

**ISOLASI, IDENTIFIKASI DAN UJI BIODEGRADASI BAKTERI
PENDEGRADASI PLASTIK LLDPE YANG DIISOLASI DARI TPA
PISANG KIPAS JATIMULYO, KOTA MALANG**

SKRIPSI

Oleh:
DWI YULIA ISTIQOMAH
NIM. 16630007



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2020**

**ISOLASI, IDENTIFIKASI DAN UJI BIODEGRADASI BAKTERI
PENDEGRADASI PLASTIK LLDPE YANG DIISOLASI DARI TPA
PISANG KIPAS JATIMULYO, KOTA MALANG**

SKRIPSI

Oleh:
DWI YULIA ISTIQOMAH
NIM. 16630007

**Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2020**

ISOLASI, IDENTIFIKASI DAN UJI BIODEGRADASI BAKTERI
PENDEGRADASI PLASTIK LLDPE YANG DIISOLASI DARI TPA
PISANG KIPAS JATIMULYO, KOTA MALANG

SKRIPSI

Oleh:
DWI YULLA ISTIQOMAH
NIM. 16630007

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 17 Desember 2020

Pembimbing I



Dewi Yuliani, M.Si
NIDT. 19830711 20160801 2 067

Pembimbing II



Anita Andriya Ningsih, S.S., M.Pd
NIDT. 19850402 20160801 2 087

Mengetahui,
Ketua Jurusan



Elak Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

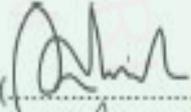
**ISOLASI, IDENTIFIKASI DAN UJI BIODEGRADASI BAKTERI
PENDEGRADASI PLASTIK LLDPE YANG DIISOLASI DARI TPA
PISANG KIPAS JATIMULYO, KOTA MALANG**

SKRIPSI

Oleh:
DWI YULIA ISTIQOMAH
NIM. 16630007

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 17 Desember 2020

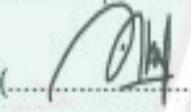
Penguji Utama : Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

()

Ketua Penguji : Febi Yusniyanti, S.Si, M.Sc
LB. 68004

()

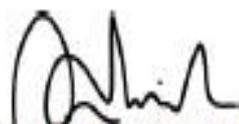
Sekretaris Penguji : Dewi Yuliani, M.Si
NIDT. 19880711 20160801 2 067

()

Anggota Penguji : Anita Andriya Ningsih, S.S, M.Pd
NIDT. 19850402 20160801 2 087

()

**Mengesahkan,
Ketua Jurusan**


Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

PERNYATAAN ORISINALITAS PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Dwi Yulia Istiqomah

NIM : 16630007

Jurusan : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Isolasi, Identifikasi dan Uji Biodegradasi Bakteri
Pendegradasi Plastik LLDPE yang Diisolasi dari TPA
Pisang Kipas, Jatimulyo, Kota Malang

Menyatakan dengan sebenar-sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil penelitian saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 22 Desember 2020



Dwi Yulia Istiqomah
NIM. 16630007

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillah Robbil alamin, dengan penuh rasa syukur kepada Allah SWT saya persembahkan hasil penelitian ini diri saya sendiri, terima kasih sudah bertahan dan berjuang dengan kesungguhan. Kemudian kepada kedua orang tua saya, Ibu Darsih dan Bapak Liman yang senantiasa mendukung dan medoakan agar saya bisa mencapai cita-cita saya. Selanjutnya tidak lupa kepada saudara saya M. Kholil dan Lilik Nur Sholikhatin, serta keluarga besar terima kasih untuk semua dukungan dan motivasinya.

Penelitian ini juga saya persembahkan untuk semua teman-teman yang telah mendukung saya baik secara moril dan materil. Terkhusus untuk teman-teman perempuan terima kasih banyak, semoga kita bisa saling mendukung dan menunjukkan bahwa kita bisa setara dengan kaum laki-laki.

MOTTO



KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, segala puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat, Taufiq dan Hidayah-Nya tiada henti kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Isolasi, Identifikasi dan Uji Biodegradasi Bakteri Pendegradasi Plastik LLDPE yang Diisolasi dari TPA Pisang Kipas Jatimulyo, Kota Malang”**.

Laporan hasil penelitian ini disusun dengan baik berkat bantuan dari pihak-pihak yang telah memberikan bimbingan dan dukungan dalam bentuk apapun. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terimakasih kepada:

1. Kedua orang tua dan keluarga yang selalu mendukung secara moril dan materiil.
2. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si., selaku ketua Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Dewi Yuliani, M.Si, selaku dosen pembimbing I yang telah memberikan bimbingan, pengarahan dan nasehat kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
4. Ibu Anita Andriya Ningsih, S.S., M.Pd, selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan arahan dan bimbingan.
5. Seluruh dosen dan laboran Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah mengalirkan ilmu, pengetahuan, pengalaman dan wawasannya sebagai pedoman dan bekal bagi penulis.
6. Teman-teman kelompok penelitian biokimia: Niswatul Azizah dan Hanif Nur Rozaq

7. Teman-teman Jurusan Kimia Angkatan 2016, khususnya kelas Kimia-A yang telah memberikan motivasi dan masukan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
8. Teman-teman yang mendukung dan membantu selama tinggal di Malang, khususnya Lutvi dan Mbak Gati serta teman-teman yang tidak bisa saya sebutkan satu-persatu yang telah memberikan semangat kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
9. Teman-teman UAPM Inovasi yang telah memberikan banyak pelajaran tentang kehidupan.

Terlepas dari segala hal, penulis menyadari bahwa laporan hasil penelitian ini masih banyak kekurangan, maka dari itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang masih bersifat membangun, baik dari segi isi maupun bentuk susunannya. Semoga tulisan ini dapat bermanfaat dan menambah khasanah ilmu pengetahuan bagi seluruh pihak.

Malang, 17 Oktober 2020

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN ORISINALITAS	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
MOTTO	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
ABSTRAK	xv
ABSTRACT.....	xvi
مستخلص البحث.....	xvii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan	5
1.4 Batasan Masalah	6
1.5 Manfaat	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Plastik LLDPE	7
2.2 Biodegradasi Plastik oleh Bakteri	8
2.3 Identifikasi LLDPE menggunakan FTIR	13
2.4 Identifikasi Bakteri	16
2.4.1 Karakteristik Morfologi.....	16
2.4.2 Pewarnaan Gram	17
2.4.3 Pewarnaan Endospora	17
2.4.4 Karakteristik Biokimia Bakteri Hasil Isolasi.....	17
2.4.4.1 Uji Fermentasi Karbohidrat.....	18
2.4.4.2 Uji Hidrolisis Polisakarida	18
2.4.4.3 Uji Hidrolisis Protein.....	18
2.4.4.4 Produksi H ₂ S	19
2.4.4.5 Pencairan Gelatin	19
2.4.4.6 Uji Katalase	19
2.4.4.7 Uji <i>Methyl Red</i>	20
2.4.4.8 Uji KOH string.....	20
2.4.4.9 Uji Motilitas	20
2.4.4.10 Uji pH terhadap Pertumbuhan Bakteri.....	20
2.4.4.11 Uji Pertumbuhan Bakteri pada Suhu.....	21
2.4.4.12 Uji Hidrolisis Urea.....	21

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat	23
3.2 Alat dan Bahan	23
3.2.1 Alat	23
3.2.2 Bahan Penelitian	24
3.3 Tahapan Penelitian	24
3.4 Cara Kerja	24
3.4.1 Pengambilan Sampel	25
3.4.2 Isolasi Bakteri Pendegradasi Plastik LLDPE	25
3.4.3 Pemurnian Isolat Bakteri	25
3.4.4 Preparasi Sampel Plastik LLDPE	25
3.4.5 Uji Biodegradasi Plastik LLDPE	26
3.4.6 Identifikasi LLDPE dengan FTIR	27
3.4.7 Identifikasi Hasil Isolasi Bakteri	27
3.4.7.1 Pewarnaan Gram	27
3.4.7.2 Uji Endospora	27
3.4.8 Uji Biokimia Hasil Isolasi Bakteri	28
3.4.8.1 Fermentasi Karbohidrat	28
3.4.8.2 Uji Hidrolisis Polisakarida	28
3.4.8.3 Uji Hidrolisis Protein	28
3.4.8.4 Produksi H ₂ S	29
3.4.8.5 Pencairan Gelatin	29
3.4.8.6 Uji Katalase	29
3.4.8.7 Uji <i>Methyl Red</i>	29
3.4.8.8 Uji KOH string	30
3.4.8.9 Uji Motilitas	30
3.4.8.10 Uji pH terhadap Pertumbuhan Bakteri	30
3.4.8.11 Uji Pertumbuhan Bakteri pada Suhu	31
3.4.8.12 Uji Hidrolisis Urea	31

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Isolasi dan Pengamatan Morfologi Bakteri	32
4.2 Uji Morfologi Bakteri Hasil Isolasi	33
4.2.1 Pewarnaan Gram	33
4.2.2 Pewarnaan Endospora	34
4.3 Uji Biokimia Hasil Isolasi Bakteri	34
4.3.1 Uji Fermentasi Karbohidrat	34
4.3.2 Uji Hidrolisis Polisakarida	35
4.3.3 Uji Hidrolisis Protein	35
4.3.4 Produksi H ₂ S	35
4.3.5 Pencairan Gelatin	36
4.3.6 Uji Katalase	36
4.3.7 Uji <i>Methyl Red</i>	37
4.3.8 Uji KOH string	37
4.3.9 Uji Motilitas	37
4.3.10 Uji pH terhadap Pertumbuhan Bakteri	38
4.3.11 Uji Pertumbuhan Bakteri terhadap Suhu	38
4.3.12 Uji Hidrolisis Urea	39

4.4 Identifikasi Bakteri secara Manual menggunakan buku Pedoman <i>Bergey's Manual of Determination Bacteriology</i>	39
4.5 Preparasi Plastik LLDPE.....	42
4.6 Analisis Kemampuan Degradasi Plastik LLDPE.....	43
4.7 Isolasi dan Identifikasi Bakteri menurut Pandangan Islam	47
BAB V PENUTUP	
5.1 Kesimpulan.....	51
5.2 Saran	51
DAFTAR PUSTAKA	52
LAMPIRAN	57



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur kimia LLDPE	7
Gambar 2.2 Mekanisme degradasi plastik menggunakan mikroorganisme	11
Gambar 2.3 Hasil analisis FTIR pada plastik degradasi <i>Bacillus cereus</i>	14
Gambar 2.4 Hasil analisis FTIR pada plastik degradasi <i>Pseudomonas putida</i> ...	14
Gambar 4.1 Isolat BP2 pada medium MSM Agar	32
Gambar 4.2 Hasil pewarnaan gram.....	33
Gambar 4.3 Hasil pewarnaan endospora	34
Gambar 4.4 Hasil uji hidrolisis polisakarida.....	35
Gambar 4.5 Hasil pengujian produksi H ₂ S	36
Gambar 4.6 Hasil uji katalase	37
Gambar 4.7 Grafik pertumbuhan bakteri pada pH berbeda	38
Gambar 4.8 Grafik pertumbuhan bakteri pada suhu berbeda	39
Gambar 4.9 Dendogram hubungan antar bakteri menggunakan cara <i>Simple Matching Coefficient</i>	41
Gambar 4.10 Hasil analisis FTIR substrat LLDPE hasil preparasi	43
Gambar 4.11 Penampakan kultur isolat BP2 pada degradasi plastik.....	44
Gambar 4.12 Hasil analisis FTIR substrat LLDPE hasil degradasi.....	46

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Jenis-jenis bakteri pendegradasi plastik.....	13
Tabel 4.1 Pengamatan makroskopik isolat BP2.....	33
Tabel 4.2 Pengamatan mikroskopik dan biokimia isolat BP2.....	40
Tabel 4.3 Matriks similiaritas <i>simpel matching coefficient</i> isolat BP2.....	41



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Rancangan Penelitian	57
Lampiran 2 Diagram Alir.....	58
Lampiran 3 Perhitungan.....	67
Lampiran 4 Hasil Analisis FTIR.....	69
Lampiran 5 Data Hasil Penelitian	72
Lampiran 6 Dokumentasi.....	74
Lampiran 7 Hasil Analisis Similiaritas menggunakan MVSP.....	76



ABSTRAK

Istiqomah, D. Y. 2020. **Isolasi, Identifikasi dan Uji Biodegradasi Bakteri Pendegradasi Plastik LLDPE yang Diisolasi dari TPA Pisang Kipas Jatimulyo, Kota Malang.** Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Dewi Yuliani, M.Si; Pembimbing II: Anita Andriya Ningsih, S.S., M.Pd

Kata kunci : isolasi, bakteri, degradasi plastik, LLDPE, uji biokimia, FTIR

Plastik masih menjadi salah satu kebutuhan manusia yang sulit dihindari, meski kampanye *zero waste* sudah dilakukan sejak tahun 2018. Hal ini menyebabkan sampah plastik semakin meningkat setiap tahun, salah satunya yaitu *LinierLow Density Polyethylene* (LLDPE). Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi dan mengetahui aktivitas degradasi bakteri yang diisolasi dari TPA Jalan Pisang Kipas, Kota Malang terhadap plastik LLDPE sebagai salah satu upaya untuk mengurangi jumlah sampah plastik di lingkungan. Identifikasi isolat bakteri dilakukan secara makroskopik, mikroskopik, uji biokimia dan dianalisis menggunakan *Bergey's Manual of Determination Bacteriology Second Edition Volume Three*. Plastik LLDPE dipreparasi menggunakan sinar UV, KMnO_4/HCl dan asam sitrat. Penentuan aktivitas degradasi isolat bakteri dilakukan dalam rentang waktu 45 hari masa inkubasi. Analisis perubahan gugus fungsi menggunakan spektrofotometer FTIR (*Fourier Transform Infra Red*). Isolat BP2 yang berhasil diisolasi memiliki kemiripan dengan bakteri *Bacillus sporothermodurans* sebesar 95,7%. Plastik yang telah dipreparasi memiliki permukaan yang lebih keruh (buram). Puncak baru yang muncul pada preparasi UV, KMnO_4/HCl dan asam sitrat yaitu 1168 cm^{-1} , 878 cm^{-1} , 1188 cm^{-1} , 1085 cm^{-1} , 905 cm^{-1} dan 805 cm^{-1} . Perbedaan aktivitas degradasi tidak terlalu signifikan. Pada plastik dengan preparasi aktivitas degradasi sebesar $0,99 \pm 0,0031\%$ sedangkan pada plastik tanpa preparasi sebesar $0,61 \pm 0,0022\%$. Puncak baru pada plastik dengan preparasi ada di wilayah 1942, 1747, 1651, 1179, 1083, 901 dan 801 cm^{-1} . Pada plastik tanpa preparasi muncul puncak didaerah 1748, 1650, 1541, dan 1147 cm^{-1} .

ABSTRACT

Istiqomah, D. Y. 2020. **Isolation, Identification and Biodegradation Test of LLDPE Plastic Degradation Bacteria Isolated from TPA Pisang Kipas Jatimulyo, Malang City.**Departement of Chemistry, Faculty of Science and Technology, State Islamic University Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor I: Dewi Yuliani, M.Si; Supervisor II: Anita Andriya Ningsih, S.S., M.Pd

Keywords :isolation, bacteria, plastic degradation, LLDPE, biochemical tests, FTIR

Plastic is still one of the human needs that is difficult to avoid, even though the zero waste campaign has been carried out since 2018. This has caused plastic waste to increase every year, one of which is Linear Low Density Polyethylene (LLDPE). This study aims to identify and to determine the degradation activity of bacteria isolated from TPA Jalan Pisang Kipas, Malang City against LLDPE plastics as an effort to reduce the amount of plastic waste in the environment. The identification of bacterial isolates was carried out by macroscopic, microscopic, biochemical tests and analyzed using Bergey's Manual of Determination Bacteriology Second Edition Volume Three. LLDPE plastic was prepared using UV light, KMnO_4 / HCl and Citric Acid. Determination of the degradation activity of bacterial isolates was carried out within 45 days of the incubation. Analysis of functional group using a FTIR (Fourier Transform Infra Red) spectrophotometer. The BP2 isolate that was successfully isolated was 95.7% similar to the *Bacillus sporothermodurans*. Plastic that has been prepared has a more cloudy (opaque) surface. New peaks on plastics preparations using UV, KMnO_4 / HCl and citric acid appeared at 1168 cm^{-1} , 878 cm^{-1} , 1188 cm^{-1} , 1085 cm^{-1} , 905 cm^{-1} and 805 cm^{-1} . The difference in degradation activity was not very significant. In plastics with preparation the degradation activity was $0.99 \pm 0.0031\%$, while in plastics without preparation it was $0.61 \pm 0.0022\%$. New peaks in prepared plastics were in the 1942 , 1747 , 1651 , 1179 , 1083 , 901 and 801 cm^{-1} regions. On plastics without preparation, a peak appeared in the area of 1748 , 1650 , 1541 , and 1147 cm^{-1} .

مستخلص البحث

إستقامة ، د. ي. 2020. اختبار العزل والتعريف والتحلل الحيوي ليكتيريا تحلل البلاستيكالبولي إيثيلين الخطي منخفض الكثافة (Linier Low Density Polyethylene/LLDPE) المعزولة منمكب نفايات(TPA) فيسانغ كيفاس جاتيمليو ،مدينة مالانج.البحث العلمي. قسم الكيمياء ، كلية العلوم و التكنولوجيا ، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرف الأول : ديوي يولياني الماجستير ؛ المشرف الثاني : أنيتا أندريا نينغسيهاالماجستير .
الكلمات المفتاحية: العزل ، البكتيريا ، تحلل البلاستيك ،البولي إيثيلين الخطي منخفض الكثافة(LLDPE) ، الاختبارات البيوكيميائية ،مجمع قاعدة شيف ، فوريبه تحويل الأشعة تحت الحمراء (FTIR)

لا يزال البلاستيك أحد الاحتياجات البشرية التي يصعب تجنبها ، على الرغم من تنفيذ حملة " صفر نفايات" منذ عام 2018. وقد أدى ذلك إلى زيادة النفايات البلاستيكية كل عام ، أحدها البولي إيثيلين الخطي منخفض الكثافة (LLDPE) تهدف الدراسة إلى تحديد وتحديد نشاط التحلل للبكتيريا المعزولة من موقع التخلص النهائي في (TPA) فيسانغ كيفاس جاتيمليو ، مدينة مالانج ضد المواد البلاستيكيةالبولي إيثيلين الخطي منخفض الكثافة (LLDPE) كمشاهدة لتقليل كمية النفايات البلاستيكية في البيئة تم التعرف على العزلات البكتيرية عن طريق الاختبارات الميكروسكوبية والميكروسكوبية والكيميائية الحيوية وتم تحليلها باستخدام دليل بيرجي لتحديد الجراثيم ، الإصدار الثاني ، المجلد الثالث. تم تحضير بلاستيك LLDPE باستخدام ضوء الأشعة فوق البنفسجية ، KMnO4 / HCl وحمض الستريك. تم تحديد فاعلية التحلل للعزلات البكتيرية خلال 45 يوم من الحضارة. تحليل مجموعة وظيفية باستخدام مقياس الطيف الضوئي FTIR (تحويل فوريبه للأشعة تحت الحمراء). كانت عزلة BP2 التي تم عزلها بنجاح 95.7% مشابهة لعزلة *Bacillus sporothermodurans*. البلاستيك الذي تم تحضيره له سطح أكثر تعكراً (غير شفاف). ظهرت قمم جديدة على مستحضرات البلاستيك باستخدام UV و KMnO4 / HCl وحمض الستريك عند 1168 سم-1 ، 1878 سم-1 ، 1188 سم-1 ، 1085 سم-1 ، 905 سم-1 و 805 سم-1. لم يكن الاختلاف في نشاط التحلل كبير جدا. في اللدائن مع التحضير كان نشاط التحلل $0.0031 \pm 0.99\%$ ، بينما في اللدائن بدون تحضير كان $0.61 \pm 0.0022\%$. كانت القمم الجديدة في اللدائن الجاهزة في مناطق 1942 و 1747 و 1651 و 1179 و 1083 و 901 و 801 سم-1. على البلاستيك بدون تحضير ، ظهرت ذروة في مساحة 1748 و 1650 و 1541 و 1147 سم-1.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Produksi sampah plastik semakin meningkat setiap tahun. Menurut *Environmental Protection Agency* (EPA) (2016), sekitar 1 triliun kantong plastik digunakan dan dibuang di seluruh dunia per tahun. Proses daur ulang hanya dapat mengembalikan 9% dari keseluruhan limbah plastik tersebut, sedangkan sisanya diproses dengan pengabuan (12%) dan penimbunan (79%) (Geyer dkk., 2017).

Kementrian Lingkungan Hidup dan Kehutanan (KLHK) dan Greeneration Indonesia tahun 2016 juga pernah melakukan riset dan mengetahui bahwa setiap tahunnya masyarakat Indonesia mengkonsumsi sekitar 9,8 miliar lembar kantong plastik. Pada tahun 2019 KLHK menyatakan bahwa sampah plastik di Indonesia mengalami peningkatan menjadi 15% dari tahun 2005 yang hanya 11%. Jika diakumulasikan kedalam berat, maka ada sebanyak 175.000 ton sampah plastik per hari atau setara dengan 64 juta ton sampah per tahun di Indonesia. Sebanyak 10% -15% sampah tersebut mampu didaur ulang, sedangkan 15%-30% terbang ke sungai, danau dan laut. Sisanya sekitar 60%-70% tertimbun di Tempat Pembuangan Akhir (TPA).

Salah satu sampah yang tertimbun adalah polietilen. Polietilen dibagi menjadi tiga jenis, yaitu: *Low Density Polyethylene* (LDPE), *Linier Low Density Polyethylene* (LLDPE), dan *High Density Polyethylene* (HDPE) (Susanto, 2010). Pemanfaatan plastik jenis LLDPE hampir sama dengan plastik lain yaitu untuk kantong roti kantong sampah, karton susu dan juga gelas minuman. LLDPE juga

menjadi kantong plastik yang paling sering digunakan karena sifatnya yang kuat dan tahan terhadap minyak.

Bakteri pendegradasi plastik dapat diisolasi dari tanah seperti yang telah dilakukan oleh Dey, dkk. (2016) dan Muhonja dkk. (2018). Tanah juga menjadi salah satu habitat asli bakteri *indigenous* pendegradasi plastik. Pada penelitian ini akan dilakukan pengambilan plastik pada timbunan tanah dari TPA, tepatnya di Jalan Pisang Kipas, Kelurahan Jatimulyo, Kecamatan Lowokwaru, Kota Malang. Pengolahan sampah pada TPA ini juga masih sangat konvensional yaitu dengan penimbunan dan pembakaran. Dinas Lingkungan Hidup Kota Malang pada tahun 2019 sudah merencanakan untuk membuat *sanitary landfill*, namun hingga Maret 2020 rencana ini belum terlaksana.

Penelitian yang dilakukan Dey, dkk. (2016) berhasil mengisolasi *Staphylococcus sp*, *Pseudomonassp*, *Bacillus sp* dengan kemampuan degradasi sebesar 22,7-35% dengan interval waktu degradasi dari 20, 30, dan 40 hari. Bakteri dengan jenis *Rhodococcus jostii*, *Bacillus simplex*, *Bacillus sp* menghasilkan kemampuan degradasi sebesar 60% pada plastik jenis LDPE dengan lama inkubasi 60 hari (Lwanga, dkk., 2018). *Bacillus cereus* dan *Brevibacillus borstelensis* memiliki kemampuan mendegradasi plastik jenis LDPE sebesar 4,01-35,72% dan 2,30-20,28% dengan variasi lama degradasi 2, 3, dan 4 bulan (Muhonja, dkk., 2018).

Ayat Al Quran yang bisa digunakan sebagai dasar atau rujukan penciptaan mikroorganisme adalah surat Al-Baqarah ayat 164, sebagai berikut :

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ وَالْفَلَاقِ اللَّيْلِ تَجْرِي فِي الْبَحْرِ بِمَا يَنْفَعُ النَّاسَ وَمَا أَنْزَلَ اللَّهُ مِنَ السَّمَاءِ مِنْ مَّاءٍ فَأَحْيَا بِهِ الْأَرْضَ بَعْدَ مَوْتِهَا وَبَثَّ فِيهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ وَتَصْرِيفِ الرِّيْحِ وَالسَّحَابِ الْمُسَخَّرِ بَيْنَ السَّمَاءِ وَالْأَرْضِ لَآيَاتٍ لِقَوْمٍ يَعْقِلُونَ ﴿١٠﴾

“*Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, silih bergantinya malam dan siang, bahtera yang berlayar di laut membawa apa yang berguna bagi manusia, dan apa yang Allah turunkan dari langit berupa air, lalu dengan air itu Dia hidupan bumi sesudah mati (kering)-nya dan Dia sebarkan di bumi itu segala jenis hewan, dan pengisaran angin dan awan yang dikendalikan antara langit dan bumi; sungguh (terdapat) tanda-tanda (keesaan dan kebesaran Allah) bagi kaum yang memikirkan*” (Kementerian Agama RI, 2002).

Allah Ta’ala berfirman : *Inna fii khalqi alsamaawaatii waal’ardhi*

“Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi” yaitu dalam hal ketinggian,kelembutan, dan keluasannya, serta bintang-bintang yang bergerak dan yang diam,juga peredarannya pada orbitnya. Juga dalam ketebalan dan kerendahan bumi,gunung dan laut. Demikian pula kesunyian, kesenyapan dan keramaiannya serta seluruh manfaat yang ada di dalamnya (Abdullah, 2007).

Firman Allah Ta’ala selanjutnya: *Waalfulki allaatii tajrii fii albahrii*

bimaa yanfa’u alnnaasa “Dan bahtera yang berlayar di lautmembawa apa yang berguna bagi manusia” artinya Allah Ta’ala menghamparkan lautsehingga bahtera itu dapat berlayar dari satu sisi ke sisi yang lain untuk kepentingankehidupan manusia. Selanjutnya : *wabatstsa fiihaa min kulli daabbatin* “Dan Diasebarkan di bumi itu segala jenis hewan” dalam berbagai macam bentuk, warna,ukuran, dan manfaatnya. Dan dia mengetahui semua itu dan memberikan rizkikepadanya, tidak ada satupun dari hewan-hewan itu yang tidak terjangkau atautersebunyi dari-Nya (Abdullah, 2007).

Firman Allah yang ketiga : *Watashriifi alrriyaahi* “Danpengisaran angin”

yakni, terkadang angin datang membawa rahmat dan terkadangberhembus

membawa bencana. Selanjutnya : *waalssahaabi almusakhkhari bayna alsamaa-i waal-ardhi* “Dan awan yang dikendalikan antara langit dan bumi”Maksudnya yang berarak di antara langit dan bumi, yang diarahkan Allah menuju wilayah dan tempat-tempat mana saja yang Dia kehendaki, Dia-lah yang mengendalikannya. Firman terakhir : *Laaayatin liqawmin ya'qiluun* “sungguh terdapat tanda-tanda (keesaan dan kebesaran Allah) bagi kaum yang memikirkan” Yakni, pada semuanya itu terdapat bukti-bukti nyata yang menunjukkan keesaan Allah Ta'ala (Abdullah, 2007).

Tasir tersebut juga dapat digunakan sebagai rujukan penemuan sel (sesuatu yang belum diketahui manusia sebelumnya). Setelah penemuan sel yang dapat diamati di bawah mikroskop. Orang-orang mulai curiga tentang adanya makhluk hidup lain yang berukuran kecil. Penelitian ini terus dikembangkan hingga manusia dapat melihat berbagai macam jenis bakteri, jamur dan sel-sel hidup lain. Sedangkan pada penelitian selanjutnya berusaha mengungkapkan atau menunjukkan manfaat dari makhluk-makhluk mikro ciptaan Allah, seperti halnya yang akan dilakukan pada penelitian ini.

Penelitian ini akan mengambil bakteri yang spesifik untuk mendegradasi LLDPE. Bakteri yang didapatkan akan diidentifikasi dengan cara uji morfologi dan karakterisasi biokimia. Uji morfologi dilakukan dengan pewarnaan gram dan pewarnaan endospora serta dilakukan pengamatan bentuk terhadap isolat bakteri yang berhasil dimurnikan.

Karakterisasi biokimia yang dilakukan antara lain adalah uji fermentasi karbohidrat (sukrosa dan laktosa) yaitu untuk mengetahui apakah bakteri yang didapatkan nantinya mampu memfermentasi gula-gula tersebut dan hasil positif

ditunjukkan dengan adanya gelembung CO₂ pada tabung reaksi. Uji selanjutnya adalah uji hidrolisis polisakarida, yaitu untuk mengetahui apakah bakteri memiliki enzim amilase. Sedangkan uji-uji lain yang digunakan adalah uji hidrolisis kasein, uji produksi H₂S, pencairan gelatin, uji katalase, uji Methyl Red (MR), uji motilitas, uji KOH string, uji suhu dan pH pertumbuhan bakteri serta uji hidrolisis urea terhadap bakteri (Gandjar, dkk., 1992; Hajar, 2012).

Berdasarkan latar belakang di atas maka akan dilakukan penelitian tentang kemampuan degradasi yang dimiliki oleh bakteri yang berasal dari tanah tempat pembuangan akhir. Bakteri yang didapatkan akan diujikan pada plastik jenis LLDPE dengan perbedaan lama degradasi yaitu 45 hari dengan identifikasi menggunakan FTIR untuk mengetahui perubahan gugus fungsi polimer plastiknya.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, rumusan masalah penelitian ini sebagai berikut :

1. Bagaimana aktivitas degradasi isolat bakteri terhadap plastik LLDPE?
2. Bagaimana hasil identifikasi molekuler bakteri pendegradasi plastik LLDPE secara morfologi dan karakterisasi biokimianya?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Mengetahui aktivitas degradasi bakteri hasil isolasi dari tanah TPA terhadap plastik LLDPE.

2. Mengetahui hasil identifikasi bakteri yang mampu mendegradasi plastik LLDPE secara morfologi dan karakterisasi biokimianya.

1.4 Batasan Masalah

Adapun batasan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Sampel plastik yang tertimbun tanah diambil dari tempat pembuangan akhir (TPA) di Jalan Pisang Kipas, Kel. Jatimulyo, Kec. Lowokwaru, Kota Malang.
2. Plastik yang digunakan adalah plastik industri dengan komponen utamanya yaitu LLDPE.

1.5 Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai aktivitas degradasi dan keragaman molekular bakteri hasil isolasi dari tanah TPA terhadap plastik LLDPE. Hal ini dilakukan sebagai upaya dalam pengurangan jumlah limbah plastik yang ada di lingkungan. Selain itu penelitian ini juga diharapkan dapat digunakan sebagai literatur penunjang penelitian-penelitian selanjutnya.

LLDPE mempunyai kekuatan yang lebih baik dibandingkan LDPE dengan densitas yang sama. Jenis ini telah dipakai untuk berbagai macam aplikasi, salah satunya untuk kemasan. Polimer jenis ini memiliki sifat fisik dan mekanik yang baik, tetapi sedikit sulit di proses dan mudah terjadi *melt fracture*, oleh sebab itu memerlukan mesin ekstrusi jenis tertentu untuk pemrosesannya. LLDPE memiliki massa jenis antara 0,915-0,925 g/cm³ dan merupakan polimer yang memiliki cabang yang panjang dengan beberapa cabang yang pendek. LLDPE bersifat kenyal, tak mudah sobek dan tahan kelembaban dan bahan kimia, sehingga banyak digunakan untuk film atau bahan pembungkus, isolator listrik, pelapis kawat dan kabel (Susanto, 2010).

2.2 Biodegradasi Plastik oleh Bakteri

Biodegradasi polimer plastik merupakan suatu proses alami dimana mikroorganisme menggunakan kompleks bahan organik sebagai sumber karbon dan energi dan secara biologi mengubahnya menjadi bentuk yang lebih sederhana. Sebagaimana mikroorganisme memiliki karakter yang berbeda-beda, maka proses degradasi pun bervariasi dari satu mikroorganisme ke mikroorganisme lainnya (Das dan Kumar, 2013).

Al-Qur'an juga menjelaskan sebelum manusia diciptakan, keadaan langit dan bumimenyatu dan air sebagai sumber kehidupan. Sebagaimana dalam surat Al-Anbiya' ayat 30, sebagai berikut :

أَوْ لَمْ يَرَ الَّذِينَ كَفَرُوا أَنَّ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضَ كَانَتَا رَتْقًا فَفَتَقْنَاهُمَا وَجَعَلْنَا مِنَ الْمَاءِ كُلَّ شَيْءٍ حَيٍّ أَفَلَا يُؤْمِنُونَ

“Dan apakah orang-orang yang kafir tidak mengetahui bahwasanya langit dan bumi itu keduanya dahulu menyatu, kemudian Kami pisahkan antara keduanya. Dan Kami jadikan segala sesuatu yang hidup dari air. Maka mengapakah mereka tiada juga beriman?”

Maksud dari ayat ini adalah sebelum manusia diciptakan, keadaan langit dan bumi pada awalnya adalah menyatu kemudian Allah memisahkan keduanya sehingga langit berada di atas dan bumi berada di bawahnya. Dia menjadikan fungsinya masing-masing; langit berfungsi sebagai atap dan bumi sebagai hamparannya yang gersang. Kemudian, Allah menciptakan air sebagai sumber kehidupan. Karena air itu memiliki kandungan unsur sehingga bumi menjadi subur lalu tumbuh di atasnya tumbuhan dan tanaman yang dapat dimanfaatkan manusia dan hewan.

Penciptaan Allah ada yang bisa dilihat dengan mata telanjang dan ada pula yang hanya bisa dilihat dengan menggunakan alat bantu misalnya saja dengan mikroskop. Salah satu contohnya adalah mikroorganisme. Allah menciptakan makhluk hidup tidak hanya merugikan tetapi juga menguntungkan. Contohnya mikroorganisme yang dapat menyuburkan tanah. Hal ini menunjukkan kekuasaan Allah yang begitu besar untuk menciptakan segala sesuatu yang dikehendakinya.

Mikroorganisme juga banyak berperan pada proses biodegradasi plastik seperti bakteri, jamur dan aktinomicetes. Proses terjadinya biodegradasi plastik pada lingkungan dimulai dengan tahap degradasi kimia yaitu proses oksidasi molekul yang menghasilkan polimer dengan berat molekul rendah. Proses berikutnya adalah serangan mikroorganisme dengan memanfaatkan enzim yang dihasilkannya. Selama biodegradasi berlangsung, terjadi proses depolimerasi dimana eksoenzim dari mikroba akan memecah polimer kompleks menjadi rantai pendek oligomer dan monomer sehingga dapat melewati membran semi

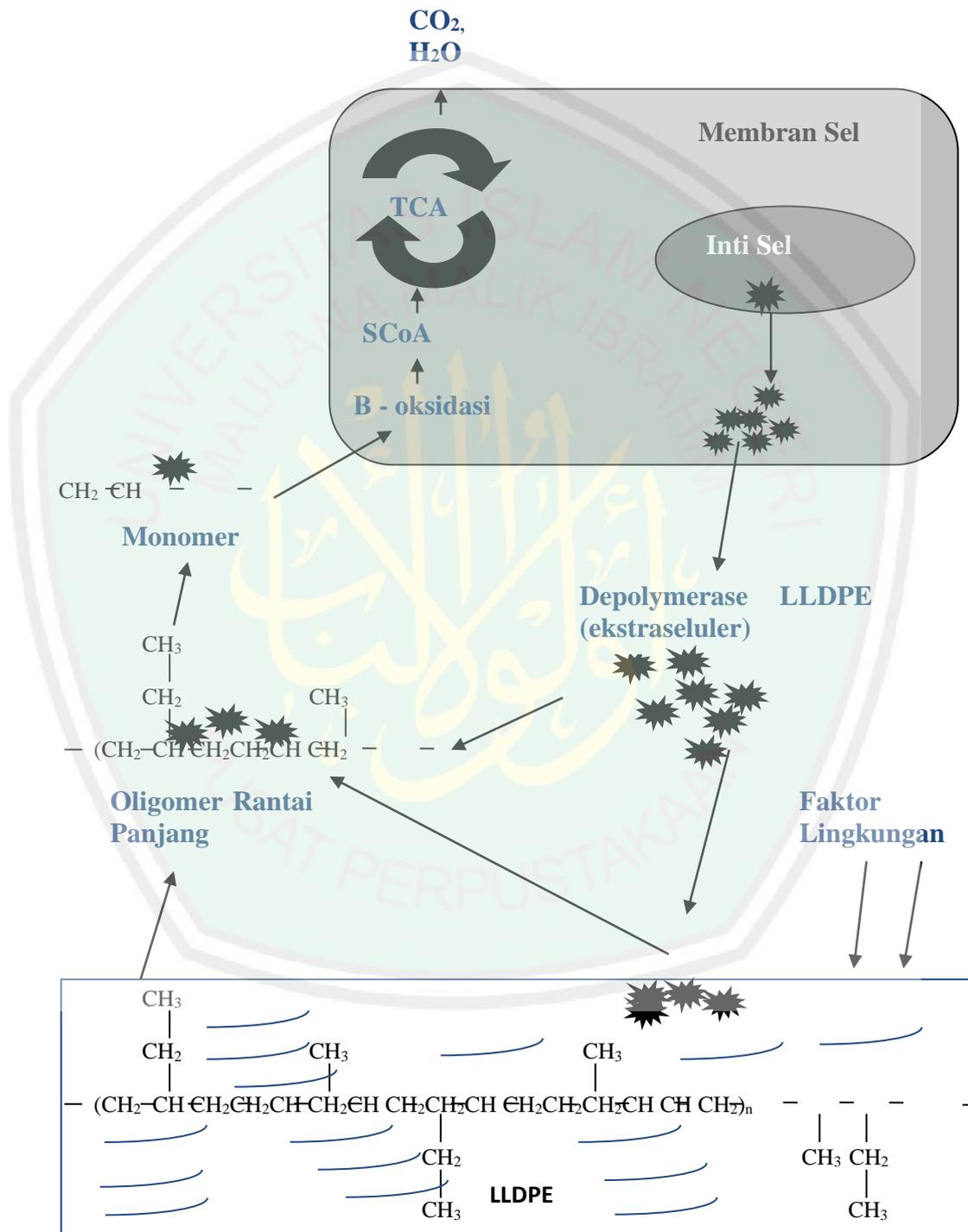
permeabel mikroba, yang kemudian dapat digunakan sebagai sumber karbon dan energi. Selanjutnya terjadi proses mineralisasi dimana terjadi pengubahan fragmen oligomer dan monomer menjadi produk akhir seperti karbon dioksida, air atau metana (Gu,dkk., 2003).

Kecepatan biodegradasi tergantung beberapa faktor yakni kelembapan, jenis mikroorganisme, temperatur, pH, jenis polimer dan ketebalan polimer. Kondisi biodegradasi yang meliputi pH, suhu, nutrisi, mineral, oksigen dan kelembapan disesuaikan dengan jenis mikroorganisme yang digunakan. Bahan-bahan polimer yang dilepaskan ke lingkungan akan mengalami degradasi secara fisika, kimia dan biologi atau kombinasinya yang tergantung pada adanya kelembapan, udara, temperatur, cahaya (*photo-degradation*), radiasi energi tinggi (UV, *gamma-radiation*) atau oleh hadirnya mikroorganisme (bakteri atau jamur) (Arutchelvi,dkk., 2008).

Menurut Arutchelvi,dkk. (2008), biodegradasi polimer dimulai dengan melekatnya mikroorganisme di permukaan polimer. Selanjutnya mikroorganisme akan menggunakan polimer sebagai sumber karbon. Kemudian bakteri akan mendegradasi rantai utama dari polimer. Rantai utama akan diputus menjadi monomer-monomer etilen yang kemudian akan masuk ke dalam siklus asam sitrat dan memulai biodegradasi akhir dengan pengubahan menjadi CO₂ dan H₂O.

Mikroorganisme dapat melekat di permukaan jika permukaan polimer adalah hidrofilik. Polipropilen (PP) dan Polietilen (PE) hanya memiliki CH₂, maka permukaannya adalah hidrofobik. Permulaan degradasi secara fisika dan kimia menyebabkan penyisipan group hidrofilik pada permukaan polimer yang membuatnya menjadi semakin hidrofilik (penyisipan group hidrofilik juga

menurunkan energi permukaan). Organisme kemudian melekat dipermukaan dan bertumbuh dengan menggunakan polimer tersebut sebagai sumber karbon (Balasubramanian, dkk., 2014).



Gambar 2.2 Mekanisme degradasi plastik menggunakan mikroorganisme

Pada degradasi primer rantai utama terputus, menyebabkan pembentukan fragmen dengan berat molekul rendah (oligomer), dimer dan monomer. Degradasi tergantung pada enzim ekstraseluler yang disekresikan oleh mikroorganisme. Senyawa dengan berat molekul rendah ini lebih lanjut akan digunakan mikroba sebagai sumber energi dan karbon. Mekanisme degradasi plastik oleh bakteri secara umum seperti Gambar 2.2 (Balasubramanian, dkk., 2014).

Selama proses degradasi, enzim-enzim ekstraseluler memecah kompleks polimer membentuk rantai-rantai pendek atau molekul-molekul yang lebih kecil, seperti oligomer, dimer dan monomer, yang ukurannya cukup kecil untuk melewati membran semipermeabel mikroba. Proses ini disebut depolimerisasi. Molekul-molekul rantai pendek ini selanjutnya akan dimineralisasi menjadi produk akhir, yaitu CO₂, H₂O, atau CH₄, yang selanjutnya akan dimanfaatkan sebagai sumber karbon dan energi (Gu, dkk., 2003).

Salah satu mikroba yang diketahui dapat membantu dalam proses degradasi plastik adalah bakteri. Terdapat beberapa bakteri yang dapat mendegradasi plastik secara *in vitro* dengan memanfaatkan plasticizers dalam plastik sebagai sumber karbon seperti *Pseudomonas aeruginosa* dan *Brevibacteriumsp.* Untuk dapat merombak plastik, bakteri harus dapat mengkontaminasi lapisan plastik dan menggunakan komponen pada plastik sebagai sumber nutrisi. Kecepatan bakteri untuk mendegradasi sangat dipengaruhi oleh struktur dan jenis mikroorganisme (bakteri) yang digunakan (Murti, 2014). Menurut beberapa sumber kemampuan degradasi bakteri seperti pada Tabel 2.1:

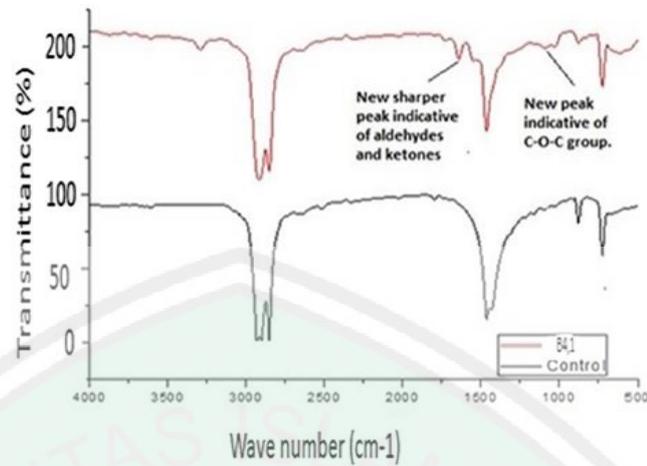
Tabel 2.1 Jenis-jenis bakteri pendegradasi plastik

Jenis Bakteri	Kemampuan Degradasi	Sumber
<i>Staphylococcus sp,</i>	22,7-35%	Dey, dkk., 2016
<i>Pseudomonas sp,</i>	Lama Inkubasi 20-40	
<i>Bacillus sp</i>	hari.	
<i>Bacillus cereus</i> dan	4.01-35,72% dan 2.30-	Muhonja, dkk., 2018
<i>Brevibacillus</i>	20,28%	
<i>borstelensis</i>	Lama inkubasi : 2-4	
	bulan	
<i>Rhodococcus jostii,</i>	± 60%	Lwanga, dkk., 2018
<i>Bacillus simplex,</i>	Lama inkubasi : 1 bulan	
<i>Bacillus sp</i>		

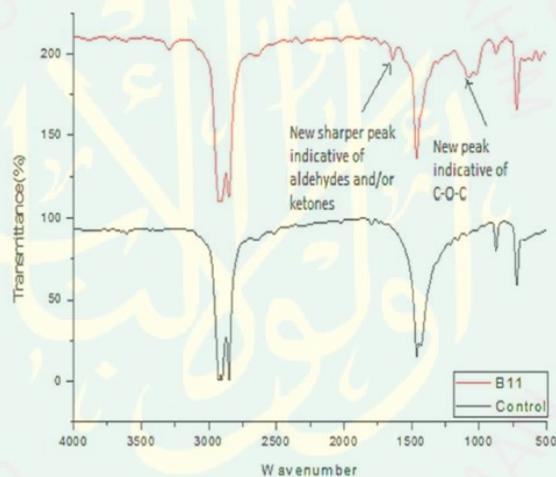
2.3 Identifikasi LLDPE menggunakan FTIR

Karakterisasi dengan menggunakan FTIR bertujuan untuk mengetahui jenis-jenis vibrasi antar atom. FTIR juga digunakan untuk menganalisa senyawa organik dan anorganik serta analisa kualitatif dan analisa kuantitatif dengan melihat kekuatan absorpsi senyawa pada panjang gelombang 4000-400 cm^{-1} (Hindrayawati dan Alimuddin, 2010; Mujiyanti dkk., 2010). Prinsip kerja FTIR berupa infrared yang melewati celah kesampel, dimana celah tersebut berfungsi mengontrol jumlah energi yang disampaikan kepada sampel. Kemudian beberapa infrared diserap oleh sampel dan yang lainnya ditransmisikan melalui permukaan sampel sehingga sinar infrared lolos ke detektor dan sinyal yang terukur kemudian dikirim ke komputer (Giwangkara, 2006).

Penelitian ini menggunakan FTIR untuk melihat adanya perbedaan dari plastik sebelum dipreparasi, setelah dipreparasi dan setelah didegradasi. Pada plastik yang telah mengalami proses degradasi akan memunculkan adanya puncak-puncak baru seperti penelitian yang dilakukan oleh Muhonja, dkk.(2018) pada Gambar 2.3:



Gambar 2.3 Hasil analisis FTIR pada plastik degradasi *Bacillus cereus*



Gambar 2.4 Hasil analisis FTIR pada plastik degradasi *Pseudomonas putida*

Hasil analisis FTIR menunjukkan pembentukan puncak baru di wilayah antara 1700 dan 1650 cm^{-1} . Selain itu juga memunculkan puncak baru yang dapat dilihat di wilayah antara 1000 dan 1100 cm^{-1} . Puncak baru pada $1700 \pm 1650\text{ cm}^{-1}$ adalah indikasi pembentukan aldehida dan keton yang merupakan produk antara dari biodegradasi polietilen. Selanjutnya pada wilayah puncak dengan panjanggelombang $1000 \pm 1200\text{ cm}^{-1}$ mengindikasikan terbentuknya alkohol

primer dan sekunder. Pita utama dari lembar LDPE yang diteliti terdiri dari sebuah pita yang terletak sekitar 2900 cm^{-1} yang merupakan panjang gelombang dari gugus CH_2 (Muhonja, dkk., 2018). Hasil serupa juga dapat dilihat pada analisis FTIR hasil degradasi menggunakan *Pseudomonas putida* pada Gambar 2.4.

2.4 Identifikasi Bakteri

Identifikasi bakteri meliputi karakterisasi secara morfologi dan biokimia. Monograf yang dapat digunakan dalam identifikasi bakteri ini mengacu pada *Bergey's Manual Systematic Bacteriology Second Edition Volume Three* (Whitman, dkk., 2009).

2.4.1 Karakteristik Morfologi

Karakteristik morfologi bakteri dapat diketahui dengan melakukan pengamatan baik secara makroskopik maupun dengan pengamatan mikroskopik. Pengamatan makroskopik bakteri dapat dilakukan pada medium NA dalam cawan petri. Penampakan bakteri secara makroskopik pada medium NA dalam cawan meliputi pigmentasi dan bentuk koloni (Cappuccino dan Sherman, 2002).

Bakteri yang memiliki *chromogene* memperlihatkan perbedaan warna, sedangkan bakteri yang tidak memiliki *chromogene* memperlihatkan pertumbuhan berwarna putih (Benson, 2015). Bentuk pertumbuhan goresan garis tunggal di atas permukaan agar dikelompokkan menjadi *filiform* (bersambungan, seperti benang, dengan tepian halus), *echinulate* (bersambungan, seperti benang, dengan tepian tidak beraturan), *beaded* (pertumbuhan koloni terpisah), *effuse*

(pertumbuhan tipis dan menyebar), *arborecent* (pertumbuhan seperti pohon), dan *rhizoid* (pertumbuhan seperti akar) (Cappuccino dan Sherman, 2002).

Bentuk koloni dibagi menjadi *circular* (sekeliling tepi koloni rata), *irregular* (sekeliling tepian koloni berlekuk), dan *rhizoid* (pertumbuhan menyebar seperti akar). Tepian luar koloni meliputi *entire* (rata), *lobate* (berlekuk), *undulate* (bergelombang), *serrate* (bergerigi), dan *filamentous* (tepi melebar seperti benang)(Cappuccino dan Sherman, 2002).

2.4.2 Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram digunakan untuk mengetahui morfologi bakteri dan membedakan antara bakteri Gram positif dan Gram negatif (Cappuccino dan Sherman, 2005). Larutan yang digunakan dalam pengecatan Gram ialah Larutan Hucker's crystalviolet, Larutan Lugol's iodine, Larutan alkohol aseton, dan Larutan Safranin (Harley dan Lansing, 2002).

Larutan Hucker's crystal violet berperan sebagai cat utama yang mewarnai sel bakteri menjadi ungu. Larutan Lugol's iodine berfungsi sebagai mordant yang meningkatkan interaksi antara sel bakteri dan cat utama. Larutan alkohol aseton bertindak sebagai *decolorizer* yang akan mencuci kompleks crystal violet-iodin. Bakteri Gram positif akan tetap mempertahankan kompleks crystal violet-iodin, sedangkan bakteri Gram negatif akan menjadi tak berwarna. Larutan Safranin berperan sebagai *counterstain* yang akan memberikan warna merah pada sel bakteri. Safranin akan memberi warna pada bakteri Gram negatif (Harley dan Lansing, 2002). Hasil akhir dari pengecatan Gram ialah bakteri Gram positif berwarna ungu, sedangkan bakteri Gram negatif berwarna merah (Pepper dan Gerba 2005).

2.4.3 Pewarnaan Endospora

Endospora merupakan struktur yang rentan terhadap keadaan lingkungan yang ekstrim seperti pemanasan, keadaan asam dan kering. Endospora memiliki bentuk yang sangat padat karena kandungan airnya relatif rendah. Dua genus bakteri yang mampu membentuk endospora adalah genus *Bacillus* dan *Clostridium* (Pratita dan Putra, 2012).

Salah satu metode yang dapat digunakan dalam pengecatan endospora adalah metode Schaeffer-Fulton yang menggunakan malasit hijau dengan proses pemanasan. Larutan ini adalah pewarna yang kuat dan memiliki kemampuan berpenetrasi ke dalam endospora. Pada teknik ini akan menghasilkan warna hijau pada endospora positif (Fitrah, dkk., 2013).

2.4.4 Karakteristik Biokimia Bakteri Hasil Isolasi

Bakteri menggunakan nutrisi yang ada di lingkungan dengan melakukan berbagai macam aktivitas biokimia yang dikatalisis oleh enzim (Harley dan Lansing, 2002). Hasil reaksi aktivitas biokimia dapat diamati dan berbeda untuk setiap bakteri, sehingga hal tersebut dapat digunakan untuk identifikasi dan karakterisasi bakteri (Gandjar dkk., 1992; Harley dan Lansing, 2002). Beberapa karakteristik biokimia yang dapat digunakan untuk menganalisis karakteristik bakteri sebagai berikut :

2.4.4.1 Uji Fermentasi Karbohidrat

Bakteri memiliki kemampuan memfermentasi berbagai macam karbohidrat yang berbeda-beda dengan pola fermentasi yang khas (Gandjar dkk., 1992). Uji fermentasi karbohidrat menggunakan media cair yang mengandung

karbohidrat tertentu (glukosa, laktosa, sukrosa, dan maltosa) serta indikator fenol merah (Norman, dkk., 2005). Pada saat proses fermentasi, karbohidrat akan diubah bakteri menjadi asam organik, seperti asam asetat, asam laktat atau asam asetat. Suasana asam dalam media cair akan mengubah warna indikator fenol merah menjadi kuning tua. Beberapa bakteri dalam proses fermentasi menghasilkan asam dan gas (CO₂) (Cappucino dan Sherman, 2005).

2.4.4.2 Uji Hidrolisis Polisakarida

Uji hidrolisis pati untuk melihat kemampuan bakteri dalam menghidrolisis pati dengan cara menghasilkan enzim amilase. Pati merupakan polisakarida yang memiliki berat molekul yang tinggi, karena ukurannya yang besar, polisakarida tidak mampu diserap oleh membran sel. Bakteri yang mampu menghidrolisis pati akan menghasilkan zona bening di sekitar biakan bakteri ketika ditetesi iodin. Hal ini menunjukkan amilum/pati telah terhidrolisis menjadi sakarida yang lebih sederhana (Capuccino dan Sherman, 2002).

2.4.4.3 Uji Hidrolisis Protein

Uji hidrolisis protein digunakan untuk memperlihatkan adanya aktivitas hidrolitik enzim protease dan peptidase pada suatu mikroorganisme. Enzim protease dan peptidase, berperan dalam proses hidrolisis protein/kasein menjadi peptida-peptida dan asam-asam amino yang larut. Kasein di dalam media Skim Milk Agar (SMA) akan terhidrolisis yang ditandai dengan adanya zona bening di sekitar koloni bakteri sebagai aktivitas dari proteolitik. Sedangkan reaksi dinyatakan negatif apabila tidak terbentuk zona bening disekitar koloni bakteri (Hastuti, dkk., 2017).

2.4.4.4 Produksi H₂S

Produksi H₂S dilakukan oleh bakteri yang mampu memecah asam amino yang mengandung unsur belerang, seperti metionin atau sistein. Pada kondisi anaerobik, sistein akan dipecah menjadi 2 molekul sistein dan kemudian sistein akan dipecah menjadi H₂S, amonia, asam asetat dan asam format. Sedangkan pada kondisi aerobik, sistein akan mengalami disimilasi dan menghasilkan H₂S yang ditandai dengan perubahan koloni menjadi hitam (Gandjar dkk., 1992).

2.4.4.5 Pencairan Gelatin

Beberapa jenis bakteri mengandung enzim hidrolase salah satunya ialah gelatinase. Gelatinase akan menghidrolisis gelatin menjadi asam-asam amino yang dapat digunakan sebagai nutrisi oleh bakteri (Harley dan Lansing, 2002). Kemampuan bakteri dalam mencerna gelatin merupakan salah satu karakter yang penting untuk diamati. Hal tersebut karena pola pencairan gelatin oleh bakteri berbeda-beda (Cappuccino dan Sherman, 2002).

2.4.4.6 Uji Katalase

Uji katalase merupakan uji yang dilakukan untuk mengetahui bakteri tersebut merupakan bakteri aerob, anaerob fakultatif atau anaerob (Sariani, dkk., 2015). Bakteri jenis tertentu akan menghasilkan enzim katalase yang dapat mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen sehingga sifat beracunnya akan hilang dan bakteri tersebut akan mampu mempertahankan kelangsungan hidupnya (Neliyani, 2014). Bakteri aerobik dan anaerobik fakultatif akan memproduksi H₂O₂ yang bersifat racun terhadap bakteri yang masih hidup. Bakteri anaerob akan mengalami kematian bila ada oksigen, disebabkan karena

tidak adanya pembentukan enzim katalase sehingga H_2O_2 meracuni bakteri itu sendiri (Hadiotomo, 2001).

2.4.4.7 Uji *Methyl Red*

Uji *methyl red* digunakan untuk mengetahui adanya fermentasi asam campuran. Beberapa bakteri menfermentasi glukosa dan menghasilkan berbagai produk yang bersifat asam. Penambahan indikator *methyl red* dapat menunjukkan adanya perubahan pH menjadi asam. pH 4,4 berwarna merah dan pH 6,2 (sedikit mendekati basa) berwarna kuning. Jika hasilnya positif dapat menfermentasi asam campuran, maka biakan akan berwarna merah (asam) sedangkan apabila tidak terjadi fermentasi maka biakan akan berubah warna menjadi kuning (basa) (Sariani, dkk., 2005).

2.4.4.8 Uji KOH string

Uji KOH string digunakan untuk mengetahui atau menguatkan sifat gram dari mikroorganisme. Mikroorganisme yang memiliki reaksi positif setelah penambahan beberapa tetes KOH 3% pada kaca objek akan membentuk lendir (gram negatif) karena pecahnya dinding sel bakteri akibat berada dalam larutan alkali tinggi (KOH 3%). Reaksi negatif atau tidak adanya lendir yang terbentuk pada saat penambahan KOH 3% maka mikroorganisme tersebut termasuk gram positif (Hardiansyah, dkk., 2020).

2.4.4.9 Uji Motilitas

Motil adalah salah satu ciri mikroorganisme yang memiliki alat gerak sederhana berupa flagella. Aktivitas motil dapat diamati pada daerah goresan media yang telah diinokulasi bakteri. Uji bakteri diinokulasikan dengan

menggunakan suatu jarum ose melalui pusat media. Bakteri non motil hanya tumbuh pada garis inokulum, sedangkan organisme yang motil tumbuh keluar dari media dan tampak keruh (Brooks, dkk., 2008). Uji motilitas juga dapat diamati menggunakan mikroskop dengan penambahan satu tetes akuades dan minyak emersi (Gandjar, dkk., 1992).

2.4.4.10 Uji pH terhadap Pertumbuhan Bakteri

Beberapa faktor abiotik yang dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri, antara lain: suhu, kelembaban, cahaya, pH dan nutrisi. Pertumbuhan bakteri dapat diamati menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 600 nm (Hastuti dkk., 2014).

Mikroba umumnya menyukai pH netral (pH 7). Kelompok mikroba yang dapat hidup pada pH 2,0-5,0 disebut sebagai asidofil. Mikroba mesofil (neutrofil), adalah kelompok mikroba yang hidup pada pH 5,5-8,0. Selanjutnya kelompok mikroba yang hidup pada pH 8,4-9,5 disebut sebagai mikroba alkalifil.

2.4.4.11 Uji Pertumbuhan Bakteri pada Suhu

Suhu merupakan faktor fisik yang berpengaruh pada laju pertumbuhan bakteri. Identifikasi ini diperlukan karena setiap bakteri memiliki suhu spesifik untuk mengoptimalkan pertumbuhannya (Subagiyo, dkk., 2015). Pengukuran pertumbuhan bakteri menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 600 nm (Respati, 2017).

2.4.4.12 Uji Hidrolisis Urea

Uji hidrolisis urea adalah uji yang dilakukan untuk mengetahui adanya enzim urease pada suatu mikroorganisme. Enzim ini berfungsi dalam memutus

ikatan karbon dan nitrogen untuk membentuk amoniak. Adanya amoniak menyebabkan suasana medium menjadi alkali/basa sehingga indikator *phenol red* akan berubah menjadi merah muda pada medium, hal ini mengindikasikan terjadinya reaksi positif atau dihasilkannya urease. Sedangkan apabila media tetap berwarna kuning maka reaksi dinyatakan negatif atau mikroorganisme tersebut tidak menghasilkan enzim urease (Cappuccino dan Sherman, 2005).



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli hingga September 2020. Penelitian ini bertempat di Laboratorium Bioteknologi, Mikrobiologi, dan Genetika Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam pengambilan sampel dan isolasi bakteri adalah gelas beker, *ice box*, gelas kimia, termometer, plastik *ziplog* spatula dan inkubator. Proses biodegradasi memerlukan autoklaf, cawan petri, gelas kimia, gelas ukur, pipet volumetrik, pipet tetes, jarum ose, *Laminar Air Flow*, lampu spiritus, *hot plate*, shaker inkubator, oven dan erlenmeyer. Pada pengujian morfologi dan biokimia memerlukan, cawan petri, mikroskop, gelas objek, *cover glass*, spektrofotometer UV-Vis, FTIR dan pipet tetes.

3.2.2 Bahan Penelitian

Sampel plastik yang telah tertimbun tanah diambil dari TPA Kelurahan Jatimulyo. Bahan-bahan yang dibutuhkan dalam preparasi sampel adalah kantong plastik LLDPE, pH universal, dan akuades. Proses isolasi bakteri membutuhkan *Mineral Salt Medium* (MSM) dan *Nutrient Agar* (NA). Preparasi LLDPE membutuhkan KMnO_4/HCl dengan konsentrasi 0,25/0,5 mol/L, asam sitrat 10% dan 37% HCl.

Proses biodegradasi membutuhkan MSM *Broth*. Uji morfologi membutuhkan akuades, kristal violet, iodine, safranin, alkohol 70%, kapas, dan aluminum foil. Dalam proses pewarnaan endospora dibutuhkan malasit *green* dan safranin. Uji Biokimia membutuhkan media *Nutrient Broth* (NB), minyak imersi *phenol red*, sukrosa, laktosa, media TSIA, media amilum, media skim milk agar, media gelatin, H₂O₂ 3%, KOH 3%, *methyl red*, media Vorges-Prekursor, media urea base, kemudian buffer pH 6,7,8 dan 9 serta NaOH 0,5 M.

3.3 Tahapan Penelitian

Pada penelitian ini dilakukan beberapa tahap, diantaranya:

1. Pengambilan Sampel
2. Isolasi bakteri pendegradasi plastik LLDPE
3. Pemurnian Isolat Bakteri
4. Preparasi Sampel Plastik LLDPE
5. Uji Biodegradasi LLDPE
6. Identifikasi Degradasi LLDPE dengan FTIR
7. Identifikasi Hasil Isolasi Bakteri
8. Uji Biokimia Hasil Isolasi Bakteri

3.4 Cara Kerja

3.4.1 Pengambilan Sampel (Muhonja, dkk., 2018)

Sampel plastik yang tertimbun di tanah diambil dengan kedalaman tanah berkisar 5 cm. Sampel plastik diambil sebanyak 5 gram dari lima titik berbeda. Kemudian ketiga sampel diukur pH dan suhu lingkungannya yaitu tanah. Sampel plastik selanjutnya dimasukkan ke plastik Ziplog steril dan dimasukkan

dalam *icebox* kemudian dibawa ke laboratorium. Setelah itu ketiga sampel tanah dimasukkan dalam gelas beker steril dan dicampur.

3.4.2 Isolasi Bakteri Pendegradasi Plastik LLDPE

Plastik yang berasal dari TPA diencerkan (bagian sekitar plastik) sebanyak 10 kali (10^{-10}). Hasil pengenceran 10^{-10} dipindahkan sebanyak 100 μL ke dalam MSM agar yang mengandung 1% glukosa sebanyak 10 mL secara *pour plate* dan diinkubasi selama 20 jam pada suhu 37°C (Amaliya, 2019). Hasil isolasi kemudian diambil satu koloni tunggal untuk digunakan dalam proses degradasi.

3.4.3 Pemurnian Isolat Bakteri

Isolat bakteri hasil isolasi masing-masing diambil sebanyak satu ose kemudian ditumbuhkan pada media NA agar dalam cawan petri steril dan diinkubasi selama 24 jam dengan suhu ruang. Pengerjaan dilakukan secara aseptik menggunakan bunsen spiritus serta dikerjakan di dalam *laminar air flow* untuk mencegah kontaminasi mikroorganisme lain (Firdausi, dkk., 2016).

3.4.4 Preparasi Sampel Plastik LLDPE (Balasubramaniandkk., 2014)

Plastik yang berbahan dasar LLDPE dicuci hingga bersih. Plastik kemudian dipotong dengan ukuran 3 x 3 cm dan disterilisasi menggunakan alkohol 70%. Plastik selanjutnya dikeringkan selama 30 menit menggunakan oven dengan suhu 60°C . Plastik disinari menggunakan UV selama 60 jam, kemudian direndam menggunakan KMnO_4/HCl dengan konsentrasi 0,25/0,5 mol/L pada suhu 45°C selama 8 jam. Perlakuan selanjutnya adalah sampel plastik direndam menggunakan asam sitrat 10% pada suhu 45°C selama 8 jam. Plastik selanjutnya

dicuci menggunakan 37% HCl, dikeringkan lalu ditimbang untuk mengetahui berat awalnya.

3.4.5 Uji Biodegradasi Plastik LLDPE

Bakteri hasil isolasi dipindahkan sebanyak 1 ose ke dalam 25 mL media NB. Kemudian dishaker dengan kecepatan 150 rpm selama 18 jam pada suhu ruang (Kultsum, 2009).

Inokulum diambil masing-masing 100 μ L dan diinokulasikan ke dalam media MSM *broth* 50 mL yang mengandung glukosa 0,5% kedalam erlenmeyer 250 mL. Kemudian dimasukkan plastik LLDPE yang telah dipreparasi dan belum dipreparasi ke dalam media kultur (triplo) yang telah berisi bakteri hasil isolasi. Sampel selanjutnya dishaker pada suhu ruang selama 45 hari. Sebagai kontrol negatif, digunakan plastik yang dimasukkan ke dalam media MSM *broth* 0,5% tanpa adanya penambahan isolat bakteri. (Dey, dkk., 2016).

Setelah masa inkubasi selesai, plastik yang ada di dalam erlenmeyer diambil, dicuci, dan dikeringkan. Potongan plastik yang telah dioven dimasukkan ke dalam *dessicator* selama 24 jam kemudian ditimbang untuk mengetahui berat akhir plastik setelah mengalami biodegradasi dan dihitung persentase degradasi plastik dengan menggunakan persamaan (Devi dkk., 2019; Singh dkk., 2015; Octavianda, dkk., 2016; Dey, dkk., 2016). Perhitungan nilai degradasi dilakukan dengan menggunakan Persamaan 3.1 :

$$\% \text{ degradasi} = \frac{(\text{berat awal}-\text{berat akhir})}{\text{berat awal}} \times 100\% \dots \dots \dots (3.1)$$

3.4.6 Identifikasi Degradasi LLDPE dengan FTIR (Hasan, dkk., 2007)

Plastik LLDPE sebelum dipreparasi, setelah dipreparasi dan setelah didegradasi masing-masing di analisis menggunakan FTIR. Plastik yang diidentifikasi menggunakan FTIR diukur pada panjang gelombang 4000- 400 cm^{-1} untuk mengetahui perubahan gugus fungsi dari setiap plastik.

3.4.7 Identifikasi Hasil Isolasi Bakteri

3.4.7.1 Pewarnaan Gram

Seluruh isolat murni dilakukan pewarnaan gram. Pewarnaan gram dilakukan dengan membersihkan gelas menggunakan alkohol sehingga bebas lemak, kemudian dipanggang di atas nyala bunsen. Preparat bakteri dibuat dengan mengambil secara aseptik 1 ose suspensi biakan bakteri potensial lalu diratakan di atas permukaan gelas benda kira-kira seluas 1 cm^2 . Jika sudah dingin maka ditetesi dengan cat gram A (kristal violet), larutan mordan gram B (larutan iodin), gram C (alkohol 96%), Gram D (safranin), secara bergantian sebanyak 2-3 tetes dan didiamkan selama 1 menit. Kaca objek selanjutnya dicuci dengan air mengalir setiap pergantian penambahan warna, kemudian dikeringkan. Bakteri gram positif berwarna ungu violet sedangkan gram negatif berwarna merah. Gelas benda diamati dengan mikroskop perbesaran 1000X-10.000X untuk melihat bentuk bakteri (Sabdaningsih, dkk., 2013).

3.4.7.2 Uji Endospora

Isolat bakteri diambil sebanyak 1 ose dan digoreskan pada permukaan preparat steril kemudian dilakukan fiksasi. Preparat yang telah diberi bakteri tersebut lalu dibungkus dengan menggunakan kertas saring lalu ditetesi *malachite*

green sebanyak 1 tetes dan didiamkan selama 4 menit. Setelah itu kertas saring dilepaskan dan preparat dibilas dengan air mengalir. Setelah itu preparat dikeringkan di atas api spiritus. Setelah preparat kering, safranin sebanyak 1 tetes ditambahkan ke permukaan preparat. Preparat tersebut kemudian didiamkan selama 5 menit. Preparat kemudian diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000x (Pratita dan Putra, 2012).

3.4.8 Uji Biokimia Hasil Isolasi Bakteri

3.4.8.1 Fermentasi Karbohidrat

Satu ose biakan bakteri diinokulasi ke dalam satu seri medium fermentasi (sukrosa dan laktosa) yang sudah ditambah *phenol red* dalam tabung reaksi yang berisi tabung Durham. Satu seri medium tidak diinokulasi dan digunakan sebagai kontrol. Tabung-tabung tersebut kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 30°C. Reaksi dinyatakan positif jika terjadi perubahan warna indikator dari merah menjadi kuning dan terbentuk gelembung udara di dalam tabung Durham (Hajar, 2012).

3.4.8.2 Uji Hidrolisis Polisakarida

Biakan bakteri diinokulasikan ke medium *Starch Agar* (SA) dengan cara gores (streak), kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 30-35°C. Reaksi dinyatakan positif jika terbentuk bagian yang tidak berwarna di sekitar biakan setelah ditetesi dengan larutan iodin (Hajar, 2012).

3.4.8.3 Uji Hidrolisis Protein

Biakan bakteri diinokulasikan ke medium *Skim Milk Agar* (SMA) dengan cara gores (streak), kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 30-35°C.

Reaksi dinyatakan positif jika terbentuk zona bening di sekitar biakan (Hajar, 2012).

3.4.8.4 Produksi H₂S

Biakan bakteri diinokulasikan ke medium TSIA dengan cara tusukan lurus (stab), kemudian diinkubasi selama 7 hari pada suhu 30-35°C. Reaksi dinyatakan positif jika terbentuk warna hitam di sepanjang tusukan (Hajar, 2012).

3.4.8.5 Pencairan Gelatin

Satu ose biakan bakteri diinokulasi ke dalam tabung reaksi yang berisi medium Gelatin dan diinkubasi selama 24-72 jam pada suhu 30°C. Sebagai kontrol digunakan tabung yang tidak diinokulasi. Setelah diinkubasi, semua tabung dimasukkan ke dalam lemari es (4°C) selama 10-15 menit. Reaksi dinyatakan positif jika medium gelatin tetap cair setelah dimasukkan ke dalam lemari es (Hajar, 2012).

3.4.8.6 Uji Katalase

Gelas objek yang telah dibersihkan ditetesi beberapa tetes larutan H₂O₂ 3%. Satu ose biakan bakteri yang berumur 24 jam diletakkan di dalam tetesan H₂O₂ tersebut. Reaksi dinyatakan positif jika timbul gelembung-gelembung udara (Hajar, 2012).

3.4.8.7 Uji *Methyl Red*

Satu ose biakan bakteri diinokulasi ke dalam tabung reaksi yang berisi medium *Methyl Red* dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30°C. Tabung berisi medium yang tidak diinokulasi digunakan sebagai kontrol. Sebanyak 2 tetes

larutan methyl red ditambahkan ke dalam setiap tabung. Reaksi dinyatakan positif jika warna medium berubah menjadi merah (Hajar, 2012).

3.4.8.8 Uji KOH string

Pengujian dengan KOH 3% bertujuan untuk memperkuat jenis gram dari suatu bakteri hasil isolasi. Metode pengujian dengan KOH 3% yaitu melalui pencampuran isolat bakteri dengan KOH 3% pada kaca preparat steril. Metode identifikasi bakteri dilakukan dengan menaruh 1 tetes KOH 3% di atas kaca preparat kemudian bakteri yang telah tumbuh dari metode sebar dan metode penggoresan diambil dengan jarum ose dan digosokkan pada larutan KOH 3% dan dilakukan pengamatan. Satu lingkaran koloni bakteri dari lempeng kultur diemulsi di atas kaca *slide* dalam suspensi 3% KOH.

Suspensi diaduk terus menerus selama satu menit dan kemudian loop ditarik dengan lembut. Tes dianggap positif jika string terlihat dalam 30 detik pertama setelah pencampuran dalam larutan KOH (Jaya dan Subha, 2011), Parameter pengamatan berdasarkan kategori jenis gram mikroorganisme dimana kategori bakteri gram negatif diperoleh apabila menghasilkan lendir (reaksi positif) dan kategori bakteri gram positif apabila tidak menghasilkan lendir (reaksi negatif) (Hardiansyah dkk., 2020).

4.3.8.9 Uji Motilitas

Satu ose biakan bakteri diletakkan pada tetesan akuades di atas gelas objek cekung, kemudian ditutup dengan *cover glass*. Motilitas biakan bakteri dilihat menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000x menggunakan minyak imersi (Hajar, 2012).

4.3.8.10 Uji pH terhadap Pertumbuhan Bakteri

Media NB diatur pada pH 6, 7, dan 8. Perlakuan masing-masing diinokulasi kultur isolat bakteri dan diinkubasi selama 24 jam dalam suhu 37°C. Pertumbuhan sel ditentukan berdasarkan absorbansi menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm (Chasanah, 2018; Lewaru, dkk., 2012).

4.3.8.11 Uji Pertumbuhan Bakteri pada Suhu

Isolat bakteri diinokulasikan pada pH optimum pertumbuhan bakteri. Kultur diinkubasi pada variasi suhu 15, 25, 35, dan 45°C selama 24 jam. Pertumbuhan sel ditentukan berdasarkan absorbansi menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm (Chasanah, 2018; Subagiyo, dkk., 2015).

4.3.8.12 Uji Hidrolisis Urea

Isolat bakteri diambil sebanyak satu ose kemudian dimasukkan ke dalam media *Urea Base*. Media kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Reaksi positif ditunjukkan dengan berubahnya warna medium dari kuning menjadi merah muda (Fallo dan Sine, 2016).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Isolasi dan Pengamatan Morfologi Bakteri

Satu isolat bakteri berhasil diisolasi dari sampah plastik yang terkubur di Tempat Pembuangan Akhir (TPA) di Jalan Pisang Kipas, Jatimulyo, Lowokwaru, Kota Malang. Isolat bakteri yang didapatkan merupakan koloni representatif yang diduga mampu digunakan dalam proses biodegradasi plastik. Isolat yang didapatkan kemudian dimurnikan dan diberi tanda BP2 (Gambar 4.1).



Gambar 4.1 Isolat BP2 pada medium MSM Agar

Isolat bakteri yang didapatkan selanjutnya diamati secara makroskopik morfologinya. Berdasarkan pengamatan makroskopik pada Tabel 4.1 isolat BP2 memiliki bentuk koloni bulat, dengan tepian koloni bulat rata menyeluruh dan elevasi cembung, serta memiliki warna pigmentasi krem kekuningan.

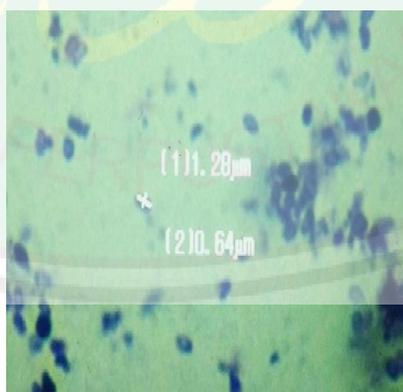
Tabel 4.1 Pengamatan makroskopik isolat BP2

Karakteristik Morfologi Bakteri	Hasil Pengamatan
Bentuk	Bulat
Tepian	Bulat rata menyeluruh
Elevasi	Cembung
Ukuran	Kecil
Tekstur	Lembut
Pigmentasi	Krem kekuningan
Sifat Optik	Tembus Cahaya

4. 2 Uji Morfologi Bakteri Hasil Isolasi

4.2.1 Pewarnaan Gram

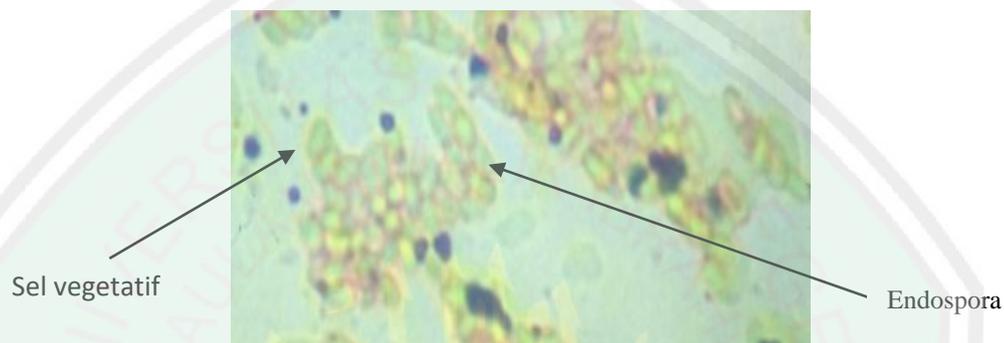
Uji pewarnaan gram bertujuan untuk membedakan antara bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Pengecatan Gram yang dilakukan pada isolat BP2 menunjukkan bahwa bakteri yang didapatkan termasuk Gram positif karena mampu mempertahankan warna ungu dari kristal violet ketika diamati di bawah mikroskop. Isolat BP2 pada berbentuk batang dengan ukuran panjang 1,28 μm dan diameter 0,64 μm (Gambar 4.2).



Gambar 4.2 Hasil pewarnaan Gram perbesaran 1000x

4.2.2 Pewarnaan Endospora

Pewarnaan endospora dilakukan untuk mengetahui bahwa bakteri yang berhasil diisolasi mampu menghasilkan endospora. Isolat BP2 yang didapatkan pada penelitian ini mampu menghasilkan endospora yang ditandai dengan warna hijau pada sel bakteridan sel vegetatif berwarna merah (Gambar 4.3).



Gambar 4.3 Hasil Pewarnaan Endospora Isolat BP2

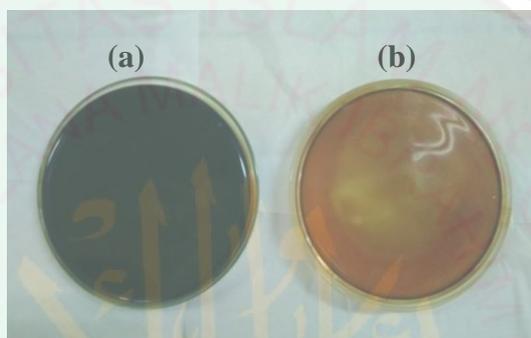
4.3 Uji Biokimia Hasil Isolasi Bakteri

4.3.1 Uji Fermentasi Karbohidrat

Fermentasi karbohidrat dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri dalam memfermentasi karbohidrat. Fermentasi karbohidrat pada penelitian ini menggunakan laktosa dan sukrosa. Isolat BP2 yang dihasilkan dapat memfermentasi sukrosa dan laktosa yang ditandai dengan warna kuning dan terjadi pembentukan gelembung gas CO₂.

4.3.2 Uji Hidrolisis Polisakarida

Uji hidrolisis polisakarida dilakukan untuk mengetahui apakah isolat BP2 mampu menghasilkan enzim amilase yang dapat memecah polisakarida menjadi monosakarida yang ditandai dengan adanya zona bening di sekitar biakan bakteri. Hasil penelitian pada Gambar 4.4 menunjukkan bahwa isolat BP2 tidak menghasilkan enzim amilase.



Gambar 4.4 Hasil uji hidrolisis polisakarida, (a) kontrol, (b) isolat BP2

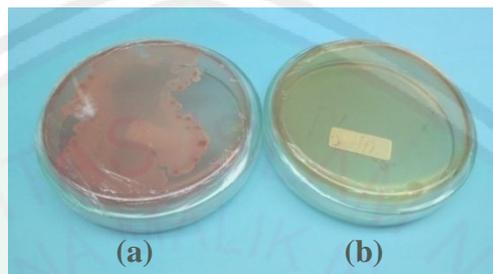
4.3.3 Uji Hidrolisis Protein

Uji hidrolisis protein digunakan untuk mengetahui adanya aktivitas hidrolisis oleh enzim proteolitik yang dihasilkan oleh bakteri. Media yang digunakan pada pengujian ini adalah *Skim Milk Agar* (SMA). Hasil pengujian dinyatakan positif apabila terbentuk zona bening disekitar biakan bakteri setelah diinkubasi selama 72 jam pada suhu 37°C. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat BP2 tidak mampu menghidrolisis protein.

4.3.4 Uji Hidrolisis H₂S

Hasil uji hidrolisis H₂S pada isolat BP2 menunjukkan hasil negatif yang ditandai dengan tidak adanya warna hitam disekitar tusukan bakteri (Gambar

4.5). Fungsi uji hidrolisis H_2S adalah untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memecah asam amino yang mengandung unsur belerang seperti metionin. Reaksi positif dinyatakan apabila daerah disekitar tusukan bakteri berubah warna dari merah menjadi hitam Gandjar, dkk., (1992).



Gambar 4.5 Hasil pengujian produksi H_2S (a) isolat BP2 (b) kontrol

4.3.5 Uji Pencairan Gelatin

Uji ini dilakukan untuk mengetahui apakah isolat BP2 mampu menghasilkan enzim hidrolase yang dapat memecah gelatin. Hasil uji pencairan gelatin menunjukkan bahwa isolat BP2 mampu menghasilkan enzim hidrolase yang ditandai dengan gelatin tetap mencair (bereaksi positif).

4.3.6 Uji Katalase

Uji katalase dilakukan untuk mengidentifikasi bakteri yang mampu menghasilkan enzim katalase. Hasil pengujian pada Gambar 4.6 menunjukkan bahwa isolat BP2 mampu menghasilkan enzim katalase yang ditandai dengan terbentuknya gelembung gas O_2 . Enzim katalase dapat memecah H_2O_2 yang terbentuk dari proses respirasi aerob dan bersifat racun terhadap bakteri menjadi H_2O dan O_2 (Istiqomah, 2015).



Gambar 4.6 Hasil uji katalase (a) kontrol (b) isolat BP2

4.3.7 Uji *Methyl Red* (MR)

Uji *methyl red* digunakan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memproduksi asam campuran hasil metabolisme glukosa. Beberapa bakteri menghasilkan berbagai produk yang bersifat asam sehingga dapat menurunkan pH media pertumbuhan menjadi 5,0. Penelitian ini menunjukkan bahwa isolat BP2 tidak mengalami perubahan pada saat penambahan indikator *methyl red*. Hal ini berarti isolat BP2 tidak mampu memproduksi asam campuran sehingga tidak mengubah pH media.

4.3.8 Uji KOH String

Uji KOH string dilakukan untuk mengetahui isolat bakteri BP2 merupakan bakteri gram negatif atau bakteri gram positif. Pengujian ini perlu dilakukan untuk menguatkan hasil pewarnaan gram. Hasil pengujian menunjukkan bahwa isolat BP2 merupakan bakteri Gram positif yang ditandai dengan tidak adanya lendir setelah ditambahkan KOH 3%.

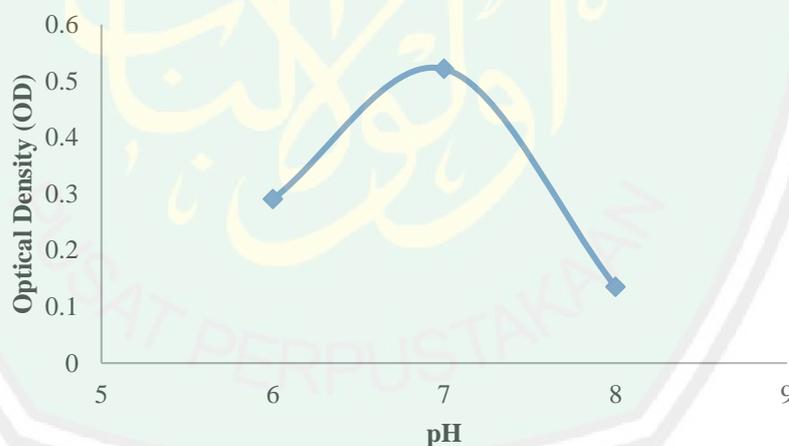
4.3.9 Uji Motilitas

Uji motilitas digunakan untuk mengetahui adanya pergerakan bakteri atau organisme yang berflagella. Hasil penelitian isolat BP2 menunjukkan bahwa isolat yang dihasilkan bersifat motil atau memiliki flagel yang ditandai dengan adanya

pergerakan melawan akuades ketika diamati di bawah mikroskop dengan bantuan minyak imersi.

4.3.10 Uji Pertumbuhan Bakteri pada pH

Uji pertumbuhan bakteri pada pH berbeda digunakan untuk mengetahui pH optimum bakteri dengan cara menghitung kuantitas kekeruhan sel bakteri pada kultur cair. Nilai kekeruhan dapat dilihat dari nilai absorbansi/ *Optical Density*(OD) yang dihasilkan. Semakin tinggi nilai absorbansinya maka akan semakin banyak bakteri yang tumbuh. Pertumbuhan isolat BP2 optimum pada pH 7. Hal ini menunjukkan bahwa isolat yang didapatkan merupakan bakteri yang bersifat netral dan tidak mampu hidup dalam kondisi asam maupun basa. Pertumbuhan isolat bakteri BP2 ditunjukkan pada Gambar 4.7.



Gambar 4.7 Grafik Pertumbuhan Bakteri terhadap pH

4.3.11 Uji Pertumbuhan Bakteri terhadap Suhu

Uji pertumbuhan bakteri digunakan untuk menentukan pertumbuhan bakteri pada variasi suhu tertentu. Hasil pengujian ini menunjukkan bahwa isolat

BP2 mampu tumbuh pada suhu 15, 25, 35, dan 45°C (Gambar 4.8). Isolat BP2 termasuk kedalam bakteri mesofil karena dapat tumbuh pada suhu 20-45°C (Harley dan Lansing, 2002).



Gambar 4.8 Grafik Pertumbuhan Bakteri terhadap Suhu

4.3.12 Uji Hidrolisis Urea

Uji hidrolisis urea dilakukan untuk mengetahui apakah isolat bakteri menghasilkan enzim urease yang dapat memecah ikatan karbon dan nitrogen untuk membentuk amoniak. Hasil pengujian menunjukkan bahwa isolat BP2 yang dihasilkan tidak mengandung enzim urease. Hal ini ditandai dengan tidak adanya perubahan warna media dari kuning menjadi merah muda.

4.4 Identifikasi Bakteri secara manual menggunakan buku pedoman *Bergey's Manual of Determination Bacteriology*

Isolat BP2 diidentifikasi berdasarkan karakter pada *Bergey's Manual of Determination Bacteriology Second Edition Volume Three*. Metode klasifikasi fenotip dengan program MVSP (Multivariate Statistical Package) bertujuan

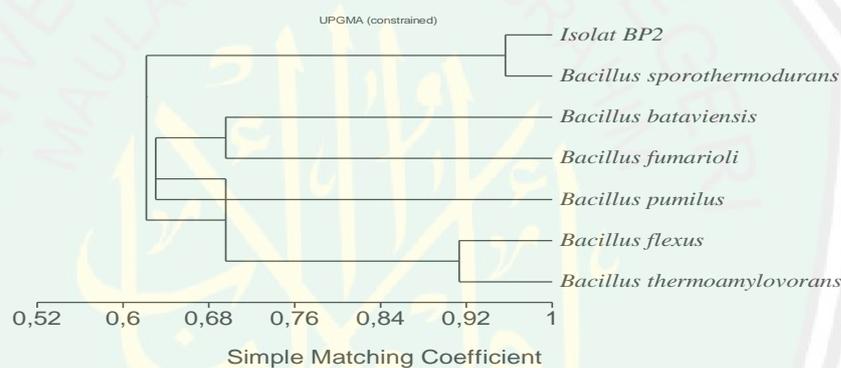
mengelompokkan bakteri kedalam takson berdasarkan sejumlah data fenotip. Hasil pengamatan morfologi, sifat Gram dan uji biokimia ditunjukkan pada Tabel 4.2

Tabel 4.2 Pengamatan mikroskopik dan biokimia isolat BP2

No	Identifikasi Bakteri	Isolat BP2	<i>Bergey's Manual of Determination Bacteriology (Bacillus sporothermodurans)</i>
Karakter Morfologi Mikroskopik			
1	Bentuk Sel	Batang Pendek	Batang Pendek
2	Gram	+	+
3	Endospora	+	+
4	Panjang sel	1,28-1,23 μm	>1 μm
5	Diameter sel	0,64-0,69 μm	<1 μm
Karakteristik Biokimia			
6	Uji Fermentasi Karbohidrat		
	Sukrosa	+	+
	Laktosa	+	+
7	Uji Hidrolisis Polisakarida	—	—
8	Uji Hidrolisis Protein	—	—
9	Uji Produksi H ₂ S	—	—
10	Uji Pencairan Gelatin	+	+
11	Uji Katalase	+	+
12	Uji <i>Methyl Red</i>	—	—
13	Uji KOH string	—	—
14	Uji Motilitas	+	D
15	Uji pH		
	6	+	+
	7	+	+
	8	+	+
16	Uji Suhu		
	15°C	+	+
	25°C	+	+
	35°C	+	+
	45°C	+	+
17	Uji Hidrolisis Urea	—	—

Keterangan : D = hasil berbeda pada spesies berbeda/+ = positif/ — = negatif

Berdasarkan data dari uji fenotip dilakukan perhitungan similiaritas antar isolat. Analisis data menghasilkan matriks similiaritas yang menunjukkan besarnya karakter oleh suatu *strain* jika dibandingkan dengan *strain* lain. Berdasarkan nilai matriks similiaritas selanjutnya dilakukan konstruksi dendogram dengan menggunakan algoritma UPGMA ditunjukkan pada Gambar 4.9. Dendogram merupakan pohon yang mengekspresikan hubungan fenotip suatu spesies dengan spesies lain dengan cara membandingkan ciri morfologi yang dimiliki spesies (Chasanah, 2018).



Gambar 4.9 Dendogram hubungan antar bakteri menggunakan cara *Simple Matching Coefficient*

Tabel 4.3 Matriks similiaritas *simple matching coefficient* isolat BP2

No	Bakteri	Similiaritas
1	<i>Bacillus sporothermodurans</i>	95,7 %
2	<i>Bacillus thermoamylovorans</i>	91 %
3	<i>Bacillus bataviensis</i>	69 %
4	<i>Bacillus fumarioli</i>	63 %
5	<i>Bacillus pumilus</i>	69 %
6	<i>Bacillus flexus</i>	63 %

Dendogram yang menunjukkan hubungan antara bakteri dengan type *strain* berdasarkan indeks similaritas menggunakan cara *Simple Matching*

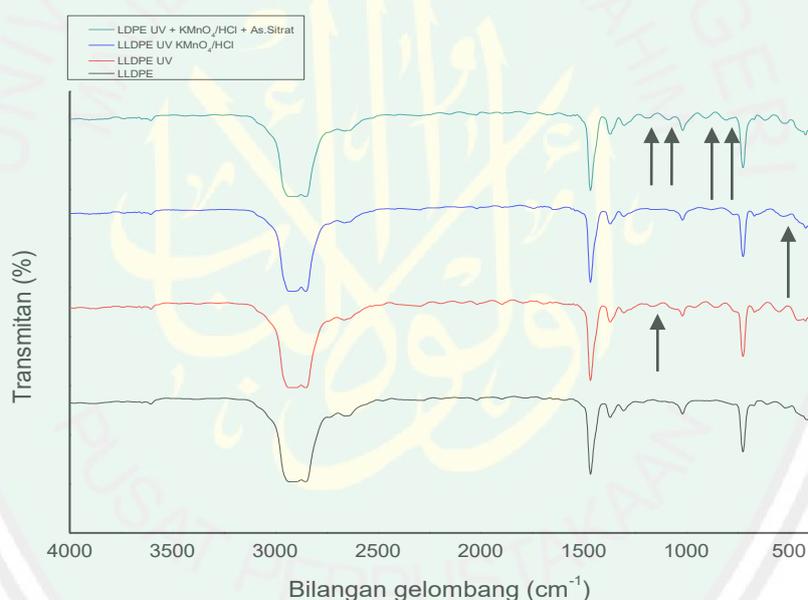
Coefficient. Simple Matching Coefficient menunjukkan *strain* yang memiliki kemiripan semakin besar kesamaan yang dimiliki suatu *strain* maka semakin dekat hubungan kekerabatannya. Isolat bakteri BP2 memiliki kemiripan dengan bakteri *Bacillus sporothermodurans* sebesar 95,7% berdasarkan *Bergey's Manual of Determination Bacteriology Second Edition Volume Three* (Tabel 4.3).

4.5 Preparasi Plastik LLDPE

Preparasi plastik LLDPE dilakukan dengan tujuan untuk mempermudah proses degradasi. Preparasi pertama menggunakan penyinaran UV, pada preparasi ini plastik yang dihasilkan tidak mengalami perubahan. Plastik dari penyinaran UV selanjutnya direndam menggunakan larutan KMnO_4/HCl . Plastik yang dihasilkan dari perlakuan ini keseluruhan berwarna ungu. Setelah disinari menggunakan UV dan direndam dalam larutan KMnO_4/HCl , plastik kemudian direndam menggunakan asam sitrat. Perendaman ini mengakibatkan warna ungu pada plastik mengalami kelunturan. Preparasi plastik secara keseluruhan menyebabkan permukaan plastik berwarna putih kusam berdasarkan pengamatan dan perbandingan dengan kontrol.

Preparasi plastik juga mengakibatkan terbentuknya beberapa puncak baru ketika dianalisis menggunakan FTIR. Puncak baru yang muncul pada plastik yang telah mengalami preparasi dengan UV pada 1168 cm^{-1} . Pada saat penambahan UV dan KMnO_4/HCl panjang gelombang muncul pada 878 cm^{-1} . Pada preparasi terakhir yaitu UV, KMnO_4/HCl dan asam sitrat muncul puncak pada 1188 cm^{-1} , 1085 cm^{-1} , 905 cm^{-1} dan 805 cm^{-1} (Gambar 4.10). Puncak-puncak baru yang didapatkan dari keseluruhan proses preparasi merupakan puncak-puncak dengan intensitas yang rendah dan tidak terlalu tajam.

Puncak-puncak baru dengan intensitas yang rendah menunjukkan bahwa modifikasi oksidatif yang terjadi pada permukaan LLDPE tidak optimal. Preparasi tidak optimal juga memberikan efek pada hasil degradasi yang rendah. Balasubramanian, dkk., (2014) dalam penelitiannya menjelaskan bahwa perendaman menggunakan KMnO_4/HCl dan penyinaran membuat permukaan polietilen mengalami modifikasi oksidatif. Permukaan polietilen juga akan mengalami korosi yang menyebabkan permukaan menjadi bergelombang atau lebih kasar sehingga muncul puncak baru (Balasubramanian, dkk., 2014).



Gambar 4.10 Spektra FTIR preparasi plastik menggunakan UV, KMnO_4/HCl dan asam sitrat

4.6 Analisis Kemampuan Degradasi Plastik LLDPE

Analisis kemampuan degradasi plastik LLDPE dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri dalam menggunakan polimer plastik LLDPE sebagai sumber karbon. Kemampuan ini dapat dilihat dari berkurangnya

berat plastik setelah masa inkubasi 45 hari. Media yang digunakan pada proses degradasi adalah *MSM broth* dengan kadar glukosayang rendah yaitu 0,5%. Hal ini dilakukan untuk memaksimalkan pemanfaatan substrat LLDPE oleh koloni bakteri. Pertumbuhan koloni bakteri pada kultur yang telah ditambahkan plastik dengan preparasi dan tanpa preparasi dapat diamati pada Gambar 4.11.



Gambar 4.11 (a) Penampakan kultur isolat BP2 pada plastik yang telah dipreparasi (b) belum dipreparasi

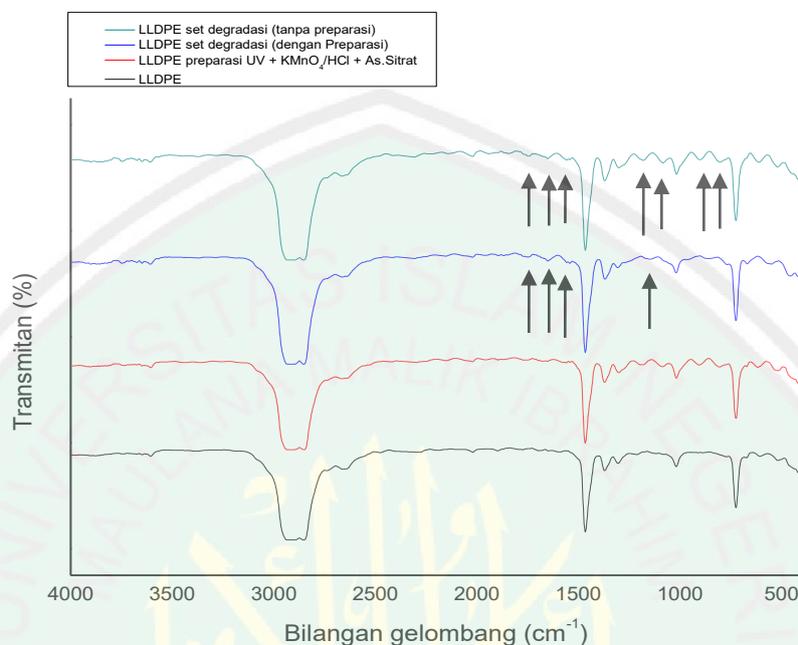
Pembuktian tumbuhnya koloni bakteri dilakukan dengan mengukur *Optical Density* (OD). Berdasarkan pengukuran OD kultur bakteri yang berada di dalam plastik LLDPE yang telah mengalami preparasi rata-rata nilainya adalah $1,0124 \pm 0,0346$ dan pada plastik yang belum dipreparasi nilai OD relatif lebih kecil yaitu $0,1694 \pm 0,0367$. Nilai OD menunjukkan kerapatan sel bakteri di dalam media cair. Dari data yang diperoleh menunjukkan bahwa kerapatan sel lebih besar di dalam media yang berisi plastik yang telah dipreparasi. Hal ini dapat diartikan bahwa bakteri lebih mudah tumbuh bersama plastik yang telah dipreparasi.

Nilai OD berpengaruh pada proses degradasi, kerapatan sel lebih tinggi memungkinkan proses biodegradasi lebih optimal. Analisis kemampuan degradasi menunjukkan bahwa kemampuan degradasi lebih tinggi pada substrat LLDPE yang telah dipreparasi, yaitu sebesar $0,99 \pm 0,0031\%$ namun perbedaan nilai degradasinya tidak terlalu signifikan. Pada plastik LLDPE tanpa preparasi kemampuan rata-ratanya berkisar $0,61 \pm 0,0022\%$. Dari hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa besarnya nilai OD berbanding lurus dengan besarnya kemampuan degradasi.

Kemampuan degradasi isolat BP2 terhadap plastik LLDPE yang telah mengalami preparasi tergolong rendah yaitu sebesar $0,99 \pm 0,0031\%$ jika dibandingkan dengan isolat *Bacillus cereus* pada penelitian Muhonja, dkk. (2018) yang memiliki nilai degradasi sebesar $35,72 \pm 4,01\%$. Beberapa faktor yang mempengaruhi biodegradasi adalah jenis bakteri, jenis polimer dan lama waktu inkubasi. Isolat BP2 memiliki kemiripan sebesar 95,7 % dengan *Bacillus sporothermodurans* dengan waktu inkubasi 45 hari. Muhonja, dkk. (2018) menggunakan waktu inkubasi 2-4 bulan. Adanya perbedaan karakter dari genus *Bacillus* juga dapat mempengaruhi hasil degradasi. LLDPE adalah jenis polimer yang lebih tahan dengan kelembapan dan bahan kimia daripada polimer LDPE (Susanto, 2010). Oleh karena itu polimer LLDPE lebih sulit untuk didegradasi.

Terjadinya proses degradasi LLDPE oleh isolat BP2 juga dianalisis menggunakan FTIR. Substrat LLDPE yang telah mengalami degradasi akan menunjukkan adanya puncak baru ketika dianalisis menggunakan FTIR.

Perbedaan puncak pada plastik LLDPE yang telah mengalami degradasi baik dengan preparasi atau tanpa preparasi ada pada Gambar 4.12.



Gambar 4.12 Hasil analisis FTIR substrat LLDPE terdegradasi dengan preparasi dan tanpa preparasi

Spektra FTIR pada plastik hasil degradasi dengan preparasi dan tanpa preparasi sama, hanya berbeda dinilai intensitas bilangan gelombang. Pada plastik dengan preparasi pembentukan puncak baru pada bilangan gelombang 1942, 1747 dan 1651 cm^{-1} , sedangkan pada plastik tanpa preparasi puncak baru muncul pada 1748, 1650 dan 1541 cm^{-1} . Plastik degradasi dengan preparasi juga mengalami pembentukan puncak baru pada bilangan gelombang 1179 cm^{-1} dan 1083 cm^{-1} serta pada 901 cm^{-1} dan 801 cm^{-1} . Sedangkan pada plastik tanpa preparasi puncak baru muncul di panjang gelombang 1147 cm^{-1} . Namun keseluruhan puncak yang dihasilkan dari proses biodegradasi pada penelitian ini merupakan puncak-puncak dengan intensitas rendah dan tidak terlalu tajam

(Gambar 4.12). Adanya puncak-puncak baru yang tidak terlalu tajam pada penelitian ini merupakan efek dari hasil biodegradasi yang tidak signifikan.

4.7 Isolasi dan Identifikasi Bakteri menurut Pandangan Islam

Bakteri merupakan suatu mikroorganisme prokariotik yang bersel satu. Bakteri dapat ditemukan di beberapa lingkungan seperti tanah, udara, air serta hidup di dalam beberapa tumbuhan dan hewan. Di dalam Al Quran sendiri terdapat kata *zarrah* yang berarti berukuran kecil. Bakteri termasuk organisme dalam golongan *zarrah* (berukuran kecil). Walaupun organisme ini berukuran kecil, akan tetapi memiliki manfaat di dalam kehidupan manusia. Allah SWT menciptakan segala sesuatu yang ada di bumi ini dengan ukuran yang serapi-rapinya, termasuk di dalamnya adalah bakteri.

Makhluk Allah SWT yang kecil ini disebutkan oleh Allah dalam surat Yunus ayat 61 yang berbunyi :

وَمَا تَكُونُ فِي شَأْنٍ وَمَا تَتْلُوا مِنْهُ مِنْ قُرْآنٍ وَلَا تَعْمَلُونَ مِنْ عَمَلٍ إِلَّا كُنَّا عَلَيْكُمْ شُهُودًا إِذْ تُفِيضُونَ فِيهِ وَمَا يَعْزُبُ عَنْ رَبِّكَ مِنْ مِثْقَالِ ذَرَّةٍ فِي الْأَرْضِ وَلَا فِي السَّمَاءِ وَلَا أَصْغَرَ مِنْ ذَلِكَ وَلَا أَكْبَرَ إِلَّا فِي كِتَابٍ مُبِينٍ



“Kamu tidak berada dalam suatu keadaan dan tidak membaca suatu ayat dari Al Quran dan kamu tidak mengerjakan suatu pekerjaan, melainkan Kami menjadi saksi atasmu di waktu kamu melakukannya. Tidak luput dari pengetahuan Tuhanmu biarpun sebesar zarrah (atom) di bumi ataupun di langit. Tidak ada yang lebih kecil dan tidak (pula) yang lebih besar dari itu, melainkan (semua tercatat) dalam kitab yang nyata (Lauh Mahfuzh)”.

Allah SWT memberitahukan kepada Nabi-Nya bahwa Dia Maha Mengetahui semua keadaan, keadaan umatnya dan keadaan semua makhluk dalam setiap saat, menit dan detik. Tafsir Ibnu Katsir menjelaskan tidak ada sesuatupun yang tersembunyi dari pengetahuanNya meskipun atom sekecilpun yang ada di

langit dan di bumi, dan tidak ada sesuatu pun yang lebih kecil atau lebih besar daripada itu, kecuali semuanya tercatat di dalam kitab yang nyata (Abdullah, 2007).

Ayat ini memberitahukan kepada kita bahwa semua hal yang terjadi di muka bumi ini telah diatur oleh Allah SWT, tak terkecuali adanya bakteri yang termasuk ke dalam zarah atau makhluk kecil. Lebih lanjut ayat ini juga memberikan pengetahuan bahwa tidak ada satupun di muka bumi ini yang luput dari pengawasan Allah SWT. Hal ini untuk menguatkan arti dari keluasan ilmu Allah, sehingga terasah keagungan dan kekuasaan-Nya seperti yang juga dijelaskan dalam Tafsir Min Fathil Qadir.

Menurut Tafsir Min Fathil Qadir suatu ketika dikabarkan bahwa salah satu pesawat luar angkasa perancis hilang dalam perjalanan luar angkasa mereka, kabar ini seketika tersebar di media sosial, segala upaya dilakukan dalam rangka pencarian pesawat ini, kemanakah satelit-satelit yang mereka buat dengan rancangannya yang begitu canggih? dan kemanakah radar-radar pemancar yang mereka bangun dengan segala kemegahan yang terpasang di dalamnya? sesungguhnya mereka hanyalah manusia biasa sekalipun pencapaian yang telah mereka raih begitu tinggi dan sangat meyakinkan namun Allah tidak akan pernah luput bahwa mereka adalah makhluk yang hina dan kelemahan begitu besar dalam diri mereka, dan Allah telah memperlihatkan betapa ayat-ayat Nya lebih besar dan lebih agung dari apa yang telah mereka upayakan : { وَمَا يَعْزُبُ عَنْ رَبِّكَ مِنْ مِثْقَالٍ } "Tidak luput dari pengetahuan Tuhanmu biarpun sebesar zarah (atom) di bumi ataupun di langit.

Tidak ada yang lebih kecil dan tidak (pula) yang lebih besar dari itu, melainkan (semua tercatat) dalam kitab yang nyata (Lauh Mahfuzh)" (Syaukani, 2007).

Selain menciptakan sesuatu yang sangat kecil dengan pengawasan yang teliti, keagungan dan kekuasaan Allah SWT yang lain juga disampaikan di dalam Al Quran surat Az-Zumar ayat 21. Ayat ini menjelaskan tentang pemanfaatan mikroorganisme sebagai agen penguraian. Surat Az Zumar ayat 21 berbunyi:

أَلَمْ نَزَّلْنَا اللَّهَ أَنْزَلْنَا السَّمَاءَ مَاءً فَسَلَكَهُ فِي سُبُلٍ يَتَّبِعُونَ فِيهَا الْأَرْضَ فَنُخْرِجُ مِنْهَا حَبًّا مُخْتَلِفًا أَلْوَانُهُ ثُمَّ يَهِيجُ فَتَرَاهُمْ صَفْرًا ثُمَّ جَعَلْنَا مِنْ حُبِّهَا حُمْرًا أَبْيَضًا لَوْلَا الَّذِي نَسُفُّوا السَّمَاءَ كَمَا تَسُفُّونَ لَأَنَّ اللَّهَ كَانَهُ يَتَّبِعُ الْمُجْرِمِينَ لَقَدْ كَلَّمْنَا كَادِرًا وَوَالِدَ

الْأَلْبَابِ

“Apakah engkau tidak memperhatikan, bahwa sesungguhnya Allah menurunkan air dari langit, lalu Dia mengalirkan menjadi mata air-mata air di bumi, kemudian Dia mengeluarkan dengannya tanaman-tanaman yang bermacam-macam warnanya, lalu ia menjadi kering, lalu engkau melihatnya kekuning-kuningan, kemudian menjadikannya hancur. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat pelajaran bagi Ulil Albab”.

Surat Az-Zumar ayat 21 menjelaskan tentang pemanfaatan makhluk mikroskopis seperti bakteri dan jamur dalam proses dekomposisi/ penghancuran bahan organik (Subandi, 2014). Bakteri sendiri merupakan organisme prokariota yang hidup dengan menguraikan bahan organik yang sering kali berasal dari hasil dekomposisi jasad organisme lain, sehingga umum diasosiasikan dengan sumber patogen. Sedangkan kelompok lain dari bakteri dapat memberikan manfaat dibidang pangan, pengobatan dan industri. Struktur sel bakteri relatif sederhana: tanpa nukleus/inti sel, kerangka sel, dan organel-organel lain seperti mitokondria dan kloroplas.

Isolasi bakteri pada penelitian ini dimanfaatkan untuk mendegradasi polimer plastik LLDPE. Semakin tahun kumpulan sampah plastik semakin meningkat dan menjadi masalah di dalam lingkungan, oleh karena itu perlu

diuraikan atau didekomposisi. Kemampuan bakteri dalam mendegradasi plastik ini juga menjadi petunjuk atau bukti bahwa Allah SWT tidak menciptakan segala sesuatu kecuali memiliki peran dan tujuan masing-masing.

Proses hancurnya komponen organik (dekomposisi) di alam merupakan proses kompleks yang melibatkan peran konsorsium mikroorganisme serta kondisi lingkungannya. Dekomposisi polimer LLDPE oleh bakteri mengakibatkan fragmentasi polimer menjadi monomer polietilen yang dapat diasimilasi sel bakteri. Proses mineralisasi oleh isolat bakteri menghasilkan H₂O dan CO₂ yang dapat dilepaskan ke lingkungan tanpa berpotensi menimbulkan polusi lanjutan pada tanah (Balasubramanian, dkk., 2014).

Penelitian ini menunjukkan betapa makhluk ciptaan Allah selalu mempunyai manfaat, walau sekecil dan sehinia apapun makhluk tersebut. Allah SWT. menjelaskan kekuasaanNya dalam menciptakan berbagai macam hal yang bertentangan lagi berbeda-beda, semuanya itu menunjukkan kebesaran, kesempurnaan dan kekuasaan yang dimilikiNya.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Hasil identifikasi isolat BP2 berdasarkan morfologi sel dan biokimia dianalisis menggunakan metode *Simpleprofile matching* yang mengacu pada *Bergey's Manual Determinative Bacteriology* dengan bantuan statistika MVSP (*multivariate statistical package*) memiliki kemiripan dengan *Bacillus sporothermodurans* sebesar 95,7%. Hasil biodegradasi menunjukkan bahwa substrat LLDPE lebih maksimal proses degradasinya jika telah mengalami proses *preparasi* secara fisika dan kimia yaitu sebesar $0,99 \pm 0,0031\%$, sedangkan plastik LLDPE tanpa *preparasi* kemampuan rata-ratanya berkisar $0,61 \pm 0,0022\%$. Karakterisasi FTIR menunjukkan adanya puncak yang baru pada panjang gelombang $1700 - 1650 \text{ cm}^{-1}$ dan pada 1179 serta 1083 cm^{-1} pada plastik yang telah mengalami *preparasi* serta pada 1147 cm^{-1} pada plastik tanpa *preparasi*.

5.2 Saran

Penelitian selanjutnya perlu dilakukan peningkatan proses *preparasi* seperti dilakukan *preparasi* menggunakan panas atau larutan asam kuat seperti H_2SO_4 atau HNO_3 . *Preparasi* ini diharapkan akan semakin mempermudah proses degradasi. Selain itu bakteri yang didapatkan bisa dijadikan konsorsium dengan bakteri lain agar kemampuan degradasi meningkat. Karakterisasi hasil analisis degradasi juga dapat ditingkatkan dengan penggunaan *Scanning Electron Microscope* (SEM).

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, M. 2007. *Tafsir Ibnu Katsir Jilid 5*. Bogor: Pustaka Imam Asy-Syafi'i.
- Amaliya, C. F. 2019. Uji Biodegradasi dan Identifikasi Jamur Pendegradasi Plastik LDPE Secara Genotip Menggunakan Gen ITS rDNA. *Skripsi*. Malang : UIN Maliki Malang.
- Alshehrei, F. 2017. Biodegradation of Synthetic and Natural Plastic by Microorganisms. *Journal of Applied & Environmental Microbiology*. Vol. 5. No. 1. Hal. 8-19.
- Arutchelvi, J., Sudhakar, M., Arkatkar, A. Doble, M., Bhaduri, S. dan Uppara, P. V. 2008. Biodegradation of Polyethylene and Polypropylene. *Indian Journal of Biotechnology*. Vol.7. Hal. 9-22.
- Balasubramanian, V., Natarajan, K., Rajeshkannan, V. dan Perumal, P. 2014. Enhancement of In Vitro High Density Polyethylene (HDPE) Degradation by Physical, Chemical, and Biological Treatments. *Environ Sci Pollut Res*.
- Brooks, G.F, Butel, J.S. dan Morse, S.A. 2008. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta : Salemba Medika.
- Benson. 2015. *Microbiological Applications Laboratory Manual in General Microbiology 8th ed*. New York : The McGraw-Hill Companies.
- Chasanah, E. 2018. Identifikasi Fenotip Bakteri Amilolitik dan Selulolitik dari Isolat Bakatul dengan Metode Profile Matching Berdasarkan Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. *Skripsi*. Malang : UIN Maliki Malang.
- Cappuccino, J. G. dan Sherman, N. 2002. *Microbiology A Laboratory Manual 6th ed*. Menlo Park : The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc.
- Cappucino, J.G., dan Sherman, N. 2005. *Microbiology : A Laboratory manual*. California. Benjamin/Cummings Science Publishing.
- Das, M. P. dan Kumar, S. 2013. Influence of Cell Surface Hydrophobicity in Colonization and Biofilm Formation on LDPE Biodegradation. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*.
- Departemen Agama RI. 1994. *Al-Quran dan Tafsirnya Jilid VI Juz 16-17-12-18*. Jakarta : Depag RI Proyek Pengadaan Kitab Suci Al-Quran.

- Devi, R. S., Ramya, R., Kannan, K., Anthony R. A. dan Kannan, V.R. 2019. Investigation of Biodegradation Potentials of High Density Polyethylene Degrading Marine Bacteria Isolated from the Coastal Regions of Tamil Nadu, India. *Marine Pollution Bulletin*. 138. Hal. 549-560.
- Dey, S., Ashok, K. S. dan Singh, G. 2016. Biodegradation Ability of Bacteria on Plastic and Thermocol Cups. *European Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*. Volume 3. Issue 10. Hal. 272-277.
- Fallo, G. dan Sine, Y. 2016. Isolasi dan Uji Biokimia Bakteri Selulolitik Asal Saluran Pencernaan Rayap Pekerja (*Macrotermes spp.*). *Bio-Edu : Jurnal Pendidikan Biologi*. Vol. 1. No. 2. Hal. 21-29.
- Fitrah, I. D., Darmawi, dan Rasmaidar. 2013. Isolasi *Pasteurella multocida* pada Kuda dan Sensivitasnya terhadap Antibiotik. *Jurnal Medika Veterinaria*. Vol. 7. Hal. 121-125.
- Firdausi, N., Muslihatin, W. dan Nurhidayati, T. 2016. Pengaruh Kombinasi Media Pembawa Pupuk Bakteri Pelarut Fosfat terhadap pH dan Unsur Hara Fosfor dalam Tanah. *Jurnal Sains dan Seni ITS*. Vol. 5. No. 2. Hal. 2337-3520.
- Gandjar, I., I. R. Koentjoro, W. Mangunwardoyo dan L. Soebagya. 1992. *Pedoman Praktikum Mikrobiologi Dasar*. Depok : UI-Press.
- Geyer, R., Jambeck, J. R. dan Law, K. L. 2017. Production, Use and Fate of All Plastics Ever Made. *Science Advances*. Vol.3. No. 7.
- Giwangkara, S. E. G. 2006. *Aplikasi Logika Syaraf Fuzzy Pada Analisis Sidik Jari Minyak Bumi Menggunakan Spektrofotometer Infra Merah Transformasi Fourier (FT-IR)*. Sekolah Tinggi Energi dan Mineral : JawaTengah.
- Gu, J. D., Ford, T.E., Mitton, D. B. dan Mitchell, R. 2003. *Microbial Corrosion of Metals*. New York : Wiley Pub.
- Hadiotomo. 2001. Identifikasi Bakteri dari Tinja Pasien Diare di Rumah Sakit Islam Klaten. *Skripsi*. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Hajar, D. 2012. Isolasi, Identifikasi, dan Analisis Kemampuan Degradasi Hidrokarbon Bakteri Tanah Sampel B, Cilegon, Banten. *Skripsi*. Depok : Universitas Indonesia.
- Hamdila, J. D. 2012. Pengaruh Variasi Massa Terhadap Karakteristik Fungsionalitas dan Termal Komposit MgO-SiO₂ Berbasis Silika Sekam Padi Sebagai Katalis. *Skripsi*. Universitas Lampung: Bandar Lampung.

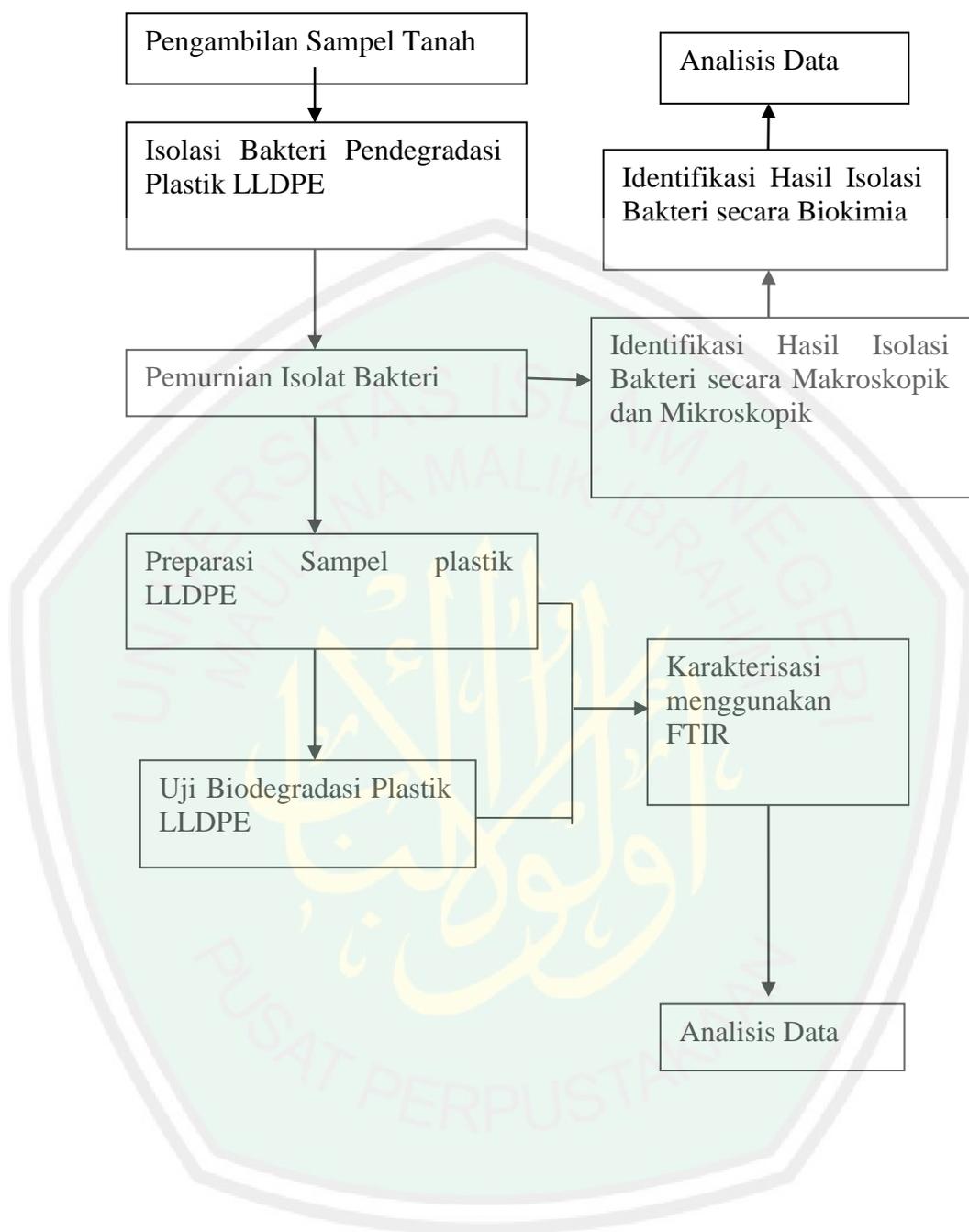
- Hasan, F., Shah, A. A., Hameed, A. dan Ahmed, S. 2007. Synergistic Effect of Photo- and Chemical Treatment on the Rate of Biodegradation of Low Density Polyethylene by *Fusarium* sp. AF4. *Journal of Applied Polymer Science*. Hal. 1466-1470.
- Hastuti, U. S., Nugraheni, F. S. A. dan Asna P. M. 2017. Identifikasi dan Penentuan Indeks Hidrolisis Protein pada Bakteri Proteolitik dari Tanah Mangrove di Margomulyo Balikpapan. *Proceeding Biology Education Conference*. Vol. 14. No. 1. Hal. 265-270.
- Hastuti, U.S., Yakub, P. dan Khasanah, H.N. 2014. Biodiversity of Indigenous Amyolytic and Cellulolytic Bacteria in Sago Waste Product at Susupu, North Moluccas. *Journal of Life Sciences* Vol.8. Hal. 920-940.
- Hardiansyah, M. Y., Musa, Y. dan Jaya, A. M. 2020. Identifikasi Plant Growth Promoting Rhizobacteria pada Rizosfer Bambu Duri dengan Gram KOH 3%. *Agrotechnology Research Journal*. Vol. 4.No. 1. Hal. 41-46.
- Harley, J. P. dan Lansing. M. P. 2002. *Laboratory Exercises in Microbiology* 5th ed. New York: The McGraw-Hill Companies.
- Hindrayawati, N. dan Alimuddin. 2010. Sintesis dan Karakterisasi Silika Gel dari Abu Sekam Padi dengan Menggunakan Natrium Hidroksida (NaOH). *Jurnal Kimia Mulawarman*. Vol. 7. No. 2. Hal. 75-77.
- <https://microbenotes.com/biochemical-test-of-bacillus-cereus/> (Diakses tanggal 20 November 2020)
- Istiqomah, L. 2015. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Penghasil Fitase dari Saluran Pencernaan Unggas serta Karakterisasi Fitasenya. *Tesis*. Yogyakarta: Program Pascasarjana Universitas Gadjah Mada.
- Jaya, C. T. dan Subha, M. P. 2011. A Study of 2 Rapid Tests to Differentiate Gram Positive and Gram Negative Aerobic Bacteria. *J. Med Allied Sci*. Vol. 1. No. 2. Hal. 84-85.
- Kultsum, U. 2009. Pengaruh Variasi Nira Tebu dari Beberapa Varietas Pembahan Sumber N dari Tepung Kedelai Hitam Sebagai Substrat terhadap Efisiensi Fermentasi Etanol. *Skripsi*. Malang : Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Malang.
- Lewaru, S., Riyantini, I. dan Mulyani, Y. 2012. Identifikasi Bakteri Indigenous Pereduksi Logam Berat Cr (IV) dengan Metode Molekuler di Sungai Cikijing Rancaekek, Jawa Barat. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. Vol. 3. No. 4. Hal. 81-92.

- Lwanga, E. H., Thapa, B. Yang, X., Gertsen, H., Salanki T., Geissen, V. dan Paolina, G. 2018. Decay of Low-Density Polyethylene by Bacteria Extracted from Earthworm's Guts: A Potential for Soil Restoration. *Science of the Total Environment* 624 . Hal. 753–757.
- Moghaddamzadeh, S. dan Denis R. 2018. The Effect of Polyester Recycled Tire Fibers Mixed with Ground Tire Rubber on Polyethylene Composites. Part I: Morphological Analysis. *Progress in Rubber Plastics and Recycling Technology*. Vol. 34(4). Hal. 200–220.
- Muhonja, C. N., Makonde, H., Magoma, G. dan Imbuga, M. 2018. Biodegradability of Polyethylene by Bacteria and Fungi from Dandora Dumpsite Nairobi Kenya. *Journal Pone*. Hal. 1-17.
- Mujiyanti, D. R., Astuti, dan Umaningrum, D. 2010. Pembuatan Silika Amorf pada Limbah Sekam Padi Gambut di Kabupaten Banjar Kalimantan Selatan. *Skripsi*. Banjarbaru: Universitas Lambung Mangkurat.
- Murti, A. N. S. 2014. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Pendegradasi Plastik Hitam dari TPA (Tempat Pembuangan Akhir) Sampah Bakung Kota Bandar Lampung dengan Teknik Konvensional. *Skripsi*. Lampung : FMIPA Universitas Lampung.
- Nangin, D. dan Sutrisno, A. 2015. Enzim Amilase Pemecah Pati Mentah dari Mikroba. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Vol. 3. No. 3. Hal. 1032–1039.
- Neliyani, N. 2014. Identifikasi dan Karakteristik *Staphylococcus sp.* dan *Streptococcus sp.* dari Infeksi Ovarium pada Ayam Petelur Komersial. *Jurnal Ilmu Ternak*. Vol. 1 No. 7. Hal. 32–37.
- Norman, S.J., Edward, S.A., Boris, E.V., Yuri, K.N., Larisa, V.I. dan Vladimir, P.V. 2005. *Paenibacillus polymyxa* Purified Bacteriocin to Control *Campylobacter* Jejuni in Chickens. *Journal of Food Protection*. No. 7. Hal. 1450-1453.
- Octavianda, F. T., Asri, M. T. dan Lisdiana, L. 2016. Potensi Isolat Bakteri Pendegradasi Plastik Jenis Polietilen Oxo- Degradable dari Tanah TPA Benowo Surabaya. *Lentera Bio*. Vol. 5. No. 1. Hal. 32-35.
- Pepper, I. L. dan Gerba, C. P. 2005. *Environmental Microbiology A Laboratory Manual*. 2nd ed: 2004. London : Elsevier Inc.
- Pratita, M. Y. dan Putra, S. R. 2012. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Termofilik dari Sumber Mata Air Panas di Songgoriti Setelah Dua Hari Inkubasi. *Jurnal Teknik Pomits*. Vol. 1. Hal. 1–5.

- Respati, N. Y. 2017. Optimasi Suhu dan pH Media Pertumbuhan Bakteri Pelarut Fosfat dari Isolasi Bakteri Termofilik. *Jurnal Prodi Biologi*. Vol. 6. No. 7. Hal. 423-470.
- Sabdaningsih, A., Anto, B. dan Endang, K., 2013. Isolasi dan Karakterisasi Morfologi Koloni Bakteri Asosiasi Alga Merah (Rhodophyta) dari Perairan Kutuh Bali. *Jurnal Biologi*. Vol. 2.No. 2. Hal. 11-17.
- Sariani, N., Litaay, M., Budji, R. dan Priosambodo, D. 2015. Potensi Tunika *Rhopaleaea sp* sebagai Sumber Inokulum Bakteri Endosimbion Penghasil Antibakteri. *Jurnal Alam Dan Lingkungan*. Vol. 6. Hal. 47-66.
- Singh, J., Gupta, K. C. dan Shrivastava, A. 2015. Isolation and Identification of Low Density Polyethylene Poluted Sites Around Gwalior City (M.P). *Journal o Global Biosciences*. Vol. 4. No. 8. Hal. 3220-3228.
- Subagiyo, Magino, S., Triyanto dan Setyati, W. A. 2015. Pengaruh pH, Suhu dan Salinitas terhadap Pertumbuhan dan Produksi Asam Organik Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Intestinum Udang. Penaeid. *Jurnal Ilmu Kelautan*. Vol. 20. No.4. Hal. 187-194.
- Subandi, H. M. 2014. *Mikrobiologi Kajian dalam Perspektif Islam*. Bandung : PT Remaja Rosdakarya.
- Susanto, J. A. 2010. Pengaruh Penambahan Polietilen Suksinat terhadap Sifat Mekanik dan Biodegradabilitas Linier Low Density Polyethylene (LLDPE).*Skripsi*. Jakarta : Universitas Indonesia.
- Syaukani, A. B. A. M. 2007. *Fathul Qadir*. Jakarta : Pustaka Azam.
- Whitman, W. B. Vos, P. D. Garrity, G. M., Jones, D. Krieg, N. R., Ludwig, W., Rainey, K. dan Schleifer, H. 2009. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Second Edition Volume Three*. New York : Springer Science-Business Media.

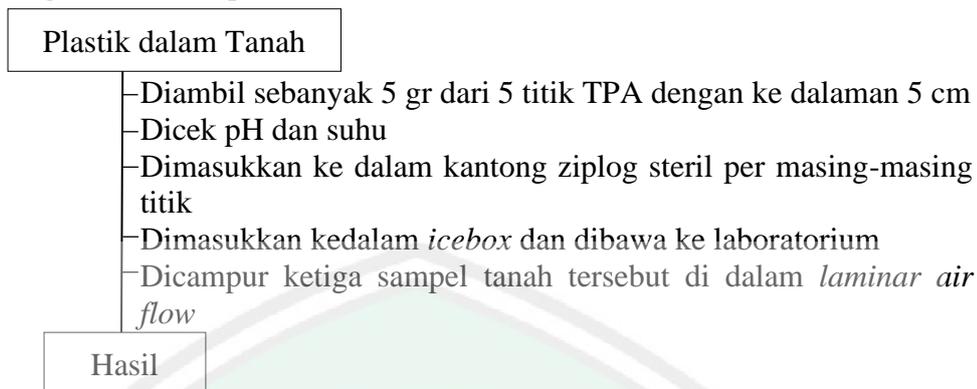
LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian

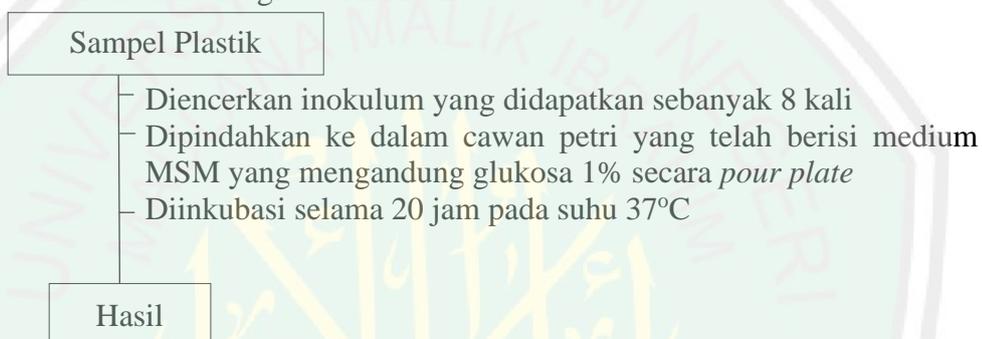


Lampiran 2. Diagram Alir

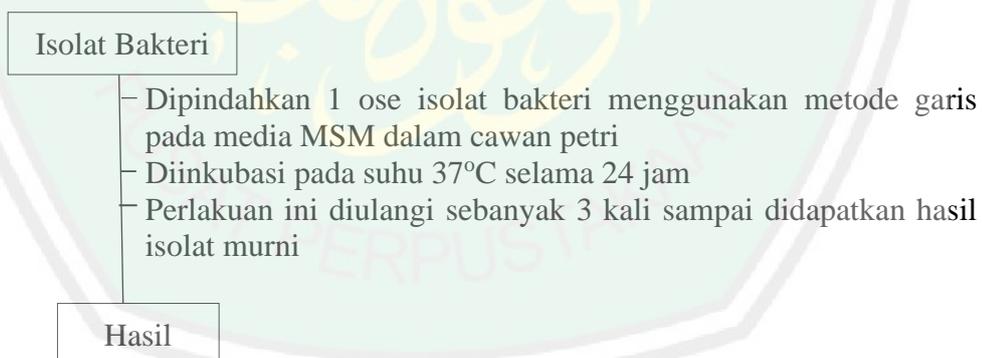
1. Pengambilan Sampel



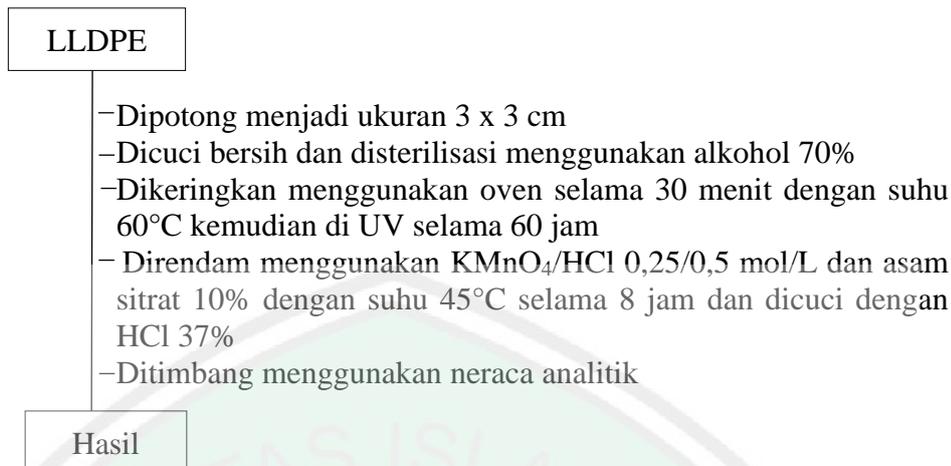
2. Isolasi Bakteri Pendegradasi LLDPE



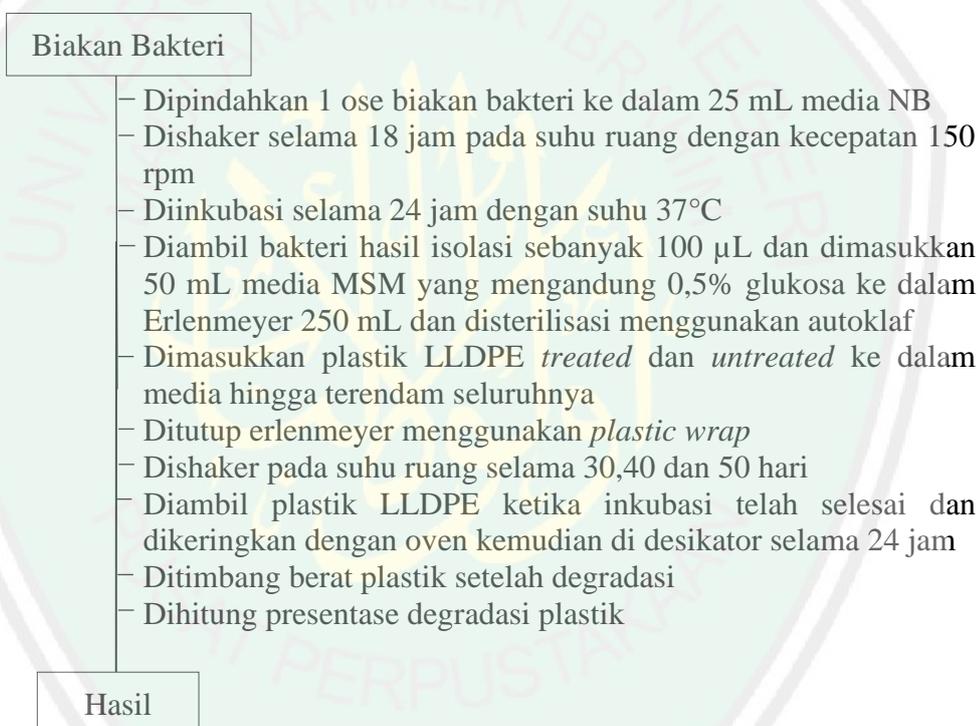
3. Pemurnian Isolat Bakteri Hasil Isolasi



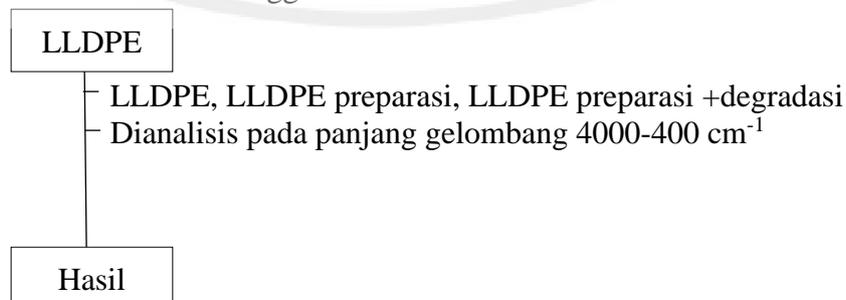
4. Preparasi Plastik LLDPE



5. Uji Biodegradasi LLDPE oleh Isolat Bakteri



6. Identifikasi LLDPE menggunakan FTIR



7. Identifikasi Hasil Isolasi Bakteri

7.1 Pewarnaan Gram

Isolat Bakteri

- Dipindahkan 1 ose isolat bakteri menggunakan metode garis pada media MSM dalam cawan petri
- Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam
- Diambil isolat bakteri sebanyak 1 ose teteskan 1-2 tetes aquades diatas kaca preparat
- Diambil 1 ose koloni bakteri dan diletakkan diatas aquades steril, disebarakan hingga merata
- Difiksasi diatas bunsen
- Ditetaskan kristal violet 2-3 tetes selama 1 menit
- Dicuci dengan air mengalir dan dikering anginkan
- Ditetesi iodium selama 1 menit
- Dicuci dengan air mengalir dan dikeringanginkan kembali
- Ditetesi alkohol 96% selama 30 detik
- Dicuci dengan air mengalir dan dikeringanginkan kembali
- Ditetesi safranin selama 45 detik
- Dicuci dengan air mengalir dan kelebihan air dihilangkan dengan kertas serap
- Dilakukan pengamatan dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000X – 10.000X

Hasil

7.2 Uji Endospora

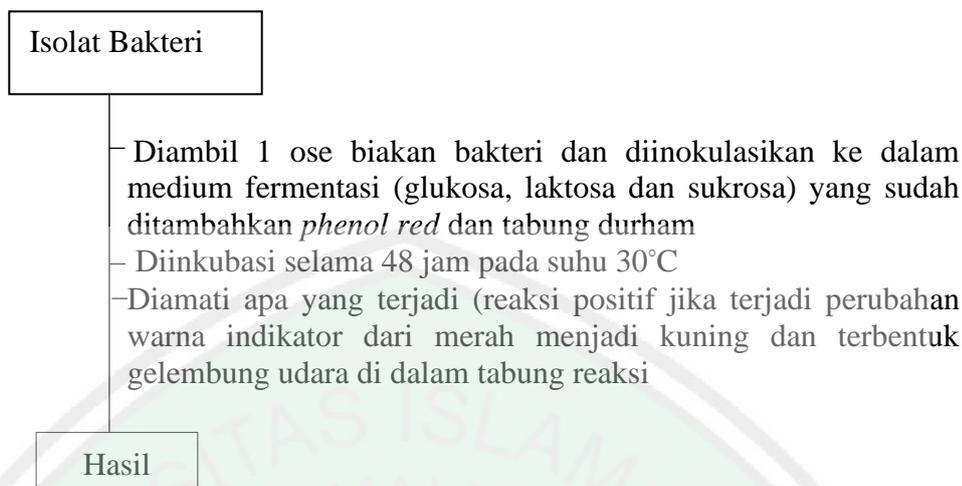
Isolat Bakteri

- Diambil sebanyak 1 ose dan digoreskan pada permukaan preparat steril kemudian dilakukan fiksasi
- Dibungkus menggunakan kertas saring
- Ditetesi dengan malasit hijau sebanyak 1 tetes dan dibiarkan selama 4 menit
- Dilepas kertas saring kemudian dibilas dengan air mengalir
- Dikeringkan kaca preparat di atas api spiritus
- Ditetaskan safranain sebanyak 1 tetes di permukaan isolat
- Didiamkan selama 5 menit
- Diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x dengan bantuan minyak imersi

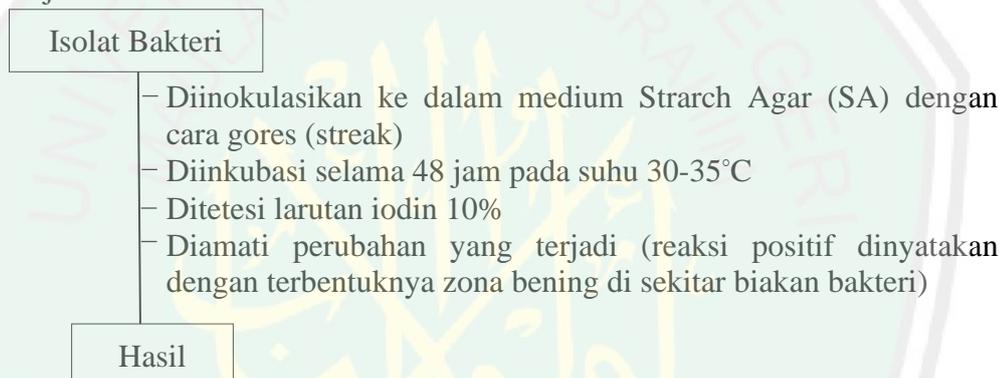
Hasil

8. Uji Biokimia Hasil Isolasi Bakteri

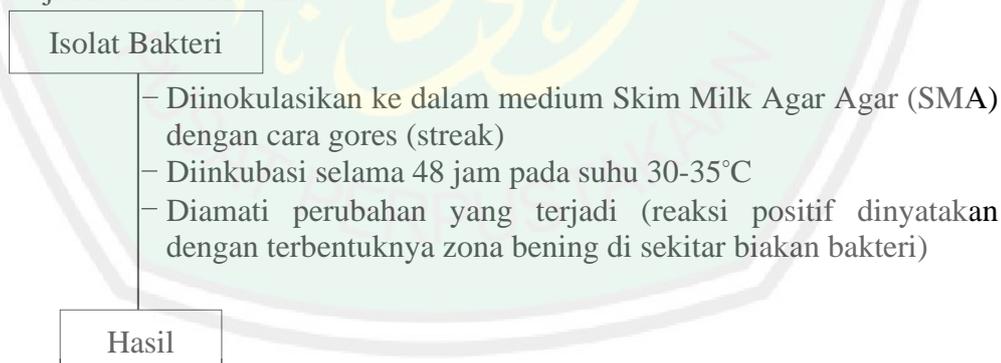
8.1 Fermentasi Karbohidrat



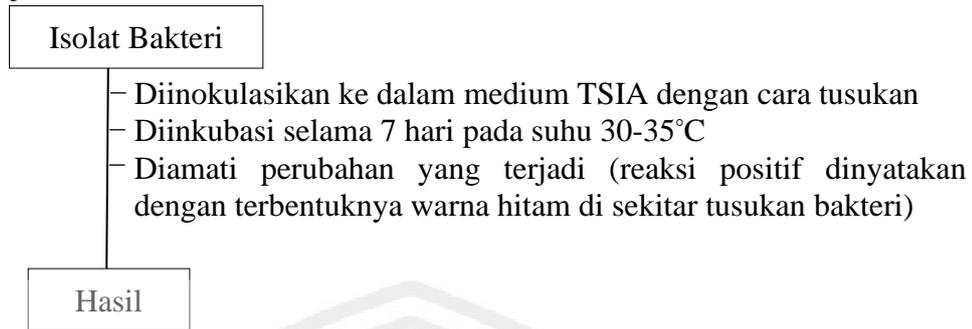
8.2 Uji Hidrolisis Polisakarida



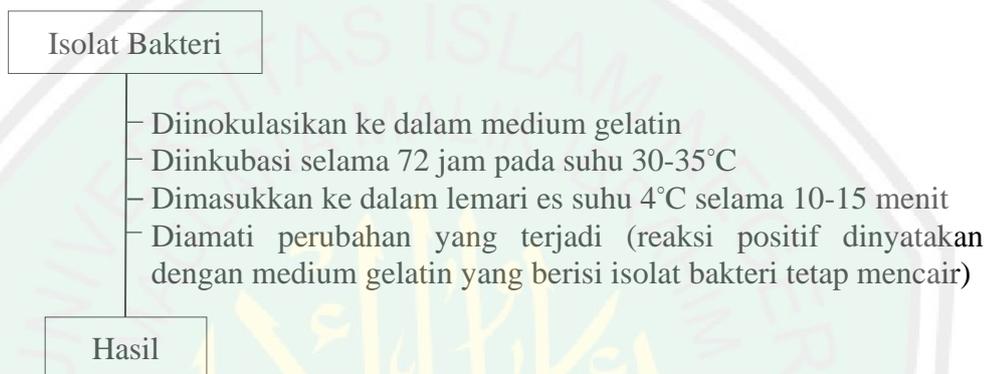
8.3 Uji Hidrolisis Protein



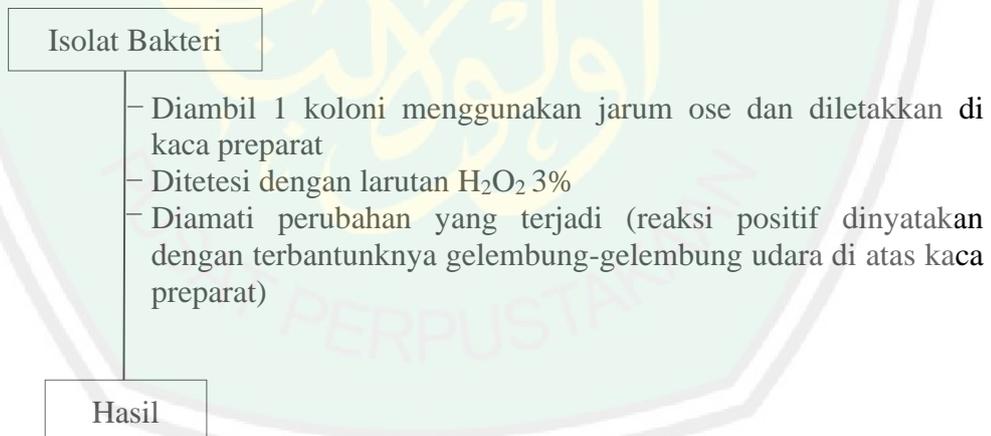
8.4 Uji Produksi H₂S



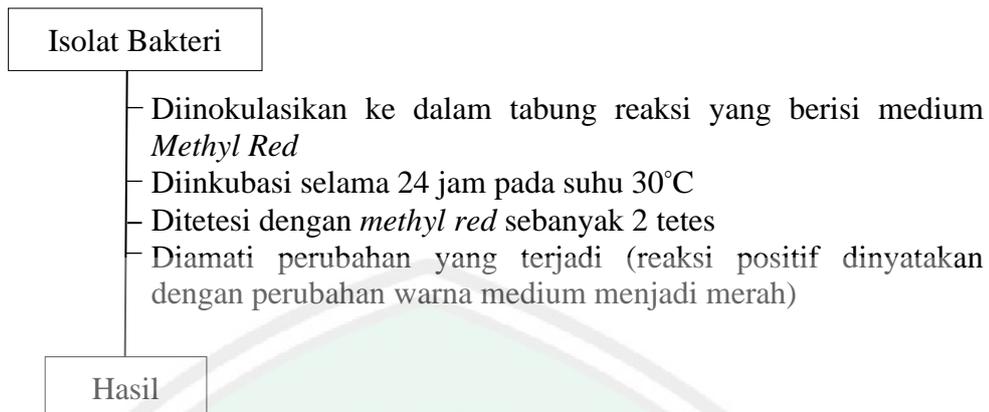
8.5 Uji Pencairan Gelatin



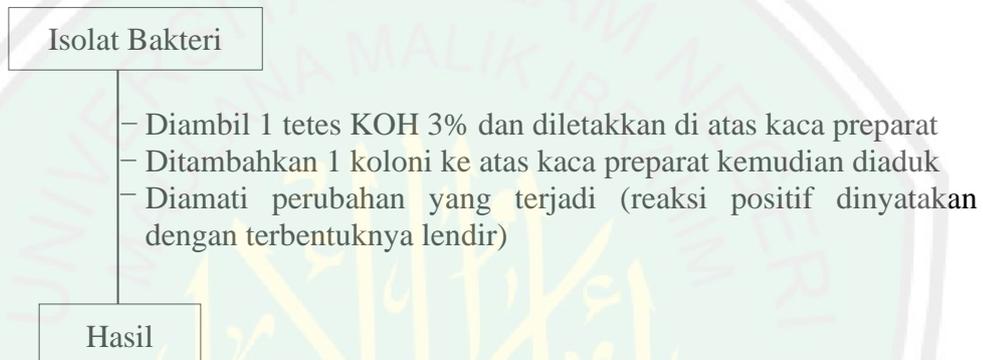
8.6 Uji Katalase



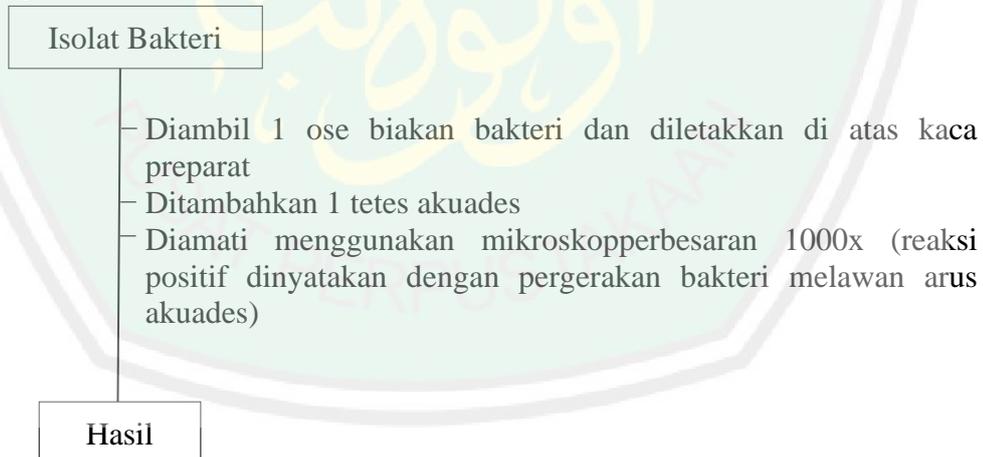
8.7 Uji *Methyl Red*



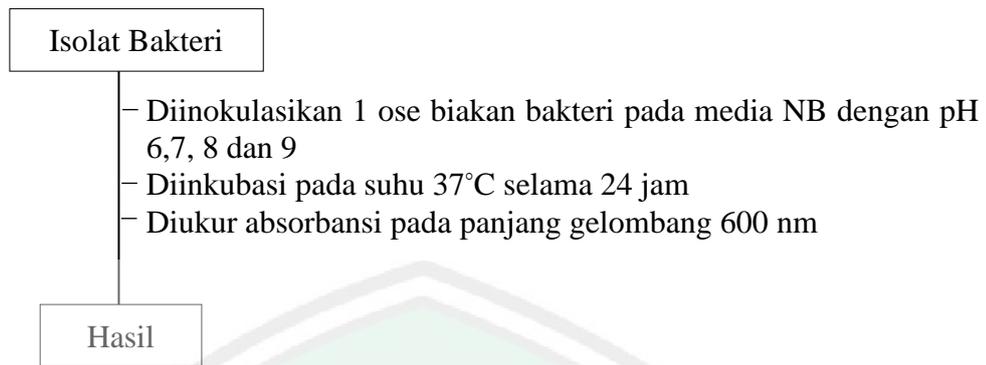
8.8 Uji KOH string



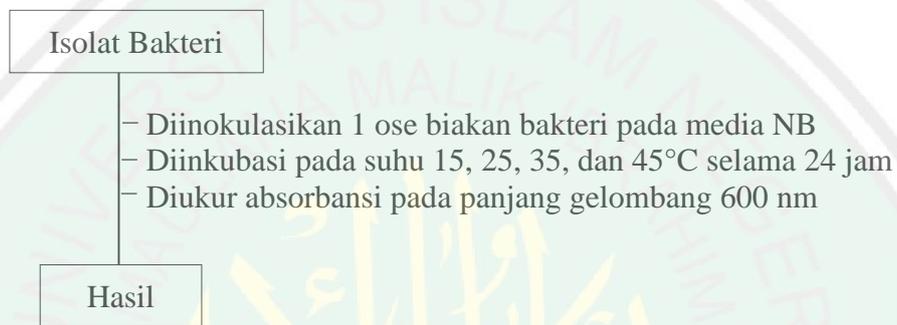
8.9 Uji Motilitas



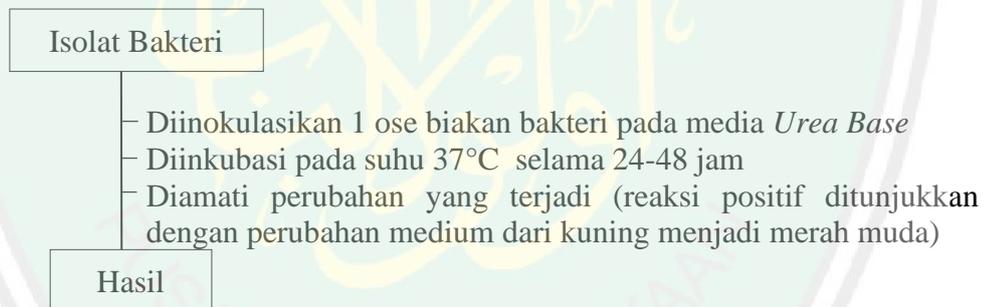
8.10 Uji pH terhadap Pertumbuhan Bakteri



8.11 Uji Suhu pada Pertumbuhan Bakteri



8.12 Uji Hidrolisis Urea



Lampiran 3. Perhitungan

1. Pembuatan Media MSM Broth

Mineral dilarutkan dalam 600 mL sesuai komposisi berikut; 1,5 gram K_2HPO_4 , 0,12 gram KH_2PO_4 , 0,3 gram NaCl, 0,006 gram $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, 0,6 gram $(NH_4)_2SO_4$, 0,06 gram $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,003 gram $FeSO_4$ dan 6 gram glukosa. Larutan dipanaskan hingga seluruh mineral terlarut, kemudian disterilkan. Selanjutnya media disterilkan dan siap diaplikasikan untuk degradasi bakteri.

2. Pembuatan Media NA (*Nutrient Agar*)

Media NA dibuat dengan menimbang 3,2 gram padatan NA kemudian dilarutkan dalam 120 mL akuades steril.

3. Pembuatan HCl 37%

$$\text{Reagen (\%)} = \frac{\text{massa zat terlarut (gr)}}{\text{volume larutan (ml)}} \times 100\%$$

$$\text{HCl 37\%} = \frac{x \text{ (gr)}}{1 \text{ (ml)}} \times 100\%$$

$$X = 0,37 \text{ gram}$$

4. Pembuatan Asam Sitrat 10%

$$\text{Reagen (\%)} = \frac{\text{massa zat terlarut (gr)}}{\text{volume larutan (ml)}} \times 100\%$$

$$\text{Asam Sitrat 10\%} = \frac{x \text{ (gr)}}{1 \text{ (ml)}} \times 100\%$$

$$X = 0,1$$

5. Pembuatan $KMnO_4$ 0,25 mol/L

$$\text{Mr } KMnO_4 = 158,034 \text{ g/mol}$$

$$0,25 \text{ mol/L} = \frac{\text{massa zat terlarut (g)}}{\text{Mr}} \times \frac{1000 \text{ mL}}{V}$$

$$0,25 \text{ mol/L} = \frac{x \text{ (g)}}{158,034 \text{ g/mol}} \times \frac{1000 \text{ mL}}{25 \text{ mL}}$$

$$X \text{ (gr)} = 0,98 \text{ gram}$$

6. Pembuatan HCL 0,5 mol/L 10 mL dari HCL 37%

$$M_r \text{ HCl} = 36,5 \text{ g/mol}$$

$$M = \frac{\% \times p \times 10}{M_r}$$

$$= \frac{37 \% \times 1,19 \times 10}{36,5 \text{ g/mol}}$$

$$= 12,06 \text{ M}$$

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$12,06 \text{ M} \times V_1 = 0,5 \text{ M} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,41 \text{ mL}$$

7. Medium Fermentasi Karbohidrat

Sebanyak 0,5 g karbohidrat (glukosa, laktosa, sukrosa), 10 g tripton, 5 g NaCl, dan 0,018 g *phenol red* dilarutkan dalam akuades hingga mencapai volume 1000 ml, kemudian dipanaskan hingga semua bahan larut. Medium dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi tabung Durham masing-masing sebanyak 5 ml. Medium disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

8. Medium *Starch Agar* (SA)

Sebanyak 2 g *soluble starch* [BHD] dan 31 g *Nutrient Agar* (NA) dilarutkan dalam akuades hingga mencapai volume 1000 ml, kemudian dipanaskan hingga semua bahan larut. Medium disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Medium SA yang sudah steril diturunkan suhunya hingga 38-40°C. Medium tersebut kemudian dituang ke dalam cawan Petri steril masing-masing sebanyak 15-20 ml.

9. Medium *Skim Milk Agar* (SMA)

Sebanyak 50 g skim milk dan 15 g agar dilarutkan dalam akuades hingga mencapai volume 1000 ml, kemudian dipanaska hingga semua bahan larut. Medium disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Medium SMA yang sudah steril diturunkan suhunya hingga 38-40°C. Medium tersebut kemudian dituang ke dalam cawan Petri steril masing-masing sebanyak 15-20 ml.

10. Medium *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA)

Sebanyak 62,5 g Medium *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) dilarutkan dalam akuades hingga mencapai volume 1000 ml, kemudian dipanaskan hingga semua bahan larut. Medium dimasukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 5 ml. Medium disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Medium yang telah steril didiamkan memadat dalam posisi tegak.

11. Medium *Gelatin*

Sebanyak 150 g gelatin dilarutkan dalam akuades hingga mencapai volume 1000 ml, kemudian dipanaskan hingga homogen. Medium dimasukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 5 ml. Medium disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

12. Medium *Methyl Red*

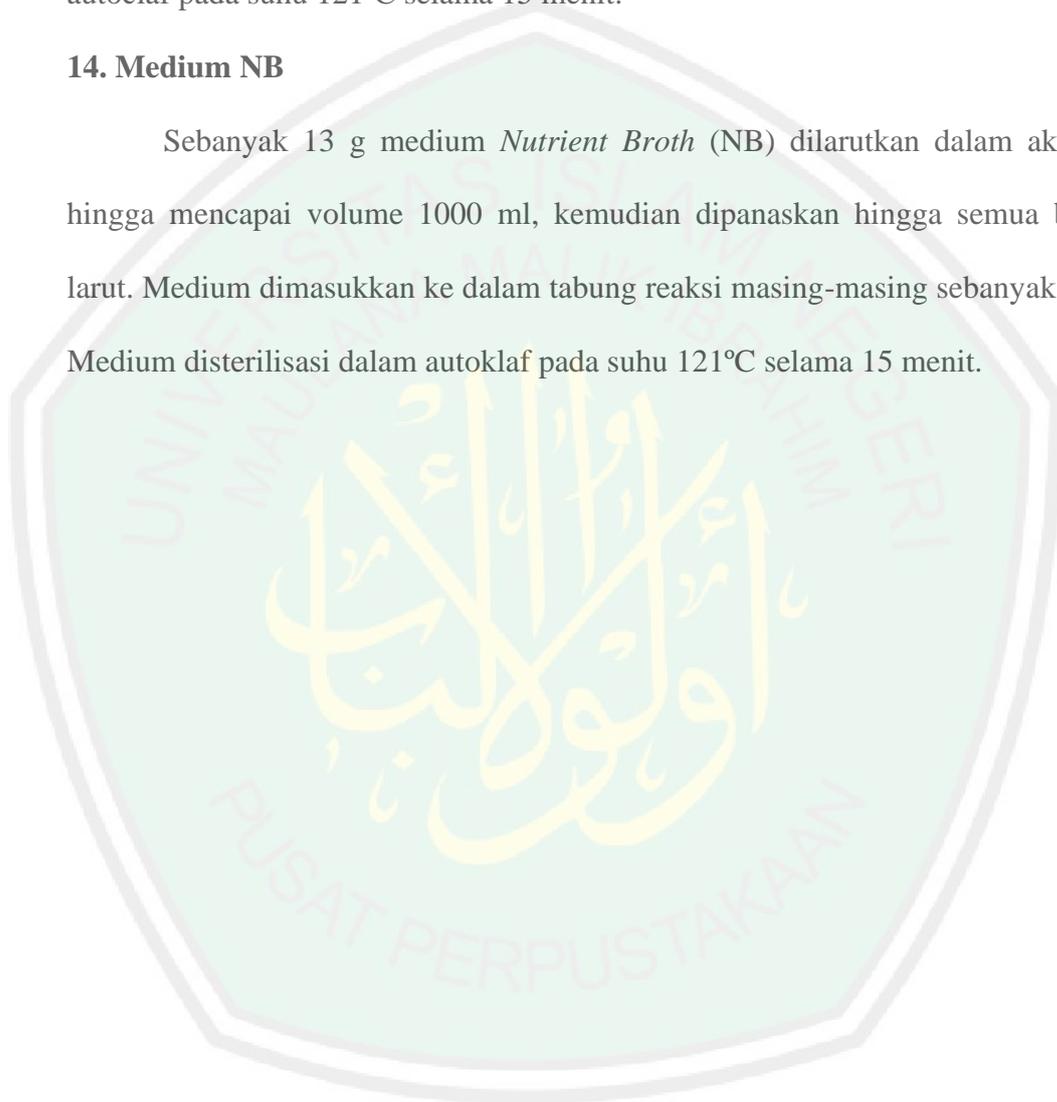
Sebanyak 5 g pepton, 5 g K_2HPO_4 , 5 g glukosa ditambahkan akuades hingga mencapai volume 1000 ml, kemudian dipanaskan hingga semua bahan larut. Derajat keasaman (pH) diatur menjadi 7,5. Medium tersebut dimasukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 5 ml. Medium disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

13. Medium Urea Base

Komposisi dari medium *urea base* adalah dekstros 1 gram, NaCl 5 gram, Potasium Fosfat 2 gram, phenol red 0,012 gram dan Agar 15 gram dilarutkan dalam 1000 mL akuades. Selanjutnya dipanaskan dan disterilisasi menggunakan autoclaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

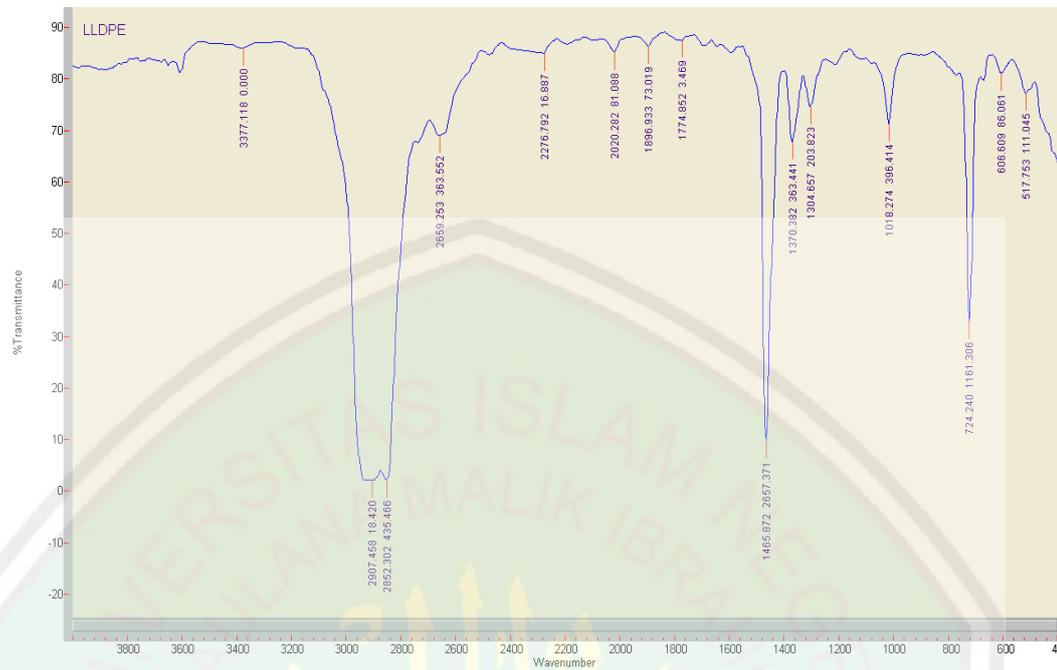
14. Medium NB

Sebanyak 13 g medium *Nutrient Broth* (NB) dilarutkan dalam akuades hingga mencapai volume 1000 ml, kemudian dipanaskan hingga semua bahan larut. Medium dimasukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 5 ml. Medium disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

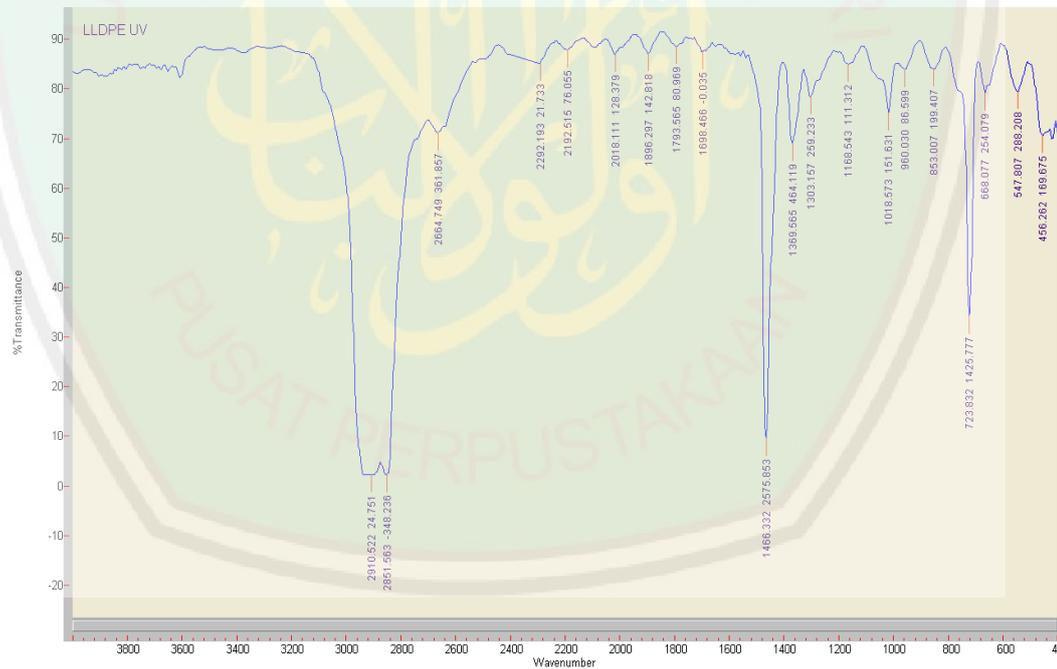


Lampiran 4. Hasil Analisis FTIR

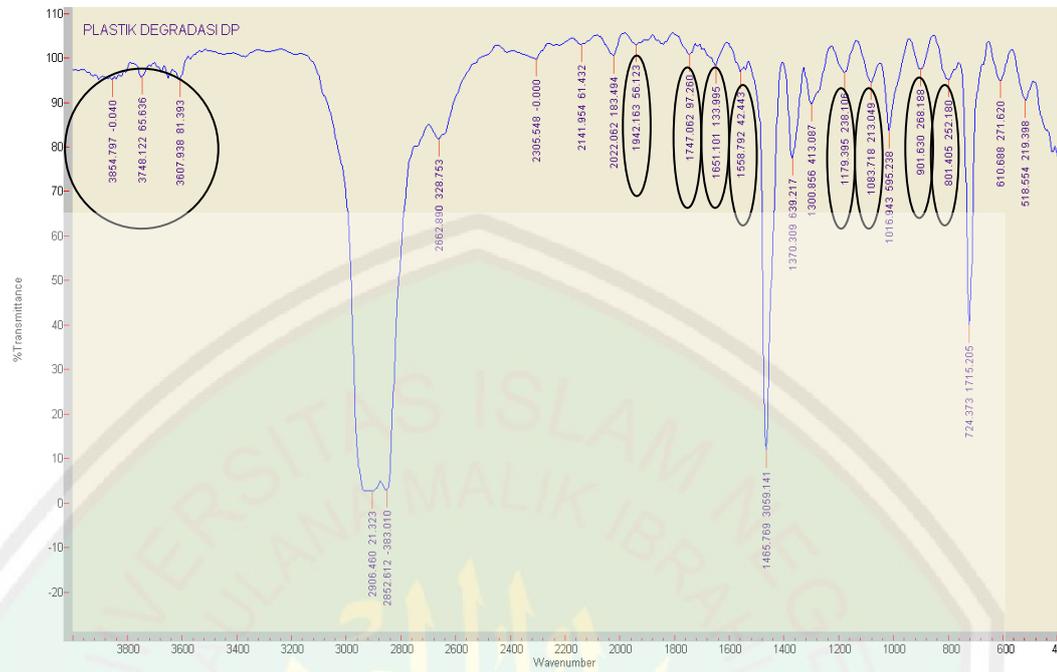
L.4.1 Hasil analisis FTIR plastik LLDPE



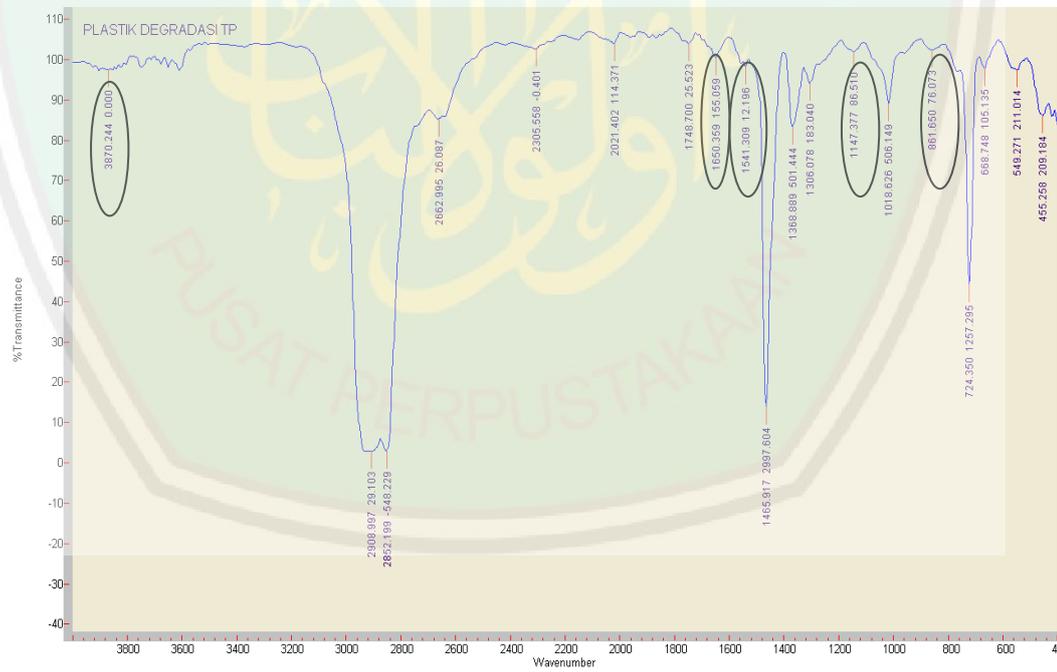
L.4.2 Hasil analisis FTIR plastik LLDPE + UV 60 jam



L.4.5 Hasil analisis FTIR plastik LLDPE + UV 60 jam + KMnO_4/HCl 0,25/0,5 mol/L+ Asam Sitrat 10% setelah degradasi



L.4.6 Hasil Analisis FTIR plastik LLDPE tanpa preparasi setelah degradasi



Lampiran 5. Data Hasil Penelitian

L.5.1 Nilai OD bakteri sebelum degradasi

No	Jenis Kultur	Nilai OD
1	Kultur untuk plastik yang belum dipreparasi	0,5300
2	Kultur untuk plastik yang telah dipreparasi dengan UV 60 jam + KMnO_4/HCl 0,25/0,5 mol/L+ Asam Sitrat 10%	0,7533

L.5.2 Nilai OD kultur bakteri setelah proses degradasi

Sampel Plastik yang Telah dipreparasi	<i>Optical Density</i>
Ulangan 1	1,0045
Ulangan 2	0,9824
Ulangan 3	1,0504
Rata-rata	1,0124 ± 0,0346

Sampel Plastik yang Telah dipreparasi	<i>Optical Density</i>
Ulangan 1	0,2015
Ulangan 2	0,1774
Ulangan 3	0,1293
Rata-rata	0,1694 ± 0,0367

L.5.3 Perhitungan Hasil Degradasi plastik LLDPE dengan preparasi

Isolat Bakteri	Berat Awal (g)	Berat Akhir (g)	<i>Weight Loss</i> (g)	Persen Degradasi
Ulangan 1	0,0282	0,0279	0,0003	1,06%
Ulangan 2	0,0309	0,0307	0,0002	0,65%
Ulangan 3	0,0313	0,0309	0,0004	1,27%
Persen Degradasi Rata-rata 0,99 % ± 0,0031 %				

L.5.4 Perhitungan Hasil Degradasi plastik LLDPE tanpa preparasi

Isolat Bakteri	Berat Awal (g)	Berat Akhir (g)	Weight Loss (g)	Persen Degradasi
Ulangan 1	0,0268	0,0266	0,0002	0,75%
Ulangan 2	0,0283	0,0282	0,0001	0,35%
Ulangan 3	0,0276	0,0274	0,0002	0,72%
Persen Degradasi Rata-rata			0,61%± 0,0022 %	

L.5.5 Nilai OD pada pH media berbeda

pH Media	Optical Density (OD)
6	0,2905
7	0,5212
8	0,1352

L.5.6 Nilai OD Pertumbuhan pada Suhu berbeda

Suhu	Optical Density (OD)
15°C	0,0534
25°C	0,2416
35°C	0,2224
45°C	0,6137

Lampiran 6. Dokumentasi



Pengenceran 10⁻⁵

Pemurnian ke-1

Pemurnian ke-2



Isolat BP2

Isolat 1

Preparasi plastik



Uji fermentasi laktosa



Uji fermentasi sukrosa

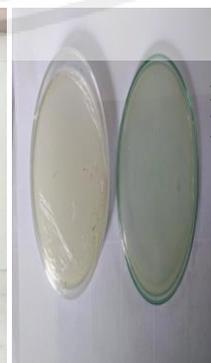
Uji Motilitas



Uji pH bakteri



Uji suhu bakteri



(a) isolat BP2
(b) Kontrol

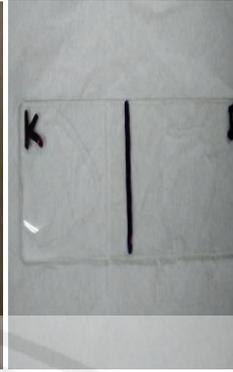
Uji protein



Hasil uji pencairan gelatin



Uji *methyl red*



Uji KOH string 3%



Hasil pengujian hidrolisis urea



Lampiran 7. Hasil Analisis Similiaritas Menggunakan MVSP

CLUSTER ANALYSIS

Data file - D:\SKRIPSI\data mvsp terbaru.mvs

Imported data

Analysis begun: 22 Oktober 2020 21:44:05

Analysing 7 variables x 23 cases

Data will be transposed before analysis

UPGMA

Simple Matching Coefficient

Constrained clustering strategy

Similarity matrix

	Isolat BP2	Bacillus sporothermodurans	Bacillus bataviensis	Bacillus fumarioli
Isolat BP2	1			
Bacillus sporothermodurans	0,957	1		
Bacillus bataviensis	0,652	0,696	1	
Bacillus fumarioli	0,522	0,565	0,696	1
Bacillus pumilus	0,783	0,826	0,783	0,478
Bacillus flexus	0,478	0,522	0,652	0,957
Bacillus thermoamylovorans	0,565	0,609	0,652	0,957
Isolat BP2		Bacillus sporothermodurans	Bacillus bataviensis	Bacillus fumarioli
				Objects

