bersinergi dalam mendegradasi plastik hitam, putih dan transparan masing-masing sebesar 7%, 12% dan 14% selama 16 minggu masa inkubasi [8]. Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh *Pseudomonas* PL01 dan monosodium glutamat terhadap bakteri *indigenous* pasir saat diaplikasikan pada skala lapangan dengan metode penimbunan di dalam kantong *polybag*.

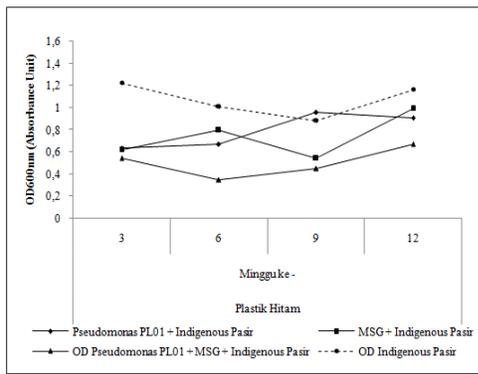
II. METODOLOGI

A. Waktu dan Tempat Penelitian

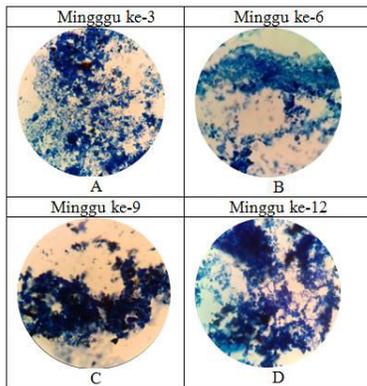
Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari-Mei 2017 di lahan terbuka dan Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya.

B. Preparasi Kantong Plastik

Plastik uji yang digunakan berupa kantong plastik yang dipotong dengan ukuran 10 x 6 cm sebanyak 3 kali pengulangan. Plastik direndam dengan alkohol 70% selama 30 menit dan dikeringanginkan di bawah sinar UV pada *Laminar Air Flow* (Bio 60-M) selama 15 menit. Plastik kemudian dimasukkan ke dalam oven (Memmert) pada suhu 80°C selama 24 jam. Setelah itu, plastik dimasukkan ke dalam desikator selama 24 jam [9].



Gambar 1. Kepadatan Sel Bakteri *Indigenous* Pasir dengan Penambahan *Pseudomonas* PL01 dan/atau 1 g/L MSG pada Permukaan Plastik.



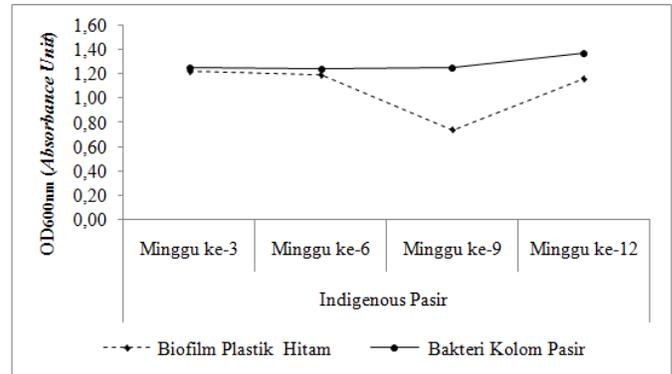
Gambar 2. Visualisasi Biofilm Bakteri *Indigenous* Tanah dan Bakteri *Pseudomonas* PL01 pada Plastik Transparan dengan Perbesaran 1000x : A) OD_{600nm}= 0,60 AU ; B) OD_{600nm}= 0,42 AU; C) OD_{600nm}= 0,47 AU dan D) OD_{600nm}= 0,74 AU.

C. Peremajaan Isolat dan Pembuatan Starter Bakteri

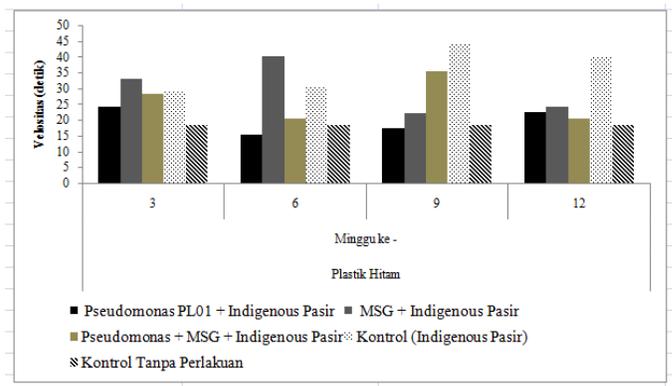
Isolat diambil sebanyak 1 ose dan digoreskan secara garis *continue* ke permukaan medium NA dalam cawan Petri dan diinkubasi pada inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam. Pembuatan *strater* dilakukan secara bertingkat, dimulai dengan pengambilan inokulum dari isolat subkultur sebanyak 1 ose dan dimasukkan ke dalam 10 ml *Nutrient Broth*(NB), kemudian diinkubasi selama 24 jam. Biakan bakteri tersebut kemudian diambil sebanyak 1 ml, dimasukkan ke dalam 9 ml NB baru dan diinkubasi selama 24 jam. Biakan bakteri 10 ml tersebut selanjutnya dimasukkan ke dalam 90 ml NB baru dan diinkubasi selama 24 jam. Biakan bakteri 100 ml tersebut selanjutnya dimasukkan ke dalam 900 ml NB baru dan diinkubasi selama 24 jam. Pemiakan bakteri pada media NB ini adalah *starter* yang digunakan untuk proses selanjutnya. *Starter* yang digunakan berisi isolat bakteri dengan kepadatan sel 10⁸ sel/ml yang dihitung menggunakan *Haemocytometer*.

D. Persipan Inokulum Aplikasi

Starter bakteri yang digunakan sebanyak 10% dari volume total inokulum aplikasi. Air kolam diambil sebanyak 5400 ml, disaring dan disterilisasi dengan suhu >100°C. Inokulum aplikasi dibuat dengan cara mencampurkan 600 ml *starter* bakteri dengan 5400 ml air kolam steril, lalu dihomogenkan dan siap untuk diaplikasikan pada pasir. Terdapat 2 jenis inokulum aplikasi yang digunakan, yaitu dengan penambahan 1 g/L MSG dan tanpa penambahan 1 g/L MSG.



Gambar 3. Perbandingan Pertumbuhan Bakteri Kolom Tanah Pasir dengan Biofilm Permukaan Plastik pada Bakteri *Indigenous* Pasir.



Gambar 4. Velositas Plastik Bakteri *Indigenous* Pasir dengan Penambahan *Pseudomonas* PL01 dan/atau 1 g/L MSG.

E. Biodegradasi Plastik

Biodegradasi plastik dilakukan dengan menggunakan metode penimbunan tanah (*soil burial method*) [10]. Tanah yang digunakan merupakan tanah pasir pantai yang berasal dari Lumajang. Digunakan 6000 ml inokulum aplikasi untuk dicampurkan dengan 30 kg pasir pada setiap kantong *polybag* berdiameter 60 cm. *Polybag* diisi dengan pasir yang telah bercampur dengan inokulum aplikasi setinggi 10 cm [11]. Masing-masing plastik hitam, putih dan transparan ditata sebanyak 1 lembar dengan jarak setiap plastik selebar 3 cm, kemudian ditimbun kembali dengan pasir setinggi 10 cm. Setiap plastik dilakukan 3 kali pengulangan pada setiap *polybag*. Kontrol yang digunakan adalah pasir pantai tanpa penambahan isolat bakteri *Pseudomonas* PL01 dan MSG. Setiap 3 minggu sekali, plastik dipanen dengan cara digali tanah pada *polybag* secara perlahan hingga plastik terlihat, kemudian plastik diambil menggunakan pinset steril dan dimasukkan ke dalam botol falcon yang telah berisi aquades steril. Selanjutnya dilakukan pengukuran *Optical Density* (OD), visualisasi biofilm dan velositas.

F. Pengukuran Optical Dencity (OD)

Biofilm pada plastik dilepaskan dengan cara lembar plastik yang telah dipanen, dimasukkan ke dalam botol falcon 50 ml yang telah berisi 20 ml aquades dan divortex dengan kecepatan 2500 rpm selama 30 detik sebanyak 3 kali. Larutan dari pelepasan biofilm tersebut kemudian diukur kepadatan

selnya. Sebagai pembanding, dilakukan pengukuran densitas bakteri pada tanah disekitar area penimbunan plastik. Sebanyak 2 g tanah dicampur dengan 10 ml air, kemudian diukur kepadatan selnya dengan cara yang sama.

G. Deteksi Visual Biofilm

Sisa larutan dari pelepasan biofilm diteteskan pada kaca objek dan dilakukan fiksasi di atas api bunsen. Kaca objek yang telah difiksasi kemudian diwarnai dengan *methylene blue* selama 1-2 menit. Kaca objek dibilas dengan aquades secara perlahan dan dikeringanginkan. Kaca objek diamati dengan mikroskop pada perbesaran 1000x dengan bantuan minyak imersi pada kaca penutup.

H. Velositas

Pengukuran velositas dilakukan berdasarkan penelitian [11], yaitu dengan cara plastik yang telah diukur berat keringnya kemudian dimasukkan kedalam inkubator kaca yang telah berisi aquades dengan ketinggian 10 cm, menggunakan spatula steril sebagai penahannya. Spatula diangkat secara perlahan dan dilakukan pengamatan waktu yang dibutuhkan oleh plastik dari dasar inkubator hingga mencapai permukaan menggunakan *stopwatch*.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Kepadatan Sel

Kepadatan sel yang diukur dengan serapan (OD_{600nm}) merupakan biofilm yang terbentuk pada permukaan plastik. Biodegradasi pada material sintetik dimulai dengan pembentukan koloni dari mikroorganisme pada permukaan material padat, yang disebut biofilm [12]. Menurut [13] biofilm merupakan kumpulan dari sel mikroba yang saling berasosiasi dalam suatu permukaan dan tertutup dalam suatu matriks, terutama polisakarida. Biofilm akan terbentuk pada saat kondisi tercekam seperti kekurangan nutrisi pada lingkungan sekitarnya [14]. Pertumbuhan mikroorganisme pada tanah pasir terbatas karena nutrisi yang tidak mencukupi dan adanya kompetisi dengan flora mikroba [15]. Secara umum, pada Gambar 1 terlihat bahwa kepadatan sel pada kontrol yang merupakan bakteri *indigenus* pasir, lebih tinggi dibandingkan dengan kepadatan sel bakteri *indigenus* pasir dengan penambahan bakteri *Pseudomonas* PL01 dan/atau 1 g/L MSG. Selama 12 minggu masa inkubasi, kepadatan sel bakteri *indigenus* pasir dan *Pseudomonas* PL01 di permukaan plastik hitam mencapai 0,91 AU, sedangkan bila tanpa *Pseudomonas* PL01 kepadatan sel terlihat lebih tinggi, yaitu mencapai 1,16 AU. Hal ini mungkin berkaitan dengan stabilitas ekosistem mikroorganisme, dimana penambahan *Pseudomonas* PL01 diduga mengganggu kestabilan tersebut sehingga ada penurunan kepadatan sel. Hubungan antar organisme merupakan bentuk dari adaptasi pada lingkungan untuk mendukung metabolisme, proteksi atau suplai energi dan dapat distabilkan oleh organisme tersebut dengan cara mengontrol dan mengkoordinasikan interaksi yang dilakukan [16]. Stabilitas ekosistem dipengaruhi oleh konstruksi niche suatu mikroba [17]. Jika terlalu banyak tumpang tindih di ruang niche, dapat menyebabkan kepunahan spesies [18]. Penambahan *Pseudomonas* PL01 diduga mempengaruhi niche bakteri *indigenus* tanah dan membentuk hubungan yang

saling merugikan dengan bakteri *indigenus* tanah. Hubungan ini dapat berupa kompetisi atau antagonisme karena ketidaksesuaian lingkungan bagi *Pseudomonas* PL01 untuk beradaptasi. Genus *Pseudomonas* diketahui mampu menghasilkan sejumlah besar metabolit sekunder dengan aktivitas antibakteri [19]. Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa yang dibentuk pada saat kondisi tercekam [20]. Penurunan kepadatan sel yang diduga akibat adanya *Pseudomonas* PL01 menyebabkan rendahnya pemanfaatan plastik oleh bakteri sebagai sumber karbon.

Kepadatan sel bakteri *indigenus* pasir dengan penambahan 1 g/L MSG pada plastik hitam mencapai 0,99 AU. Namun, bila tanpa MSG kepadatan selnya juga terlihat lebih tinggi. Hal ini diduga karena bakteri *indigenus* pasir mampu memanfaatkan sumber nutrisi alternatif dari air kolam steril dan plastik sebagai sumber karbon untuk pertumbuhannya. Unsur penting di perairan yang mempengaruhi ketersediaan nutrisi adalah nitrogen, fosfat dan karbon, dimana berperan penting dalam pembentukan biomassa mikroorganisme yang menentukan produktivitas primer perairan [21]. Sedangkan dengan adanya MSG, diduga bakteri *indigenus* tanah lebih memilih memanfaatkan kandungan glutamat untuk sintesis protein dalam menghasilkan enzim dibandingkan dengan pembentukan biomassa sel, sehingga kepadatan selnya rendah. Selanjutnya ketika bakteri *indigenus* pasir ditambah dengan bakteri *Pseudomonas* PL01 dan 1 g/L MSG, kepadatan sel terlihat paling rendah, yaitu mencapai 0,67 AU.

Rendahnya kepadatan sel pada penambahan bakteri *Pseudomonas* PL01 dan 1 g/L MSG juga dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan, yaitu faktor biotik dan abiotik. Faktor biotik yang mempengaruhi rendahnya kepadatan sel diduga karena adanya kompetisi antara bakteri *indigenus* pasir dengan *Pseudomonas* PL01, yang dapat berupa persaingan dalam mendapatkan nutrisi. Sedangkan faktor abiotik yang dapat mempengaruhi pertumbuhan sel mikroorganisme diantaranya pH, temperatur, tekanan, kelembaban [22]. Pada penelitian ini, faktor abiotik yang diukur adalah pH yang menunjukkan keadaan semakin asam selama 12 minggu masa inkubasi. Kondisi lingkungan pH dapat mempengaruhi sifat fisik enzim dan organisasi selular terhadap organisme [23]. *Pseudomonas* merupakan bakteri yang memiliki pH optimum 6,6-7 [24]. Hal ini menunjukkan bahwa pertumbuhan *Pseudomonas* PL01 diduga tidak optimum dalam kondisi pH 5-6. Menurut [25] komunitas bakteri tanah seringkali sangat berkorelasi dengan pH tanah, sehingga diduga bakteri *indigenus* pasir yang mampu hidup pada pH 5-6 hanya bakteri tertentu.

Kepadatan sel bakteri selain diukur dengan spektrofotometer (serapan OD_{600nm}), juga dapat dilihat dengan cara visualisasi biofilm menggunakan pewarna *methylene blue*. Gambar 2 menunjukkan hasil visualisasi biofilm bakteri *indigenus* pasir dan bakteri *Pseudomonas* PL01 pada permukaan plastik selama 12 minggu masa inkubasi.

Gambar 2 menunjukkan pada minggu ke-12, terlihat struktur biofilm yang berwarna biru dan paling tebal. Struktur biofilm yang terlihat secara umum sesuai dengan nilai kepadatan sel pada serapan OD_{600nm} . Semakin tinggi nilai kepadatan sel, maka semakin tebal struktur biofilm yang ditunjukkan dengan warna biru seperti gumpalan. Warna biru

yang dihasilkan merupakan ikatan antara dinding sel dengan pewarna *methylene blue*.

Pengukuran kepadatan sel pada kolom tanah pasir juga dilakukan berdasarkan nilai OD_{600nm} yang ditunjukkan pada Gambar 3. Hasil menunjukkan kepadatan sel biofilm pada permukaan plastik terlihat lebih rendah dibandingkan dengan kepadatan sel mikroorganisme kolom pasir. Hal ini dapat diasumsikan bahwa bakteri yang membentuk biofilm pada permukaan plastik merupakan mikroorganisme yang menggunakan plastik sebagai sumber karbon, sedangkan bakteri yang tidak menempel pada plastik merupakan mikroorganisme yang mampu tumbuh dengan memanfaatkan nutrisi selain plastik. Berdasarkan Gambar 3 tersebut, menunjukkan bahwa degradasi plastik menggunakan sumber alternatif air kolam steril di kantong *polybag* yang diletakkan pada ruang terbuka mengakibatkan bakteri cenderung menggunakan sumber nutrisi lain yang diduga berupa air kolam steril sehingga bakteri lebih menggunakan nutrisi tersebut daripada menempel pada plastik untuk menggunakan plastik sebagai sumber karbon.

B. Velositas

Pengukuran velositas merupakan adaptasi dari pengujian perubahan kecepatan terhadap perubahan waktu [26]. Velositas pada penelitian ini adalah untuk mengetahui hidrofilitas plastik setelah terdegradasi [27]. Semakin lama waktu yang dibutuhkan plastik untuk mengapung sampai permukaan atas inkubator kaca, maka diasumsikan plastik akan semakin bersifat hidrofilik atau velositasnya semakin rendah. Berdasarkan hasil pengukuran kepadatan sel pada Gambar 1, terlihat bahwa bakteri *indigenus* pasir dan bakteri *Pseudomonas* PL01 dapat membentuk biofilm pada permukaan plastik. Adanya biofilm diasumsikan terjadi serangkaian reaksi enzimatik oleh bakteri terhadap polimer plastik yang menyebabkan plastik semakin bersifat hidrofilik. Sebagai pembandingan, juga dilakukan pengukuran velositas plastik tanpa perlakuan degradasi sebagai kontrol tanpa perlakuan.

Secara umum, selama masa inkubasi dari minggu ke-3 sampai minggu ke-12 terlihat adanya pengurangan sifat hidrofobik pada plastik yang ditunjukkan dengan semakin lama waktu yang dibutuhkan plastik untuk naik ke permukaan. Pengurangan sifat hidrofobik dapat diakibatkan karena adanya biofilm yang terbentuk. Dari data velositas terlihat bahwa plastik yang sudah terdegradasi membutuhkan waktu yang lebih lama untuk mengapung ke permukaan dibandingkan dengan kontrol tanpa perlakuan yang memiliki velositas sebesar 18,45 detik. Pada grafik, terlihat bahwa pada kontrol bakteri *indigenus* pasir menunjukkan velositas yang lebih rendah dibandingkan dengan velositas bakteri *indigenus* pasir dengan *Pseudomonas* PL01. Velositas bakteri *indigenus* pasir mencapai 40,34 detik. Sedangkan velositas pada bakteri *indigenus* pasir dengan *Pseudomonas* PL01 mencapai 22,60 detik. Hal ini menunjukkan bahwa uji velositas berkorelasi positif dengan kepadatan sel. Selama masa inkubasi, terlihat adanya penurunan sifat hidrofobik. Gambar 4 menunjukkan plastik yang terdegradasi oleh bakteri *indigenus* pasir, velositas pada minggu ke-3 mencapai 29,38 detik, sedangkan velositas pada minggu ke-12 menurun menjadi 40,34 detik. Hal ini menunjukkan selama 12 minggu masa inkubasi, terjadi

perubahan struktur polimer menjadi semakin hidrofilik akibat proses biodegradasi. Melekatnya bakteri ke polimer merupakan langkah awal pembentukan biofilm, dimana sifat hidrofobik permukaan sel mikroba sangat berperan dalam perlekatan terhadap polimer [28]. Ketika mikroorganisme menempel di permukaan, mereka akan tumbuh dan memanfaatkan polimer sebagai sumber karbon secara enzimatik dan menyebabkan polimer menjadi hidrofilik. Polietilena merupakan polimer sintesis yang memiliki hidrofobitas dan berat molekul tinggi dikarenakan struktur polietilena yang memiliki ikatan kovalen antara C-C dan C-H [29]. Hidrofilik permukaan polimer dapat terjadi karena adanya pengenalan gugus fungsi oleh mikroorganisme selama proses degradasi.

IV. KESIMPULAN DAN SARAN

Penambahan *Pseudomonas* PL01 dan 1 g/L MSG dapat mempengaruhi bakteri *indigenus* pasir dalam mendegradasi plastik. Selama 12 minggu masa inkubasi, kepadatan sel bakteri *indigenus* pasir tanpa penambahan *Pseudomonas* PL01 dan 1 g/L MSG pada permukaan plastik hitam yaitu 1,16 AU. Pengukuran velositas juga menunjukkan adanya perubahan waktu apung plastik dari minggu ke-3 yaitu 18,45 detik menjadi 40,34 detik pada minggu ke-12.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] H. Bhardwaj, R. Gupta, and A. Tiwari, "Microbial Population Associated With Plastic Degradation. Open Access Scientific Reports," *Open Access Sci. Reports*, vol. 1, no. 5, 2012.
- [2] U.B. Suro, "Berbagai Metode Konversi Sampah Plastik menjadi Bahan Bakar Minyak," *J. Tek.*, vol. 3, no. 1, pp. 32–40, 2013.
- [3] A. Muthukumar and S. Veerappapillai, "Biodegradation of Plastics," *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, vol. 36, pp. 204–209, 2015.
- [4] A. A. Hussein, I. K. Al-Mayaly, and S. H. Khudeir, "Isolation, Screening and Identification of Low Density Polyethylene (LDPE) Degrading Bacteria From Contaminated Soil with Plastic Wastes," *Mesopotamia Environ. J.*, vol. 1, no. 4, pp. 1–14, 2015.
- [5] S. Nanda, S. Sbigdha, and S. Sahu, "Biodegradability of Polyethylene by *Brevibacillus*, *Pseudomonas* and *Rhodococcus* spp.," *New York Sci. J.*, vol. 3, pp. 95–98, 2010.
- [6] H. Nuryani and S. Jinap, "Soy Sauce and its Umami Taste: A Link from The Past To Current Situation," *J. Food Sci.*, vol. 5, no. 3, pp. 71–76, 2010.
- [7] Sunardi and Y. Sarjono, "Penentuan Kandungan Unsur Makro Pada Lahan Pasir Pantai Sasmas Bantul Dengan Metode Analisis Aktivasi Neutron (AAN)," in *Prosiding PPI – PDIPTN. Pustek Akselerator dan Proses Bahan*, 2007.
- [8] R. Nafi'ah and M. Shovitri, "Degradasi Plastik Isolat Bakteri *Bacillus* PL-01 dan *Pseudomonas* PL-01 Dengan Metode Penimbunan Dalam Tanah (Soil Burial) dan Penambahan Monosodium Glutamat," 2015.
- [9] E. Zulaika, U. Sholikah, and A. Prasetya, "Potensi Bakteri *Bacillus* sebagai Agenia Bioremediasi Limbah Industri yang Mengandung Merkuri," Institut Teknologi Sepuluh Nopember, 2012.
- [10] K. Kathiseran, "Polythene and Plastics-Degrading Microbes From The Mangrove Soil," *Rev. Biol. Trop.*, vol. 51, no. 3, pp. 629–634, 2003.
- [11] E. B. Okoh and E. I. Atuya, "Impacts of Soil Composting and Poultry Manure on Biodegradation of Polyethylene," *Int. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. Res.*, vol. 2, pp. 18–29, 2014.
- [12] B. M. Kyaw, R. Champakalakshmi, M. K. Sakharkar, C. S. Lim, and K. R. Sakharkar, "Biodegradation of Low Density Polythene (LDPE) by *Pseudomonas* Species," *Indian J. Microbiol.*, vol. 52, no. 3, pp. 411–419, 2012.
- [13] M.D. Rodney, "Biofilms: Microbial Life on Surface," *Infect. Dis. (Auckl)*, vol. 8, no. 9, 2002.
- [14] M. E. Olson, H. Ceri, D. W. Morck, A. . Buret, and R. R. Read, "Biofilm Bacteria: Formation and Comparative Susceptibility to Antibiotics," *Can.*

- J. Vet. Res.*, vol. 66, pp. 86–92, 2002.
- [15] E. Velonakis, D. Dimitriadi, E. Papadogiannakis, and A. Votopoulos, "Present Status of Effect of Microorganisms From Sand Beach on Public Health," *J. Coast. Life Med.*, vol. 2, no. 9, pp. 746 – 756, 2014.
- [16] G. D. A. Werner, W. K. C. Well, J. H. C. Cornelissen, and E. T. Kiers, "Evolutionary signals of symbiotic persistence in the legume–rhizobia mutualism," *PNAS*, vol. 112, no. 3, 2015.
- [17] N. Lennon and J. T. Fierer, "The generation and maintenance of diversity in microbial communities," *Am J Bot.*, vol. 98, pp. 439–448, 2011.
- [18] J. T. Lennon and B. K. Lehmkuhl., "A Trait-Based Approach to Bacterial Biofilms in Soil," *J. Environ. Microbiol.*, 2016.
- [19] S. Tayeb, Z. Chama, A. Tifrit, F. Z. I. Reffas, and B. Abbouni., "Antagonistic activity of *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 Against Pathogenic Bacteria," *J. Chem. Pharm. Res.*, vol. 7, no. 7, pp. 362 – 369, 2015.
- [20] R. Nofiani, "Urgensi dan Mekanisme Biosintesis Metabolit Sekunder Mikroba Laut," *J. Natur Indones.*, vol. 10, no. 2, pp. 120 – 125, 2008.
- [21] J. Horne and R. Goldman, *Limnology*. New York: The McGraw-Hill Companies, 1994.
- [22] K. Zohreh, "The Effect of Biotic and Abiotic Factors on Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) by Bacteria in Soil," University of Hertfordshire for the degree of Doctor of Philosophy, 2013.
- [23] A.D. Brown, "Some General Properties of a Psychrophilic Pseudomonad: the Effects of Temperature on some of these Properties and the Utilization of Glucose by this Organism and *Pseudomonas aeruginosa*," *J. gen. Microb.*, vol. 17, pp. 640 – 648, 1957.
- [24] K. Todar, "Nutrition and Growth of Bacteria," 2013. [Online]. Available: http://textbookofbacteriology.net/nutgro_4.html.
- [25] J. Rousk, E. Baath, P. C. Brookes, L. Lauber, C. Lozupone, and R. K. and N. F. J.G Caporaso, "Soil Bacterial and Fungal Communities Across a pH Gradient in an Arable Soil," *ISME J.*, 2010.
- [26] D. A. Wahyudi and I. H. Kartowisastro., "Menghitung Kecepatan Menggunakan Computer Vision," Universitas Binus, 2011.
- [27] J. W. Reisser, "Bouyant Plastics at Sea : Concentration and Impacts," 2015.
- [28] P. Tribedi and A. K. Sil., "Cell Surface Hydrophobicity: a Key Component in The Degradation of Polyethylene Succinate by *Pseudomonas* sp. AKS2," *J. Appl. Microbiol.*, vol. 116, pp. 295 – 303, 2013.
- [29] L. H. Gabriel, O. N. Bennett, and B. Schneier, "Polyethylene Pipe Specifications," Washington D.C., 1995.