

Karaktersasi Bakteri Pengurai Plastik Sintetis Polipropilen dari Sampel Air Laut Studi Kasus dan Potensi Lingkungan

Muhammad Diki Juliandi^{1*}, Akmal Djamaan², Dewi Yudiana Shinta³,
Anthoni Agustien⁴

^{1,3}Universitas Perintis Indonesia Jl Adinegoro Km 17 Simpang Kalumpang Lubuk Buaya Padang

^{2,4}Universitas Andalas, Limau Manis, Kec. Pauh, Kota Padang, Sumatera Barat

*Correspondent email: dikijulianda@gmail.com

Diterima: 13 Februari 2024 | Disetujui: 28 April 2024 | Diterbitkan: 30 April 2024

Abstract. *The increase in the number of waste piles in Indonesia has reached 175,000 tons/day or the equivalent of 64 million tons/year. In the health sector, synthetic plastics are used as materials for making packaged medicine bottles and infusion bottles. Polypropylene synthetic plastics are very slow to degrade, making them a major problem in environmental pollution. This study aims to determine the type of bacteria and the ability of bacterial isolates to degrade polypropylene plastics. The research methods used include characterization of bacterial isolates macroscopically, microscopically, biochemical tests, then polypropylene synthetic plastic biodegradation tests were carried out during the incubation period of 1 week, 2 weeks, 3 weeks, and 4 weeks using an incubator shaker device. The results of this study obtained 4 bacterial isolates that can decompose polypropylene plastic from seawater samples in Padang City. The results of the isolation of polypropylene plastic bacteria from seawater samples in Padang City ILT-14 bacterial isolate based on macroscopic characteristics. and molecular identification was carried out in the LIPI biotechnology testing laboratory by the 16S rRNA gene deritimization method obtained polypropylene plastic scavenging bacterial species, namely: ILT-14 has similarities with *Stenotropomonas Maltophilia*. With a 30-day polypropylene plastic decomposer percentage of 10.8%. The difference in FTIR analysis was in the percentage value of carbon group transmission, and the aromatic group decreased. When compared to plastic before it was degraded and there was a decrease in percent. Microscopy Electron Scanning (SEM) Analysis of ILR-14 polypropylene plastic isolate of bacteria isolated is able to break down complex polymers into monomer forms*

Keywords: *Insulation, Biodegradation, Microorganisms Polypropylene Plastics*

PENDAHULUAN

Di Indonesia, penggunaan plastik sintetik semakin populer di kalangan masyarakat karena memiliki banyak kegunaan dan praktis digunakan dalam bidang farmasi, penggunaan plastik sintetik diantaranya sebagai bahan pembuat botol infus, botol obat sediaan cair, kemasan obat tetes mata dan kemasan sediaan makanan serta minuman (Ruslan.,2018)

Biodegradasi adalah metode yang dapat memecahkan suatu permasalahan yang terjadi dilingkungan diantara metode degradasi fisik kimia, struktur plastik lainnya (Nanda dan Suhu.,2010).Biodegradasi plastik telah dipelajari secara luas selama tiga dekade terakhir ini. Saat ini degradasi enzimatik merupakan metode yang digunakan untuk mengatasi sampah plastik dilingkungan. Metode ini melalui biodegradasi oleh mikroorganisme yang menghasilkan enzim yang dapat mendegradasi plastik tanpa menyebabkan bahaya terhadap lingkungan disekitarnya (Singh et al.,2020)

Kecepatan bakteri melakukan biodegradasi plastik memiliki beberapa factor yakni kelembaban, jenis mikroorganisme, temperatur, pH, jenis polimer, dan ketebalan polimer (Singh et al.,2015).Kondisi biodegradasi yang meliputi pH, suhu, nutrisi, mineral, oksigen, dan kelembaban disesuaikan dengan jenis mikroorganisme yang digunakan (Jumaah.,et al 2017). Dalam penelitian ini akan dilakukan isolasi bakteri sampel air laut plastik polipropilen dan skrining bakteri pengurai plastik polipropilen

METODE PENELITIAN

Material

Bahan yang digunakan adalah AgNO₃ (Merck®), aquadest (Bratachem®), alcohol antiseptic 70% (Bratachem®), Nutrient Broth (NB) (Merck®), Nutrient Agar (NA) (Merck®), natrium hipoklorit, kristal violet, lugol, safranin, etanol 96% dan H₂O₂.

Koleksi Sampel Plastik Polipropilen

Sampel plastik polipropilen diambil dari sampel plastik air laut diKota Padang. Plastik polipropilen dipotong dengan gunting steril, kemudian dimasukkan kedalam botol steril steril.

Isolasi Dan Pemurnian Bakteri Plastik Polipropilen

Sampel plastik polipropilen ditimbang sebanyak 20g kemudian dijadikan sampai 100 ml aquadest steril didalam Erlenmeyer, lalu di *vortex* sampai homogen. Dilakukan pengenceran sampai sebanyak 10^{-8} . Kemudian dari seri pengenceran di pipetkan 1 ml ke petridish dan dituangkan ke dalam medium Mineral dan plastik Polipropilen dengan *teknik pour plate*, Kemudian diinkubasi pada 27°C selama 1 hingga 3 x 24 jam. Koloni bakteri yang tumbuh dimurnikan menggunakan metode streak plate pada medium NA (Agustien dan Jannah.,2016)

Identifikasi Makroskopsis dan Mikroskopis Isolat Bakteri

Identifikasi isolat bakteri dengan mengamati karakteristik makroskopis dan mikroskopis bakteri. Pengamatan makroskopis dilakukan dengan mengamati secara langsung ciri-ciri koloni bakteri isolat meliputi: warna, bentuk, tepian dan elevasi koloni (Soni et al.,2020) Pengamatan mikroskopis dilakukan dengan pewarnaan gram bakteri. Isolasi DNA dilakukan dipusat Laboratorium Pengujian Bioteknologi LIPI.

Pembuatan Stok Bakteri Isolat

Semua kultur murni bakteri yang telah diisolasi, diinokulasikan pada NA miring dan disimpan pada suhu 4°C sebagai koleksi bakteri isolat.

Skring Plastik Polipropilen oleh Isolat Bakteri Dengan Cara Shaker (*Shake Flask Experiment*)

Inokulum isolate bakteri 5% (v/v) dimasukkan kedalam medium mineral yang telah ditambahkan filem plastik sintesis polipropilen steril dan dimasukkan secara aseptis. Medium mineral dishaker dengan *Rotary shaker incubator* (Bigger digital[®]) pada agitasi 130 rpm dan temperatur 37°C selama 30 hari, tiap 7 hari dilakukan pencuplikan terhadap pengurangan berat filem plastik polipropilen

Penyiapan Sampel Plastik Polipropilen

Filem tipis plastik polipropilen di buat dengan cara memotong plastik kemasan polipropilen dengan ukuran 1,5cmx 1,5cm. Selanjutnya filem tipis polipropilen dicuci dengan alohol 70% dan aquadest steril selanjutnya di beri sinar UV dengan panjang gelombang 365nm selama 15 menit.

Penentuan berat kering dari polimer plastik yang telah terdegradasi bakteri isolat laut

Penentuan berat kering dari polimer sisa filem plastik polipropilen yang telah didegradasi oleh bakteri dilakukan dengan cara mengambil filem plastik kemudian dicuci dengan alkohol 70% lalu dibilas dengan aquadest steril dan dikeringkan pada suhu 80°C agar beratnya konstan. Setelah kering, filem plastik sintesis ditimbang beratnya.(Jumaah et al.,2017) Persentase pengurangan berat plastik yang didapatkan dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Pengurangan Berat Plastik} = \frac{R_1 - R_2}{R_1} \times 100\%$$

Keterangan: R_1 = Berat Awal Filem Plastik (gram)

R_2 = Berat Akhir Filem Plastik (gram)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, dilakukan perhitungan total koloni isolasi bakteri dan skrining bakteri pendegradasi plastik polipropilen. Pada tahapan isolasi bakteri pengurai plastik sintesis polipropilen dari sampel air laut diKota Padang dengan menggunakan medium NA ditemukan sejumlah koloni isolat bakteri tabel 1.

Tabel 1. Skrining Pengamatan Bakteri yang Tumbuh Pada Medium Plastik

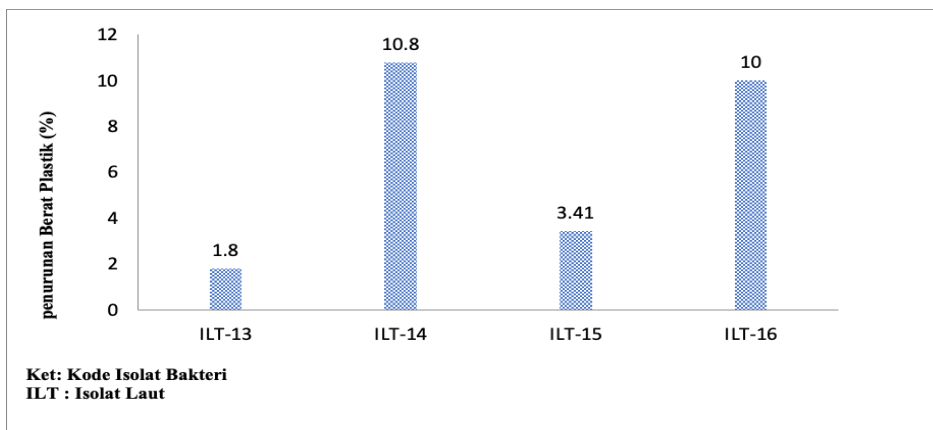
No.	Jenis Sampel	Titik Sampel	Jumlah Koloni Bakteri	Total Koloni (CFU/gr)
1.	Isolat Air Laut	4	121	$1,21 \times 10^8$ CFU/ml

Tabel 2. Skrining Pengamatan Bakteri yang Tumbuh Pada Medium Plastik

No.	Asal Isolat	Kode Isolat	Jumlah Koloni	Keterangan
1.	Isolat Laut	ILT-13	11	Koloni bakteri kecil
		ILT-14	50	Koloni bakteri kecil
		ILT-15	27	Koloni bakteri besar
		ILT-16	25	Koloni bakteri besar

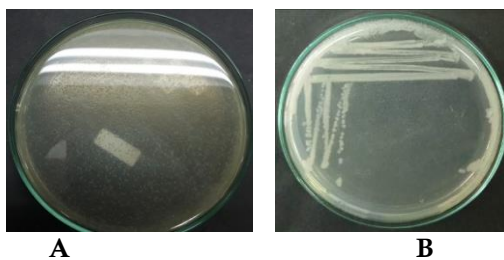
*Ket: Kode Isolat ILT = Isolat Laut

Dari hasil skrining isolat bakteri pendegradasi plastik polipropilen didapatkan 4 isolat bakteri yang tumbuh pada media yang telah dimodifikasi dan dilakan pengamatan pada hari ke-5, bakteri tumbuh hal ini didukung oleh pendapat yang menyebutkan rentang waktu 5 hari dilakukan agar bakteri hasil isolasi mampu beradaptasi dengan lingkungan baru.



Gambar 1. Uji Biodegradasi Plastik Polipropilen hasil uji biodegradasi plastik polipropilen metode ini dilakukan menurut metode

Uji Biodegradasi Plastik Polipropilen dari Sampel Isolat Air Laut Dari Gambar 1. di atas dapat dilihat 4 isolat bakteri yang dilakukan uji degradasi plastik polipropilen selama masa inkubasi 4 minggu. Menunjukkan terjadi pengurangan plastik polipropilen oleh bakteri tersebut memiliki hasil pengurangan yang berbeda-beda tiap bakteri. Pengurangan bobot filem plastik yang tertinggi isolat laut ILT-14 yaitu persentase pengurangan filem plastik sebesar 10,8%, ILT-16 persentase pengurangan filem plastik sebesar 10%, ILT-15 persentase pengurangan filem plastik sebesar 3,41%, ILT-13 persentase pengurangan filem plastik sebesar 1,8%. Biodegradasi pada plastik polipropilen adalah proses yang sangat lambat Polipropilen memiliki sifat yang berbeda. Plastik ini merupakan polimer semi kristalin, dan secara kimia dan termal bersifat stabil. Biodegradasi dari plastik dapat menggunakan waktu panjang dan ekstrem tergantung berat molekuler polimer, proses ini dapat mencapai waktu 1000 tahun untuk beberapa jenis plastik untuk didegradasi. Secara umum, biodegradasi plastik oleh mikroorganisme adalah proses yang sangat lambat, dan beberapa mikroorganisme tidak dapat Pendegradasi plastik tertentu



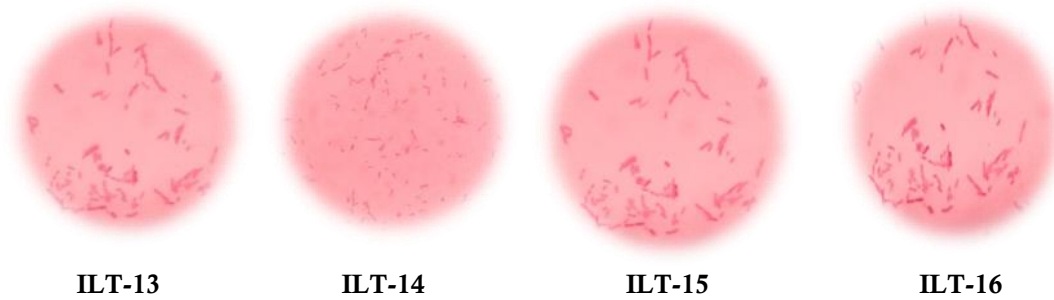
Gambar 2. (a) Isolat bakteri plastik polipropilen pada media Mineral, (b) bakteri plastik polipropilen setelah 24 jam inkubasi pada media NA

Tabel 3. Pengamatan Makroskopis dan Mikroskopis Isolat Bakteri

Kode Isolat	Identifikasi Makroskopis					Pengamatan Mikroskopis	
	Warna	Bentuk	Pinggir	Permukaan	Elevasi	Pewarnaan Gram	Bentuk Sel
ILT-13	Putih	Bulat	Bergelombang	Kasar	Timbul	Negatif	Basil
ILT-14	Putih	Bulat	Rata	Licin	Timbul	Negatif	Basil
ILT-15	Putih	Bulat	Rata	Kasar	Timbul	Negatif	Basil
ILT-16	Putih	Bulat	Rata	Kasar	Timbul	Negatif	Basil

Pada tabel 3. menunjukkan hasil karakteristik makroskopis dari 4 isolat bakteri yang dapat mengurai plastik polipropilen. Dapat dilihat dari warna koloni 4 isolat bakteri bewarna putih dan bentuk bulat serta elevasi timbul. Perbedaan yang dimiliki setiap koloni bakteri merupakan sifat khas bagi suatu spesies tertentu. Perbedaan koloni dari mikroba merupakan ciri khas bagi suatu spesies tertentu. Bentuk koloni, warna koloni, mengkilap tidaknya, halus dan kasarnya permukaan merupakan sifat-sifat yang diperlukan

untuk identifikasi suatu spesies. Kebanyakan bakteri memiliki warna keputihan, kelabu, kekuningan, hingga bening tetapi, pada beberapa spesies mempunyai pigmen warna yang lebih tegas

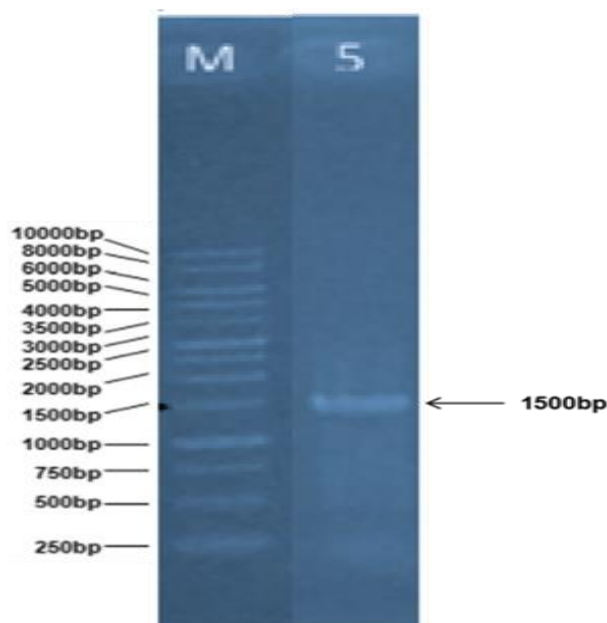


Gambar 3. Pengamatan Mikroskopis Isolat Bakteri Air Laut

Pada Gambar 3. menunjukkan karakteristik mikroskopis 4 isolat bakteri air pendegradasi plastik polipropilen yang diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 1000 kali. Dari 4 isolat bakteri didapatkan 4 isolat bakteri merupakan kelompok Gram negatif dan menunjukkan sel (basil). Bentuk sel dapat berbentuk kokus (bulat), basil (batang), koma, dan spiral. Bakteri bentuk diplobasil merupakan dua sel bakteri yang berdempetan. Diplobasil muncul dari pasangan basil setelah pembelahan, dan streptobasil muncul dalam bentuk rantai.

Hasil amplifikasi gen 16S rRNA

Hasil elektroforesis ini menunjukkan bahwa kegiatan PCR yang telah dilakukan berhasil mengamplifikasi daerah gen 16S rRNA isolat bakteri plastik polipropilen yang diisolasi dari sampel air laut.



Gambar 4. Hasil amplifikasi produk PCR gen 16S rRNA Isolat bakteri air laut (M=marker, 1kb=5=ILT-14.

Hasil elektroferesis kegiatan PCR 16s rRNA. PCR menggunakan primer 27F AGAGTTGATCCTGGCTGAG arah *forward* dengan primer dengan primer 1492 R GTTTACCTTACGACTT untuk arah *reverse*. Hal ini mengindikasikan bahwa fragmen produk PCR menunjukkan bahwa isolat bakteri sampel air laut.

Tabel 4. Uji Biokimia Isolat Bakteri Air Laut

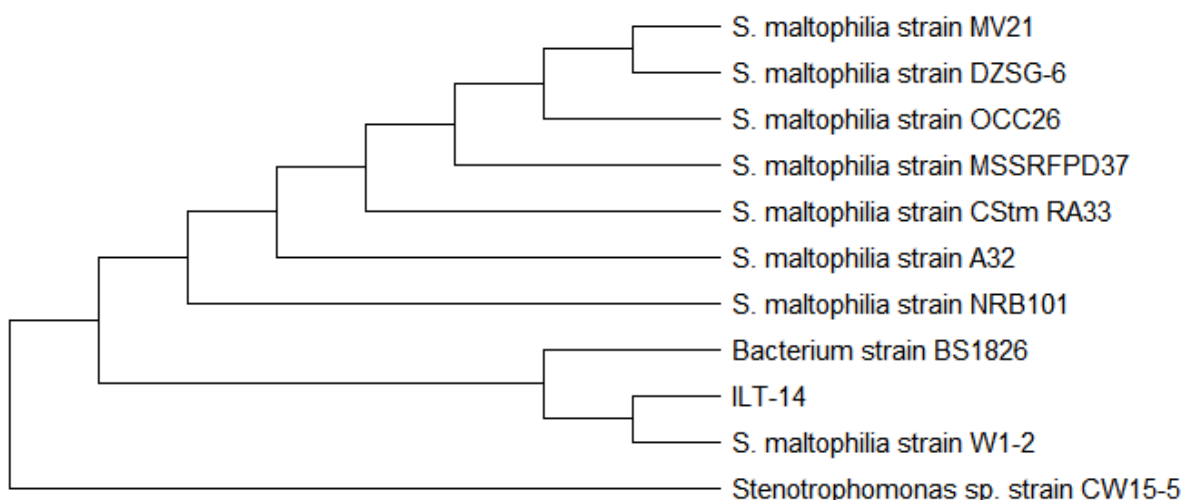
No	Perlakuan	Kode Isolat			
		ILT-13	ILT-14	ILT-15	ILT-16
1	Gram	-	-	-	-
2	aerob/anaerob	-	-	-	-
3	TSIA	M	M	M	M
4	Gas	-	-	-	-
5	H ₂ S	-	+	+	-
6	Katalase	+			
7	Oksidase	+			
8	Mortilitas	+	-	-	-
9	Indol	-	-	-	+
10	Urea	+	+	+	+
11	Citrate	-	-	+	-
12	Laktosa	-	-	-	+
13	Glukosa	-	+	+	+
14	Sukrosa	-	+	+	+
15	Mannitol	-	+	+	+
16	MR	-	-	-	-
17	VP	-	+	+	+
18	OF	+	-	-	+
19	KCN	+	-	+	+
20	Arginine	-	-	-	-
21	Lysine	-	+	+	+
22	Ornithin	-	-	-	-
23	Phenylalanin	-	-	-	-
24	Aesculin	-	-	-	-
25	Arabinase	-	-	-	-
26	Raffinose	-	-	-	+
27	Sorbitol	-	-	+	+
28	Trehalase	-	-	+	+
29	Xylose	-	-	+	+
30	Dulcitol			+	+
31	malanot broth	-	-	-	-
32	Gelatin	+	+	+	+

Analisis sekuensing gen 16S rRNA isolat bakteri plastik polipropilen

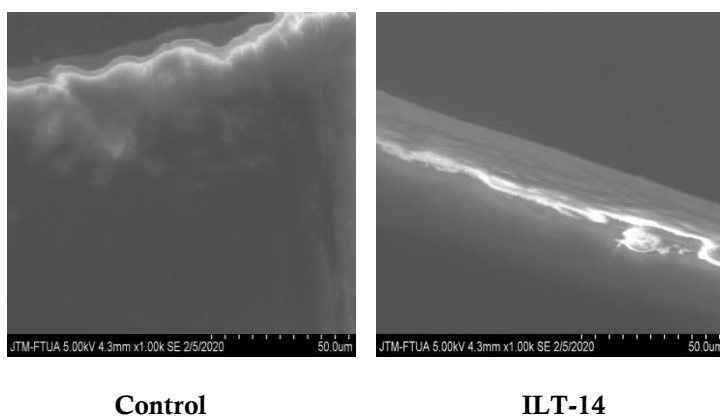
Hasil sekuensing isolat bakteri plastik polipropilen yang diisolasi bakteri dibandingkan dengan Gene Bank menggunakan program BLAST yang dilakukan online pada website NCBI <http://blast.ncbi.nih.gov/Blast.cgi>. Data sekuensing dan hasil analisis BLAST dari isolat bakteri plastik polipropilen air laut.

Tabel 5. Hasil BLAST 16S rRNA Isolat bakteri Air Laut ILR-14

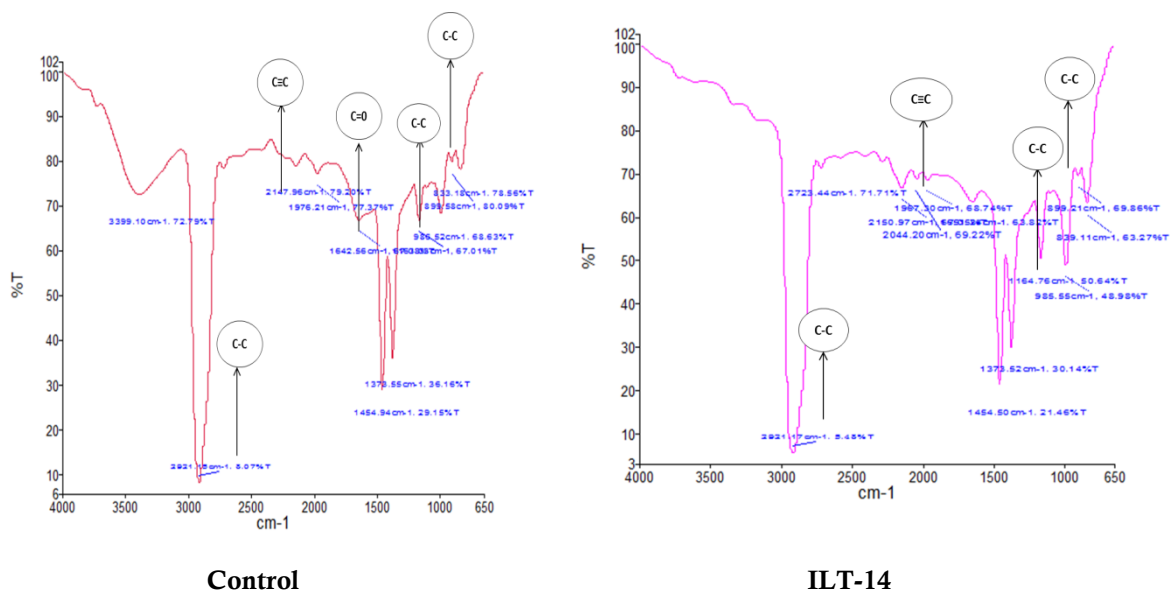
No	Mikroorganisme	% Similarity	Acession No.
1.	<i>Stenotrophomonas Maltophilia</i> strain	100	CP049956.1
2.	<i>Stenotrophomonas Maltophilia</i> strain A32	100	MN372320.1
3.	<i>Bakterium</i> strain BS1826	100	MK825014.1
4.	<i>Bakterium</i> strain BS1619	100	MK824807.1
5.	<i>Stenotrophomonas Maltophilia</i> strain CStm RA33	100	MH788995.1
6.	<i>Stenotrophomonas Maltophilia</i> strain LHBAB-1	100	KC858848.1
7.	<i>Stenotrophomonas Maltophilia</i> strain DZSG-6	100	KC858848.1
8.	<i>Stenotrophomonas Maltophilia</i> strain DZSG -6	100	KC973235.1
9.	<i>Stenotrophomonas Sp</i> strain CW 15-5	100	MH769262.1



Gambar 5. Pohon Filogenetik Isolat Bakteri Air Laut ILT-14



Gambar 6. Penampakan dari hasil *Scanning Electron Microscopy* polypropilen, Plastik Polipropilen Control plastik sebelum uji Biodegradasi dan ILR-14 plastik polipropilen setela degradasi dengan pembesaran 20.00x.



Gambar 7. Grafik FTIR Plastik Polipropilen control plastik sebelum uji biodegradasi dan ILT-14 setelah uji biodegradasi

SIMPULAN

Bakteri ILR-14 yang diisolasi adalah salah satu isolat bakteri potensial tinggi yang ditemukan dari tiga isolat bakteri pengurai plastik polypropylene dari air laut di Kota Padang, Sumatera Barat Indonesia. Berdasarkan identifikasi molekuler bakteri terisolasi ILR-4 menggunakan gen 16S rRNA mengamati bahwa ILR-14 99% mirip dengan *strain Stenotrophomonas maltophilia* W1-2.

DAFTAR PUSTAKA

- Ruslan R, Permatadewi A, Djama. Isolation and characterization of polystyrene-degrading bacteria *Bacillus* sp. ITP 10.1.1 from soil sample of Jayawijaya mountains, Papua, Indonesia. *Int Res J Pharm.* 2018;9(10):85–9. <http://dx.doi.org/10.7897/2230-8407.0910231>.
- Nanda, S., dan S. S. Sahu. 2010. Biodegradability Of Polyethylene By *Brevibacillus*, *Pseudomonas*, and *Rhodococcus* spp. *New York Science Journal* 3 (7): 95-98. <http://www.sciencepub.net/newyork>.
- Singh J, Gupta KC. Screening and Identification of Low density Polyethylene (LDPE) Degrading Soil Fungi Isolated from Polythene Polluted Sites around Gwalior city (M.P.). *Int J Curr Microbiol Appl Sci.* 2014;3(6):443–8. <https://doi.org/10.4236/abb.2020.117022>.
- Jumaah OS. Screening Of Plastic Degrading Bacteria from Dumped Soil Area. *J Environ Sci Toxicol Food Technol.* 2017;11(5):93–8. DOI: 10.9790/2402-1105029398
- Soni R, Kapri A, Zaidi MGH, Goel R (2009) Comparative biodegradation studies of non-porionized and porionized LDPE using indigenous microbial consortium. *J Polym Environ* 17:233–239. <http://dx.doi.org/10.1007/s10924-009-0143-x>.
- Agustien A, Jannah M, Djamaan A. Screening Polyethylene Synthetic Plastic Degrading-Bacteria from Soil. *Der Pharm Lett.* 2016;8(7):183–7. <http://scholarsresearchlibrary.com/archive.html>.