

ARTIKEL

BIODEGRADASI PLASTIK OLEH CAMPURAN BAKTERI LIPOLITIK DI DALAM KOLOM WINOGRADSKY

[*Biodegradation of Plastic Inside Winogradsky Column by The Mixture of Lipolytic Bacteria*]

Triastuti Rahayu^{1*}, Yasir Sidiq¹, Kun Harismah², Santhyami¹, Putri Agustina¹, Haryanto³, Erma Musbita Tyastuti¹, Fanisha Aurelia¹, Berlian Achya Putri Sabdina^{1,4}

¹Program Studi Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Muhammadiyah Surakarta

²Program Studi Teknik Kimia Fakultas Teknik, Universitas Muhammadiyah Surakarta

³Program Studi Teknik Kimia Fakultas Teknik, Universitas Muhammadiyah Purwokerto

⁴SMP Muhammadiyah 7 Colomadu, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah

ABSTRAK

Plastik menjadi masalah serius karena sangat lambat didegradasi. Oleh karena itu banyak usaha dilakukan untuk mempercepat degradasinya tetapi belum menunjukkan hasil yang signifikan. Salah satu upaya yang dicoba adalah menggunakan bakteri lipolitik. Tujuan penelitian ini adalah menguji kemampuan degradasi plastik menggunakan campuran bakteri lipolitik dalam kolom Winogradsky. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen dengan 2 faktor perlakuan. Faktor 1; jenis plastik (P1/kresek hitam putih) dan (P2 /bungkus mie instan). Faktor 2; waktu inkubasi (W1/1,5 bulan) dan (W2/3 bulan). Plastik diuji degradasi menggunakan campuran bakteri B9 dan B28 dalam kolom Winogradsky. Data yang dianalisis berupa uji antagonisme dan identifikasi bakteri, persen pengurangan berat kering, SEM, dan FTIR. Kedua isolat tidak menunjukkan antagonisme. Isolat B9 teridentifikasi *Staphylococcus saprophyticus*, sedangkan B28 adalah *Bacillus amyloliquifaciens*. Persen pengurangan berat kering P1 lebih besar dibanding P2 sebesar 5,11 (4,91%) dan 4,99 (3,99%) masing-masing untuk 1,5 dan 3 bulan. Permukaan P2 terbentuk kerutan lebih banyak dan terdapat cekungan yang dalam di beberapa titik, sedangkan P1 masih tampak lebih halus. Hasil analisis FTIR P2 menunjukkan munculnya spektra senyawa amina, alkane dan CO₂. Campuran bakteri *S. saprophyticus* dan *B. amyloliquifaciens* mempunyai kemampuan mendegradasi plastik dalam kolom Winogradsky dan plastik 2 menunjukkan tingkat degradasi lebih lanjut dibandingkan plastik 1.

Kata Kunci: Biodegradasi plastik, *Staphylococcus saprophyticus*, *Bacillus amyloliquifaciens*, lipolitik, kolom Winogradsky

ABSTRACT

Plastic has become a serious issue for its extremely slow degradation ability. Many works have been done to overcome this problem in order to accelerate the degradation process, but none has showed a significant result. One of the works is using lipolytic bacteria. The objective of this research is to examine the plastic degradation ability of lipolytic bacteria mixture inside the Winogradsky column. It's a two treatments factorial experiment with 1st factor is the types of plastic (P1/ black and white plastic bag) and P2/instant noodle plastic package); 2nd factor is incubation time (W1/1.5 months and W2/3 months). Plastic was being examined for its degradation rate using the mixture of bacteria B9 and B28 inside the Winogradsky column. The data has been analyzed for its bacterial identification and antagonism, dry weight reduction percentage, SEM and FTIR. Both isolates have not shown any antagonism activity. Isolate B9 has been identified as *Staphylococcus saprophyticus*, while B28 has been identified as *Bacillus amyloliquifaciens*. The percentage of dry weight reduction on P1 is higher than P2, which are 5,11 (4,91%) and 4,99 (3,99%) respectively for 1,5 and 3 months. The surface of P2 was formed more crinkles and deep cavities were found in some spots, while P1 appeared to be smoother. FTIR analysis has resulted on the emergence of spectra of amines, alkane and CO₂ compounds. The mixture of *S. saprophyticus* and *B. amyloliquifaciens* has the ability to degrade plastics inside the Winogradsky column, which P2 showed a further degradation level than P1.

Keywords: plastic biodegradation, *Staphylococcus saprophyticus*, *Bacillus amyloliquifaciens*, lipolytic, Winogradsky column

PENDAHULUAN

Plastik merupakan penyumbang utama sampah kedua setelah sisa makanan berdasar data nasional maupun kabupaten/kota. Data nasional menunjukkan persen jenis sampah plastik sebesar 17,96% setelah sisa makanan 49,79%. Data di Kota Surakarta juga tidak jauh berbeda yaitu sebesar 22,73% setelah sisa makanan 38,18%, dengan total timbunan sampah mencapai 137,345.45 ton pada tahun 2022 atau 376,92 ton per hari (Direktorat Penanganan Sampah, 2022). Jumlah ini ternyata menyebabkan Indonesia menjadi penyumbang sampah plastik ke-5 dunia sebesar 65,2 juta ton setelah Tiongkok sebagai peringkat pertama diikuti AS, India, dan Brazil (Ahdiat, 2023).

Jumlah sampah plastik yang sangat banyak disebabkan karena peningkatan produksi dan lambatnya proses degradasi plastik. Data dari Making Oceans Plastic Free tahun 2017, kebutuhan kantong plastik di dunia mencapai 182,7 miliar setiap tahunnya dan Indonesia menyumbang 1.278.900 ton (Hanspach, 2017). Waktu degradasi plastik bervariasi tergantung pada jenis plastiknya, kondisi lingkungan di mana plastik tersebut terpapar, serta ukuran dan ketebalan plastik. Plastik polietilen (PE) biasa digunakan untuk botol air dan tas belanja, plastik polipropilena (PP) untuk wadah makanan, plastik polivinil klorida (PVC), plastik polistiren (PS) untuk makanan cepat saji dan styrofoam, plastik polikarbonat (PC) untuk botol air dan beberapa peralatan rumah tangga (Mir, 2020). Plastik-plastik tersebut memerlukan waktu puluhan sampai ratusan tahun untuk terdegradasi di alam terbuka. Plastik polietilena tereftalat (PET) lebih cepat terdegradasi tetapi masih memerlukan waktu puluhan tahun. Yang masih menjadi perhatian adalah degradasi plastik di lingkungan alami sering memunculkan masalah baru, salah satunya biomagnifikasi mikroplastik melalui rantai makanan akuatik (Miller *et al.*, 2020).

Penelitian-penelitian sudah banyak dilakukan sebagai upaya untuk mempercepat degradasi sampah plastik tetapi masih belum dapat memberikan solusi yang tepat. Beberapa upaya yang sudah dilakukan adalah : 1. penggunaan plastik biodegradasi seperti *poly-3-hydroxyvalerate* (PHV) dan *poly-4-hydroxybutyrate* (PHB) (Filiciotto and Rothenberg, 2021), bioplastik berbahan tepung (Haryanto, & Saputri, 2016); 2. penggunaan enzim seperti PET hidrolase (PETase) dan mono (2-hydroxyethyl) terephthalate hidrolase (MHETase), yang secara sinergistik mendegradasi PET (Numoto *et al.*, 2018); 3. penggunaan bakteri atau jamur lipolitik (Gricajeva *et al.*, 2021); dan 4. Pirolisis (Dai *et al.*, 2022). Cara yang paling sering dilakukan oleh masyarakat adalah dengan cara dibakar tetapi akan menyebabkan peningkatan kadar CO dan pelepasan gas beracun lainnya, dan bahan kimia seperti zat dioksin, karbon hitam, serta senyawa aromatik seperti *pyrene* dan *chrysene* yang berbahaya untuk lingkungan (Dai *et al.*, 2022).

Pada penelitian sebelumnya, sudah dikoleksi beberapa isolat bakteri lipolitik dari tempat pemakaman umum (TPU) Bonoloyo dan Pracimaloyo Surakarta dengan indeks lipolitik (IL) 1,18-

5,43. Isolat dengan kode B9 dan B28 dipilih untuk penelitian ini karena mempunyai IL 3 dan 5,43 (Rini dkk., 2023). Bakteri lipolitik ini kemungkinan berpotensi untuk mendegradasi plastik karena enzim lipase terbukti mampu memutus rantai ikatan ester yang menghubungkan monomer penyusun plastik poliester (PoE). Plastik PoE sintetik seperti polyethylene (PE), PS, PVC dan PET dikenal sebagai plastik nondegradable, sedangkan PCL, PHB dan poly(L-lactic acid) (PLA atau PLLA) serta polyester alifatik (PoE) termasuk plastik biodegradable (Gricajeva *et al.*, 2021). Beberapa mikroba lipolitik termasuk bakteri dan jamur dilaporkan mampu mendegradasi plastik PoE antara lain *Ideonella sakaiensis* (Yoshida *et al.*, 2021), *Saccharomonospora viridis* AHK190 (Numoto *et al.*, 2018), *Lactobacillus plantarum* (Khan *et al.*, 2019), dan *Candida antarctica* (Carniel *et al.*, 2017).

Kolom Winogradsky dapat digunakan untuk memprediksi jalur degradasi plastik LDPE (Sridharan *et al.*, 2021) dan mempelajari peran mikroba dari beberapa niche untuk mendegradasi plastik LDPE (Sridharan *et al.*, 2021). Penggunaan isolat lipolitik asal TPU sebagai pendegradasi plastik belum ditemukan dalam publikasi ilmiah, padahal skrining awal menunjukkan indeks lipolitik yang besar. Hasil penelitian ini diharapkan isolat B9 dan B28 menunjukkan potensi yang nyata untuk degradasi plastik. Penelitian ini bertujuan menganalisis kemampuan bakteri lipolitik asal tanah pemukiman untuk mendegradasi plastik dalam kolom Winogradsky.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen dengan 2 faktor perlakuan. Faktor 1 adalah jenis plastik (P) : P1 (plastik kresek hitam putih) dan P2 (plastik bungkus mie instan). Faktor 2 adalah waktu inkubasi (W) : W1 (1,5 bulan) dan W2 (3 bulan). Plastik diuji degradasi menggunakan campuran bakteri lipolitik dengan kode B9 dan B28 (koleksi Lab Biologi FKIP UMS) dalam kolom Winogradsky.

Identifikasi isolat bakteri lipolitik B9 dan B28 (berdasar gen 16S rRNA)

Isolat bakteri B9 dan B28 diidentifikasi berdasar gen 16S rRNA (Raimi and Adeleke, 2023). Genom DNA bakteri diamplifikasi menggunakan primer universal 1492r (5'-TACGGHTACCTTGTTACGACTT-3') dan 27f (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3'). Setiap reaksi PCR terdiri dari 25 μ L MyTaq™ HS Mix, 1 μ L primer 1492r, 1 μ L primer 27f, 1 μ L DNA cetakan (10 ng/ μ L), dan ddH₂O sehingga volume total 50 μ L. Kondisi amplifikasi menggunakan program sebagai berikut : pre-denaturasi pada 96°C selama 3 menit, diikuti 30 siklus terdiri dari tahap denaturasi pada suhu 96°C selama 30 detik, *primer annealing* 40 detik suhu 50°C, ekstensi suhu 72°C selama 1 menit, pasca ekstensi suhu 72°C selama 4 menit, dan setelah 30 siklus dilanjutkan tahap ekstensi akhir 12°C selama 15 menit. Produk PCR yang telah teramplifikasi dicek menggunakan gel elektroforesis dengan 0,8% agarosa dalam 1x bufer TBE selama 30 menit dengan tegangan 100 V disertai marker 1 kb ladder. Produk PCR dikirimkan ke 1st Base Pte.Ltd, Singapura melalui PT. Genetika Science untuk dianalisis urutan basa nitrogennya. Identifikasi spesies berdasarkan analisis homologi sekuen 16S rRNA dengan NCBI (GenBank of National Center for Biotechnology Information) menggunakan software BLASTn (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

Uji antagonisme isolate B9 dan B28

Isolat B9 dan B28 diuji antagonismenya karena kedua bakteri akan diaplikasikan dalam bentuk campuran. Metode yang digunakan mengikuti Ethica dkk. (2019) yaitu dengan metode metode *cross-streak* antara bakteri yang diuji. Isolat bakteri digoreskan pada media *Nutrient Agar* (NA) secara bersilangan satu dengan yang lain dengan sudut 90°, kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam. Setelah inkubasi, dilakukan pengamatan untuk mengevaluasi adanya sinergisme atau antagonisme di antara isolat bakteri yang akan dicampur. Apabila pada titik persilangan tidak ditemukan zona bening, maka kedua isolat bakteri tersebut sinergis untuk diaplikasikan secara bersamaan. Sebaliknya, apabila terdapat zona bening pada titik persilangan, hal ini menunjukkan adanya aksi antagonis (Kelbessa *et al.*, 2022).

Persiapan plastik uji

Plastik yang digunakan yaitu plastik kresek berwarna hitam putih dan pembungkus mie instan. Plastik tersebut dipotong dengan ukuran 10 x 4 cm dengan pengulangan sebanyak 3 kali setiap plastiknya. Plastik yang sudah dipotong disterilisasi menggunakan alkohol 70% selama 30 menit dan dikeringkan di dalam *Laminar Air Flow* dengan UV selama 15 menit kemudian dikeringkan dalam oven 80^{0C} selama 24 jam. Setelah itu, plastik ditimbang menggunakan timbangan analitik untuk mendapatkan berat kering awal plastik (Sridharan *et al.*, 2021).

Persiapan Kolom Winogradsky

Sterilisasi botol dan pasir

Botol mineral 1,5 L dibilas menggunakan air hangat kemudian dipotong bagian lehernya. Pasir halus dikeringkan dengan cara dijemur selama 2 hari di bawah sinar matahari, kemudian diayak. Pasir yang sudah siap, disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121 °C selama 30 menit sebanyak 2 kali dengan interval 1 hari.

Menyiapkan media starter isolat B9 dan B28

Menginokulasikan isolat B9 dan B28 dari media agar miring ke dalam 10 ml Nutrient Both (NB) dan diinkubasi selama 24 jam dengan goyangan. Selanjutnya, diambil sebanyak 5 ml dari kultur cair pertama dan dimasukkan ke dalam 50 ml NB. Inkubasi dengan goyangan selama 24 jam, kemudian diambil 10 mL dari kultur cair kedua dan diinokulasikan ke dalam 100 ml NB. Setelah inkubasi 24 jam, kultur cair siap sebagai starter ke dalam kolom Winogradsky (Damayanti dkk., 2020). Selain kultur ganda, kultur tunggal B9 dan B28 juga diujikan ke masing masing jenis plastik.

Pembuatan media MSM (Mineral Salt Medium)

Komposisi MSM 1 L adalah : K₂HPO₄ 1 g; KH₂PO₄ 0,2 g; NaCl 1 g; CaCl₂. 2H₂O 0,002 g; (NH₄)₂SO₄ 1 g; MgSO₄ 0,1 g (Mozejko-Ciesielska *et al.*, 2022), disterilisasi dalam autoklaf 15 menit.

Uji degradasi plastik dalam kolom Winogradsky

Degradasi plastik menggunakan botol air mineral berukuran 1,5 L yang berisi pasir steril dan MSM. Pada kolom ini perbandingan yang digunakan yaitu 1:1 dengan inokulum 10% dari MSM yang akan digunakan. Pasir steril 750 gram diletakkan pada lapisan pertama dan dituang MSM yang sudah dicampurkan dengan inokulum bakteri sebanyak 10%. Sampel plastik uji dimasukkan ke dalam kolom Winogradsky. Kolom Winogradsky ditutup menggunakan plastik wrap dan diletakkan di tempat yang terkena cahaya matahari namun tidak langsung. Proses biodegradasi ini dilakukan selama 3 bulan dengan metode destruktif pada 1,5 bulan dan 3 bulan (Damayanti *et al.*, 2020). Eksperimen ini diulang 3 kali untuk mendapatkan hasil yang stabil.

Pengambilan Data

Parameter yang diamati adalah tingkat degradasi plastik yang diukur menggunakan data persen pengurangan berat kering plastik, analisis *Scanning electron microscope* (SEM), dan *Fourier transform Infrared Spectroscopy* (FTIR) (Kotova *et al.*, 2021) pada 1,5 bulan dan 3 bulan inkubasi. Pengambilan sampel dengan teknik sampel terbuang. Pengukuran berat kering, observasi dengan SEM, dan uji FTIR masing masing diulang tiga kali. Data ditampilkan berupa rata-rata dan gambar representatif.

HASIL

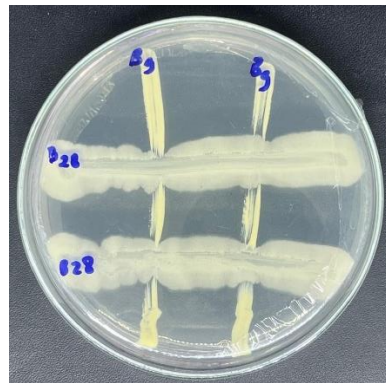
Identifikasi bakteri lipolitik B9 dan B28

Isolat bakteri yang digunakan untuk degradasi plastik adalah campuran antara isolat B9 dan B28. Kedua isolat tersebut telah diidentifikasi berdasar gen 16 rRNA dan teridentifikasi sebagai *Staphylococcus saprophyticus* (B9) dan *Bacillus amyloliquefaciens* (B28). Persen kesamaan dengan data di genbank masing-masing adalah 99,93% dan 99,86% (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil Identifikasi Isolat Bakteri yang Digunakan untuk Uji Biodegradasi Plastik Berdasar Gen 16 rRNA (*Results of Identification of Bacterial Isolates Used for Plastic Biodegradation Tests Based on 16 rRNA Genes*).

| Kode isolate (Isolate code) | Hasil identifikasi (Identification result) | Persen kesamaan (Percentage of similarity) | Akresi (Accession) |
|--------------------------------|---|---|-----------------------|
| B9 | <i>Staphylococcus saprophyticus</i> | 99,93% | MH396742.1 |
| B28 | <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> | 99,86% | KU291367.1 |

Kedua isolat bakteri lipolitik yang akan digunakan uji biodegradasi plastik diuji antagonismenya karena keduanya akan diujikan secara campuran. Hasil uji antagonisme menunjukkan bahwa keduanya tidak saling menghambat dan bisa ditumbuhkan secara bersama, tetapi pertumbuhan isolat B28 terlihat lebih dominan (Gambar 1).



Gambar 1. Hasil uji antagonisme isolat *S. saprophyticus*/B9 dan *B. amyloliquefaciens*/B28. (*Antagonism test results for isolates of S. saprophyticus/B9 and B. amyloliquefaciens/B28*).

Biodegradasi Plastik oleh Campuran Bakteri Lipolitik

Degradasi plastik oleh bakteri lipolitik berdasar data persen pengurangan berat kering dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Persen Pengurangan Berat Kering Plastik oleh Campuran *S. saprophyticus*/B9 dan *B. amyloliquefaciens*/B28. (*Percent Reduction in Dry Weight of Plastics by a Mixture of S. saprophyticus (B9) and B. amyloliquefaciens (B28)*)

| Jenis plastik (Types of plastics) | Waktu Degradasi (Degradation time) | Rerata Persen pengurangan berat kering (Average Percent reduction in dry weight) (%) |
|--------------------------------------|---------------------------------------|--|
| P1 | Kontrol | 0,00 ± 0,00 |
| | W1 (1,5 bulan) | 5,11 ± 1,79 |
| | W2 (3 bulan) | 4,91 ± 0,92 |
| P2 | Kontrol | 0,00 ± 0,00 |
| | W1 (1,5 bulan) | 4,99 ± 1,54 |
| | W2 (3 bulan) | 3,99 ± 3,34 |

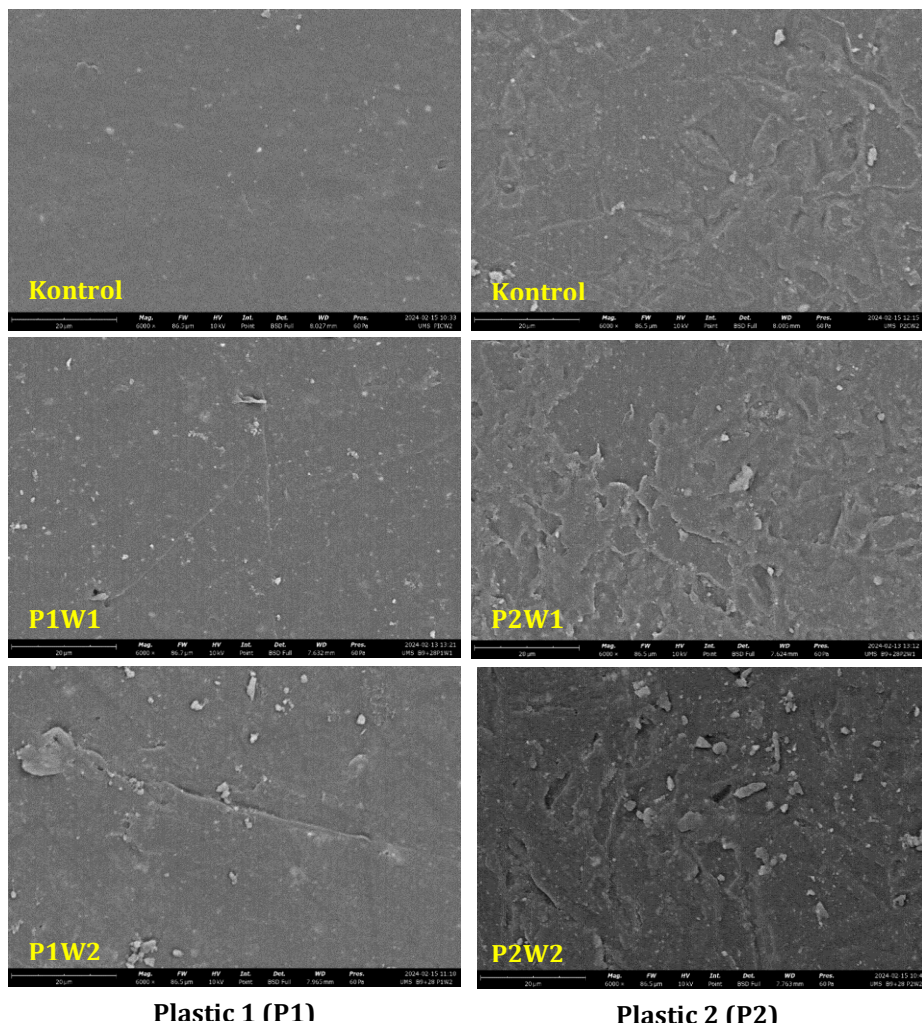
Ekperimen ini juga menguji efektifitas isolat B9 dan B28 untuk masing masing jenis plastik, P1 dan P2. Hasil ditampilkan di Tabel 3.

Tabel 3. Persentasi pengurangan berat kering dari 2 jenis sampel plastik (P1 dan P2) setelah perlakuan dengan penambahan bakteri isolat B9 dan B28 (*Percentage reduction in dry weight of 2 types of plastic samples (P1 and P2) after treatment with the addition of B9 and B28 isolate bacteria*).

| Perlakuan (Treatment) | Rerata penurunan berat kering (Average dry weight loss) (%) |
|--------------------------|---|
| B9 P1 | 0,044 ± 0,011 |
| B9 P2 | 0,1165 ± 0,001 |
| B28 P1 | 0,0535 ± 0,004 |
| B28 P2 | 0,1225 ± 0,001 |

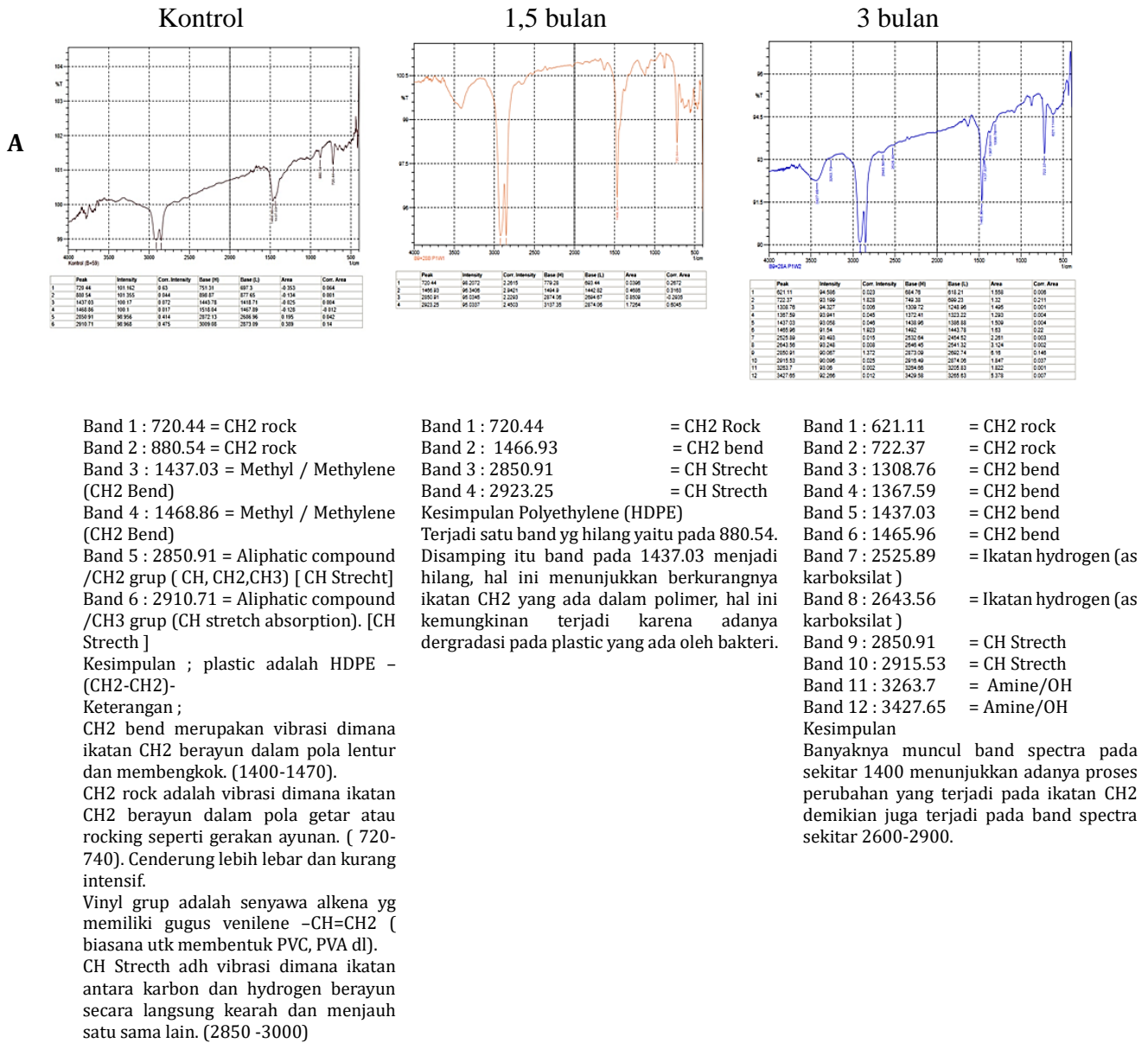
Persen pengurangan berat kering P1 sebesar $5,11 \pm 1,79\%$ dan $4,91 \pm 0,92\%$ masing-masing setelah 1,5 dan 3 bulan inkubasi. Untuk P2 sebesar $4,99 \pm 1,54\%$ dan $3,99 \pm 3,34\%$ pada periode inkubasi yang sama (Tabel 2). Hasil pengamatan morfologi permukaan plastik yang didegradasi menggunakan campuran bakteri lipolitik juga memperkuat data bahwa tingkat degradasi P2 lebih parah dibanding P1. Permukaan P2 terbentuk kerutan lebih banyak dan terdapat cekungan dalam di beberapa titik, sedangkan P1 masih tampak lebih halus (Gambar 2).

Pada sisi yang lain, perlakuan isolat tunggal menunjukkan persen penurunan yang lebih kecil dibandingkan dengan isolat campuran. Oleh karena itu degradasi plastik dengan isolat ganda dilanjutkan dengan uji SEM dan FTIR.



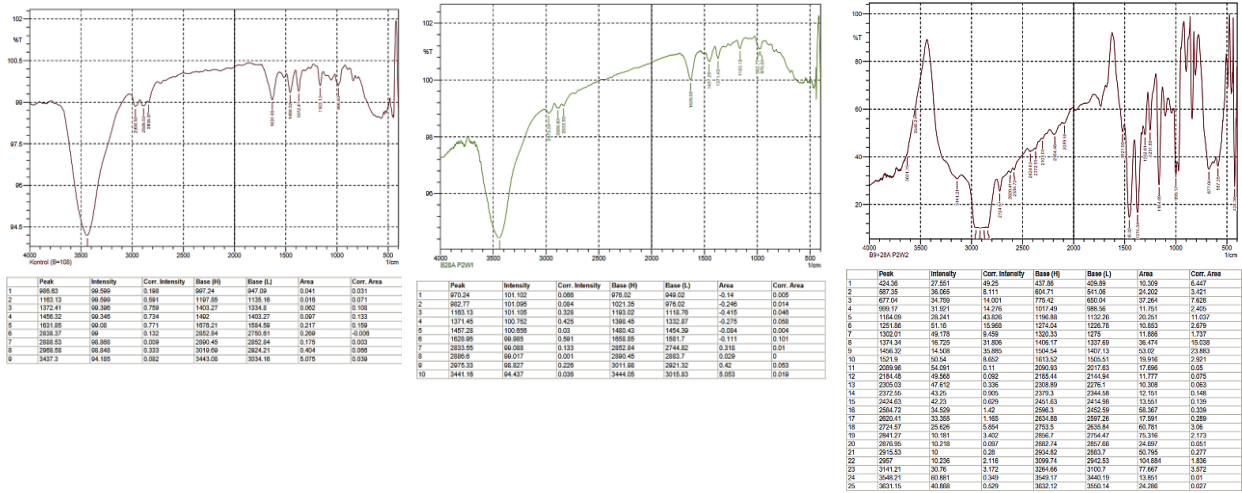
Gambar 2. Morfologi plastik diamati menggunakan SEM setelah inkubasi 1,5 bulan (W1) dan 3 bulan (W2) (*Plastic morphology was observed using SEM after incubation for 1.5 months/W1 and 3 months/W2*)

Secara kualitatif, degradasi plastik uji yang dianalisis menggunakan FTIR dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Data FTIR sampel P1 (A) dan P2 (B) yang didegradasi oleh bakteri lipolitik campuran B9 dan B28 selama 1,5 bulan dan 3 bulan inkubasi (FTIR Data of P1 (A) and P2 (B) samples degraded by mixed lyopolytic bacteria B9 and B28 for 1.5 months and 3 months of incubation).

B



- Band 1 : 986 = CH2 rock
- Band 2 : 1163.13 = CH bend, CH3 rock
- Band 3 : 1372.41 = CH3 bend
- Band 4 : 1455.32 = CH2 bend
- Band 5 : 1631.85 = Aromatic ring stretch
- Band 6 : 2838.37 = CH Strech
- Band 7 : 2888.53 = CH Strech
- Band 8 : 2958.55 = CH Strech
- Band 9 : 2910 = CH Strech
- Band 1 : 970.24 = CH2 rock
- Band 2 : 982.77 = CH2 rock
- Band 3 : 1163.13 = CH bend, CH3 rock
- Band 4 : 1371.45 = CH3 bend
- Band 5 : 1457.28 = CH2 bend
- Band 6 : 1628.95 = Aromatic ring stretch
- Band 7 : 2833.55 = CH Strech
- Band 8 : 2886.6 = CH Strech
- Band 9 : 2975.33 = CH Strech
- Band 10 : 3441.16 = Amina/OH
- Band 1 : 999.17 = CH2 rock
- Band 2 : 1164.09 = CH bend, CH3 rock
- Band 4 : 1251.86 = CH3 bend
- Band 5 : 1302.01 = CH2 bend
- Band 6 : 1374.34 = CH2 bend
- Band 7 : 1456.32 = CH2 bend
- Band 8 : 1521.9 = Aromatic
- Band 9 : 2089.96 = Alkyne
- Band 10 : 2184.48 = Alkyne (lemah)
- Band 11 : 2305.03 = Carbondioxide (lemah)
- Band 12 : 2372.55 = Carbondioxide (lemah)
- Band 13 : 2424.63 = Carbondioxide (lemah)
- Band 14 : 2584.72 = Thiol (lemah)
- Band 15 : 2620.41 = Thiol (lemah)
- Band 16 : 2724.57 = CH Strech Alkane (sedang)
- Band 17 : 2841.27 = CH Strech Alkane (kuat)
- Band 18 : 2876.95 = CH Strech Alkane (kuat)
- Band 19 : 2915.53 = CH Strech Alkane (kuat)
- Band 20 : 2957 = CH Strech Alkane (kuat)
- Band 21 : 3141.21 = CH Strech Alkane (lemah)
- Band 22 : 3548.21 = Amina/OH (lemah)
- Band 23 : 3631.15 = Amina/OH (lemah)

Kesimpulan dari band spectra yang dihasilkan maka polimer yang ada adalah polystyrene, hal ini terutama terlihat dari band 1631.85 yang merupakan aromatic ring stretch.

Kesimpulan; Muncul band spectra baru yaitu pada 3441, hal ini dimungkinkan karena terjadinya penguaraian oleh bakteri.

Kesimpulan
Muncul beberapa spectra baru yaitu 2800-3000.
Hal ini menunjukkan kemungkinan terjadinya senyawa baru amin, karena adanya penguaraian oleh bakteri.

Gambar 3. Lanjutan (Continued).

PEMBAHASAN

P2 menunjukkan tingkat degradasi lebih lanjut dibandingkan P1 (Gambar 2 dan Gambar 3). Ini diperkuat data SEM dan FTIR, walaupun persen penurunan berat kering tidak demikian. Pengamatan morfologi plastik uji menggunakan SEM membuktikan bahwa P2 terlihat mengalami degradasi lebih lanjut dibandingkan P1 (Gambar 2). Plastik uji yang dimasukkan dalam kolom Winogradsky dijadikan sumber karbon bagi bakteri lipolitik campuran B9 dan B28 karena MSM (Medium Salt Mineral) tidak mengandung sumber karbon (Taghavi et al., 2021). Bakteri akan cenderung membentuk biofilm ketika berada pada lingkungan tercemar seperti ketiadaan sumber

karbon yang bertujuan mempertahankan hidup (Zhao *et al.*, 2023). Biofilm pada permukaan plastik akan meningkatkan sifat hidrofobik permukaan sel sehingga sel bakteri dapat melekat erat pada permukaan plastik. Selanjutnya, akan memudahkan sel untuk kontak langsung dengan plastik sebagai sumber karbon yang akan diurai (Hobley *et al.*, 2015; Puglisi *et al.*, 2019; Elahi, *et al.*, 2021).

Degradasi plastik dapat terjadi secara abiotik maupun biotik. Secara umum, jalur degradasi abiotik terjadi sebelum jalur biotik yang diawali oleh degradasi termal, hidrolitik, atau radiasi UV. Setelah terbentuk fragmen polimer yang lebih kecil dan dapat melewati membrane sel, maka akan terjadi biodegradasi internal. Tetapi ada beberapa mikroba yang mampu menghasilkan enzim ekstraseluler sehingga mampu mendegradasi polimer plastik dengan ukuran yang besar. Polimer plastik sebagian besar akan terdegradasi lebih dulu di permukaan karena langsung terpapar pada enzim. Degradasi ini bisa terlihat dari perubahan warna permukaan plastik. Degradasi lebih lanjut bisa terlihat dari terbentuknya retakan yang lebih dalam (Gewert *et al.*, 2015). Hal ini juga terlihat dari morfologi permukaan plastik uji pada inkubasi 3 bulan dimana tampak cekungan yang lebih dalam dibanding kontrol atau plastik yang diinkubasi 1,5 bulan (Gambar 2).

Pada penelitian ini, digunakan campuran bakteri lipolitik *S. saprophyticus* (B9) dan *B. amyloliquifaciens* (B28). Kedua bakteri itu dilaporkan mempunyai kemampuan menghasilkan enzim lipase (Gricajeva *et al.*, 2019; Devaraj *et al.*, 2019; Mazhar *et al.*, 2022; Khan *et al.*, 2020). Enzim lipase ini menunjukkan potensinya untuk mendegradasi plastik (Tan *et al.*, 2021; Kaushal *et al.*, 2021; Lin *et al.*, 2019; Sharma *et al.*, 2019; Kumar *et al.*, 2020). Beberapa bakteri lipolitik dilaporkan mempunyai kemampuan mendegradasi plastik yaitu *Pseudomonas* (Vague *et al.*, 2019), *Pseudomonas chlororaphis* dan *Acinetobacter lwoffii* (Sharma *et al.*, 2019), *Ideonella sakaiensis* (Yoshida *et al.*, 2016), *Bacillus* sp. (Kanwal *et al.*, 2022), *Streptomyces scabies* (Jabloune *et al.*, 2020).

Kemampuan degradasi plastik oleh bakteri lebih kuat dalam bentuk campuran dibanding dalam bentuk individual. Baik P1 maupun P2, menunjukkan persen penurunan berat kering lebih tinggi dibanding persen penurunan berat kering P1 dan P2 yang diuji degradasinya dalam bentuk kultur tunggal (Fanisha dkk. 2024). Fenomena yang sama juga terjadi pada degradasi plastik PET oleh campuran *Pseudomonas* dengan *Bacillus cereus* (Roberts *et al.*, 2020). Bakteri penghasil lipase juga menunjukkan kemampuannya mendegradasi PET terutama dalam bentuk campuran dibanding individual (Vague *et al.*, 2019). Jalur degradasi polimer plastik melibatkan banyak enzim (Gricajeva *et al.*, 2021), sehingga apabila digunakan beberapa jenis bakteri akan menyediakan enzim yang lebih lengkap.

Degradasi plastik 2 (bungkus mie instan) terlihat lebih lanjut dibanding plastik 1 (kresek hitam putih). Hasil FTIR kedua jenis plastik tersebut berbeda jenis yaitu plastik polietilen (PE) dan polistirene (PS) untuk P1 dan P2 (Gambar 3). Kedua jenis plastik tersebut berbeda struktur kimia dan sifat fisiknya. Plastik PE dan PS mempunyai tulang punggung polimer berupa ikatan C-C (Gewert *et al.*, 2015), sedangkan plastik PS merupakan polimer stiren dengan cincin aromatik. Keberadaan cincin aromatik ini membuat plastik lebih rentan terhadap degradasi oleh mikroorganisme dan fotodegradasi. Selain itu, PS mempunyai titik leleh lebih rendah dibanding PE (Priya *et al.*, 2022).

Biodegradasi plastik juga ditentukan oleh bakteri pendegradasi plastik. Bakteri tersebut akan memilih jenis plastik yang akan didegradasi sesuai jalur metabolismenya. Sebagai yaitu *Ideonella sakaiensis* 201-F6 mampu mendegradasi plastik PET karena memproduksi enzim PETase (Yoshida *et al.*, 2021), *Klebsiella pneumoniae* CH001 (Awasthi *et al.*, 2017) mendegradasi PE, *Pseudomonas citronellolis* dan *Bacillus flexus* menunjukkan aktivitas degradasi untuk PVC (Giacomucci *et al.*, 2019), *B. subtilis* ET18 untuk nilon, *B. cereus* ET30 untuk PET (Demirkan *et al.*, 2020). Penelitian ini dapat dijadikan skrining awal untuk menguji aktivitas *Staphylococcus saprophyticus* dan *Bacillus amyloliquifaciens* dalam menghasilkan enzim pendegradasi plastik seperti enzim laccase, PETase, atau MHETase.

Hasil FTIR P2 memperkuat terjadinya degradasi plastik oleh campuran bakteri lipolitik yang lebih lanjut dibanding P2 (Gambar 3). Tampak pada spektra FTIR terbentuk beberapa senyawa yang menandakan terjadinya degradasi plastik yaitu gugus amina, alkane, dan CO₂ pada P2. Terdeteksinya gugus amina menunjukkan bahwa plastik sudah mengalami perubahan struktur kimia yang

signifikan. Spektra gugus amina P2 mulai terdeteksi di 1,5 bulan sedangkan P1 baru pada 3 bulan. Munculnya alkane menunjukkan bahwa plastik telah terurai menjadi molekul hidrokarbon sederhana dan menandakan bahwa proses degradasi plastik berjalan menuju pembentukan produk yang lebih stabil. Hal ini dapat terjadi melalui mekanisme fotodegradasi atau biodegradasi. Munculnya spektra CO₂ menunjukkan bahwa plastik mengalami mineralisasi oleh aktivitas mikroorganisme atau karena oksidasi kimia. Spektra CO₂ ini terlihat pada P2 setelah 3 bulan dan tidak terlihat pada P1 (Gewert *et al.*, 2015).

KESIMPULAN

Staphylococcus saprophyticus dan *Bacillus amyloliquefaciens* mempunyai kemampuan mendegradasi plastik dalam kolom Winogradsky. Plastik 2 (PS) menunjukkan tingkat degradasi lebih lanjut dibandingkan plastik 1 (PE) oleh campuran isolat bakteri *S. saprophyticus* dan *B. amyloliquefaciens*. Eksplorasi lanjut potensi dua isolat bakteri tersebut seperti pengujian pada jenis sampah plastik lain, kemampuan menghasilkan enzim pendegradasi plastik, atau peningkatan kecepatan degradasi plastik akan dilakukan dalam penelitian yang akan datang.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kami ucapkan kepada Majelis Pendidikan Tinggi Penelitian dan Pengembangan (Diktilitbang) Pimpinan Pusat Muhammadiyah melalui Pendanaan dan Pelaksanaan Hibah Riset Nasional Muhammadiyah Batch VII Tahun 2024, yang sudah memberikan dana penelitian skim Penelitian fundamental kerjasama No. 0258.063/I.3/D/2024. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Listy Hasti Mandiri, S.Pd. atas dukungan analisis data dalam artikel ini.

KONTRIBUSI PENULIS

TR, S: membuat konsep penelitian; EMT, FA, BAPS: mengumpulkan data penelitian; H, KH: analisis data; TR, YS: membuat draf artikel, dan PA: merevisi naskah akhir.

REFERENSI

- Ahdiat A. 2023.10 Negara Penghasil Sampah Terbesar di Dunia, Ada Indonesia. *Katadata Media Netw.* <https://databoks.katadata.co.id/datapublish/2023/06/26/10-negara-penghasil-sampah-terbesar-di-dunia-ada-indonesia#:~:text=Menurut laporan tersebut%2C pada 2020,sampah sekitar 395 juta ton.>
- Awasthi, S., Srivastava, P., Singh, P., Tiwary, D., Mishra, P.K. 2017. Biodegradation of thermally treated high-density polyethylene (HDPE) by *Klebsiella pneumoniae* CH001. *3 Biotech*, 7, p.332.
- Carniel A, Valoni E, Junior JN, Gomes A da C, Castro AM de. 2017. Lipase from *Candida antarctica* (CALB) and cutinase from *Humicola insolens* act synergistically for PET hydrolysis to terephthalic acid. *Process Biochemistry*, 59, pp.84–90.
- Dai, L., Zhou, N., Lv, Y., Cheng, Y., Wang, Y., Liu, Y., Cobb, K., Chen, P., Lei, H., Ruan, R. 2022. Pyrolysis technology for plastic waste recycling: A state-of-the-art review. *Progress in Energy and Combustion Science*, vol. 93.
- Damayanti, N., Sulaiman, N., Ibrahim, N. 2020. Plastic biodegradation of *Pseudomonas aeruginosa* UKMCC1011 using a modified Winogradsky column. *Sci. Eng.* 7, pp.43-49.
- Demirkan, E., Guller, B.E., Sevgi, T. 2020. Analysis by scanning electron microscopy of polyethylene terephthalate and nylon biodegradation abilities of *Bacillus* sp. strains isolated from soil. *J. Biol. Environ. Sci.*, 14, pp.107–114.
- Devaraj, K., Aathika, S., Periyasamy, K., Manickam Periyaraman, P., Palaniyandi, S., Subramanian, S. 2019. Production of thermostable multiple enzymes from *Bacillus amyloliquefaciens* KUB29, *Natural product research*, 33(11), pp.1674-1677.
- Direktorat Penanganan Sampah. 2022. Komposisi Sampah Berdasarkan Jenis Sampah. Sist Inf Pengelolaan Sampah Nas – Kementerian Lingkung Hidup Dan Kehutanan. <https://sipsn.menlhk.go.id/sipsn/public/data/komposisi>.

- Elahi, A., Bukhari, D.A., Shamim, S., Rehman, A. 2021. Plastics degradation by microbes: A sustainable approach. *Journal of King Saud University-Science*, 33(6), pp.101538.
- Ethica, S.N., Muslim, R., Widyawardhana, R.M.B.I., Firmansyah, A., Muchlissin, S.I., Darmawati, S. 2019. Synergism and antagonism among indigenous hydrolytic bacteria from biomedical wastes for the generation of bacterial consortium used as bioremediation agent. *Int. J. Environ. Sci. Dev.* 10(12), pp.440–444.
- Filiciotto, L., Rothenberg, G. 2021. Biodegradable Plastics: Standards, Policies, and Impacts. *ChemSusChem*, 14, pp.56–72.
- Gewert, B., Plassmann, M. M., MacLeod, M. 2015. Pathways for degradation of plastic polymers floating in the marine environment. *Environmental science: processes & impacts*, 17(9), pp.1513-1521.
- Giacomucci, L., Raddadi, N., Soccio, M., Lotti, N., Fava, F. 2019. Polyvinyl chloride biodegradation by *Pseudomonas citronellolis* and *Bacillus flexus*. *New Biotechnol.*, 52, pp.35–41.
- Gricajeva, A., Bikutė, I., Kalėdienė, L. 2019. Atypical organic-solvent tolerant bacterial hormone sensitive lipase-like homologue EstAG1 from *Staphylococcus saprophyticus* AG1: synthesis and characterization. *International journal of biological macromolecules*, 130, pp.253-265.
- Gricajeva, A., Nadda A.K., Gudiukaite, R. 2021. Insight into polyester plastic biodegradation by carboxyl ester hydrolases. *J Chem Technol Biotechnol*, 97, pp.359–80.
- Hanspach J. Making oceans plastic free - reducing plastic bag use in Indonesia. Ideas Sustain 2017. <https://ideas4sustainability.wordpress.com/2017/05/30/making-oceans-plastic-free-reducing-plastic-bag-use-in-indonesia/>.
- Haryanto, Saputri A.E. 2016. Pengembangan Bioplastik Dari Tepung Tapioka Dan Tepung Beras Ketan Putih. *Techno*, 17, pp.104–10.
- Hobley, L., Harkins, C., MacPhee, C.E., Stanley-Wall, N.R. 2015. Giving structure to the biofilm matrix: an overview of individual strategies and emerging common themes, *FEMS Microbiology Reviews*, 39(5), pp.649–669.
- Jabloune, R., Khalil, M., Moussa, I.E.B., Simao-Beauvoir, A.M., Lerat, S., Brzezinski, R., Beaulieu, C. 2020. Enzymatic degradation of p-nitrophenyl esters, polyethylene terephthalate, cutin, and suberin by Sub1, a suberinase encoded by the plant pathogen *Streptomyces scabies*. *Microbes and environments*, 35(1), p.ME19086.
- Kanwal, A., Zhang, M., Sharaf, F. 2022. Screening and characterization of novel lipase producing *Bacillus* species from agricultural soil with high hydrolytic activity against PBAT poly (butylene adipate co terephthalate) co-polyesters. *Polym. Bull.* 79, pp.10053–10076.
- Kelbessa, B.G., Ghadamgahi, F., Kumar, P.L., Ortiz, R., Whisson, S.C., Bhattacharjee, R., Vetukuri, R. R. 2022. Antagonistic and plant growth promotion of rhizobacteria against *Phytophthora colocasiae* in taro. *Frontiers in Plant Science*, 13, p.1035549.
- Kaushal, J., Khatri, M., Arya, S.K. 2021. Recent insight into enzymatic degradation of plastics prevalent in the environment: A mini-review. *Cleaner Engineering and Technology*, 2, p.100083.
- Khan, I., Nagarjuna, R., Dutta, J.R., Ganesan, R. 2019. Enzyme-Embedded Degradation of Poly(ϵ -caprolactone) using Lipase-Derived from Probiotic *Lactobacillus plantarum*. *ACS Omega*, 4, pp.2844–2852.
- Khan, M. T., Kaushik, A.C., Rana, Q.U.A., Malik, S.I., Khan, A.S., Wei, D.Q., Irfan, M. 2020. Characterization and synthetic biology of lipase from *Bacillus amyloliquefaciens* strain. *Archives of Microbiology*, 202, pp. 1497-1506.
- Kotova, I. B., Taktarova, Y. V., Tsavkelova, E. A., Egorova, M. A., Bubnov, I. A., Malakhova, D. V., Bonch-Osmolovskaya, E. A. 2021. Microbial degradation of plastics and approaches to make it more efficient. *Microbiology*, 90, 671-701.
- Kumar, A., Gudiukaite, R., Gricajeva, A., Sadauskas, M., Malunavicius, V., Kamyab, H., Pant, D. 2020. Microbial lipolytic enzymes—promising energy-efficient biocatalysts in bioremediation. *Energy*, 192, pp.116674.

- Lin, H., Mu, X., Huang, J., Jiang, H., Niu, J., Shu, Z. 2019. Comparative analysis of polyester hydrolysis activity among three lipolytic enzymes. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 94, pp.2522-2528.
- Mazhar, A., Ullah, U., Ali, U., Abbas, N., Hussain, Z., Ali, S.S., Zhu, H. 2022. Optimization of low-cost solid-state fermentation media for the production of thermostable lipases using agro-industrial residues as substrate in culture of *Bacillus amyloliquefaciens*, *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 47, pp.102559.
- Miller, M.E., Hamann, M., Kroon, F.J. 2020. Bioaccumulation and biomagnification of microplastics in marine organisms: A review and meta-analysis of current data. *PLoS One*, 15, pp.1–25.
- Mir, B. A. 2020. Laboratory study on the effect of plastic waste additive on shear strength of marginal soil. In *Sustainable Civil Engineering Practices: Select Proceedings of ICSCEP 2019*. Springer Singapore.
- Mozejko-Ciesielska, J., Marciniak, P., Moraczewski, K., Rytlewski, P., Czaplicki, S., Zadernowska, A. 2022. Cheese whey mother liquor as dairy waste with potential value for polyhydroxyalkanoate production by extremophilic *Paracoccus homiensis*. *Sustain Mater Technol*, 33, p.e00449.
- Numoto, N., Kamiya, N., Bekker, G-J., Yamagami, Y., Inaba, S., Ishii, K., 2018. Structural Dynamics of PET-degrading Cutinase-like Enzyme foam *Sccharomonospora viridis* AHK190 in Substrate-bound States Elucidates Ca²⁺ Driven Catalytic Cycle. *Biochemistry*, 57, pp.5289–300.
- Priya, A., Dutta, K., Daverey, A. 2022. A comprehensive biotechnological and molecular insight into plastic degradation by microbial community. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 97(2), pp.381-390.
- Puglisi, E., Romaniello, F., Galletti, S., Boccaleri, E., Frache, A., Cocconcelli, P. S. 2019. Selective bacterial colonization processes on polyethylene waste samples in an abandoned landfill site. *Scientific reports*, 9(1), p.14138.
- Raimi, A., Adeleke, R. 2023. 16S rRNA gene-based identification and plant growth-promoting potential of cultivable endophytic bacteria. *Agron J.*, 23(115), pp.1447–1462.
- Rini, H.S., Tyastuti, E.M., Siddiq, Y., Rahayu, T. 2023. Screening For Lipolytic Bacteria from Bonoloyo Cemetery, Surakarta. *Jurnal Pembelajaran Dan Biologi Nukleus (JPBN)*, 9(3), pp.496-505.
- Roberts, C., Edwards, S., Vague, M., León-Zayas, R., Scheffer, H., Chan, G., Mellies, J. L. 2020. Environmental consortium containing *Pseudomonas* and *Bacillus* species synergistically degrades polyethylene terephthalate plastic. *Mosphere*, 5(6), pp.10-1128.
- Sharma, P.K., Mohanan, N., Sidhu, R., Levin, D.B. 2019. Colonization and degradation of polyhydroxyalkanoates by lipase-producing bacteria. *Canadian journal of microbiology*, 65(6), pp.461-475.
- Sridharan R, Krishnaswamy, V.G., Kumar, P.S. 2021. Analysis and microbial degradation of Low-Density Polyethylene (LDPE) in Winogradsky column. *Environ Res.* 201.
- Sridharan, R., Vetrivelvan, M., Krishnaswamy, V.G., Jansi, R.S., Rishin, H., Kumar, D.T. 2021. Integrated approach in LDPE degradation - An application using Winogradsky column, computational modeling, and pathway prediction. *J Hazard Mater*, 412.
- Taghavi, N., Singhal, N., Zhuang, W. Q., & Baroutian, S. 2021. Degradation of plastic waste using stimulated and naturally occurring microbial strains. *Chemosphere*, 263, p.127975.
- Tan, E., Henahan, G.T., Kinsella, G.K., Ryan, B.J. 2021. An extracellular lipase from *Amycolatopsis mediterannei* is a cutinase with plastic degrading activity, *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 19, pp.869-879.
- Vague, M., Chan, G., Roberts, C., Swartz, N. A., & Mellies, J. L. 2019. *Pseudomonas* isolates degrade and form biofilms on polyethylene terephthalate (PET) plastic. *BioRxiv*, 647321.

- Yoshida, S., Hiraga, K., Takehana, T., Taniguchi, I., Yamaji, H., Maeda, Y, Toyohara, K., Miyamoto, K., Kimura, Y and Oda, K. 2016. A bacterium that degrades and assimilates poly(ethylene terephthalate). *Science*, 351, pp.1196-1199.
- Yoshida, S., Hiraga, K., Taniguchi, I., Oda, K. 2021. *Ideonella sakaiensis*, *PETase*, and *MHETase*: *From identification of microbial PET degradation to enzyme characterization*. In *Methods in enzymology*, Academic Press, pp. 187-205.
- Zhao, X., Niu, Z., Ma, Y., Zhang, Y., Li, Y. 2023. Metagenomic insights into the potential risks of representative bio/non-degradable plastic and non-plastic debris in the upper and lower reaches of Haihe Estuary, China. *Science of The Total Environment*, 887, p.164026.