

Potensi Isolat Bakteri *Bacillus* dalam Mendegradasi Plastik dengan Metode Kolom Winogradsky

Fiki Rahmah Fadlilah 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— Karakter plastik yang sulit terdegradasi di lingkungan mendorong penelitian ini untuk mengetahui potensi isolat bakteri *Bacillus* koleksi Laboratorium Mikrobiologi Biologi ITS dalam mendegradasi beberapa jenis plastik uji. Metode yang digunakan adalah Kolom Winogradsky dengan botol ukuran 1,5 l, berisi pasir steril : medium Salt = 1:1. Plastik uji yang digunakan adalah kantong plastik merah, biru, hitam, putih dan hijau ukuran 15 x 4 cm. Botol diisi 15 potongan plastik. Proses biodegradasi dilakukan selama 4 bulan, dengan parameter berat kering plastik, dan pengukuran densitas bakteri uji pada λ 600 nm. Isolat bakteri *Bacillus* memiliki potensi dalam mendegradasi plastik uji, karena mampu tumbuh dalam kolom Winogradsky selama 4 bulan masa inkubasi. Pertumbuhan isolat *Bacillus* yang terlihat dari *Optical Density* pada plastik hitam : putih sebesar 0,210; 0,234. Pada isolat *Bacillus* persen degradabilitas plastik putih dan hitam secara berturut adalah 1,9% dan 2,3%.

Kata Kunci—Kantong Plastik, Biodegradasi, Kolom Winogradsky, *Bacillus*

I. PENDAHULUAN

SELAMA kurun waktu 3 dekade, bahan plastik semakin banyak digunakan dalam dunia industri baik industri makanan, pakaian, transportasi, konstruksi, medis maupun rekreasi. Plastik dianggap menguntungkan karena secara fisik plastik kuat, memiliki bobot ringan dan tahan lama. Di Indonesia, menurut Asosiasi Olefin Aromatik dan Plastik Indonesia (Inaplas) tahun 2013, konsumsi plastik di Indonesia diproyeksikan mencapai 1,9 juta ton.

Dalam proses pembuatan plastik selain bahan baku utama diperlukan juga bahan tambahan aditif. Bahan aditif yang ditambahkan tersebut disebut komponen non-plastik yang berupa senyawa anorganik yang memiliki berat molekul rendah. Oleh karena itu, di pasaran ditemukan berbagai jenis plastik dengan berbagai karakter, salah satunya adalah plastik berwarna. Berdasarkan Singh dan Sharma [1] 40% masyarakat menggunakan plastik putih dan 65% lainnya menggunakan plastik berwarna.

Terdapat tiga jenis metode degradasi polimer seperti fotodegradasi, degradasi termo-oksidatif dan biodegradasi. Proses biodegradasi dapat dijadikan alternatif degradasi pilihan karena prosesnya yang ramah lingkungan.

Biodegradasi adalah proses dimana mikroorganisme mampu mendegradasi atau memecah polimer alam (seperti lignin, selulosa) dan polimer sintetik (seperti polietilen, polistiren) [2]. Setiap mikroorganisme memiliki karakteristik

degradasi yang berbeda, sehingga bervariasi antara satu mikroorganisme dengan mikroorganisme yang lain.

Salah satu metode yang dapat digunakan untuk mengukur terjadinya proses biodegradasi plastik adalah *Winogradsky column*, yang dinamai sesuai dengan penemunya yakni Sergei Winogradsky pada akhir abad ke-19. Kolom Winogradsky merupakan ekosistem mikroba buatan yang berfungsi untuk mempelajari kultur bakteri dalam waktu jangka panjang [3]. Dalam Laboratorium, kolom Winogradsky ini mampu mendemonstrasikan bagaimana metabolisme yang terjadi pada mikroorganisme dalam kolom selama masa inkubasi, dimana di dalam kolom tersebut terdapat berbagai macam reaksi redoks yang mendukung suplai nutrisi dan energi bagi mikroorganisme dalam kolom [4]. Menurut Leja dan Lewandowicz, proses biodegradasi polimer dapat terjadi secara aerobik (dengan oksigen), atau secara anaerobik (tanpa oksigen) [5]. Dalam keadaan aerob, beberapa mikroorganisme menggunakan oksigen sebagai *electron acceptor* terakhir. Pada keadaan anaerob beberapa mikroorganisme akan menggunakan *electron acceptor* terakhir selain oksigen (seperti NO_3^- , S, CO_2 , Fe^{3+} dan fumarate). Pada kolom Winogradsky ini akan terbentuk keadaan aerob yang terdapat di permukaan kolom dan berangsur menuju anaerob pada dasar kolom. Sehingga diharapkan proses biodegradasi secara aerob dan anaerob dapat terjadi. Pada penelitian ini digunakan bakteri *Bacillus* yang memiliki kecenderungan *facultative aerob* [3].

Saat ini Laboratorium Mikrobiologi Biologi ITS memiliki isolat bakteri *Bacillus* yang telah teruji memiliki kemampuan biodegradasi namun masih parsial. Bakteri ini memiliki karakter pendegradasi bahan organik seperti proteolitik, amilolitik, lignolitik, selulolitik dan lipolitik. Pada beberapa penelitian disebutkan bahwa bakteri *Bacillus* mampu mendegradasi polimer plastik. Namun kedua bakteri koleksi Laboratorium Mikrobiologi Biologi ITS ini belum teruji mampu mendegradasi polimer plastik sehingga dilakukanlah penelitian ini.

II. METODE PENELITIAN

A. 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 *analytical balance* (Shimadzu) untuk mengetahui berat kering awal plastik.

B. Peremajaan Isolat Bakteri Uji dan Pembuatan Starter

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 sebelum dan 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 75 ml untuk satu kolom Winogradsky (10% dari total medium). Starter yang digunakan berisi isolat bakteri uji dengan kepadatan sel 10^{10} sel/ml yang dihitung menggunakan Haemocytometer.

C. Biodegradasi Plastik

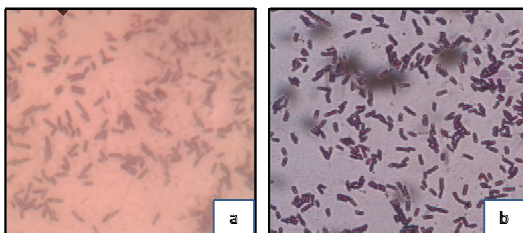
Metode yang digunakan adalah Kolom Winogradsky dengan botol ukuran 1,5 l, berisi pasir steril : medium Salt = 1:1. Plastik uji yang digunakan adalah kantong plastik hitam dan putih ukuran 15 x 4 cm. Botol diisi 15 potongan plastik. Proses biodegradasi dilakukan selama 4 bulan, dengan parameter berat kering plastik, dan pengukuran densitas bakteri uji pada λ 600 nm. 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) [6]:

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

III. HASIL DAN DISKUSI

A. Rekonfirmasi Isolat Bakteri Uji

Isolat bakteri uji yang digunakan adalah isolat uji koleksi Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi ITS yakni *Bacillus*. Rekonfirmasi isolat bakteri uji dilakukan pada pra masa inkubasi dan pasca masa inkubasi. Berikut ini gambar bakteri *Bacillus* di bawah mikroskop perbesaran 1000 kali (Gambar 1).



Gambar 1 Penampang Mikroskopis Isolat *Bacillus* a) Pra Masa Inkubasi, b) Pasca Masa Inkubasi.

Hasil rekonfirmasi yang dilakukan menunjukkan bahwa bakteri yang berperan dalam proses degradasi yang

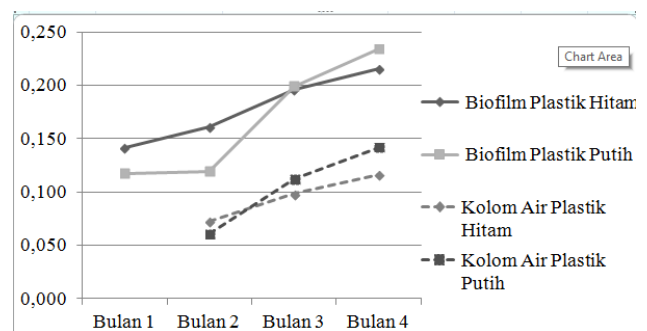
digunakan pada pra masa inkubasi dan pasca masa inkubasi adalah isolat *Bacillus* dengan karakter kunci Gram positif basil, membentuk endospora, dan *anaerob facultative*.

B. Pertumbuhan Isolat Bakteri Uji

Menurut Leja dan Lewandowicz, proses biodegradasi polimer dapat terjadi secara aerobik (dengan oksigen), atau secara anaerobik (tanpa oksigen) [5]. Dalam keadaan aerob, beberapa mikroorganisme menggunakan oksigen sebagai *electron acceptor* terakhir. Pada keadaan anaerob beberapa mikroorganisme akan menggunakan *electron acceptor* terakhir selain oksigen (seperti NO_3^- , S, CO_2 , Fe^{3+} dan fumarate). Isolat *Bacillus* cenderung *facultative aerob* [3]. Sehingga dalam penelitian ini diharapkan proses biodegradasi plastik dapat terjadi secara aerob dan anaerob.

Proses biodegradasi dengan metode kolom Winogradsky ini dilakukan dengan menggunakan medium *Salt Mineral Medium* (MSM) tanpa sumber karbon selama 4 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 [7], pembentukan biofilm pada permukaan plastik merupakan salah satu pertumbuhan yang sering terjadi pada bakteri pendegradasi plastik. Pertumbuhan biofilm diukur dengan panjang gelombang 600 nm.



Gambar 2. Pertumbuhan *Bacillus* Berdasarkan *Optical Density* 600 nm pada Biofilm (—) dan pada Kolom Air (----).

Dari proses pengukuran selama masa inkubasi selama 4 bulan menunjukkan peningkatan pertumbuhan bakteri uji berdasarkan kekeruhan (Gambar 2.). Jumlah densitas bakteri pada biofilm yang semakin meningkat setiap bulan pengamatan menunjukkan kemampuan bakteri dalam menggunakan polimer plastik sebagai sumber karbon, sehingga bakteri mampu membelah diri.

Peningkatan densitas bakteri *Bacillus* pada plastik putih cenderung lebih tinggi dibandingkan dengan plastik hitam. Hal ini diasumsikan berkaitan dengan tingkat kejenuhan moleku polimer. Penambahan adanya bahan aditif dan proses daur ulang meningkatkan tingkat kejenuhan molekul sehingga bakteri susah untuk melakukan degradasi [8].

Bacillus memiliki kecenderungan *facultative aerob* [3]. Kemampuan penggunaan oksigen ini mempengaruhi tingkat pertumbuhan bakteri pada kolom Winogradsky. Pada kolom Winogradsky tersebut akan terbentuk zona aerob dan zona anaerob. Pada permukaan kolom sedimen akan terbentuk

zona aerob dan berangsur anaerob menuju dasar kolom. Karakter *Bacillus* yang cenderung *facultative aerob* menjadikan bakteri ini memiliki cakupan lingkungan yang lebih lebar, sehingga pertumbuhan *Bacillus* pada kolom Winogradsky lebih cepat. Pertumbuhan biofilm pada plastik juga mempengaruhi tingkat biodegradasi plastik. Terdapat berbagai faktor yang mempengaruhi biodegradasi antara lain adalah jenis polimer, karakteristik organisme, dan jenis perlakuan yang diperlukan. Perubahan warna, pemisahan fasa, retak, erosi dan delimitasi adalah beberapa karakteristik yang menunjukkan adanya degradasi polimer [8].

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 4 bulan masa inkubasi (Tabel 1.). Pengukuran ini dilakukan tiap bulan.

Ketika diaplikasikan dengan isolat *Bacillus* penurunan berat kering pada semua plastik uji sudah terlihat dari bulan pertama setelah masa inkubasi, namun berdasarkan analisis statistika, pada bulan pertama tidak terdapat perbedaan signifikan proses degradasi terhadap plastik uji berdasarkan warna (Tabel 1).

Tabel 1.
Prosentase Kehilangan Berat Plastik oleh Bakteri *Bacillus*

| Bakteri | Perlakuan | Persen Kehilangan Berat Plastik | | | |
|-----------------|-----------|---------------------------------|---------|---------|---------|
| | | Bulan 1 | Bulan 2 | Bulan 3 | Bulan 4 |
| <i>Bacillus</i> | Putih | 4% a | 7% b | 8% c | 9% c |
| | Hitam | 3% a | 4% b | 5% b | 6% b |
| Kontrol | | 0% a | 0% a | 0% a | 0% a |

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

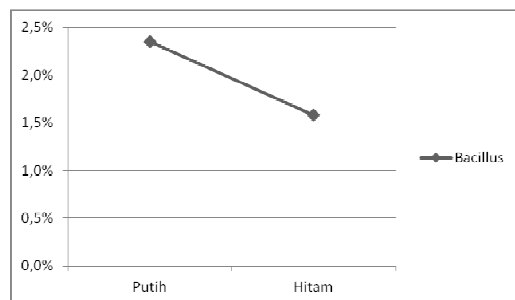
Persentase kehilangan berat plastik ini selaras dengan kenaikan densitas bakteri pada biofilm. Hal ini memperkuat asumsi bahwa agen biodegradasi yang berperan adalah isolat *Bacillus* dimana pada bulan pertama dan kedua diasumsikan merupakan fase optimum isolat uji untuk melakukan proses degradasi dari total 4 bulan masa inkubasi yang dilakukan. Hal yang sama juga terlihat pada bulan kedua, degradasi pada semua plastik uji tidak berpengaruh secara signifikan meskipun prosentase kehilangan berat kering terbesar terdapat pada plastik putih bila dibandingkan dengan kontrol. Pada bulan ketiga dan keempat isolat *Bacillus* mulai menunjukkan perbedaan signifikan antara plastik putih dengan plastik hitam berdasarkan dari prosentase kehilangan berat plastik. Pada plastik putih, isolat *Bacillus* mampu mendegradasi plastik lebih tinggi dibandingkan dengan plastik hitam, yaitu pada bulan ketiga biodegradasi mencapai 8% dan pada bulan keempat mencapai 9%.

Mikroorganisme tidak mampu mengangkut polimer secara langsung melalui membrane luar sel kedalam selnya sehingga dibutuhkan proses biokimia yang berperan dalam memecah molekul polimer yang panjang dan sulit larut dalam air sehingga dapat masuk kedalam sel. Proses ini dinamakan depolimerisasi dimana polimer mengalami depolimerisasi atau pemecahan terlebih dahulu menjadi monomer yang lebih kecil sebelum dapat diserap dan didegradasi dalam sel mikroorganisme. Terdapat dua enzim aktif yang terlibat dalam biodegradasi polimer yaitu enzim ekstraseluler dan enzim *intracellular depolymerases*. Enzim ekstraseluler dan intraseluler yang berperan dalam

depolimerisasi secara aktif memicu proses degradasi polimer secara biologis [9].

Plastik hitam memiliki tingkat persentase kehilangan berat kering plastik rendah jika dibandingkan dengan plastik putih, yaitu hanya sebesar 6% setelah 4 masa inkubasi. 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 [10].

Hal ini diperkuat dengan data degradabilitas plastik hitam dan plastik putih. Degradabilitas adalah kemudahan terdegradasinya suatu bahan polimer. Degradabilitas ditentukan dengan cara membagi kehilangan berat terhadap waktu biodegradasi. Persentase degradabilitas adalah degradabilitas x 100% (Gambar 3).



Gambar 3. Persen Degradabilitas Plastik

Pada isolat *Bacillus* persen degradabilitas plastik putih dan hitam secara berturut adalah 1,9% dan 2,3%.

IV. KESIMPULAN

Isolat bakteri *Bacillus* memiliki potensi dalam mendegradasi plastik uji, karena mampu tumbuh dalam kolom Winogradsky selama 4 bulan masa inkubasi. Isolat *Bacillus* memiliki Optical Density pada plastik hitam : putih sebesar 0,210: 0,234. Pada isolat *Bacillus* persen degradabilitas plastik putih dan hitam secara berturut adalah 1,9% dan 2,3%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih penulis ucapkan kepada Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya, Ibu, Bapak, adik-adik, keluarga atas doa dan segala perhatiannya, dan teman-teman Biologi ITS 2010 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 Tutik Nurhidayati, M.Si atas saran, masukan dan kritik terhadap penelitian ini. Kepada Institut Teknologi Sepuluh Nopember yang telah mendukung penelitian ini. Dan semua pihak yang telah membantu untuk penyelesaian penelitian ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] B. Singh, Sharma N. "Mechanistic implications of plastic degradation". *Journal of Polymer Degradation* (2008) Vol 93: 561-584.
- [2] M. Kaseem, Hamad K, Deri F. "Thermoplastic starch blends: A review of recent works". (2012) Vol 54: 165-176.
- [3] M. T., Martinko, J. M. & Parker, J. Brock."Biology of Microorganisms, 9th Edition".*Upper Saddle River, New York : Prentice-Hall. (2000).*
- [4] B 4Rogan, , M.Lemke, M. Levandowsky ,T. Gorrell. "Exploring the Sulfur Nutrient Cycle Using the Winogradsky Column". *The American Biology Teacher, . (2005). Volume 67, No.6.*
- [5] K. Leja, Graznya Lewandowicz. "Polymer Biodegradation and Biodegradable Polymer-A review". *Polish Journal. of Environmental Study (2009) Vol 2 : 255-266.*
- [6] E. Rohaeti. "Karakterisasi Biodegradasi Polimer". *Prosiding Seminar Nasional Penelitian, Pendidikan dan Penerapan MIPA. Yogyakarta : Fakultas MIPA, Universitas Negeri Yogyakarta. (2005).*
- [7] S. Alex. "New perspectives in plastic biodegradation". *Journal of Current Opinion in Biotechnology (2011) Vol 22:422 – 426*
- [8] AA, Shah, Hasan F, Hameed A, Ahmed S. "Biological degradation of plastics: A comprehensive review". *Journal of Biotechnology (2008) Vol 26: 246-265.*
- [9] JD, Gu,; Ford, TE; Mitton, DB; Mitchell, R. "Microbial corrosion of metals". *The Uhlig Corrosion Handbook. 2nd Edition. New York, USA : Wiley. (2000).*
- [10] 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).*