

Potensi Isolat Bakteri *Pseudomonas* sebagai Pendegradasi Plastik

Atik Sriningsih 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 adalah salah satu polimer sintetik atau buatan manusia yang merupakan rantai panjang molekul polimer. Plastik yang terakumulasi menyebabkan pencemaran lingkungan. Salah satu solusi untuk menangani adanya masalah lingkungan ini adalah dengan biodegradasi dengan menggunakan mikroorganisme. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan isolat *Pseudomonas* L1 dalam mendegradasi plastik. Plastik warna hitam, putih dan transparan dengan ukuran 10x3 cm diinkubasi selama 3 bulan didalam botol uji yang berisi 300 gram plastik steril, 315 medium MSM dan 35 ml isolat *Pseudomonas* L1. Biodegradasi plastik dihitung berdasarkan selisih berat kering sebelum dan setelah 3 bulan masa inkubasi dengan interval waktu pengukuran setiap 3 minggu sekali. Isolat *Pseudomonas* L1 terbukti mampu mendegradasi plastik hitam dengan rata-rata degradasi sebesar 2,7%, plastik putih sebesar 3,3% dan plastik transparan sebesar 4,5% selama 3 bulan masa inkubasi. Kerapatan sel isolat *Pseudomonas* L1 uji terdeteksi dengan mengukur kekeruhan isolat pada OD dengan panjang gelombang 600 nm. Isolat *Pseudomonas* L1 lebih cenderung membentuk biofilm dibandingkan hidup bebas pada kolom air. Kepadatan sel pada biofilm plastik hitam relatif lebih tinggi daripada 2 plastik yang lain. Pada plastik hitam OD biofilm yang terdeteksi dengan panjang gelombang 600 nm sebesar 0,038, sedangkan pada plastik putih sebesar 0,026 dan plastik transparan sebesar 0,029.

Kata Kunci—Biodegradasi, Plastik, *Pseudomonas*.

I. PENDAHULUAN

PLASTIK adalah salah satu polimer sintetik atau buatan manusia yang merupakan rantai panjang molekul polimer [1]. Plastik memiliki karakteristik stabil dan dapat bertahan lama sehingga sering digunakan untuk kepentingan manusia [2]. Plastik sintesis sering digunakan dalam kemasan produk seperti makanan, farmasi, kosmetik, deterjen dan bahan kimia. Hampir 30% plastik digunakan secara global sebagai kemasan produk [3]. Setiap tahunnya lebih dari 260 juta ton plastik yang diproduksi di berbagai negara [4]. Plastik yang sering digunakan adalah polyethylene (PE), Poly Etylen Terephthalate (PET), Polybutylene Terephthalate (PBT), nylon, Poly-Propylene (PP), Polystyrene (PS), Polyvnyl Chloride (PVC), dan Polyurethane (PUR) [5]. Plastik yang terakumulasi menyebabkan adanya perubahan lingkungan [4]. Pencemaran lingkungan karena tingginya akumulasi plastik tersebut perlu adanya degradasi. Salah satu solusi untuk

menangani adanya masalah lingkungan ini adalah dengan biodegradasi.

Biodegradasi adalah proses dimana mikroorganisme mampu mendegradasi atau memecah polimer alam (seperti lignin dan selulosa) dan polimer sintetik (seperti polietilen dan polistiren) [6]. Mikroorganisme mendegradasi polietilen dan poliuretan dengan memanfaatkannya sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan mikroorganisme [7]. Degradasi polimer tersebut akan membentuk formasi biofilm pada permukaan polimer. Proses degradasi diawali dengan polimer yang dirubah menjadi monomer kemudian monomer ini dimineralisasi. Sebagian besar polimer terlalu besar untuk melalui membran sel, jadi polimer harus dipolimerisasi menjadi monomer yang lebih kecil sebelum dapat diserap dan didegradasi dalam sel mikroba [8]. Beberapa jenis mikroorganisme yang paling sering dimanfaatkan dalam biodegradasi adalah bakteri.

Salah satu jenis bakteri yang banyak diteliti dan memiliki kemampuan mendegradasi plastik adalah *Pseudomonas*. Bakteri *Pseudomonas* termasuk dalam golongan bakteri gram negatif, tidak membentuk spora, berbentuk rod (batang), motil dengan satu atau lebih flagela pada bagian tepi. Jenis bakteri obligat aerob, tetapi beberapa spesies dapat tumbuh secara anaerob dalam kondisi lingkungan yang terdapat nitrat di dalamnya. Termasuk dalam bakteri katalase positif, yakni dengan memetabolisme gula secara oksidatif [9]. *Pseudomonas* secara umum tidak memiliki enzim hidrolitik yang penting dalam mendegradasi polimer menjadi monomer namun bakteri ini memiliki system inducible operon yang mampu menghasilkan enzim tertentu dalam proses metabolisme sumber karbon yang tidak biasa digunakan. Oleh karena itu bakteri ini memiliki peran penting dalam proses biodegradasi berbagai macam polimer antara lain senyawa xenobiotic dan pestisida. Salah satu jenis enzim yang dihasilkan oleh *Pseudomonas* spp. yang berperan dalam biodegradasi adalah serine hidrolase, esterase dan lipase [10].

Untuk mengetahui kemampuan bakteri *Pseudomonas* dalam proses degradasi plastik, maka dilakukanlah penelitian ini.

II. METODOLOGI

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama 3 bulan di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi, Biologi Institut Teknologi Sepuluh Nopember.

B. Persiapan Plastik Uji

Plastik uji dipotong dengan ukuran 10x3 cm dan disterilkan dengan direndam alkohol 70% selama kurang lebih 30 menit dan dikering anginkan sekaligus dengan UV pada LAF (Bio 60-M) selama kurang lebih 15 menit selanjutnya dioven pada suhu 80 °C selama 24 jam. Plastik ditimbang menggunakan *analytical balance* (Shimadzu) untuk mengetahui berat kering awal plastik. Plastik di UV pada LAF (Bio 60-M) kembali.

C. Peremajaan dan Pembuatan Starter Isolat Uji

Isolat bakteri uji yang digunakan adalah *Pseudomonas* sp., pertama dilakukan peremajaan isolat bakteri uji. Peremajaan isolat dilakukan melalui beberapa tahap. Subkultur-1 adalah 1 ose kultur murni isolat diinokulasikan ke dalam medium *Nutrient Agar* (NA) dan diinkubasi selama 24 jam. Subkultur-2 adalah 1 ose dari subkultur-1 dan diinokulasikan ke dalam 10 ml medium *Nutrient Broth* (NB) dan diinkubasi selama 24 jam. Subkultur-3 adalah 2,5 ml subkultur-2 diinokulasikan ke dalam 25 ml medium NB dan diinkubasi selama 24 jam. Subkultur-4 adalah 5 ml subkultur-3 dan diinokulasikan ke dalam 50 ml medium NB. Subkultur-5 merupakan 10 ml subkultur-4 diinokulasikan ke dalam 100 ml medium NB.

D. Biodegradasi Plastik

Isolat yang digunakan dalam tahap biodegradasi ini adalah isolat *Pseudomonas* murni dengan kode P. Pertama disiapkan botol berukuran 1 L, berisi 300 gr pasir steril dan 350 ml medium *Mineral Salt Medium* (MSM). Pasir steril disini berfungsi hanya sebagai media tanam plastik. Plastik dimasukkan kedalam medium yang telah berisi bakteri uji dengan menggunakan pinset steril hingga terendam dalam medium. Botol ditutup dan diinkubasi selama 3 bulan.

E. Persentase Kehilangan Berat Kering

Potongan plastik yang telah terpisah dari biofilm disemprot dengan alkohol 70% dan dikering anginkan. Setelah kering, potongan plastik dioven pada suhu 80°C selama 24 jam. Plastik diukur kehilangan berat kering plastik dengan menghitung selisih berat kering plastik sebelum proses degradasi dan berat kering plastik setelah degradasi. Berikut rumus persentase kehilangan berat plastik, dengan W_1 adalah berat kering awal sebelum degradasi (g) dan W_f adalah berat kering akhir plastik setelah degradasi (g) [11].

$$\text{Kehilangan Berat} = \frac{W_1 - W_f}{W_1} \times 100 \% \quad (1)$$

III. HASIL DAN DISKUSI

A. Sumber Inokulum

Penelitian yang dilakukan ini menggunakan bakteri *Pseudomonas* sp. koleksi Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi, Jurusan Biologi, ITS. Dari penelitian sebelumnya bakteri *Pseudomonas* sp. mampu mendegradasi plastik putih sebesar 3% - 9%, dan plastik hitam sebesar 3% - 6% (data tidak dipublikasikan, 2014).

Tabel 1.

| Karakter Biokimia <i>Pseudomonas</i> | |
|--------------------------------------|--------------------|
| Karakterisasi | Bakteri |
| | <i>Pseudomonas</i> |
| Gram | - |
| Katalase | + |
| Endospora | - |
| Oksidase | + |



Gambar 1. Sel Bakteri *Pseudomonas* sp. pada Perbesaran 1000x.

Berdasarkan uji biokimia menunjukkan bahwa bakteri yang digunakan dalam proses biodegradasi adalah bakteri *Pseudomonas* dengan karakteristik sebagai berikut :

B. Biodegradasi Plastik

Pada penelitian ini, inokulum yang akan diujikan diinokulasikan ke dalam medium MSM (*Mineral Salt Medium*) yang tidak mengandung sumber karbon. Proses biodegradasi diawali dengan menempelnya mikroorganisme pada plastik untuk memperoleh sumber C akibat medium yang tercekam karena hanya terdiri dari garam-garam mineral [8]. Dengan demikian inokulum dicekam agar menggunakan sumber karbon dari plastik uji baik sebagai sumber C maupun energi.

Berdasarkan rerata persentase kehilangan berat kering, isolate *Pseudomonas* mampu mendegradasi plastik setelah 3 bulan masa inkubasi yaitu sebesar 2,7%, plastik putih sebesar 3,3% dan plastik transparan sebesar 4,5% selama 3 bulan masa inkubasi (Tabel 2). Secara statistika dapat terlihat jika kemampuan degradasi isolat *Pseudomonas* tidak berbeda nyata pada setiap jenis plastik.

Tabel 2.
Rata-rata Persentase Kehilangan Berat Kering Setelah 3 Bulan Masa Inkubasi

| Perlakuan | Persentase (%) Kehilangan Berat Kering | | |
|--------------------|--|--------|------------|
| | Hitam | Putih | Transparan |
| <i>Pseudomonas</i> | 2.7 a | 3.3 a | 4.5 a |
| Kontrol | -0.4 b | -0.4 b | 0.4 a |

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

Apabila dikaitkan dengan kerapatan sel OD biofilm (Tabel 3) maka dapat terlihat jika persentase kehilangan berat kering plastik uji berkorelasi positif dengan laju pertumbuhan bakteri *Pseudomonas*. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri ini mampu tumbuh dengan memanfaatkan plastik sebagai sumber karbon biomassa maupun sumber energinya. Namun apabila dikaitkan dengan nilai kerapatan sel di kolom air (Tabel 4), sel isolat *Pseudomonas* L1 cenderung membentuk biofilm dibandingkan hidup bebas di kolom air. Hal ini dapat diasumsikan bahwa bakteri *Pseudomonas* lebih banyak tumbuh pada area biofilm atau melekat pada permukaan plastik untuk mempermudah cara mendapatkan sumber karbon. Bakteri pendegradasi plastik cenderung tumbuh membentuk biofilm pada permukaan plastik. Sifat polimer plastik seperti polietilen (PE) dan polistiren (PS) adalah hidrofobik, sehingga agar dapat menempel kuat pada sumber C-nya bakteri *Pseudomonas* harus mampu membentuk biofilm yang stabil [12].

Tabel 3.
Rata-rata Kerapatan Sel Isolat *Pseudomonas* L1 Di Biofilm

| Perlakuan | OD Biofilm | | |
|--------------------|------------|-------|------------|
| | Hitam | Putih | Transparan |
| <i>Pseudomonas</i> | 0.038 | 0.026 | 0.029 |
| Kontrol | 0.018 | 0.015 | 0.018 |

Tabel 4.
Rata-rata Kerapatan Sel Isolat *Pseudomonas* L1 Di Kolom Air

| Perlakuan | OD Kolom Air | | |
|--------------------|--------------|-------|------------|
| | Hitam | Putih | Transparan |
| <i>Pseudomonas</i> | 0.015 | 0.013 | 0.017 |
| Kontrol | 0.003 | 0.017 | 0.017 |

Kontrol merupakan plastik uji yang diinkubasi di dalam medium MSM (*Mineral Salt Medium*) tanpa ada tambahan inokulum dan diinkubasi selama 3 bulan. Tabel 2 menunjukkan bahwa nilai berat kering plastik uji bertambah jika dibandingkan dengan berat kering sebelum masa inkubasi. Hal ini diasumsikan karena adanya partikel-partikel medium yang berupa garam mineral yang masuk ke dalam serat plastik yang sudah cukup terbuka setelah adanya pre-treatment dengan menggunakan alkohol dan sinar UV. Kebanyakan jenis plastik akan cenderung menyerab radiasi dengan energi tinggi dalam spectrum bagian ultraviolet, dimana akan mengaktifkan electron mereka menjadi lebih reaktif dan menyebabkan oksidasi, pemutusan dan degradasi lainnya [13]. Namun pada panen ke-2 hingga panen ke-4 menunjukkan terjadi pertumbuhan pada biofilm dan kolom air botol uji pada semua plastik uji. Sehingga ada kemungkinan proses degradasi terjadi karena ada mikroorganisme yang hidup dalam botol kontrol selama proses degradasi. Pertumbuhan mikroorganisme ini kemungkinan

terjadi karena adanya kontaminasi selama perlakuan. Bila dibandingkan dengan perlakuan, persentase kehilangan berat kering plastik pada kontrol masih rendah dibandingkan perlakuan dengan isolat *Pseudomonas*. Persentase kehilangan berat kering yang terjadi di kontrol dapat digunakan sebagai faktor koreksi.

IV. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa bakteri *Pseudomonas* mampu mendegradasi plastik. Isolat *Pseudomonas* L1 terbukti mampu mendegradasi plastik hitam dengan rata-rata degradasi sebesar 2,7%, plastik putih sebesar 3,3% dan plastik transparan sebesar 4,5% selama 3 bulan masa inkubasi. Kerapatan sel isolat *Pseudomonas* L1 uji terdeteksi dengan mengukur kekeruhan isolat pada OD dengan panjang gelombang 600 nm. Isolat *Pseudomonas* L1 lebih cenderung membentuk biofilm dibandingkan hidup bebas pada kolom air. Kepadatan sel pada biofilm plastik hitam relatif lebih tinggi daripada 2 plastik yang lain. Pada plastik hitam OD biofilm yang terdeteksi dengan panjang gelombang 600 nm sebesar 0,038, sedangkan pada plastik putih sebesar 0,026 dan plastik transparan sebesar 0,029.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis A.Sriningsih mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia yang telah memberikan dukungan finansial melalui Beasiswa Bidik Misi tahun 2011-2015. Penulis juga menyampaikan ucapan terima kasih kepada Ibu Dr. rer. nat.Ir. Maya Shovitri, M. Si. selaku pembimbing serta tim penguji, N.D. Kuswytasari, S. Si., M. Si., Dr. Enny Zulaika, M.P. dan Triono Bagus Saputro S. Si., M. Biotech. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada LPPM ITS atas Hibah Penelitian Unggulan PT dengan no kontrak 003246.96/IT2.11/PN.08/2015 dan penghargaan yang tinggi kepada Ayahanda dan Ibunda, adik-adik serta keluarga atas doa dan kasih sayangnya.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] G. Scott. "Polymers in modern life. In: Polymers and the Environment". UK: Royal Society of Chemistry (1999).
- [2] D.K.Barnes, F. Galgani, R.C. Thompson, dan M. Barlaz. "Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments". *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 364: (2009) 1985-1998.
- [3] I.Sabir. "Plastic Industry in Pakistan". [http:// www. jang. com. pk/ thenews /investors /nov2004 / index .html](http://www.jang.com.pk/thenews/investors/nov2004/index.html) (2004).
- [4] T. O'Brine, dan R.C. Thompson. "Degradation of plastic carrier bags in the marine environment". *Marine Pollution Bulletin* 60: (2010) 2279-2283.
- [5] C. Rivard, L. Moens, K. Roberts, J. Brigham, dan S. Kelley. "Starch esters as biodegradable plastics: Effects of ester group chain length and degree of substitution on anaerobic biodegradation". *Enz Microbial Tech* (17). (1995) 848-52.
- [6] M. Kaseem, K. Hamad, dan F. Deri. "Thermoplastic starch blends: A review of recent works". *Vol 54* (2012) 165-176.

- [7] J.E. Glass, dan G. Swift . “Agricultural and Synthetic Polymers, Biodegradation and Utilization ACS Symposium Series 433”. American Chemical Society, Washington DC (1989)
- [8] G. Swift. “Non-Medical Biodegradable Polymers: Environmentally Degradable Polymers”. In: Domb AJ, Kost J, Wiseman DM, editors. Handbook of Biodegradable Polymers. Amsterdam: Harwood Academic. p. (1997) 473–511.
- [9] E.R.B. Moore, B.J. Tindall, V.A.P.M.D. Santos, D.H. Pieper, J. Ramos dan, N.J. Palleroni. “Nonmedical : *Pseudomonas*”. Prokaryotes 6 (2006) 646–703
- [10] M. Shimao. “Biodegradation of plastics”. Current Opinion Biotechnology 12 (2001) 242-247.
- [11] E. Rohaeti. “Karakterisasi Biodegradasi Polimer”. *Prosiding Seminar Nasional Penelitian, Pendidikan dan Penerapan MIPA*. Yogyakarta : Fakultas MIPA, Universitas Negeri Yogyakarta (2005).
- [12] W. Sakharovski, D.L. Nikitan, dan V.G. Sakharovski. “Physiological Characterization of The Survival of Some Gram Negative Bacteria Under Conditions of Carbon Deficiency”. Appl Biochem Microbial 35 (1998) 380-388.
- [13] A.A. Shah dan H. Fariha. “Biological degradation of plastics : A comprehensive review”. Biotechnology Advances 26 (2008) 246-265